

## ĆWICZENIE 1 cz. A

### Przegląd metod patomorfologicznych stosowanych w diagnostyce klinicznej. Zasady współpracy patomorfologa z lekarzem klinicznym.

Patomorfologia kliniczna jest specjalnością, której zadaniem jest dostarczenie informacji o istocie procesu chorobowego na podstawie wyglądu morfologicznego zmienionych narządów, tkanek i komórek. Uznaje się, że dla większości jednostek chorobowych rozpoznania patomorfologiczne są najbardziej wiążące w całym procesie diagnostycznym i są obciążone - w porównaniu z innymi metodami - małą liczbą błędów diagnostycznych. Z tego powodu wynik badania patomorfologicznego często weryfikuje rezultaty całego postępowania diagnostycznego. Postępowanie z materiałem do badania patomorfologicznego musi być nacechowane szczególną odpowiedzialnością, gdyż - w odróżnieniu od np. badania krwi lub moczu - badania takiego zwykle nie można powtórzyć. Za błędy diagnostyczne wynikające z niewłaściwego postępowania wstępnego z materiałem przeznaczonym do badania patomorfologicznego, odpowiada lekarz kierujący.

Aby właściwie wykorzystać możliwości oferowane przez patomorfologię kliniczną, niezbędna jest znajomość wymogów i ograniczeń przy tego rodzaju badaniach.

Bieżące ćwiczenie ma charakter demonstracji, pokazującej niektóre z metod patomorfologii klinicznej.

### METODY OCENY I RODZAJE BADAŃ PATOMORFOLOGICZNYCH

Można je podzielić według niżej podanych kryteriów.

- Poziom oceny zmian chorobowych
  1. badanie całego ciała i jego narządów (badanie pośmiertne czyli sekcja naukowo-lekarska)
  2. badania tkanek w mikroskopie świetlnym
  3. badanie cytologiczne w mikroskopie świetlnym
  4. badania ultrastrukturalne
- Rodzaj materiału dostarczonego do badania
  1. Narząd
    - a/ preparat pooperacyjny
  2. Wycinek tkankowy
    - a/ pobrany podczas operacji chirurgicznej
    - b/ oligobiopsja (gr. *oligos* - skąpy) pobierana specjalnymi kleszczykami z powłok ciała, błon śluzowych, surowiczych, najczęściej podczas badań fiberoskopowych i z użyciem wzierników.
      - c/ biopsja gruboigłowa pobierana przezskórnie z narządów miękkich (wątroba, nerka) specjalną igłą o średnicy rzędu 1-2 mm, pozwalającej uzyskać wałeczek tkanki oraz biopsja wiertarkowa kości.
      - d/ wyskrobiny (strzępki tkankowe pobierane skrobaczką np. z jamy macicy, przetok, kości)
  3. Materiał cytologiczny
    - a/ biopsja aspiracyjna cienkoigłowa (zabieg podobny do zastrzyku, z użyciem typowej igły iniekcyjnej i strzykawki; nakłucie badanej tkanki oraz wytworzenie podciśnienia poprzez wsteczny ruch tłoka powoduje niewielką, miejscową traumatyzację, wystarczającą do uwolnienia niewielkich grup komórek aspirowanych do światła igły; z komórek tych sporządza się preparaty cytologiczne)
    - b/ cytologia złuszczeniowa
      - \* płyny z jam ciała i aspiraty (przy większej objętości płynu, w którym znajduje się złuszczonego materiału komórkowego, jest on zagęszczany przez delikatne wirowanie lub sedymentację)
      - \* rozmaz, szcztokowanie (materiał uzyskany z powierzchni zmiany lub

blony śluzowej, który jest bezpośrednio наносzony na szkiełko mikroskopowe)

#### 4. Badanie pośmiertne całego ciała (sekcja zwłok).

- Metody oceny zmian morfologicznych

1. badanie z użyciem mikroskopu świetlnego (badania tego typu stanowią olbrzymią większość ocen kliniczno-morfologicznych, wystarczająco wydolne dla rozpoznania ok. 95% przypadków).

a. badania tzw. rutynowe: histopatologiczne (technika parafinowa, barwienie hematoksyliną i eozyną, czas trwania 3-4 doby, w przypadku konieczności odwapnienia dłużej) oraz cytologiczne (czas trwania kilka godzin).

