

**Úvod do problematiky:
charakteristika oboru patologie v
praxi.**

Druhy vyšetření v patologii.

MARKÉTA HERMANOVÁ

Patologie

- **Obecná patologie: nauka o nemoci; studuje:**

- příčiny nemoci/etiologii
- mechanismus vzniku a vývoje nemoci/patogenezu
- strukturální změny/morfologii
- klinické konsekvence změn

- **Patologie v klinické praxi (diagnostická patologie):**

Diagnostika chorobných změn na základě vyšetření chirurgicky získaných vzorků tkáně (tj. histopatologické vyšetření biopsií) a cytologických vzorků (cytopatologické vyšetření): cca 98 % objemu práce pracoviště patologie

Nekroptická/autoptická vyšetření – pitvy: cca 2 % objemu práce pracoviště patologie

Nekroptická/autoptická vyšetření - pitvy

- **Anatomická pitva** (ústavy anatomie, výukové a výzkumné účely)

- **Patologicko-anatomická pitva** (oddělení a ústavy patologie)

U osob zemřelých ve zdravotnickém zařízení smrtí z chorobných příčin stanovených v § 88 odst. 2 ZZS.

- **Zdravotní pitva** (oddělení a ústavy soudního lékařství)

U osob zemřelých náhlým, neočekávaným nebo násilným úmrtím včetně sebevraždy, a to v případech stanovených v § 88 odst. 3 ZZS.

- **Soudní pitva** (oddělení a ústavy soudního lékařství)

Nařizují orgány činné v trestním řízení, nejčastěji policejní orgán, resp. státní zástupce. Soudní pitva je nařizována usnesením dle § 115 trestního řádu a to v případě, že vznikne podezření, že smrt člověka byla způsobena trestnými činem. Součástí soudní pitvy je i komplementární laboratorní vyšetření a také lékařský znalecký posudek.

Kdo je patolog?

- lékař specializovaný v diagnostice a charakterizaci onemocnění na základě vyšetření vzorků tkáně pacientů (biopsií) a cytologických vzorků (tělních tekutin, aspirátů, stěrových cytologií)
- největší objem práce představuje onkopatologická diagnostika nádorových onemocnění
- nutnost klinicko-patologické spolupráce

Biopsie

- Z živého organismu odebraná tkáň, která je využita pro diagnostické účely
- Může mít i význam terapeutický (př. resekce úseku střeva s nádorem, polypektomie,...)
- **Prováděna pod zrakovou/palpační kontrolou:**
 - Operační přístup, endoskopie/laparoskopie
 - UZV, CT, MRI
 - Stereotakticky (s 3D zaměřením)

Biopsie – metody přístupu

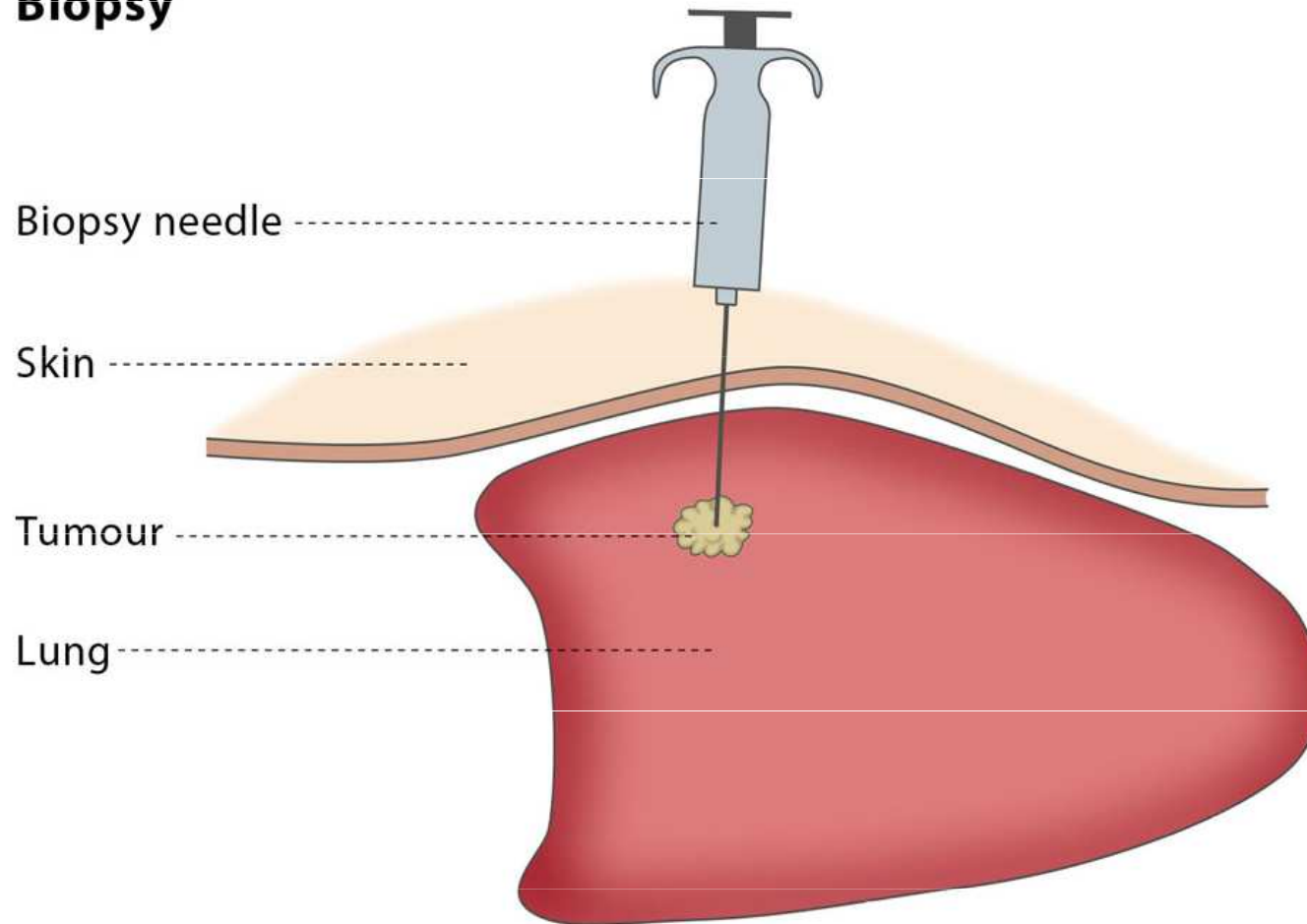
▪ Otevřená (operační)

