

# **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

---

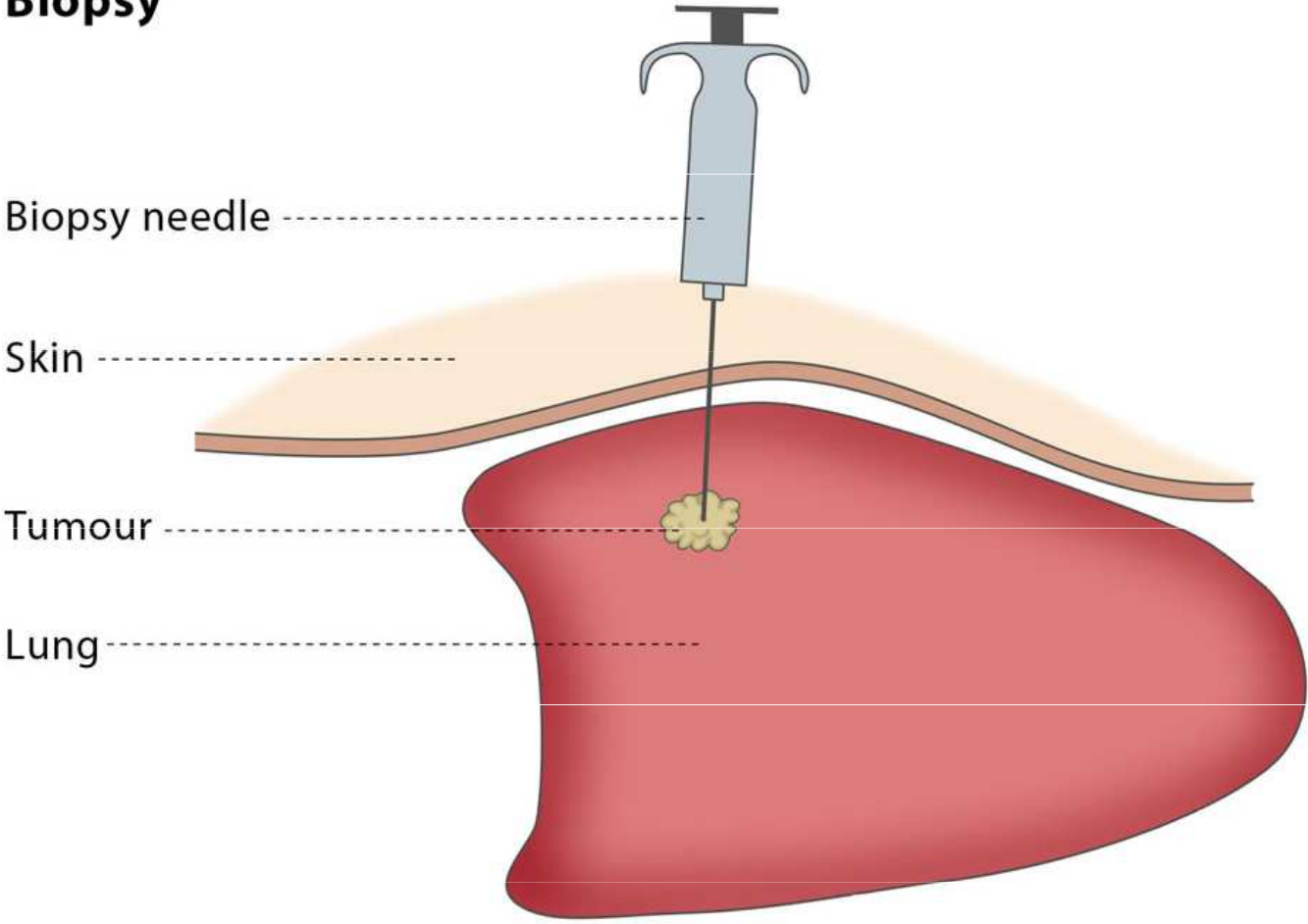
## ▪ Otevřená (operační)

