

Patologie - rozdělení oboru, metody vyšetření a technické zpracování vzorku

Patologie

Název je složen z řeckého pathos (=choroba) a logos (=nauka). Patologie je tedy nauka o chorobných pochodech a změnách v lidském organismu. Zajímá se o etiologii onemocnění i o mechanismus (jak k onemocnění dochází), o morfologické změny buněk a orgánů a o význam těchto změn pro jejich funkci.

Rozdělení oboru

Poznatky z patologie se uplatňují ve všech klinických oborech, ale významný je i její přínos pro stanovení diagnózy pacientů, kteří přicházejí na klinická pracoviště.

Obecná patologie

- pojednává o základních patologických procesech v buňkách a tkáních
- změna vývoje, komplikace z obecného hlediska (nekrózy, záněty, infekce)

Speciální patologie

- užívá pojmů z obecné patologie bez opětovného vysvětlení
- popisuje poškození a chorobné stavy v určitých orgánech nebo systémech orgánu (oběhový systém, GIT,...)



Sáňkový mikrotom

Metody vyšetření

1. Imunohistologické metody

- na principu reakce antigenu ve tkáních s protilátkou, která je označená fluorochlorem – můžeme pozorovat ve fluorescenčním mikroskopu; užití i na formalin

2. Nepřímá imunohistologická metoda

- obdobné jako u nepřímé imunofluorescenční metody
- 2. protilátka je označena kořenovou peroxidázou
- její lokalizace se stanovuje několika typy chromogenů (výsledný produkt je stálý, tmavohnědý nebo červený)

3. Nepřímá imunofluorescenční metoda

- používá se u tkání fixovaných formalinem
- primární protilátka není značená, teprve sekundární protilátka je značena flurochlorem a reaguje s primární látkou
- nevýhoda fluorescenčních metod – postupná degradace fluorochromu – po určité době se vysvítí

4. Přímá imunofluorescenční metoda

- používá se u nativních (formalinem nefixovaných) preparátů
- na sklíčko s řezem nepipetujeme protilátku označenou fluorochromem a výsledek barevné reakce pozorujeme ve fluorescenčním mikroskopu

5. Avidin-biotinová metoda

- používá se nepřímá avidin-biotinová metoda
- na sekundární protilátku s biotinem se naváže avidin-biotinový komplex označený křenovou peroxidasou

6. Metoda in situ hybridizace

- umožňuje identifikaci specifických sekvencí NK in situ (v genech buněk histologických nebo cytologických preparátů) – např.: polohu genů na chromozomu, geny virů,

proteiny, onkogeny

- používají se značené sondy, které hybridizují s komplementárními úseky DNK nebo RNK

7. Fluorescenční hybridizace in situ (FISH)

- Sondy jsou značené fluorochromem a pozorování provádíme pomocí fluorescenčního mikroskopu

8. Polymerázová řetězová reakce (PCR)

- amplifikace (= množení, probíhá v termocyklerech) fragmentů DNK a jejich identifikace; např.: elektroforézou, Southernovou hybridizací a stanovením sekvence DNK

Technické zpracování

Biopsie

- histologické vyšetření z živé tkáně
- tkáně získáváme různými způsoby:
 1. operací – větší části tkáně, části orgánů nebo celé orgány (změříme, zvážíme)
 2. samovolným vyloučením – vyloučení tkání z dutých orgánů těla přirozenou cestou (kašel, rýma, stolice, moč, krvácení z rodidel)
 3. probatorní excizí (zkusmé vyříznutí) – vynětí části ložiska a histologické zhodnocení
 4. probatorní punkcí (zkusmé nabodnutí) – punkce se provádí širší jehlou → nabodne se vyšetřovaná tkáň → zůstane v jehle a mikroskopicky se hodnotí (např. ledvin, jater)
 5. kyretáží (výškrabem) – kyretou se seškrábne sliznice a kousky tkání z některých dutin; např.: děložní sliznice, zvukovod, nosohltan, ložiska v kostech
 6. endoskopickou excizí – používají se fibroskopy → cíleně se odebere změněná část sliznice; např.: GIT (střeva – vřed), dýchací cesty, močové cesty

Způsoby zasílání a zpracování tkání

Fixace tkání

- molekulárně biologická a cytogenetická vyšetření – odebírá se nefixovaná tkáň
- histologické vyšetření – používá se reprezentativní část odebrané tkáně
- tkáň se ihned (aby nedošlo k oschnutí a autolýze) po odběru ponoří do nádoby (označené! jméno, příjmení, oddělení a klinika, které tkáň odesílají) s fixační tekutinou (má zamezit rozkladu buněk, tkání)
- běžný způsob fixace – 10% formalin (= 4% formaldehyd, ředění 40% HCHO z lékárny 1:9, v digestoři)
- dostatečné množství formalinu:
 - optimálně 10x–20x větší objem než je fixovaná tkáň
 - pH fixačního roztoku je neutrální
- fixací tkáň ztuhne v tom stavu, ve kterém ji v nádobě necháme, proto má nádoba široké hrdlo
- menší ploché částice, které by se (volně uloženy) mohly zkroutit, před fixací položíme na kousek tužšího papíru
- pro vyšetření elektronovým mikroskopem se užívá glutaraldehydová fixace, aby se tkáň dobře fixovala musí být rozdělena na malé kousky cca 1 mm³
- peroperační vyšetření:
 - v situacích, kdy si lékař není jistý o jaký patologický proces jde
 - pomocí kryostatu se tkáň zmrazí (tekutý dusík), čímž se umožní provést tenký řez mikrotomem, patolog může prohlížet preparáty za několik minut a výslednou diagnózu sdělit operatérovi

Po fixaci tkání

- zpravidla to bývá 15–24 hodin (u menších vzorků stačí kratší doba fixace)
- po fixaci formalinem se tkáň blokuje (přikrojují)
- větší části tkání nebo orgánů se při blokování zvážejí a změřejí, patologicky popíší → odebere se několik menších kousků (bloků, velikosti: 1,5 cm. 1 cm. 0,5 cm) → do speciálního přístroje → kde dochází k odvodnění tkání → prosycení roztaveným parafínem
- parafínové bloky se krájí mikrotomem na tenké plátky (5–7 µm) → natahují se na podložní skla → na nich se tkáň odparafínuje → barví se většinou hematoxylinem-eozinem → pak se preparáty uzavírají (montují) do kanadského balzámu a přikryjí se krycím sklíčkem → preparát se očísluje a může se prohlížet mikroskopem

Odkazy

Použitá literatura

- CHADIMOVÁ, M. *Patologie*, Přednáška, Praha: 2.LF UK, 22.2.2011.
- MAČÁK, Jiří a Jana MAČÁKOVÁ. *Patologie*. Vyd. 1. Praha: Grada, 2004, 347 s. ISBN 80-247-0785-3
- BARTOVÁ, Jarmila. *Patologie pro bakaláře*. Vyd. 4. Praha: Karolinum, 2004, 170 s. ISBN 80-246-0794-8.