- ✓ Excize (vč. resekce/amputace/exartikulace)
- ✓ Probatorní/diagnostická excize (incize)

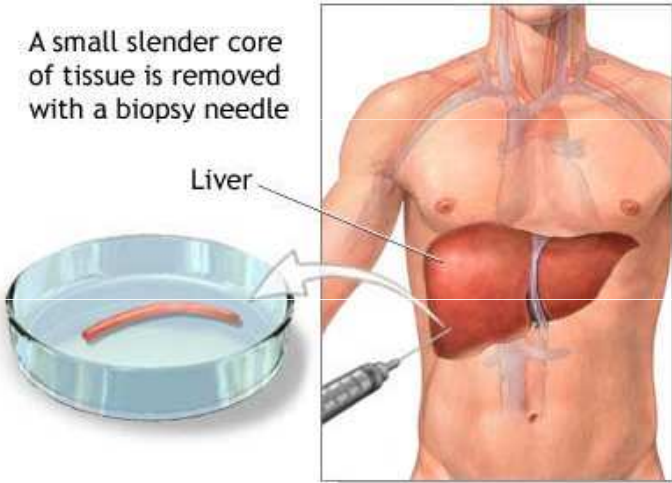
▪ Uzavřená

- ✓ Endoskopická mikroexcize: *gastro-, kolono-, broncho-, mediastino-, cysto-, artroskopie, ERCP,...*
- ✓ Punkční biopsie
 - Průbojníková (punch) biopsie: kůže, mamma
 - Jehlová biopsie: tenkojehlová aspirační (FNAB), core cut, vakuová: *štítní žláza, mamma, ložiskové procesy parenchymatálních orgánů (játra, ledviny, pankreas,..) a kostí*
- ✓ biopsie kličkou: *cervix*
- ✓ Kyretáž: *cervix, tělo děložní*

Biopsy

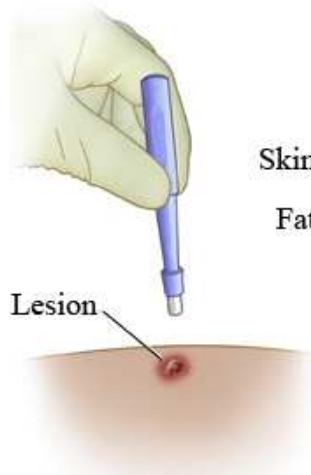


A small slender core of tissue is removed with a biopsy needle



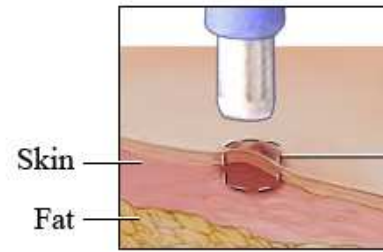
Liver

ADAM.



Lesion

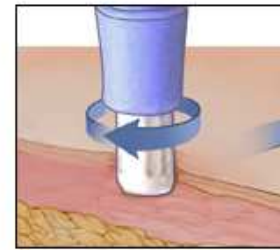
© Healthwise, Incorporated.



Skin

Fat

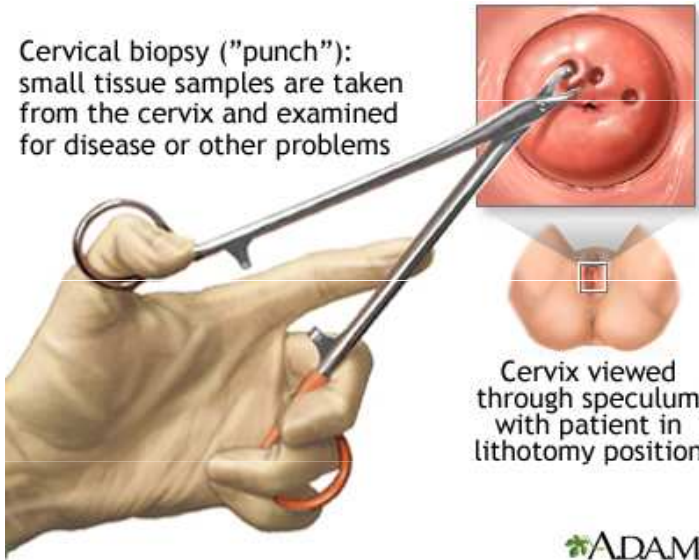
Area to be removed



Skin sample is removed

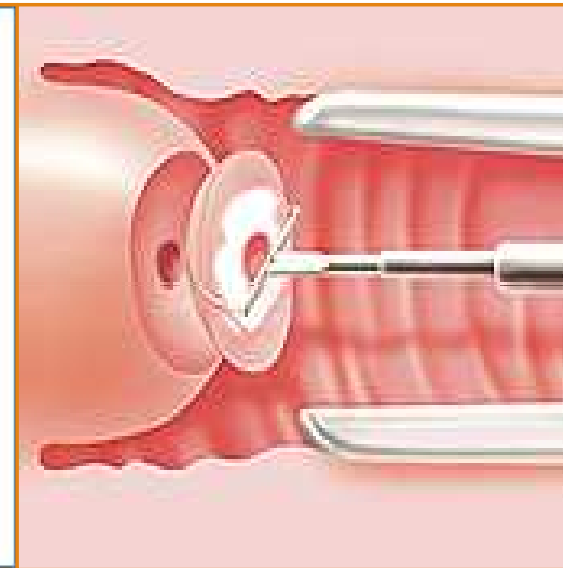


Cervical biopsy ("punch"): small tissue samples are taken from the cervix and examined for disease or other problems



Cervix viewed through speculum with patient in lithotomy position

ADAM.