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

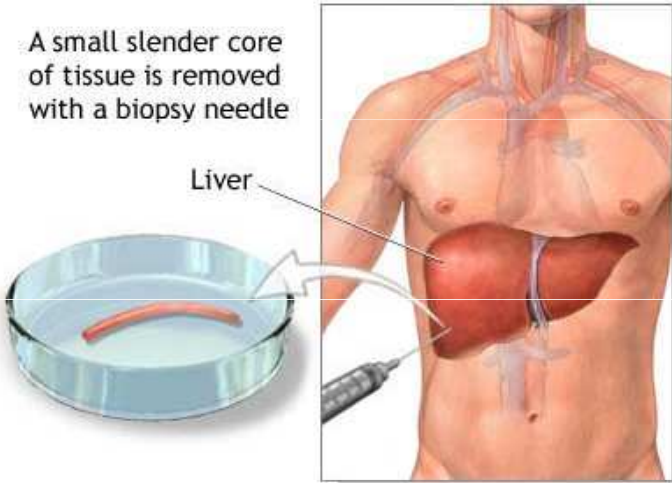
## ▪ Uzavřená

- ✓ 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**



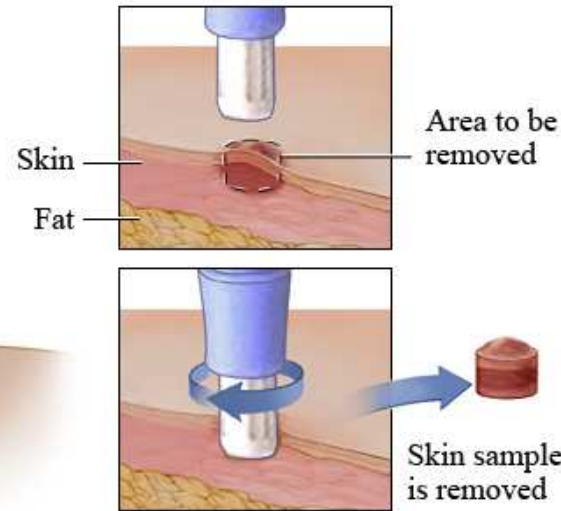
A small slender core of tissue is removed with a biopsy needle



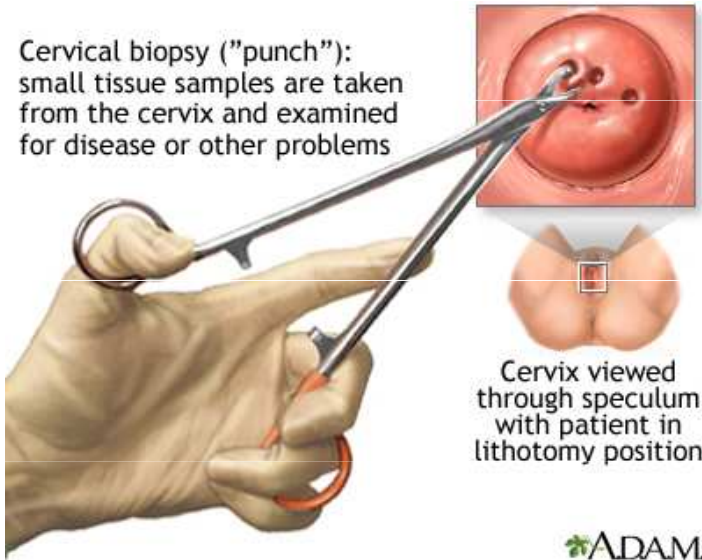
ADAM.



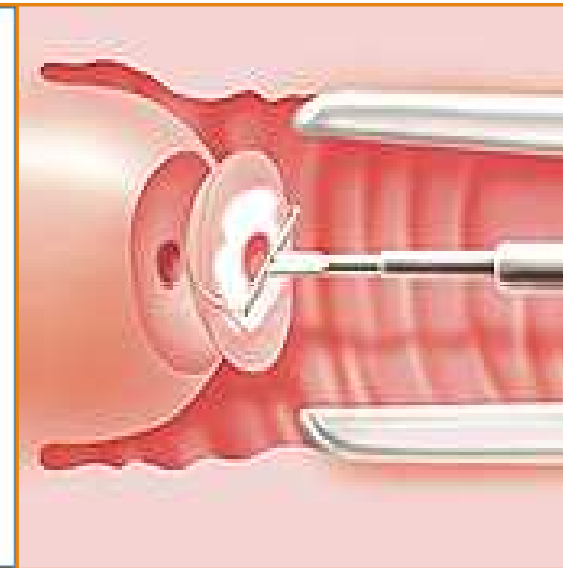
© Healthwise, Incorporated.



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



ADAM.