b. z użyciem barwień dodatkowych i odczynów histochemicznych (w praktyce najczęściej stosuje się barwienie mucikarminem w celu wykazania śluzu, impregnację włókien siateczkowych srebrem, odczyn paS /*periodic acid & Schiff*/ dla wykazania grup 1-2 glikolowych w węglowodanach i inne)

c. badanie śródoperacyjne (nie utrwalony materiał tkankowy jest zamrażany, krojony na mikrotomie i barwiony hematoksyliną i eozyną; czas oczekiwania na wynik 15-25 min., w celu ustalenia dalszego przebiegu operacji; gorsza w porównaniu z techniką parafinową jakość obrazu mikroskopowego nie zawsze pozwala ustalić szczegółowe rozpoznanie)

d. badanie immunocytochemiczne

2. opis makroskopowy zmian

3. oceny ilościowe i półilościowe szczególnie przydatne przy ocenie tzw. przypadków granicznych (np. czy zmiana jest jeszcze stanem przed nowotworowym czy już nowotworem). Badania te są żmudne i czasochłonne.

4. badania elektronowo-mikroskopowe

### **Ogólne zasady współpracy patologa z innymi specjalnościami klinicznymi.**

- Pełna informacja kliniczna

Skierowanie materiału tkankowego lub cytologicznego do badania musi być uzupełnione maksymalnie pełną informacją o pacjencie, dotychczasowych wynikach innych badań, hipotezach diagnostycznych, a wielu wypadkach stosowanym leczeniu (zwłaszcza: chemioterapii, hormonoterapii, radioterapii, antybiotykoterapii, leczeniu przeciwpadaczkowym). W przypadku badań tkanki chrzęstnokostnej niezbędne jest dostarczenie radiogramów. Do skierowania należy dołączyć także krótki opis makroskopowy zmiany i/lub obrazu śródoperacyjnego.

- Właściwe utrwalenie

Celem utrwalenia jest zapobieganie autolizie, najczęściej przez denaturację białka (stąd po utrwaleniu materiał jest jałowy i stwardniały). Standardowym utrwalczem dla tkanek jest 4% roztwór wodny aldehydu mrówkowego zbuforowany do pH = 7.2 (czyli 10% zbuforowana formalina), a materiału cytologicznego 70% roztwór alkoholu etylowego. W szczególnych rodzajach badań skład utrwalcza należy ustalić z patologiem. W przypadku badań śródoperacyjnych, materiał musi być dostarczany w soli fizjologicznej w ciągu kilkunastu minut.

Badany materiał należy niezwłocznie umieścić w utrwalczu (tzn. nie może być choćby minimalnie wysuszony). Szybkość penetracji 10% formaliny w tkance wynosi ok. 4 mm/dobę. W celu umożliwienia szybkiej penetracji większe narządy powinny być nacięte.

Ilość utrwalcza w naczyniu musi kilkukrotnie (5-8 razy) przewyższać objętość nadsyłanego materiału (utrwalcz „zużywa” się podczas utrwalania), a naczynie z badanym materiałem musi być na tyle duże, aby nie odkształcać przesyłanych narządów oraz powinno posiadać szeroki otwór umożliwiający swobodne wyjęcie stwardniałych po utrwaleniu tkanek

- Dokumentacja badania

Naczynie z badanym materiałem musi być szczelnie zamknięte oraz opatrzone trwałym opisem (sporządzanym np. na plastrze lub opatrzone kodem paskowym) i zawierającym nazwisko i imię chorego oraz miejsce pobrania materiału. Do badania należy dołączyć szczegółowo wypełnioną kartę skierowania.

