

NOVOSTI V KIRURŠKI PATOLOGIJJI

Rastko Golouh

Vzporedno z eksplozivnim razvojem bioloških ved je začela kirurška patologija v zadnjem desetletju še hitreje napredovati.

Zlasti velja omeniti razvoj imunohistokemije. Verjetno ni doslej nobena od novih tehnoloških metod tako radikalno spremenila vsakdanjega diagnostičnega dela patologa kot prav uporaba protiteles za dokazovanje specifičnih celičnih proteinov .

Danes smo priča novi, morda še pomembnejši preobrazbi. Pri analizi biopetičnih tkivnih vzorcev že lahko uporabljamo nove molekularne metode in si pri tem odločilno pomagamo z odkritji v genetiki. Nove tehnologije bodo kmalu za patologe nepogrešljive, čeprav še nimamo opreme v vsakem laboratoriju in čeprav še ne moremo rezultatov teh preiskav uporabiti pri vsakem diagnostično zapletenem primeru.

Ob hitrem tehnološkem napredku kirurške patologije nastajajo povsem novi koncepti o vzrokih in mehanizmi neoplastičnih bolezni. Nova spoznanja vodijo do sprememb in modernejših klasifikacij tumorjev. V tumorskem tkivu odkrivamo vedno več pomembnih značilnosti, ki napovedujejo prognozo bolezni in odziv bolnika na različne vrste zdravljenja. Zaradi klinično pomembnih podatkov, ki so predpogoj za primerno izbiro terapije, se spreminjata tudi vsebina in oblika patologovih izvidov. Klasične, precej individualno formulirane diagnoze opuščamo. Nadomestili so jih bolj obsežni in standardni izvidi z diagnozami in vsemi pomembnimi podatki za posameznega bolnika. Vse več je nadzora kakovosti, tako v laboratorijskem kot v interpretacijskem delu.

Na oddelkih za patologijo že dalj časa uporabljamo elektronske informacijske sisteme. Nova tehnologija zahteva od tehnikov in patologov kar nekaj računalniške pismenosti. Svojega dela brez take podpore danes ne bi mogli več opravljati.

Predstavil bom nekatere novosti, ki smo jih v zadnjih letih uvedli na Oddelku za patologijo Onkološkega inštituta. Nove tehnologije in nov način dela uporabljamo posebej pri nekaterih skupinah malignomov kot so karcinomi dojke, maligni limfomi in sarkomi.

Zaradi razvoja kirurških metod se spreminja tudi delo kirurškega patologa. Z drugačnimi posegi nastajajo tudi drugačni tkivni vzorci, ki zahtevajo navadno bolj kompliciran način obdelave. Tipična primera sta obdelava in interpretacija rezultatov pri totalni mezorektalni eksciziji karcinomov rektuma na eni in varovalne bezgavke na drugi strani.

Kar presenetljivo je, da lahko nekatere nove metode, kot je tehnika tkivnih mrež, ob sicer vse bolj vrtoglavem naraščanju stroškov, patologovo delo celo pocenijo.

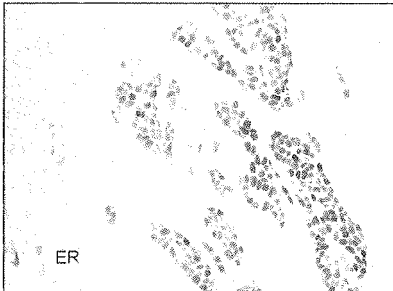
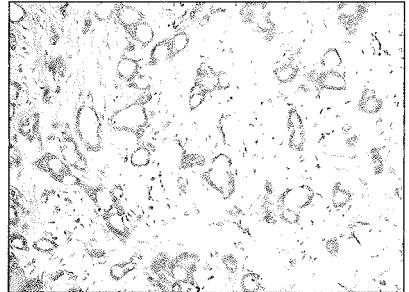
Novosti v kirurški patologiji

Rastko Golouh
2004

- Prognostični in prediktivni faktorji pri karcinomu dojke
- Varovalna bezgavka
- Posodobljeni kirurški posegi
- Novi koncepti, nove metode, nove klasifikacije
- Diferencialna diagnoza histološko podobnih sarkomov
- Nove tehnologije – manjši stroški

