

Almen Patologi Kapitel 2: Patoanatomisk undersøgelse
Medicinsk Kompendium Kapitel 44: Blodsygdomme



En **patoanatomisk undersøgelse** går ud på at påvise morfologiske forandringer i organer, væv og celler, når man udreder for forskellige sygdomme, og beskriver årsager, opståen og mekanisme.

Indikationer:

Ved indikationer for en undersøgelse forstås begrundelsen for at udføre den. Der findes forskellige indikationer:

- **Diagnostisk udredning** – en undersøgelse, der fører til et klinisk fund, hvilket er afgørende for, om der skal iværksættes medicinsk eller kirurgisk behandling.
- **Kontrol af behandlingseffekt** – her drejer det sig om, hvorvidt behandlingen har haft den ønskede effekt eller påvise virkninger/bivirkninger af behandling, som kan være bestemmende for om behandlingen skal fortsætte, ændres eller suppleres med en anden behandling.
- **Screening** – at sortere de raske personer fra personer med risikofaktorer.
- **Obduktion** - her undersøges, om diagnoser og behandlingen var korrekte, og dermed bidrage til lægers videre uddannelse.
- **Forskning** – en nøjere analyse af de patologiske processer ved hjælp af fagets forskellige teknikker.

Prøvetagning:

Prøver til patoanatomisk undersøgelse kan udtages på mange forskellige måder og deles i de cytologiske og de histologiske:

- **Cytologiske prøver** – her undersøges forandringer i løstliggende celler eller små hobe af celler som f.eks. neoplasi
 - **Eksfoliativ cytologi** – celler, som er spontant afstødte eller let kan skrubes af en overflade som f.eks. cervix og vagina. Andre prøver som urin, ekspektorat, ascitesvæske eller aspireret væske
 - **Finnålaspiration** – her anvendes en sprøjte påsat en tynd nål, som direkte føres ind i den patologiske proces gennem huden. Her er cellerne mere velbevarede end de spontane afstødte celler fra en overflade og fører til en mere nøjagtig klassifikation af en tumor.
 - **Væskebaseret cytologi** – prøven anbringes i en beholder med fikseringsvæske. Ved automatiseret proces i laboratoriet frafiltrereres slim og andet uvedkommende materiale, og de celler som adhærer til filteret, aftrykkes på et objektglas og undersøges.
- **Histologiske prøver** – her undersøges vævsstykker, såkaldt biopsier eller præparater fra operationer.



- **Biopsi** – en lille vævsprøve, der viser arkitektur og er bedre velegnede til at diagnosticere såvel neoplastiske som non-neoplastiske sygdomme, end cytologiske undersøgelser.
- **Endoskopisk biopsi** – biopsien er typisk 3-4 mm i diameter og omfatter kun slimhinden. Disse biopsier kan være både diagnostiske og terapeutiske.
- **Ekscisionsbiopsi** – tages med kniv specielt under operationer, hvor der udkæres små vævsprøver fra f.eks. en tumor eller ved hudforandringer. Disse er større end endoskopiske biopsier og anvendes også til diagnostiske og terapeutiske formål.
- **Stansebiopsi** – udstanses med en skarptsleben ende af et 3-6 mm tykt rør forsynet med håndtag. Anvendes især ved hudsygdomme og knoglemarvsundersøgelser. Kun til diagnostisk formål.
- **Nålebiopsi** – tages med en ca. 1 mm tyk nål der styres af et håndtag med påsat sprøjte. Metoden anvendes til bioptering fra lever, mamma og nyre gennem huden, også under operationer. Anvendes udelukkende til diagnostiske formål.
- **Curettag, abrasio og vabrasio** – her afskrabes væv med en curette, som består af skaft med en lille skarprandet ske. Vabrasio anvendes til fjernelse af væv fra uterinkaviteten.
- **Operationspræparater** – her fjerner man alt forandret væv. Formålet er at give en mere nøjagtig beskrivelse af processen, og hvorledes den udbreder sig i det fjernede væv. Bruges ofte under operationen vha. frysessnitteknik.

Vævsbehandling:

Det fjernede væv nedbrydes pga. enzymatisk påvirkning og mangel på oxygen og næringsstoffer. Det er derfor vigtigt, at vævsstrukturene immobiliseres og beskyttes mod nedbrydning.

Der findes 2 forskellige metoder mod nedbrydning:

- Nedfrysning af vævet til -20 til -30 grader – bruges, når der ønskes et hurtigt diagnostisk svar, dels når der undersøges for stoffer, der ikke tåler fikseringen eller varer f.eks. en række enzymer, visse typer antigener samt lipider.
- Anbringelse af vævet i fikseringsvæske til immobiliseringen og stabiliseringen af vævet.