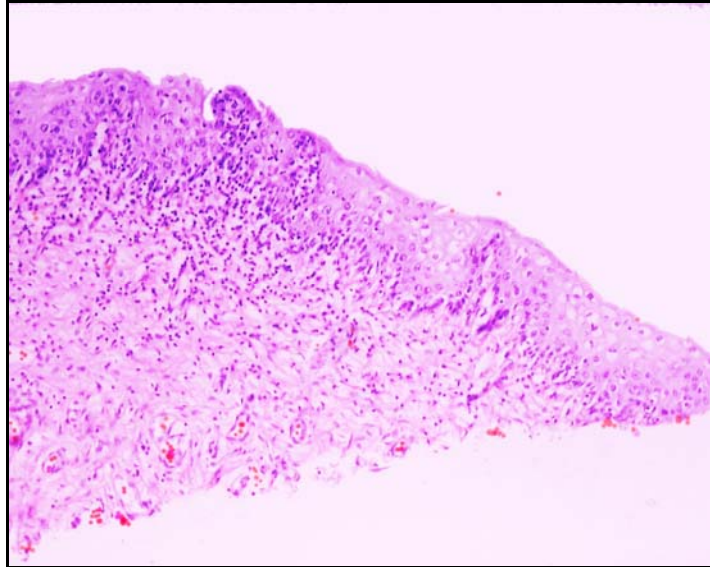
Innymi zagadnieniami z zakresu procedur diagnostycznych, które będą omawiane na zajęciach z patomorfologii (zwłaszcza na ćwiczeniach z patologii szczegółowej) i na które należy zwrócić uwagę podczas nauki są:

- **Optymalizacja („taktyka”) postępowania diagnostycznego z udziałem patomorfologa klinicznego;**
  - **Specjalne wymogi związane z niektórymi rodzajami badań i szczególnymi sytuacjami klinicznymi;**
  - **Formułowanie rozpoznań patomorfologicznych i klinicznych, dokładne rozumienie znaczenia stosowanych nazw.** Zagadnienia nozologiczne i taksonomiczne, czyli wybór klasyfikacji i kryteriów podziału schorzeń oraz sposób definiowania i rozumienia terminów diagnostycznych (nazw polskie, łacińskich i angielskich) są bardzo ważne dla porozumiewania się między lekarzami. Pamiętajmy jednak przy tym, że natura nie kieruje się naszymi podziałami, a zjawiska biologiczne są procesami ciągłymi a nie skokowymi (tak jak klasyfikacje). Klasyfikacje są jednak niezbędną „protezą” myślową, umożliwiającą zrozumienie złożoności procesów biologicznych i ich opis.
-