Prognostični in prediktivni faktorji pri karcinomu dojke

ER, Her-2, IHC, FISH

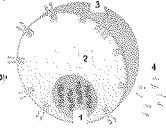


Skladnost med biok. in IHC določanjem receptorjev

- IBCSG IX, 699 pomenopavzalnih bolnic, NO, tamoksifen:CMF+ Tam, (2004)
- IHC se visoko sklada z biokemičnimi rezultati
- Efekt zdravljenja je neodvisen od metode določanja
- Prednosti IHC: parafinski vzorci, majhni tumorji, retrospektivne raziskave, cenejši postopki

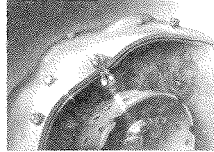
Biologija zvišane ekspresije Her-2 pri karcinomu dojke

Zvišana ekspresija je posledica pomnožitve gena Her-2

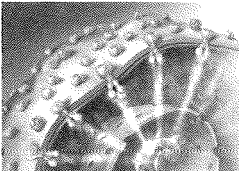


1. Pomnožitev gena zveča število kopij Her-2
2. Zvečana transkripcija mRNA
3. Večje število receptorjev Her-2
– spontana dimerizacija – tirozin kinazna aktivnost
4. Sproščanje ekstracelične domene (ECD, sHER2)

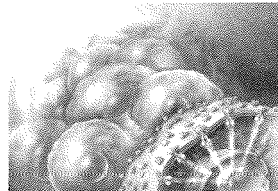
Her-2, običajna ekspresija



Pomnožitev gena Her-2 poveča ekspresijo Her-2

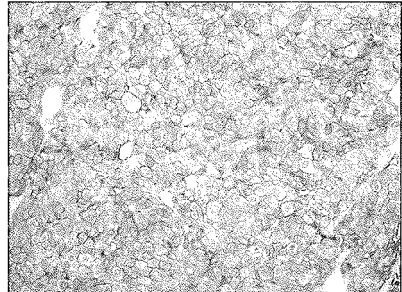


Zvišana ekspresija Her-2 sproži tumorsko proliferacijo



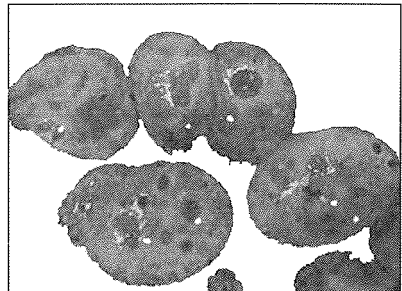
Imunohistokemija Her-2

- 1+: blaga delna membranska reakcija, >10%
- 2+: zmerna popolna membranska reakcija, >10%
- 3+: močna popolna membranska reakcija, >10%



Her-2 FISH

- Dvojna hibridizacija (CEP17-zeleno, Her-2 rdeče)
- 20-60 jeder
- Izračun povprečja razmerja Her-2/CEP
 $>0.8? 1.3 = \text{nepomnožen}$
 $1.3? 2.0 = \text{podvojitev}$
 $>2.0 = \text{pomnožitev}$



Varovalna bezgavka

Koncept varovalne bezgavke (VB)

- Vzorec dreniranja v regionalne bezgavke je predvidljiv in stalen
- Prva varovalna bezgavka je uspešen filter za tumorske celice

Varovalne bezgavke

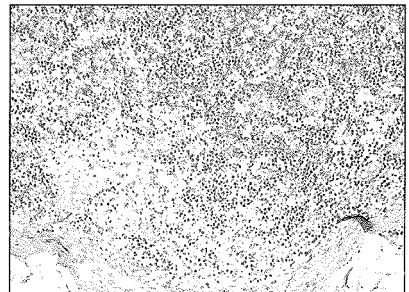
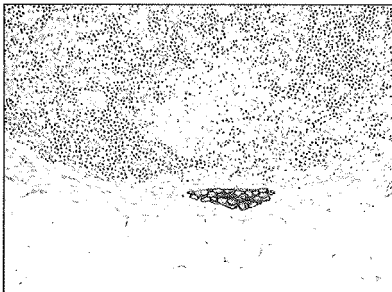
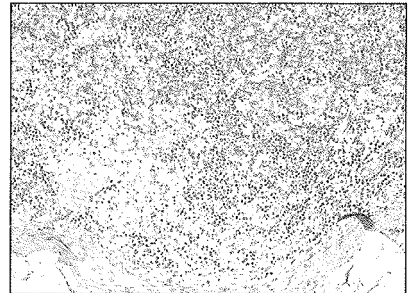
- Karcinom dojke
- Maligni melanom
- Drugi malignomi