Makroskopické hodnocení resekátu

Totální mezorektální excize – resekce rekta



Nativně
Ventrální pohled
Dorzální pohled



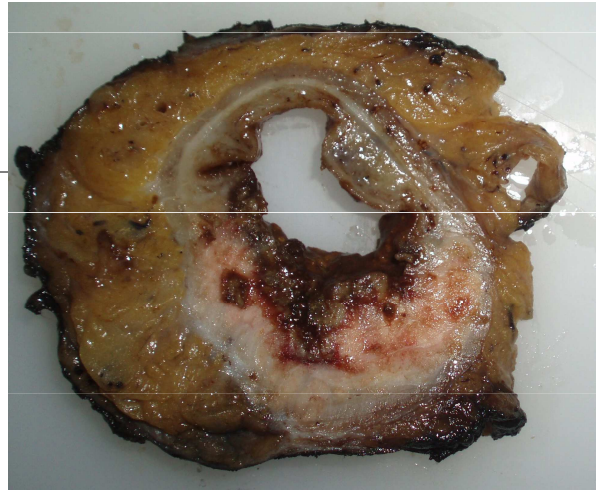
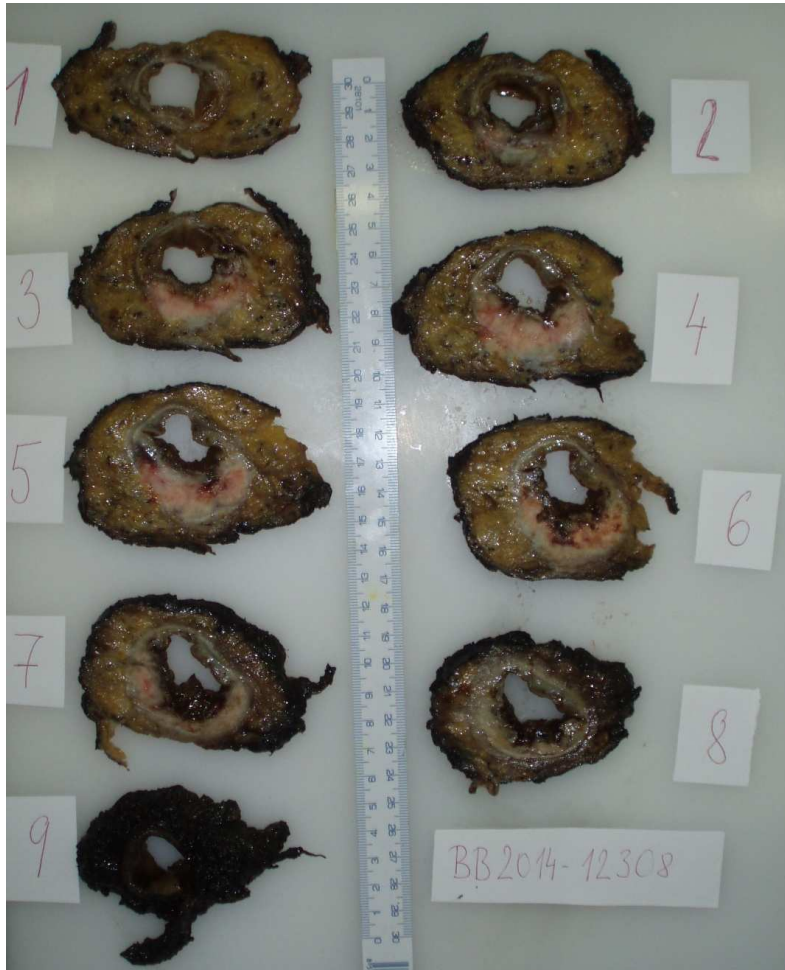
Po fixaci a označení neperitonealizovaných úseků tuší

Ventrální pohled
Dorzální pohled



- zorientování resekátu
- posouzení hodnocení kvality mezorektální excize (celistvost povrchu, případné defekty,...)
- nafocení ventrálně i dorzálně (celkové, detailně případné defekty)
- identifikace tumoru – korelace s chirurgickým nálezem
- fixace po dobu 48 hodin

Zpracování fixovaného materiálu TME



- zorientování resekátu
- označení cirkurální resekční linie (CRM) – neperitonealizované části resekátu
- vytvoření lamel – CT řezy, tloušťka cca 5mm
- nafočení lamel (celkově i jednotlivě)

zpracování pro histologické vyšetření

- resekční okraje
- střevní stěna mimo nádor
- střevní stěna s nádorem, včetně vztahu k cirkulárnímu resekčnímu okraji CRM)
- identifikace a zaznačení lymfatických uzlin či satelitních ložisek z blízkosti CRM

Metodické přístupy v patologii

Makroskopie

Světelná mikroskopie (přehledná a speciální barvení)

Enzymová histochemie

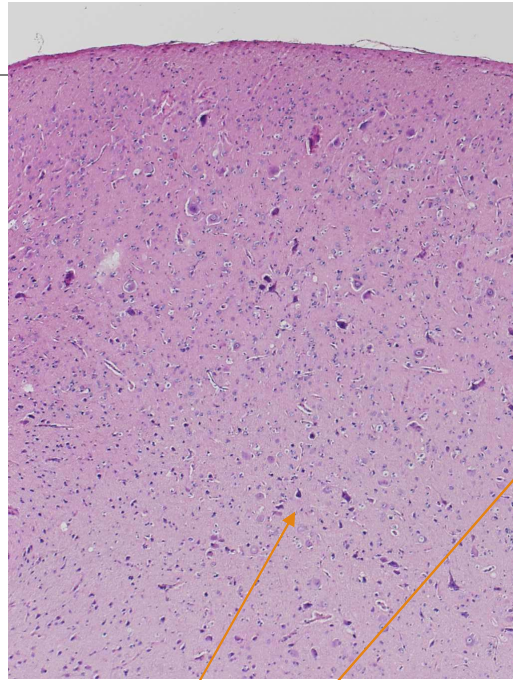
Imunohistochemie (IHC) a imunofluorescence