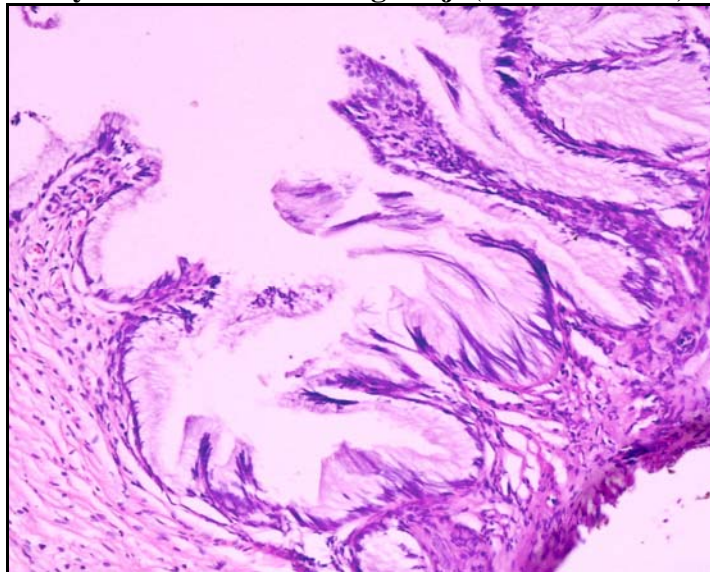
## PREPARATY DO DEMONSTRACJI I OMÓWIENIA

### 1. preparat pooperacyjny szyjki macicy pobrany skalpelem (barwienie H+E)

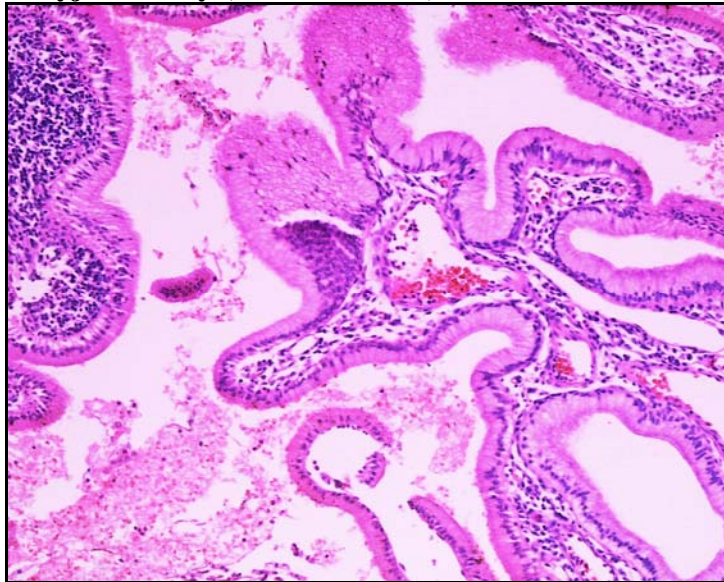
Brzeg odcięcia fragmentu części pochwowej szyjki macicy dokonanej skalpelem w czasie operacji plastycznej u 24 letniej kobiety z powodu urazu kanału szyjki (obraz zbliżony do normotypowego).