Intraoperativna preiskava VB

- Citološki odtis reznih ploskev bezgavke
- Zmrzli rez
- Serijski zmrzli rezi
- Hitra imunohistokemija – citokeratin
- RT-PCR

Obdelava varovalne bezgavke pri karcinomu dojke na OI

- Bezgavko razpolovimo vzdolžno
- Odtis obeh reznih ploskev (intraoperativna citološka preiskava)
- Fiksacija, oba parafinska bloka za pooperativno preiskavo
- 1HE preparat vsake polovice
- Če ni zasevkov – dvojne rezine na vsakih 250 mikrom obarvamo vse pare preparatov, enega s HE in drugega na citokeratin (CKMNF116)



pN0

- pN0 (i-)
V VB histološko ni zasevkov, imunohistokemija (CK) je negativna
- pN0 (i+)
V VB histološko ni zasevkov, imunohistokemija (CK) pozitivna, skupine celic niso večje od 0.2 mm

Odperta vprašanja

- Kakšen je idealen način histološke obdelave VB?
- Ali so ITC in mikrometastaze klinično pomembne?
- Katere bolnice z mikrometastazami v VB bodo pridobile z dodatno aksilarno disekcijo?

Posodoboljeni kirurški posegi

Totalna mezorektalna resekcija karcinoma rektuma

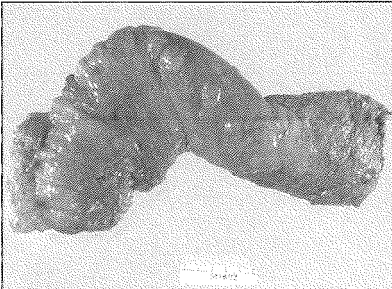
- Modifikacija rektalne resekcije z ekscizijo vsega mezorektoma
- Recidivi pri karcinomu rektuma v 85% pri bolnikih z zajetim radialnim resekcijskim robom.
- Dosedanja obdelava resekcijskih vzorcev ne omogoča natančnejše analize oddaljenosti malignoma od RRR

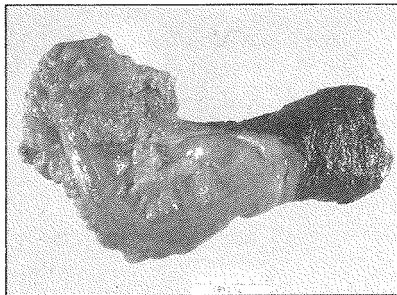
Totalna mezorektalna resekcija karcinoma rektuma

- Modifikacija rektalne resekcije z ekscizijo vsega mezorektoma
- Recidivi pri karcinomu rektuma v 85% pri bolnikih z zajetim radialnim resekcijskim robom.
- Dosedanja obdelava resekcijskih vzorcev ne omogoča natančnejše analize oddaljenosti malignoma od RRR

Protokol za obdelavo resektatov karcinoma rektuma.
P. Quirke (Leeds, UK)

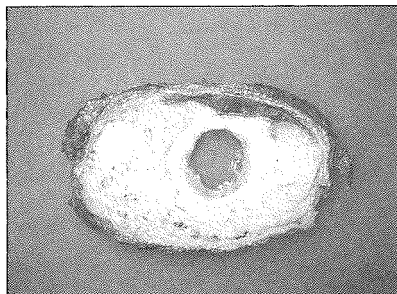
- Po fiksaciji (2 do 3 dni) vzorec prečno narežemo, tako da dobimo multiple prečne rezine skozi tumor in mezorektum. Identificiramo področje, v katerem je tumor najbližje radialnemu robu, iz njega odvzamemo vzorce za mikroskopsko preiskavo in izmerimo razdaljo.
- Če je razdalja od tumorja 1 mm ali manj, štejemo, da je radialni rob prizadet.