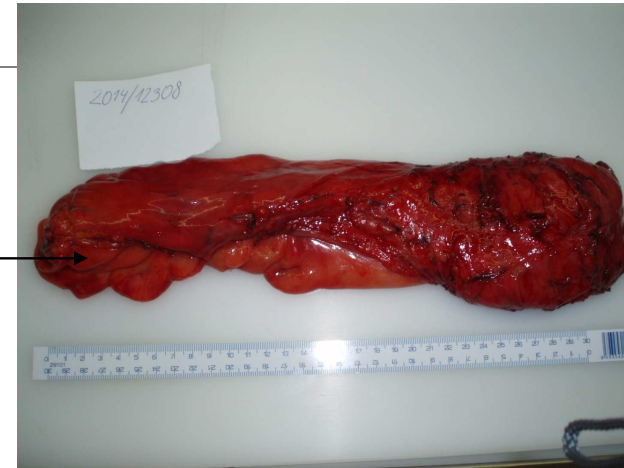


# Makroskopické hodnocení resekátu

## Totální mezorektální excize – resekce rekta



Nativně  
Ventrální pohled  
Dorzální pohled



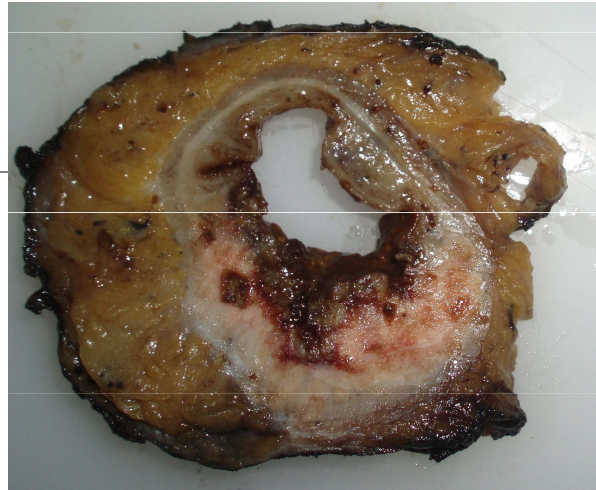
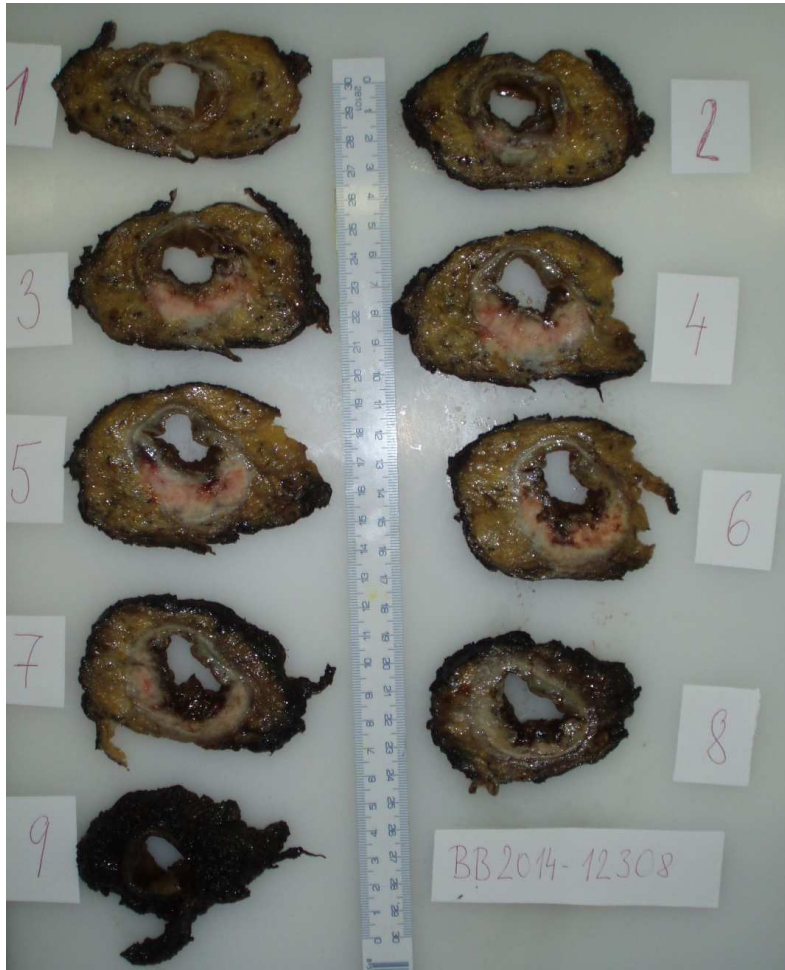
Po fixaci a označení neperitonealizovaných úseků tuší

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

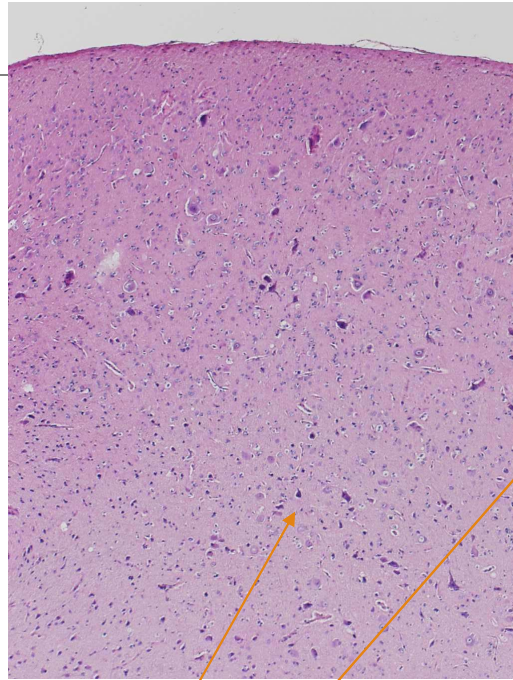
Imunohistochemie (IHC) a imunofluorescence

Elektronová mikroskopie

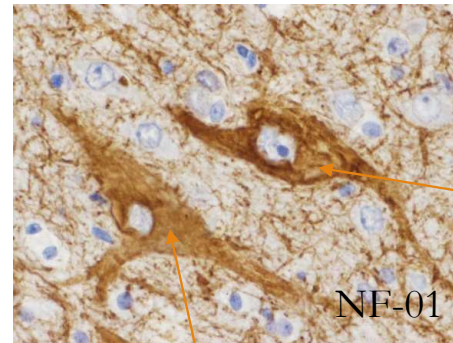
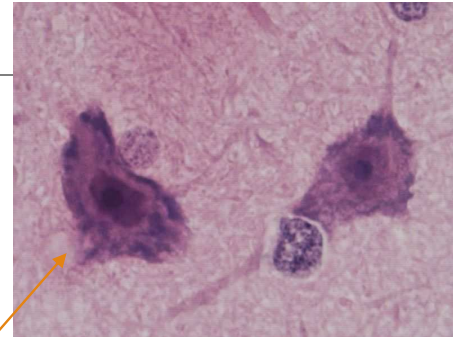
Molekulární patologie a genetika