### 2. oligobiopsja szyjki macicy z cechami termokoagulacji (barwienie H+E)

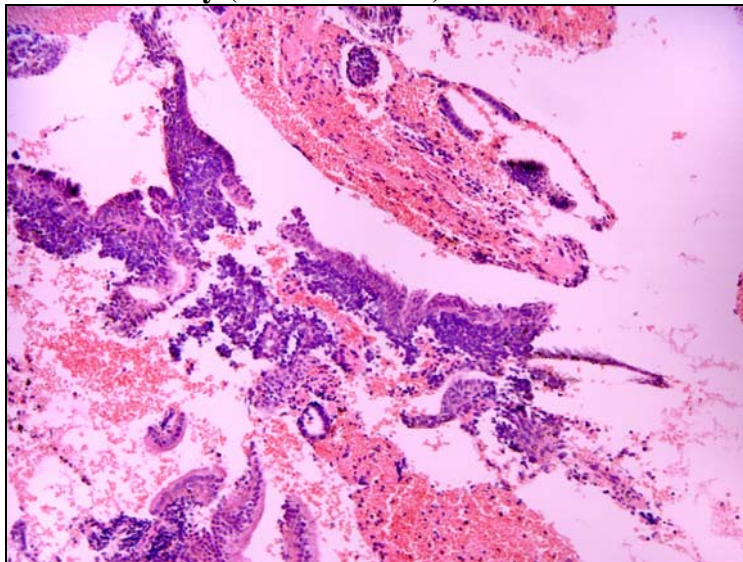


**3. wyskrobiny z kanału szyjki macicy (barwienie H+E)**

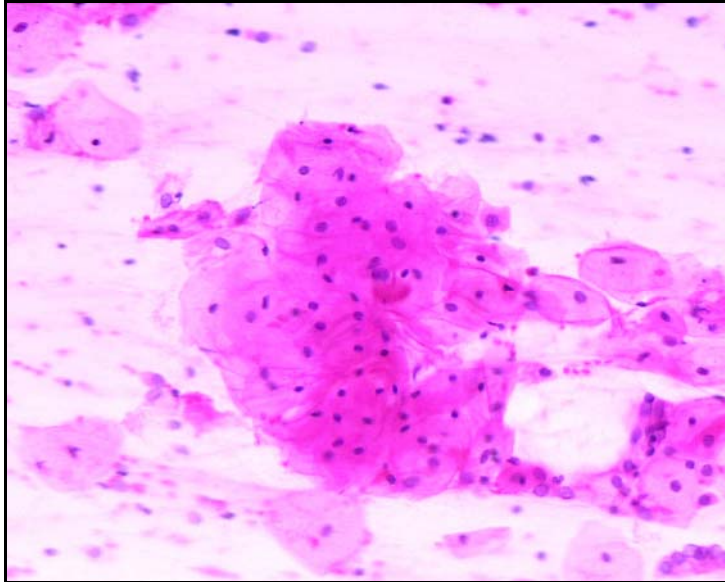


---

**4. skąpe wyskrobiny z trzonu macicy (barwienie H+E)**

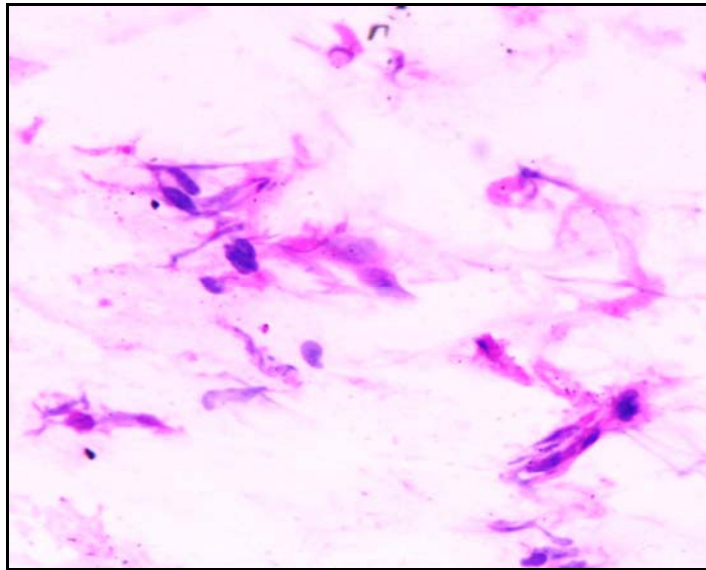


**5. poprawnie sporządzony preparat cytologiczny wymazu z szyjki macicy (barwienie H+E)**

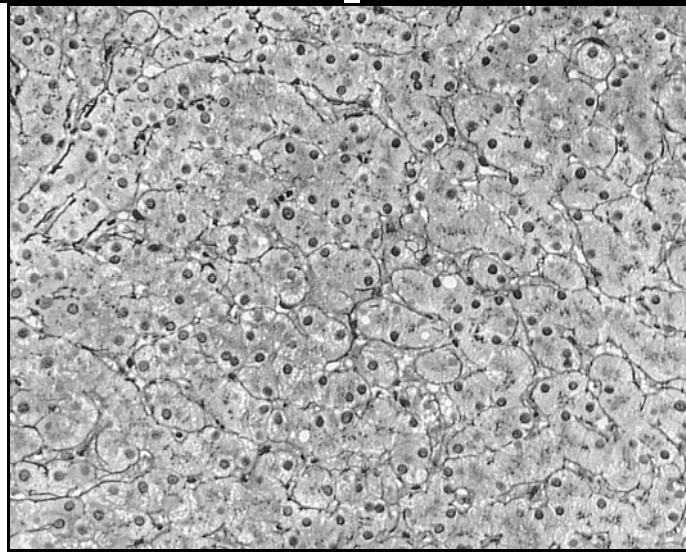
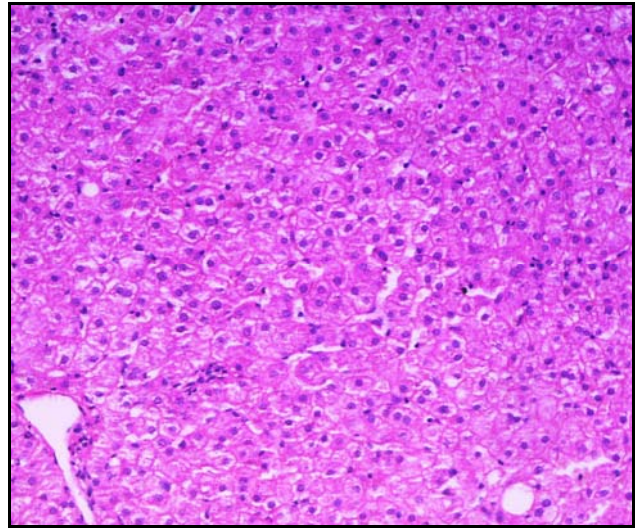
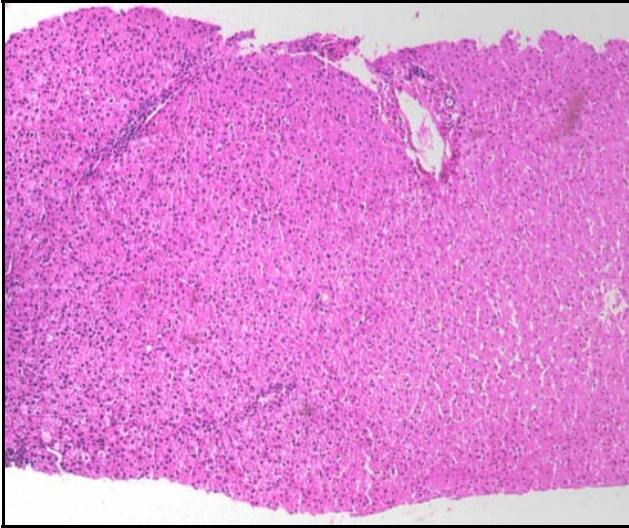