Dobra (kompletna) resekcija:

- *mezorektum*: obilen, gladke površine
- *defekti*: niso globlji od 5 mm
- *oblika*: mezorektum v distalnem delu resektata ni stožčasto oblikovan
- *radialni rob (v rezinah)*: gladek, pravilen



Radialni resekcijski rob

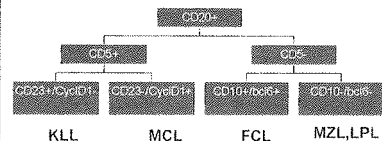
- Oddaljenost resekcijskega roba 1mm ali manj od tumorja = pozitiven; resekcija R1
- Šteje oddaljenost tumorja ali zasevka
- R0: 0.11cm
- R1: 0.10cm
- R1 – dodatna pooperativna terapija

Novi koncepti, nove metode, nove klasifikacije

Maligni limfomi, klasifikacija SZO 2001

- Imunohistokemija
- Molekularna patologija

Imunohistokemični panel, limfomi z majhnimi celicami



Praktična vrednost molekularne patologije pri ML

- Pri dvmu ali je limfoidna proliferacija neoplastična ali ne
- Če pri limfomu ne moremo identificirati vrste limfoidnih celic (T ali B)
- Pomoč pri natančnejši klasifikaciji limfoma

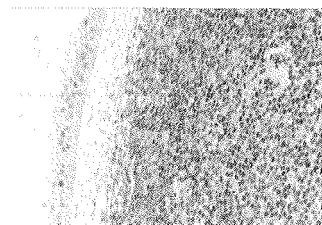
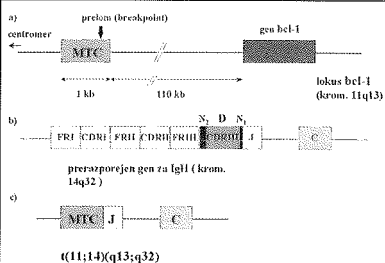
Reakcija verižne polimeraze

- Monoklonske celice B – le ena preureditev z eno/dvema sekvencama specifične dolžine
- Pri monoklonskih celicah T - pomnožen gen receptorja celic T (TCR)

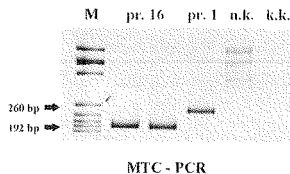
Diferencialna diagnoza histološko podobnih tumorjev

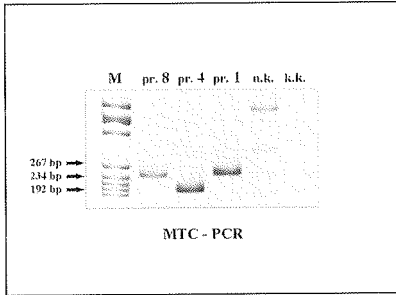
Identifikacija limfoma plaščnih celic

- Translokacija t(11;14)(q13;q32)
- Prekomerna ekspresija ciklina D1
- PCR



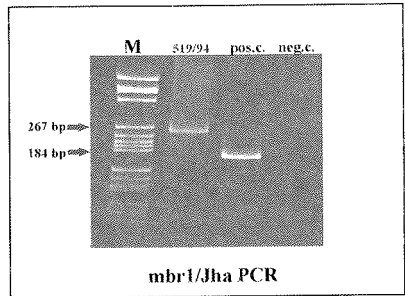
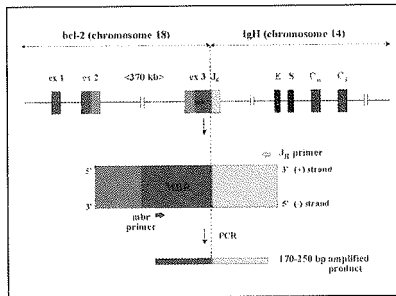
ciklin D 1 + (primer 8)