## Př. Fokální kortikální dysplazie: histopatologické vyšetření molformovaného kortexu



Přehledné barvení: hematoxylin-eosin



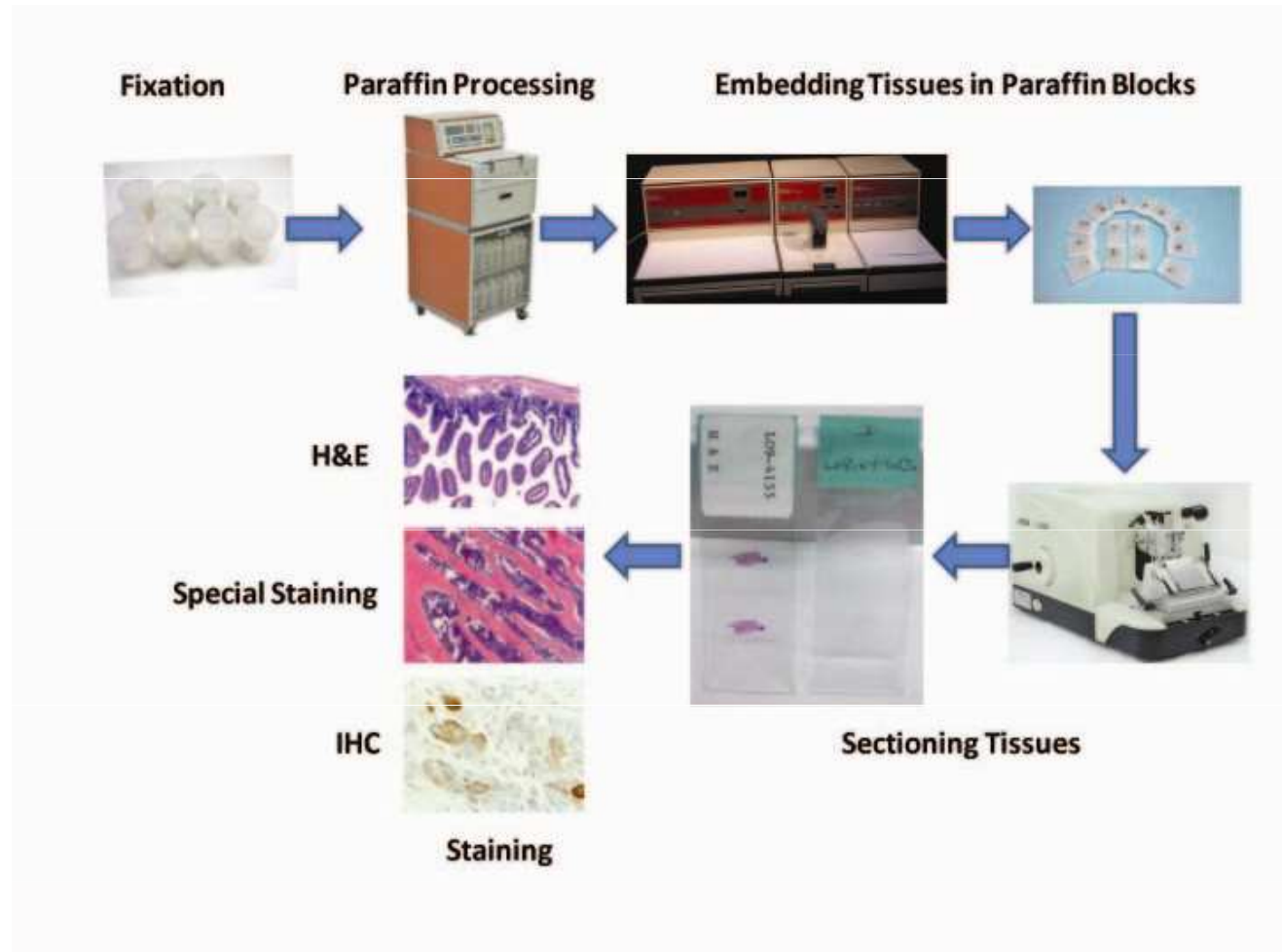
Pozitivní (hnědá reakce) průkaz neurofilament v dysmorfních neuronech

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)