---

**6. skapy i źle utrwalony preparat cytologiczny z szyjki macicy (barwienie H+E)**



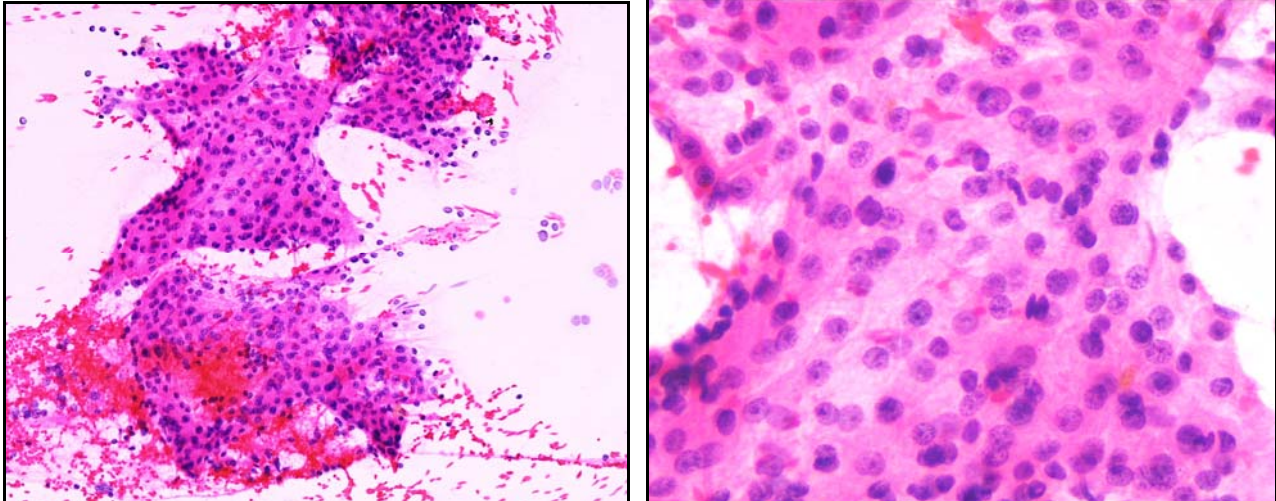
7. biopsja gruboigłowa z wątroby (barwienia H+E, paS, Ag)



### 8. biopsja cienkoigłowa z wątroby - normotypowy obraz cytologiczny (barwienie H+E)

Preparaty cytologiczne pobrane metodą aspiracyjną pod kontrolą USG (dr K. Bielnik) z wątroby 64-letniej kobiety, ze zmiany o niejasnym obrazie ultrasonograficznym, o charakterze nieostro odgraniczonego guza hiperechogenicznego średnicy 3 cm. Przy nakłuciu zmiany (igła nr 7), brak wyczuwalnego oporu. Obraz cytologiczny preparatu zbliżony do normotypowego dla wątroby, nie pozwala na potwierdzenie podejrzenia zmiany nowotworowej.

**(Uwaga:** biopsję aspiracyjną cienkoigłową powinien wykonywać lekarz-patomorfolog – zastanów się dlaczego)



#### Zwóć uwagę na:

Pod małym powiększeniem (100 x):