Elektronová mikroskopie

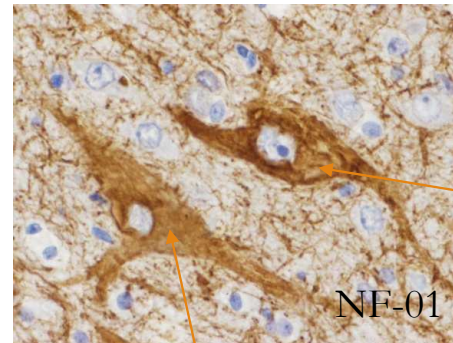
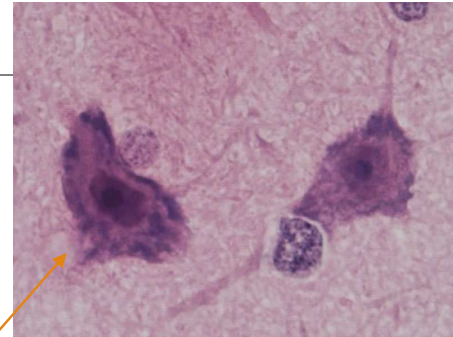
Molekulární patologie a genetika



Př. Fokální kortikální dysplazie: histopatologické vyšetření molformovaného kortexu



Přehledné barvení: hematoxylin-eosin



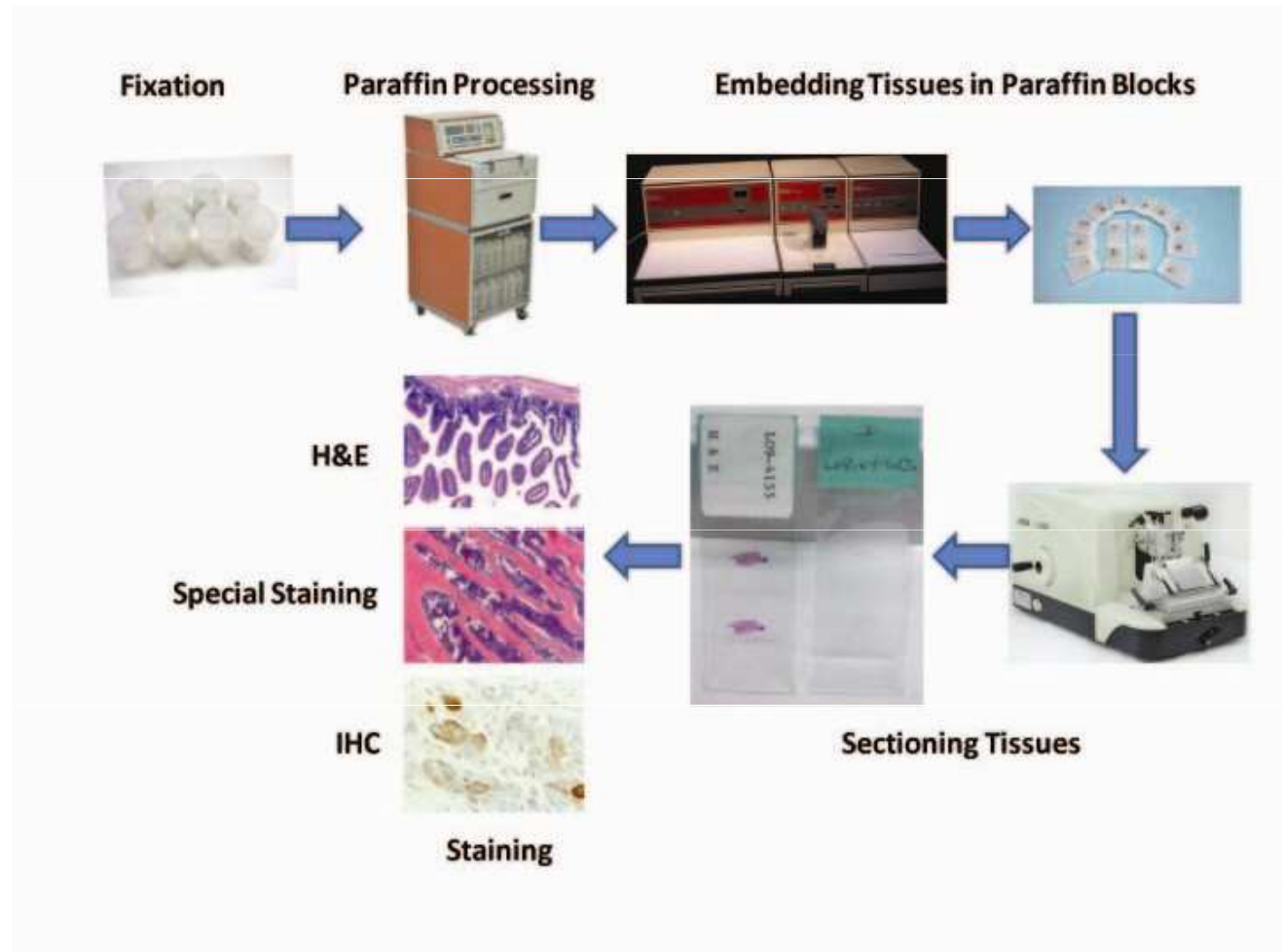
Pozitivní (hnědá reakce) průkaz neurofilament v dysmorfních neuronech

Imunohistochemie:

Detekce antigenů (proteinů) ve tkáňových řezech biopsií pomocí protilátek s vizualizací vazby (Ag/Ig)

Konvenční zpracování tkání formol-parafinovou technikou (FFPE):

- Fixace formalínem (24 h)
Dostatečné množství fixační tekutiny!
- Blokování/přikrojení tkání
- Tkáňový processing
- Zalití do parafinových bločků
- Krájení na mikrotomu
- Barvení
- Přikrytí krycím sklíčkem
- Preparát k hodnocení patologem



Biopsie zpracované nativně, nefixované, „na zmrzlo“

- **Peroperační biopsie**

Pro rychlé kryostatové vyšetření během operace, do 20 minut výsledek rozhodující pro další postup/rozsah operace (např. vyšetření resekčních linií, charakteru léze (benigní vs maligní, nádor vs nenádorová léze,...))