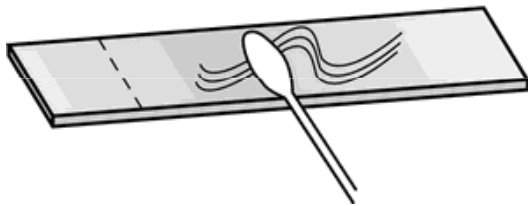
## VOLNÁ TEKUTINA

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

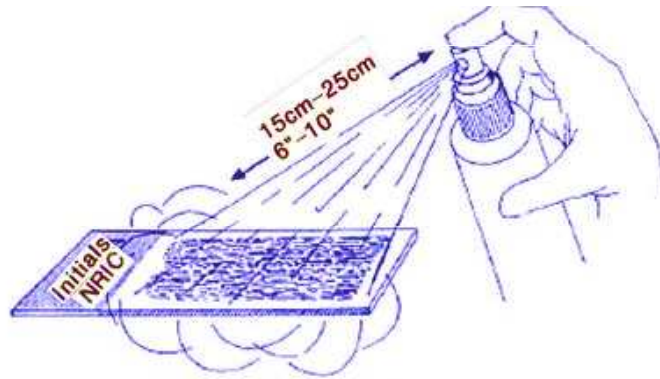
# EXFOLIATIVNÍ CYTOLOGIE



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



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

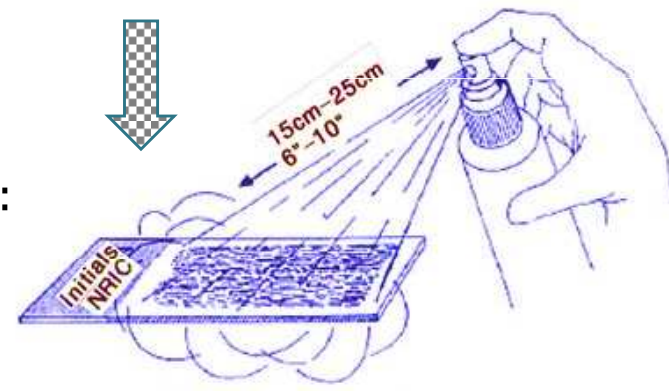


3. nátěr **fixován** 95%  
*alkoholem* nebo  
*zaschnutím na vzduchu*

# Fine Needle Aspiration Cytology



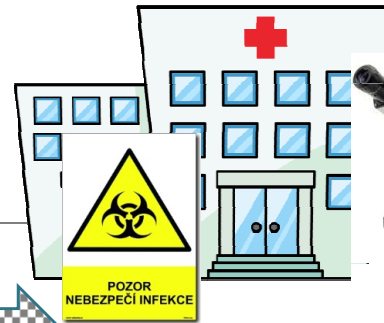
1. bb. jsou aspirovány tenkou jehlou (pod zrkovou / UZV kontrolou)
2. kapka na podložní sklíčko → dalším podložním sklíčkem kapka rozetřena (kolik kapek, tolik nátěrů)
3. nátěr **fixován** 95% alkoholem nebo *zaschnutím na vzduchu* (dle zvyklostí: např. ½ skel alkoholem, ½ na vzduchu)



# Punkce / laváž tělních tekutin



**ORDINACE**  
v růžové zahradě



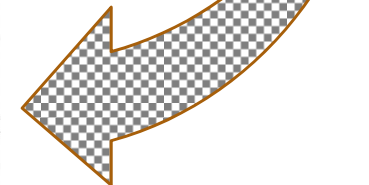
### odběr cytologického materiálu

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

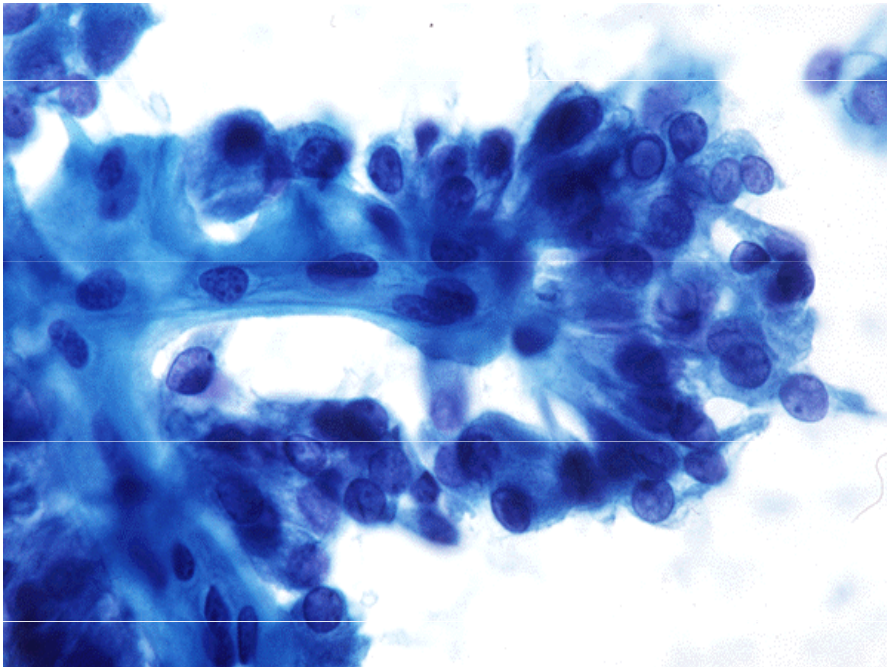
### v laboratoři:

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

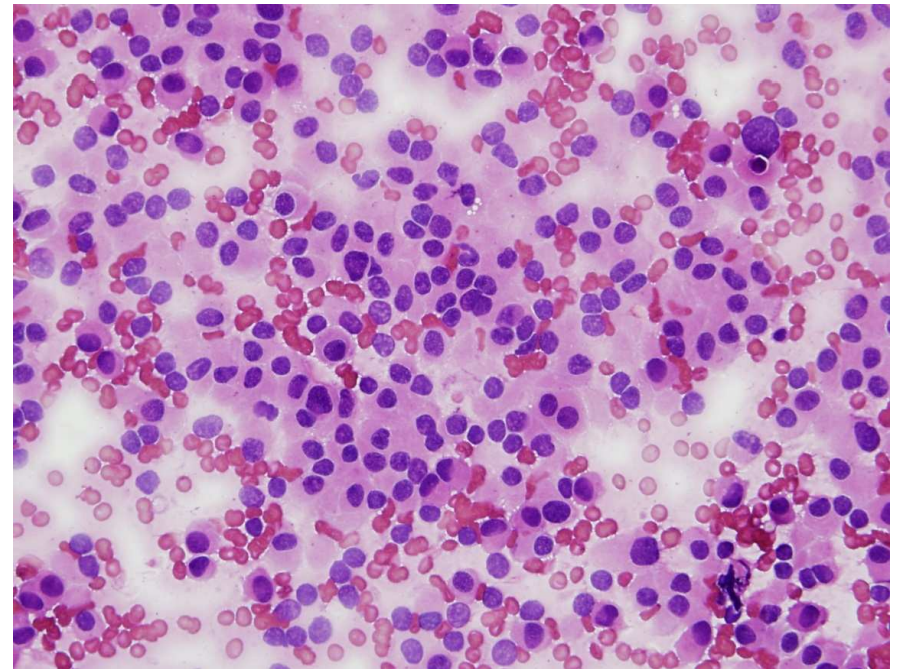
vyhodnocení  
nálezu cytologem-  
patologem