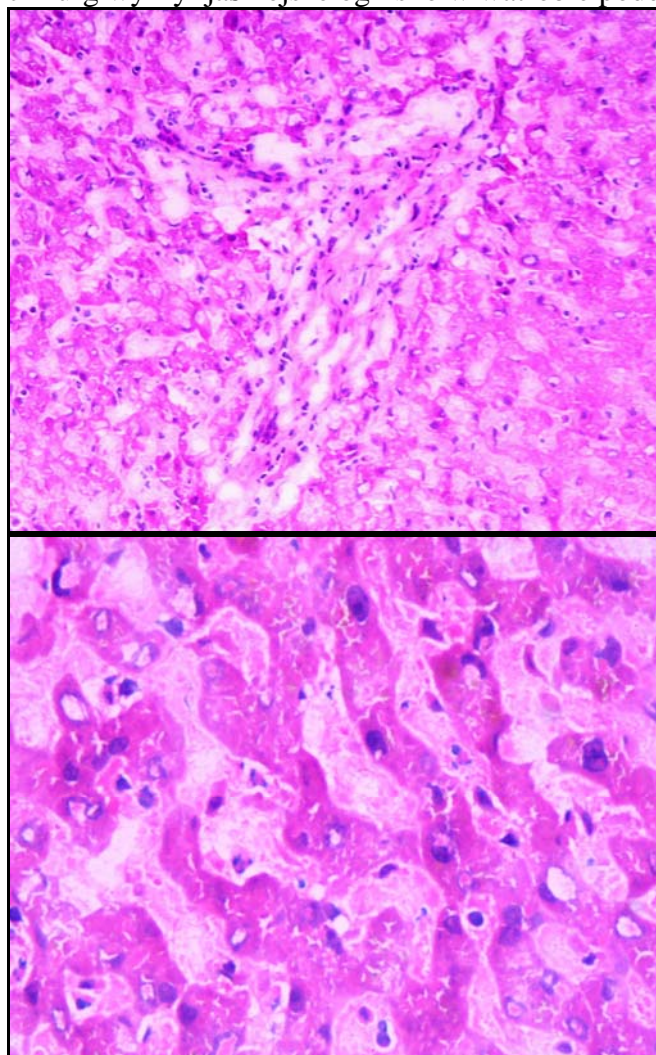
- Brak widocznych struktur histologicznych
- Ułożenie komórek w postaci dużych płatów łączących się ze sobą komórek (utrzymana kohezja hepatocytów), z których jedynie nieliczne leżą izolowane
- Ostre granice płatów
- Mało obfite skrzepy krwi i nieliczne rozproszone erytrocyty, bez cech hemolizy
- Brak tzw. tła rozmazu

Pod dużym powiększeniem (400 x)

- Jednowarstwowy układ komórek (wszystkie hepatocyty leżą w jednej płaszczyźnie, nie nakładając się na siebie)
  - zbliżoną do siebie wielkość, kształt i barwność jąder (monomorfizm jąder komórkowych)
  - doskonale utrzymaną strukturę chromatyny jądrowej, z czytelnym rysunkiem heterochromatyny
  - obecność pojedynczych, niekiedy podwójnych jąder, sporadycznie widoczne inkluzje jądrowe
  - jednolitą strukturę cytoplazmy, bez wodniczek
  - brak wyraźnych granic komórkowych
-