- **Biopsie pro enzymovou histochemii (např. dg. deficitů disacharidáz)**

- **Biopsie pro imunofluorescenční vyšetření**

- **Svalové biopsie**

+ vyšetření ultrastrukturální/elektronmikroskopické

(fixace glutaraldehydem; v dg. glomerulopatii, nervosvalových onemocnění, v dermatopatologii)

Cytologie

— jednotlivé bb. rozetřené na podložním skle —



ztráta kontinuity tkáně

(většinou nelze posoudit architektoniku léze ⇒ **dg. méně přesná**, někdy jen orientační; negativní cytologie neznamená absenci malignity!!!)



většinou jako

prebioptické vyšetření

Typy cytologických vyšetření

Exfoliativní cytologie
(stěr, otisky)

SLIZNIČNÍ POVRCHY

- čípek
- GIT (jícen, žlučovody)
- bronchy
- ...kůže...

FNAC
(aspirace)

Z ČÁSTEČNĚ CYSTICKÝCH LÉZÍ

- ŠŽ
- mamma
- LU
- cysty...

Tělní tekutiny
(punkce, laváž)

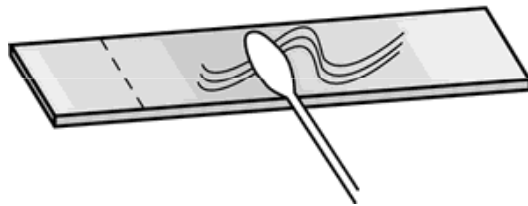
VOLNÁ TEKUTINA

- peritoneum, pleura,
perikard
- likvor
- klouby
- moč
- BAL
- ...sputum...

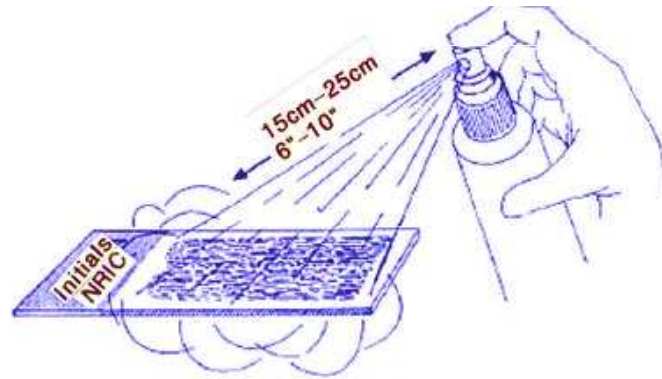
EXFOLIATIVNÍ CYTOLOGIE



1. bb. jsou odloupnuty /seškrábnuty /
setřeny z epiteliálního povrchu



2. materiál **natřen** na *označené*
podložní sklíčko

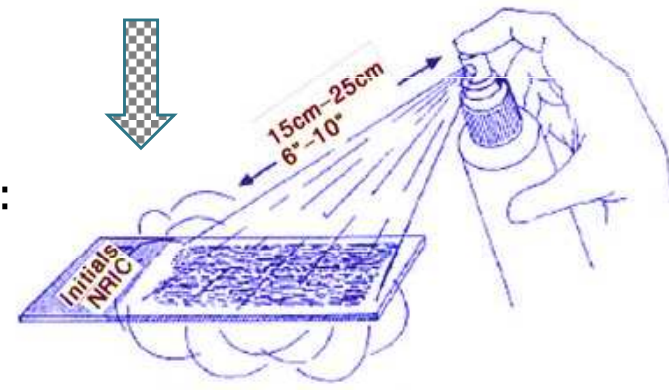


3. nátěr **fixován** 95%
alkoholem nebo
zaschnutím na vzduchu

Fine Needle Aspiration Cytology



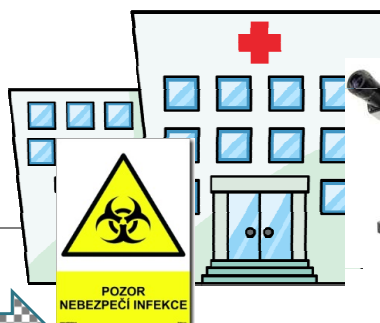
1. bb. jsou aspirovány tenkou jehlou (pod zrakovou / UZV kontrolou)
2. kapka na podložní sklíčko → dalším podložním sklíčkem kapka rozetřena (kolik kapek, tolik nátěrů)
3. nátěr **fixován** 95% alkoholem nebo *zaschnutím na vzduchu* (dle zvyklostí: např. ½ skel alkoholem, ½ na vzduchu)



Punkce / laváž tělních tekutin



ORDINACE
v růžové zahradě



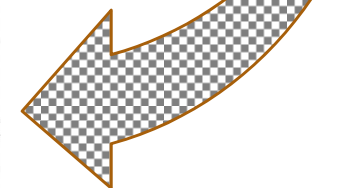
odběr cytologického materiálu

- **nátěry** na podložní skla (+ fixace)
- **tekutý materiál** (stříkačky, zkumavky, sputovky...)

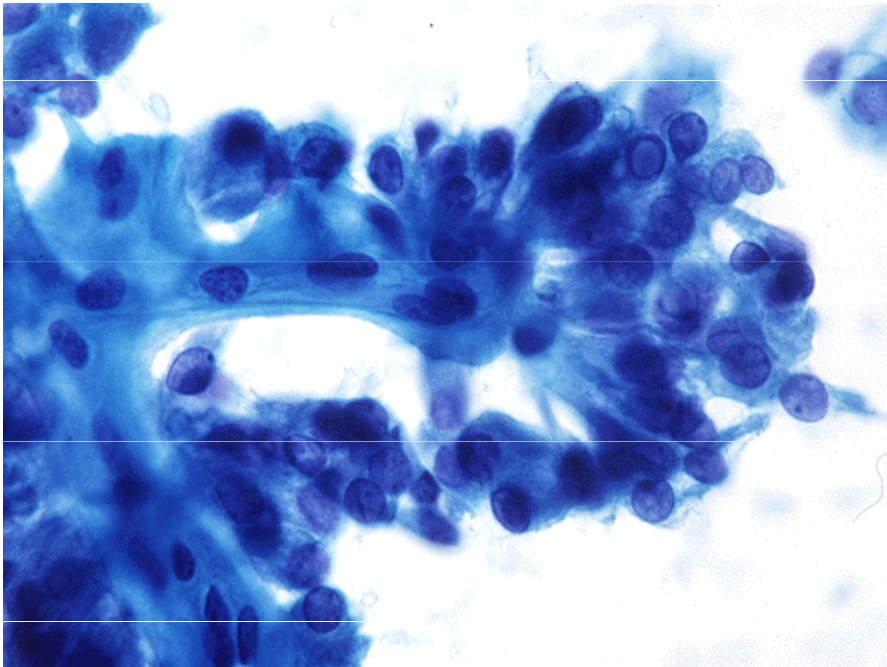
v laboratoři:

- zhotovení cytobloku, nátěrů po centrifugaci
- **barvení**
- montování pod krycí sklíčko/fólii

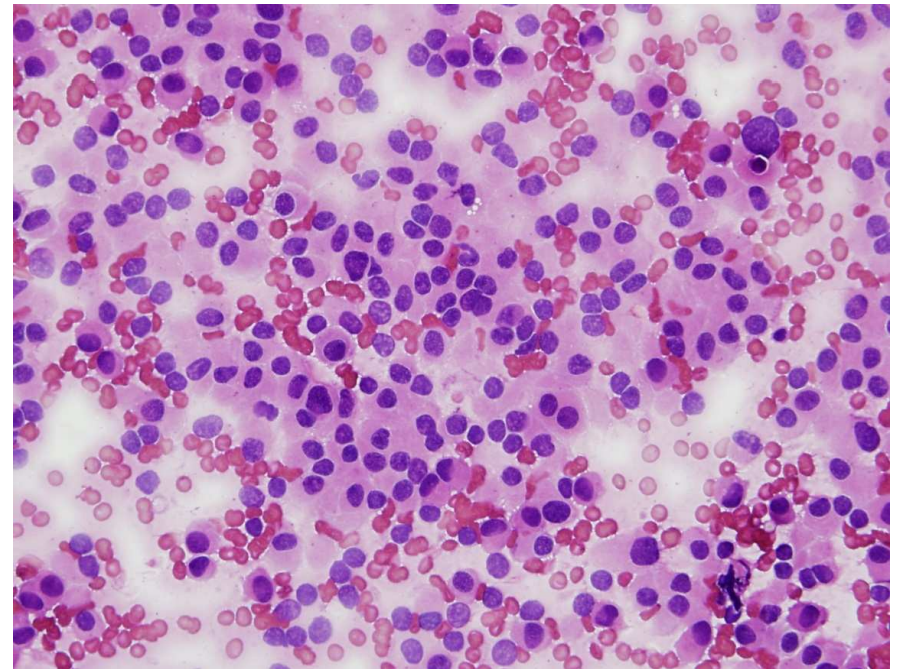
vyhodnocení
nálezu cytologem-
patologem



papilární CA štítné žlázy



Neuroendokrinní tumor pankreatu



Imunohistochemická (IHC) a imunofluorescenční vyšetření (IMF)

- histologická metody, při níž se ve vyšetřovaném vzorku tkáně prokazuje přítomnost určitých antigenů pomocí specifických protilátek s navázanými chemickými sloučeninami (např. enzymem (enzymatická reakce se substrátem výsledné barevné reakce) či fluorochromem), které umožňují jejich průkaz (= průkaz vazby Ag/ Ig)

- **Význam imunohistochemie:**

- **Diagnostický**

(př. při typizaci nádorových onemocnění na základě imunofenotypu – exprese sledovaných markerů, typizace jednotlivých nádorových typů, diagnostika lymfomů)

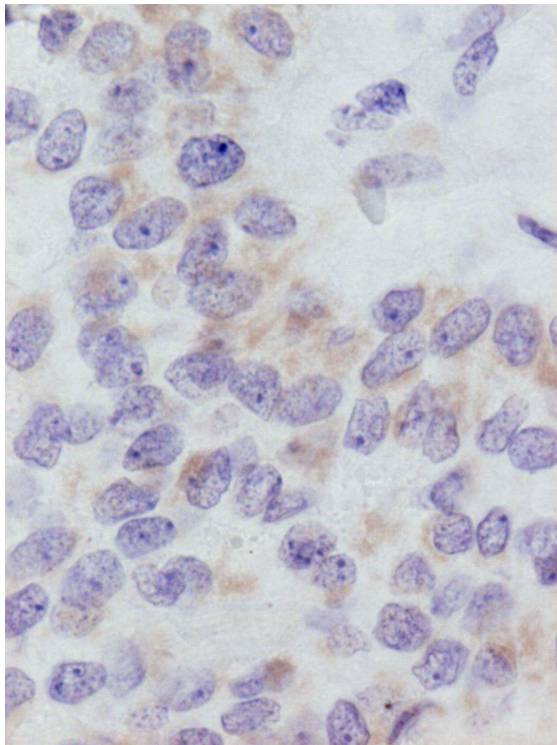
- **Prognostický**

(predikce prognózy, př. lepší prognóza karcinomů mammy s pozitivní expresí steroidních receptorů (ER, PR))

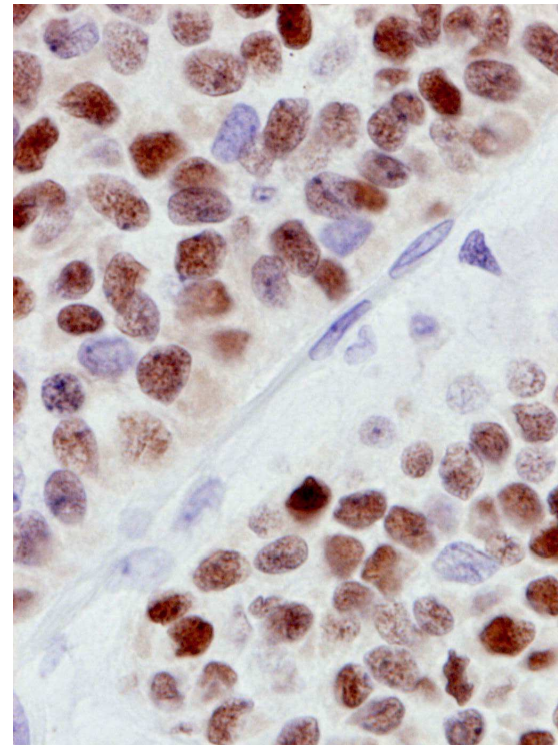
- **Prediktivní**

(predikce odpovědi na terapii, př. vyšetření exprese steroidních receptorů u karcinomu mammy v predikci odpovědi na hormonální terapii)