**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**

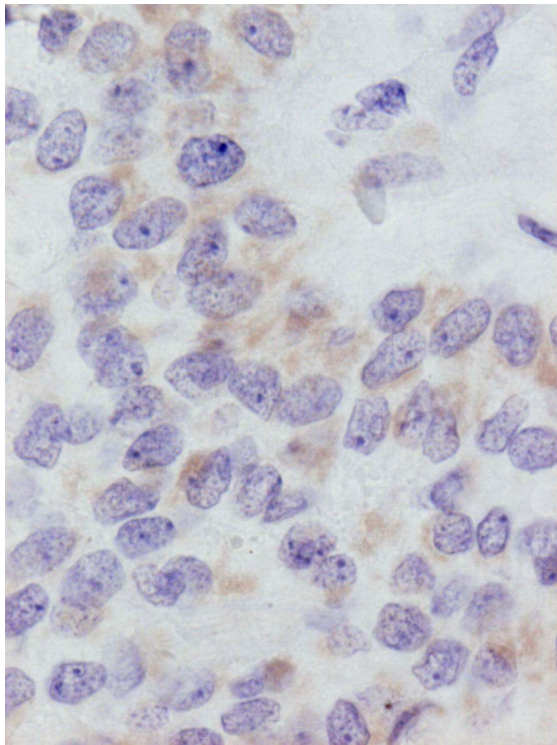
- (predikce prognózy, př. lepší prognóza karcinomů mammy s pozitivní expresí steroidních receptorů (ER, PR))

- **Prediktivní**

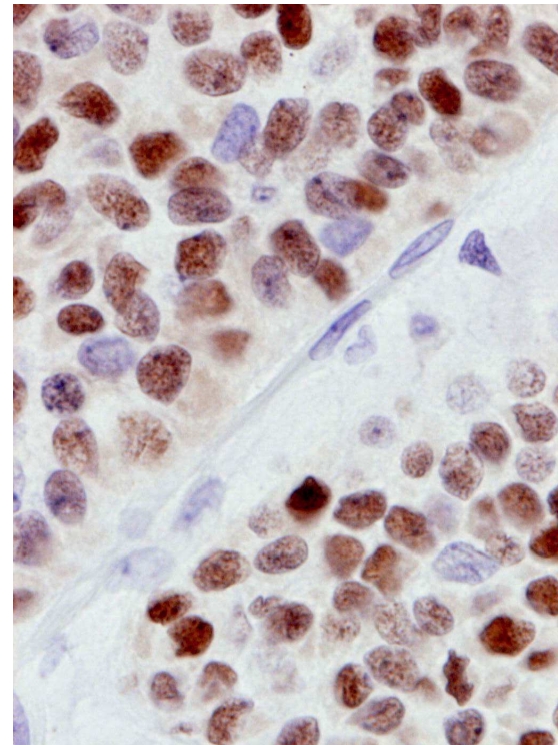
- (predikce odpovědi na terapii, př. vyšetření exprese steroidních receptorů u karcinomu mammy v predikci odpovědi na hormonální terapii)