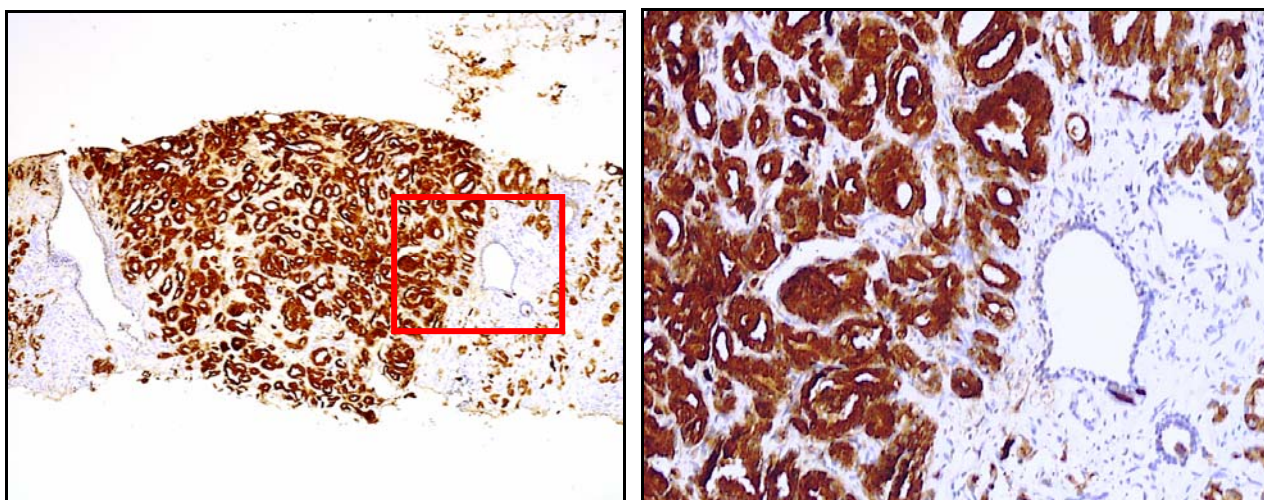


9. badanie mroźakowe wycinka z wątroby w badaniu śródoperacyjnym (barwienie H+E)  
Fragment wątroby pobrany od 58-letniego mężczyzny w czasie operacji niedrożności jelita  
cienkiego, podczas której chirurg wykrył jaśniejsze ognisko w wątrobie podejrzewane o nowotwór



10. odczyn immunohistochemiczny na tzw. ciężkie cytokeratyny w biopsji igłowej gruczołu  
krokowego (system wizualizacyjny z użyciem 1,3 diaminobenzydyny (DAB), podbarwienie  
hematoksyliną).

Jeden z 6 preparatów pobranych metodą igłową (sextans) z prostaty 65-letniego mężczyzny  
cierpiącego na bóle kroczka i utrudnienie oddawania moczu, z podwyższeniem poziomu antygenu  
sterczowego (PSA – ang. *prostate specific antigen*) we krwi do 16 ng/l.



Zwóć uwagę na:

Pod małym powiększeniem (20 x):

- Wydłużony kształt wycinka (przekrój wałeczka wyjętego z igły)
- Gniazdo wąskich cew gruczołowych silnie wybarwionych na brązowo (dodatni odczyn na cytokeratyny w utkaniu raka)
- Pojedyncze, dość duże cewy wyznaczone obecnością jąder zabarwionych hematoksyliną (ujemny odczyn na ciężkie cytokeratyny w cewach nienowotworowych)

Pod średnim powiększeniem (200 x)

- Rozmieszczenie oraz kształt jąder wyznaczonych hematoksyliną, w podścielisku i w prawidłowych cewach gruczołowych, nie wykazujących ekspresji ciężkich cytokeratyn.
- Zamaskowanie przez silny odczyn DAB profilów jąder w cewach raka
- Zróżnicowanie kształtu i wielkości cew raka oraz zróżnicowanie grubości wyściełającego nabłonka.

## ZAGADNIENIA I HASŁA DO PRZYGOTOWANIA

- technologia przygotowania preparatu histologicznego (utrwalanie, barwienie, preparat parafinowy, zamrażanie tkanek, skrawanie na mikrotomie)
  - technologia przygotowania preparatu cytologicznego (wykonanie rozmazu, utrwalanie, barwienie)
  - budowa i zasady użytkowania mikroskopu świetlnego
  - przeciwciała i antygen
  - mors
    - mors clinica
    - mors personalis
  - autolysis
  - mumificatio
  - putrefactio
  - stigmata mortis
    - livors mortis
    - rigor mortis
    - palor mortis
    - frigor mortis
- |                                   |
|-----------------------------------|
| śmierć                            |
| śmierć kliniczna                  |
| śmierć osobnicza                  |
| autoliza czyli rozkład samoistny  |
| spowodowany przez enzymy tkankowe |
| zeschnięcie                       |
| gnicie (rozkład bakteryjny)       |
| znamiona śmierci                  |
| plamy pośmiertne                  |
| stężenie pośmiertne               |
| bladość pośmiertna                |
| oziębienie pośmiertne             |

---

## LITERATURA UZUPEŁNIAJĄCA

- Burck H.-Ch.: Technika histopatologiczna. PZWL., Warszawa, 1975.
- Rozynek M. (red.): Vademecum pathomorphologicum, PZWL, Warszawa, 1980
- Chruścielewski: Technika sekcyjna. PZWL, Warszawa
- Wulff H.: Racjonalna diagnoza i leczenie. PZWL, Warszawa, 1991