př. IHC: Exprese steroidních receptorů

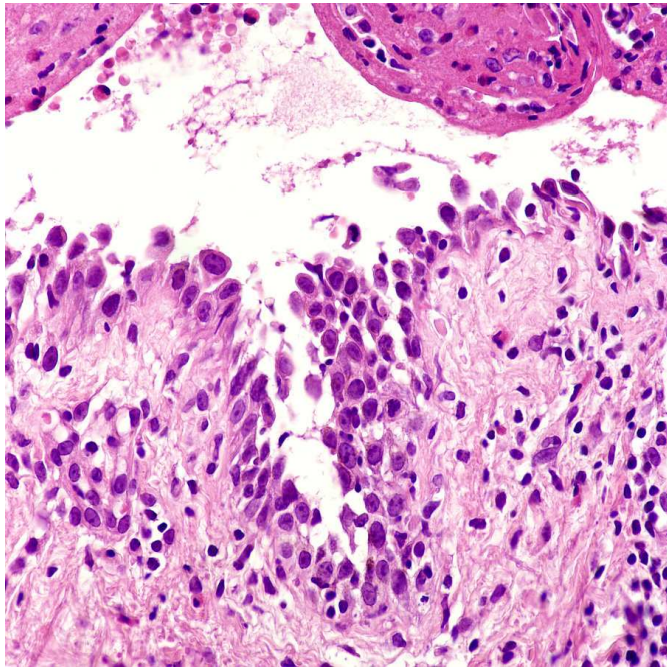


negativní

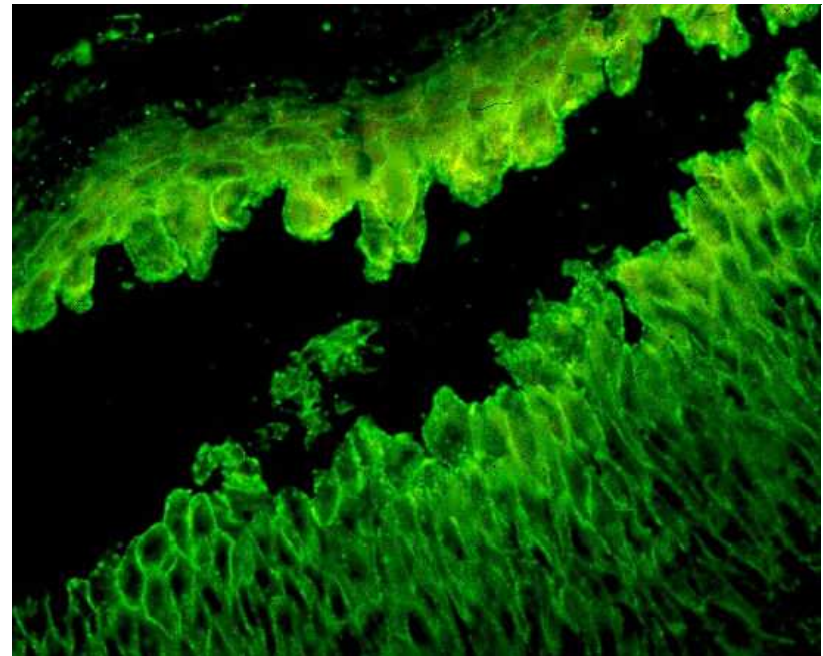


pozitivní

př. IMF: Pemphigus vulgaris



Suprabazálně akantolýza, akantolytický puchýř



IgG imunopositivita mezi keratinocyty

Molekulárně genetické metody

- **In situ hybridizace** (detekce amplifikací, delecí, translokací,...)
- **PCR metodiky, sekvenace**

Význam: diagnostický, prediktivní a prognostický

U řady nádorových typů molekulární klasifikace, molekulárně genetická vyšetření povinnou součástí diagnostického protokolu (např. tzv. integrovaná diagnostika gliomů, kolorektální karcinom (CRC),....).

Morfologická diagnóza – typizace nádoru je pouze jednou složkou diagnózy.

WHO klasifikace gliomů 2016

Nový diagnostický přístup → Integrovaná diagnóza:

kombinace histologických znaků a molekulárních informací (fenotyp + genotyp)

Histopatologická diagnóza/histopatologický typing tumoru

- astrocytární, oligodendroglíální, oligoastrocytární, glioneuronální
- histopatologické vyšetřovací metody (přehledná a speciální barvení, histochemie, imunohistochemie)

Histopatologický grading (WHO grade)

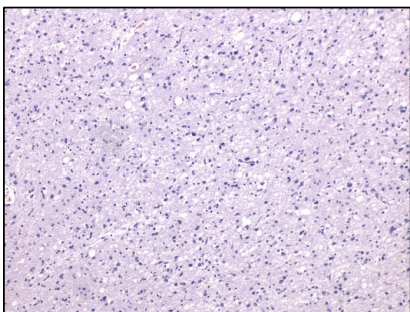
- hodnocení stupně malignity

Molekulární informace

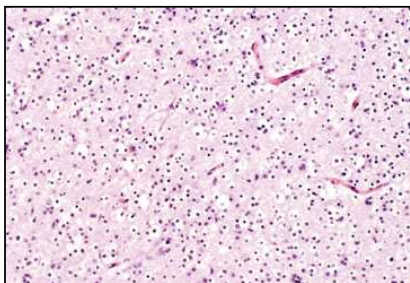
→ detailnější klasifikace zejména gliomů a embryonálních nádorů CNS