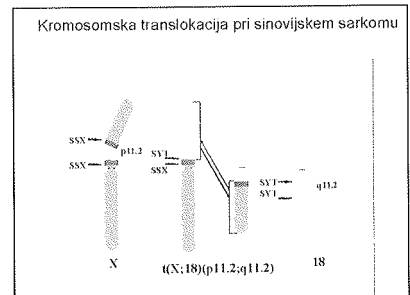
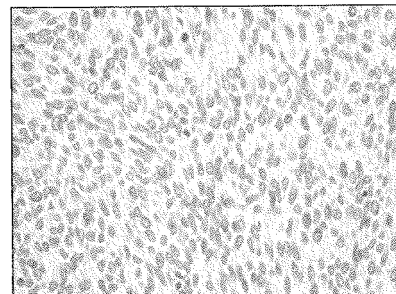
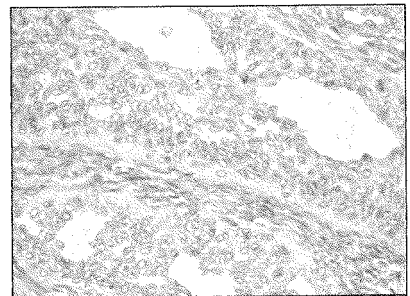
Identifikacija folikularnega limfoma

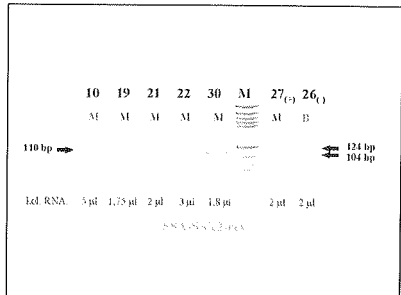
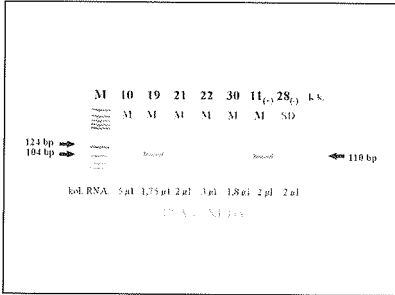
- Translokacija t(14;18)(q32;q21)
- PCR



Sinovijski sarkom

- Molekularna patologija



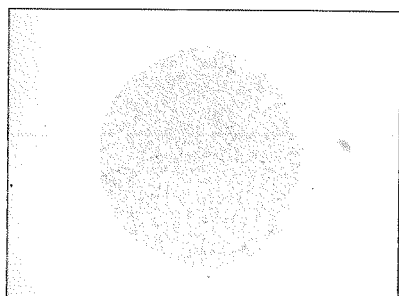
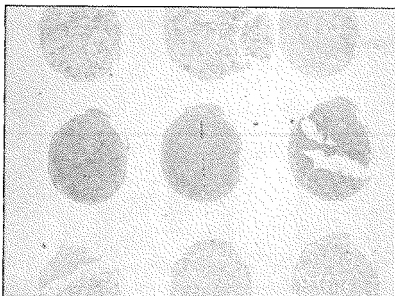
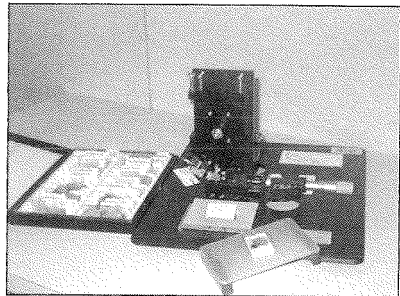


Nove tehnologije – manjši stroški

- ### Tkivne mreže
- Nov blok tkivne mreže iz cilindrov velikega števila primarnih (donorskih) standardnih parafinskih blokov
 - Morfološko reprezentativen del preparata identificiramo na donorskem preparatu in bloku
 - Stebričke iz različnih donorskih blokov vložimo v nov parafinski blok (Beecher Instr.)

Tkivne mreže

- 100-500 vzorcev različnih tumorjev v enem preparatu
- Debelina stebrička do 0.6mm
- Imunohistokemija, imunofluorescenca, hibridizacija in situ (kromogena, FISH)
- Eno barvanje stotih vzorcev na enem preparatu



Kakšen je vpliv heterogenosti tumorjev na analizo pri TM?

- Mnoge študije dokazale odlično skladanje med standardnimi preparati in preparati TM (tumorji dojke, prostate, mehurja, fibroblastni tumorji)
- Odvisnost od parametra, ki ga analiziramo (p53, ER...)
- Več cilindrov istega tumorja v TM (posamične rezine cilindrov lahko odpadejo)

Uporaba na Onkološkem inštitutu

- TM vseh karcinomov dojke v enem tednu - Her-2 FISH preiskava
- Imunohistokemične značilnosti zgodnjega karcinoma dojke
- Klinično-patološke značilnosti EWIN/PNET tumorjev