# př. IHC: Exprese steroidních receptorů

---



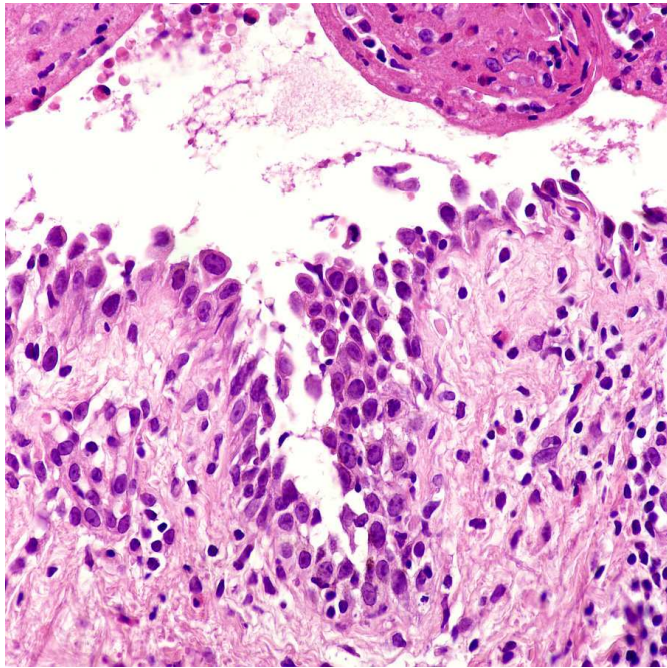
negativní



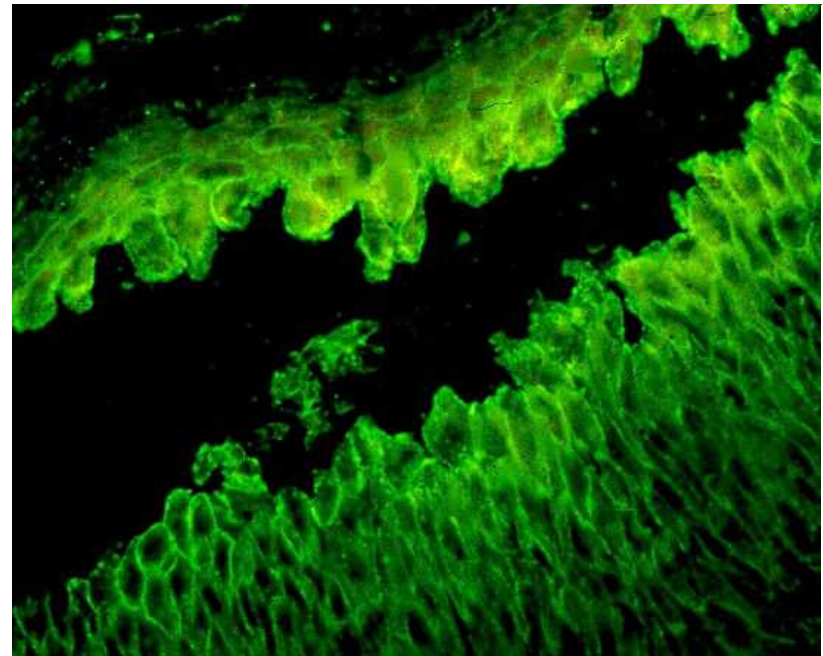
pozitivní



# 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)

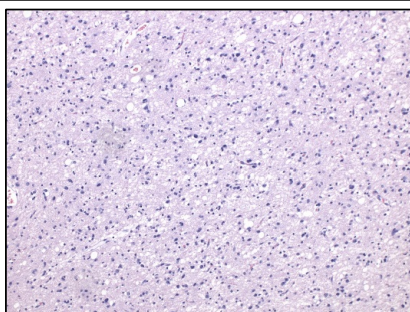
- hodnocení stupně malignity

**Molekulární informace**

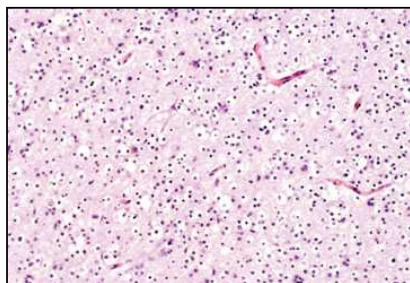
→ detailnější klasifikace zejména gliomů a embryonálních nádorů CNS

Fenotypizace gliových tumorů

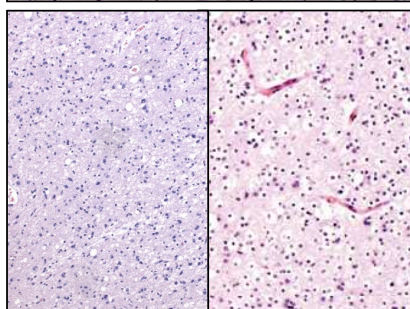
Astrocytární



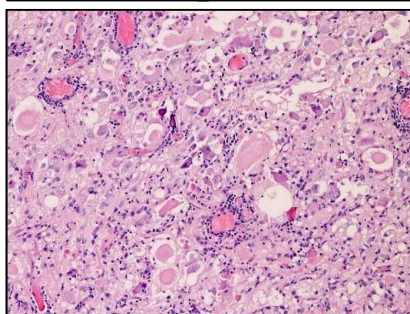
Oligodendroglíální



Oligoastrocytární

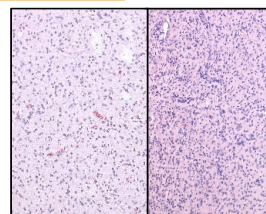


Glioneuronální

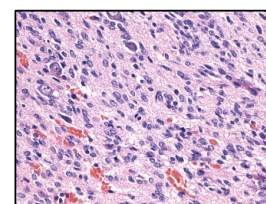


Grading gliových tumorů

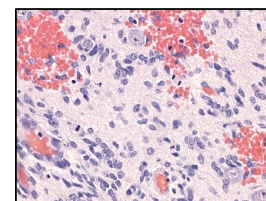
Buněčnost



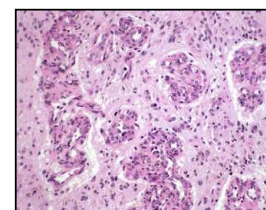
Cytonukleární atypie



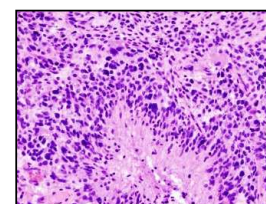
Mitózy



Mikrovaskulární proliferáty

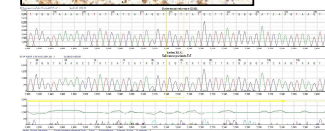
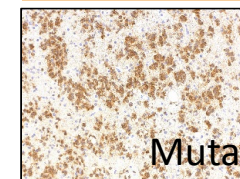