Fenotypizace gliových tumorů

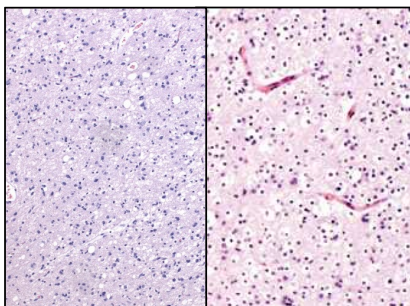
Astrocytární



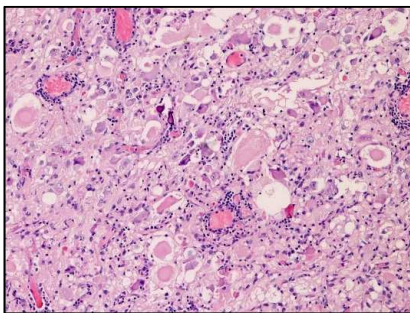
Oligodendroglíální



Oligoastrocytární

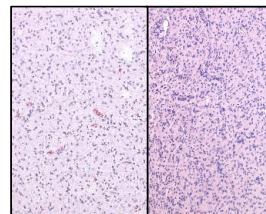


Glioneuronální

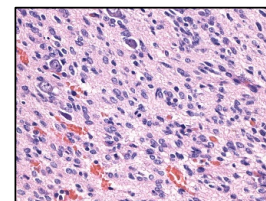


Grading gliových tumorů

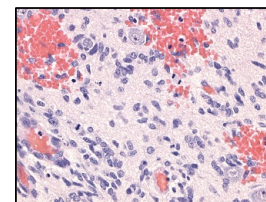
Buněčnost



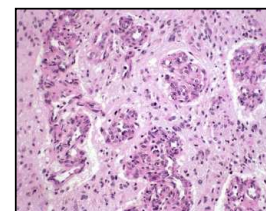
Cytonukleární atypie



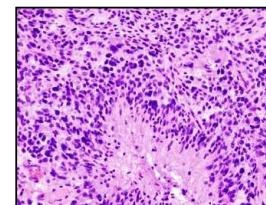
Mitózy



Mikrovaskulární proliferáty

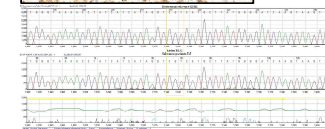
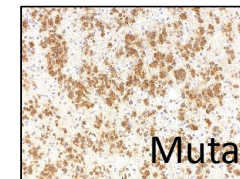


Nekrózy

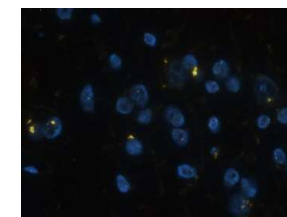


Genotyp gliových tumorů

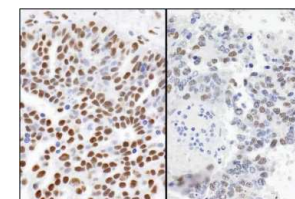
Mutace IDH1, IDH2



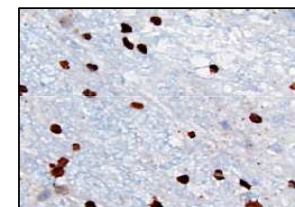
Kodelece 1p/19q



Mutace ATRX



Mutace H3K27M



Integrovaná diagnóza... proč?

Nádory podobné morfologie zahrnují heterogenní jednotky se zcela odlišnou molekulární patogenezi, biologickým chováním, reakcí na terapii i prognózou

Snížení interobserver i intraobserver variability, zvýšení reprodukovatelnosti

Zlepšení predikce prognózy a odpovědi na terapii

Informace pro individualizovanou terapii

Nalezení vhodných cílů pro cílenou léčbu na základě studia homogenních skupin dobře definovaných nádorů

pr. v praxi využívané molekulární biomarkery CRC

RAS mutační analýza

- Prediktivní a prognostický význam
- KRAS a NRAS kodony 12,13 exonu 2; 59,60 a 61 exonu 3; 117 a 146 exonu 4

BRAF mutační analýza

- Prognostická stratifikace
- (Prediktivní význam)

MMR status

- IHC (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2)
- Vyšetření mikrosatelitové nestability 5 mononukleotidových a 3 dinukleotidových repetičí
- Mutace v kódujících oblastech MMR genů
- Metylace promotorů MMR genů

Table 1. Summary of Molecular Biomarkers Associated With Targeted Therapies

Marker	Prevalence	Prognostic Value	Nonmetastatic Settings		Metastatic Settings	
			Predictive Value		Predictive Value	
			Agents	Effect	Agents	Effect
MSI/MMR alterations (indicating mutated genes)	15% to 20%[4]	Mortality HR, 0.25–0.48[9]	5-FU (lack of response to treatment)	RFS HR, 0.77[73]	5-FU (lack of response)	HR for response, 0.82[11]; HR for death, 0.72[10]
					Pembrolizumab (increased response to treatment)	ORR: 40%[12]
KRAS/NRAS (mutated)	49.3%[26]	Worse prognosis	N/A	N/A	Anti-EGFR therapy (lack of response to treatment)	PFS: HR, 2.19 for KRAS; HR, 2.30 for NRAS[29]
BRAF (mutated)	8.8%[26]	Worse prognosis	N/A	N/A	Anti-EGFR therapy (lack of response to treatment)	PFS: HR, 2.95[29]

Studium patologie

- **Obecná patologie**

Studium mechanismů a charakteristik hlavních typů patologických procesů (záněty, nádory, regresivní změny,...)

- **Systémová patologie**

Studium specifických nemocí jednotlivých orgánových systémů (GIT, respirační trakt, kardiovaskulární systém,..)

- **Orální patologie**

Doporučená literatura



- učebnice orální patologie není nutná
- příprava z přednášek

+ povinně materiály z přednášek z patologie a orální patologie
+ prezentace z praktických cvičení

Kontakty na vyučující:

Patologie:

prof. MUDr. Markéta Hermanová, Ph.D. marketa.hermanova@fnusa.cz

prim. MUDr. Iva Zambo, Ph.D. iva.zambo@fnusa.cz

MUDr. Sylva Hotárková sylva.hotarkova@fnusa.cz

MUDr. Lukáš Velecký lukas.velecky@fnusa.cz

MUDr. Michaela Rýznarová michaela.ryznarova@fnusa.cz

MUDr. Soňa Mravcová sona.mravcova@fnusa.cz

Orální patologie:

prof. MUDr. Markéta Hermanová, Ph.D. marketa.hermanova@fnusa.cz

MUDr. Víta Žampachová vita.zampachova@fnusa.cz

MUDr. Tetiana Shatokhina tetiana.shatokhina@fnusa.cz

Děkuji za pozornost....