Nekrózy

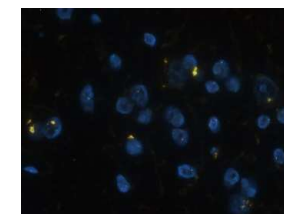


Genotyp gliových tumorů

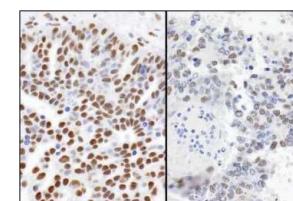
Mutace IDH1, IDH2



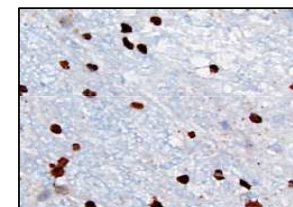
Kodelece 1p/19q



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**

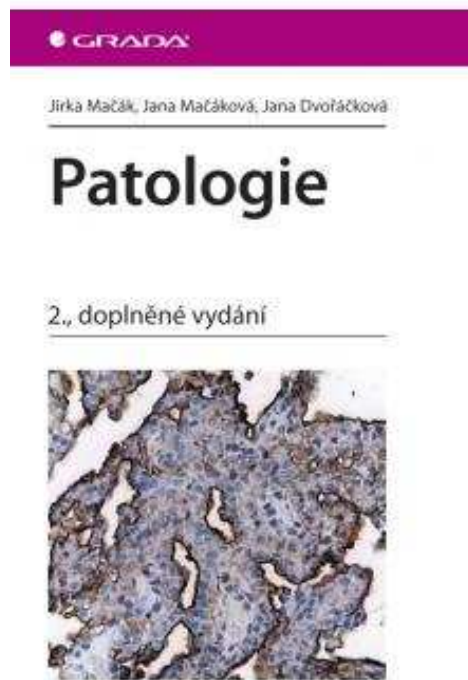
Studium mechanismů a charakteristik hlavních typů patologických procesů (záněty, nádory, regresivní změny,...)

- **Systémová patologie**

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

- **Orální patologie**

# Doporučená literatura

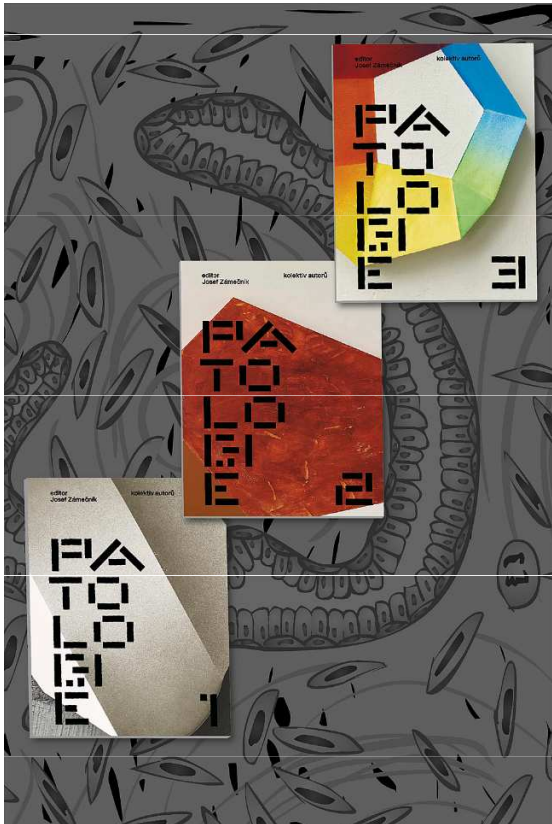


- učebnice orální patologie není nutná
- příprava z přednášek

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



# Nová učebnice patologie



- Třísvazková učebnice patologie pro studenty medicínských oborů.
- Učebnice je rozdělena do tří svazků (prodejná je pouze jako celek).
- Součástí každé knihy je heslo pro přístup do online galerie.
- Doplnková literatura pro studenty ZL

# Kontakty na vyučující:

---

## Patologie:

prof. MUDr. Markéta Hermanová, Ph.D. [marketa.hermanova@fnusa.cz](mailto:marketa.hermanova@fnusa.cz)

prim. MUDr. Iva Zambo, Ph.D. [iva.zambo@fnusa.cz](mailto:iva.zambo@fnusa.cz)

MUDr. Sylva Hotárková [sylva.hotarkova@fnusa.cz](mailto:sylva.hotarkova@fnusa.cz)

MUDr. Lukáš Velecký [lukas.velecky@fnusa.cz](mailto:lukas.velecky@fnusa.cz)

MUDr. Zdeněk Bednařík [zdenek.bednarik@fnusa.cz](mailto:zdenek.bednarik@fnusa.cz)

## Orální patologie:

prof. MUDr. Markéta Hermanová, Ph.D. [marketa.hermanova@fnusa.cz](mailto:marketa.hermanova@fnusa.cz)

MUDr. Víta Žampachová [vita.zampachova@fnusa.cz](mailto:vita.zampachova@fnusa.cz)

MUDr. Iva Svobodová [iva.svobodova@fnusa.cz](mailto:iva.svobodova@fnusa.cz)

---

*Děkuji za pozornost....*