Den hyppigste anvendte fikseringsvæske er en 3,6 % w/v opløsning af neutral fosfatbufret formaldehyd. Til elektronmikroskopi anvendes oftest glutaraldehyd.

Farvemetoder til lysmikroskopi:

Farvemetoderne inddeles i 2 metoder:

- **Histokemiske farvemetoder** – til påvisning af forskellige vævsstrukturer og vævskomponenter. Farvestofferne bindes til vævskomponenter vha. kemiske bindinger som elektrostatiske, kovalente eller polære bindinger eller van der Waal'ske kræfter.

- **Hæmatoxylin-eosin** – oxyderede form af hæmatoxylin, hæmatein, virker som kationfarvestof, der bindes til negativt ladede grupper, cellekerner, og farver dem blå. Eosin er et anionfarvestof, der bindes til de positive aminogrupeer (cytoplasma og ekstracellulært væv), der farves røde.
- **Giemsa- og Papanicolaou-farvning** bruges når man vil skelne mellem forskellige typer af pladeepitelceller afhængigt af, om de befinder sig basalt eller superficielt i epitelet. Anvendes i forbindelse med cervixcytologi og urincytologi.
- **Van Gieson-farvning** farver type I og II kollagen rødt
- **Retikulinfarvning (sølvfarvning)** overvejende til type III kollagen (rødt), lever- og nyrebiopsier og maligne lymfomer
- **PAS-farvning** bruges til basalmembraner i lever- og nyrebiopsier, da de indeholder type IV kollagen. Den kan også påvise glykogen og mucosubstanser.
- **Verhoeffs metode** kan påvise elastin, specielt karstrukturer f.eks. ved vasculitis
- **Massons trikromfarvning** kan påvise udfældet fibrin (rødt) f.eks. fibrinoide nekroser, fibrinøs betændelse og fibrintromber i kar.
- **Metylgrønt-pyronin** kan påvise DNA (metylgrønt: grønt) og RNA (pyronin: rødt)
- **Lipidfarvninger (Oil Red O- og Sudan-farvestoffer)** kan påvise liposarkomer og bruges i forbindelse med lipidaflejringssygdomme og fedtembolier.
- **Gramfarvninger** kan klassificere bakterier.

- **Immunhistokemiske metoder**

Identifikation af glat og tværstribet muskulatur foretages udelukkende med immunhistokemiske reaktioner. Man kan ved disse metoder påvise antigener in situ i vævssnit ved hjælp af antistoffer. Antistoffer mærkes med enten fluorescerende stoffer eller enzymer. Antistoffer kan være polyklonale eller monoklonale:

- **Polyklonale antistoffer** er blanding af antistoffer fra forskellige kloner af immunglobulinproducerende celler, hvor de er rettet mod hver sin epitop på antigenet. De giver som regel kraftige men mindre specifikke reaktioner.
- **Monoklonale antistoffer** stammer alle fra samme celleklon og er rettet mod den samme epitop på antigenet.

De vigtige anvendelsesområder er:

- Klassifikation af tumorer og leukæmier
- Karakteristik af tumorer mhp. prognose og behandling
- Påvisning af aflejringer af immunglobulin og komplement i basalmembraner ved immunologiske hud- og nyresygdomme
- Påvisning af mikroorganismer

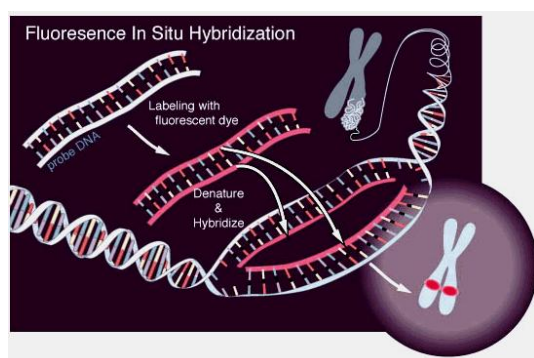
Tumorklassifikation:

Tumorceller kan klassificeres på grundlag af deres indhold af strukturelle proteiner, sekretoriske produkter og funktionelle proteinstoffer, f.eks. hormonreceptorer:

- **Cytokeratinpositive celler** – epitelceller indeholder intermediære filamenter af typen cytotkeratin, som igen findes i et antal forskellige undertyper, der er karakteristiske og kan genfindes i tumorer udgået fra disse celler.
- **Chromogranin** - kan påvise neuroendokrine tumorer som medullært thyroideakarcinom, karcoid tumor i lunger og mavetarmkanal samt småcellet karcinom i lunger ved indhold af neuroendokrine granula.
- **Vimentinpositive celler** – disse tumorer omfatter udgået dels fra det mesodermale væv som f.eks. bindevæv, kar og muskel, dels tumorer udgået fra det hæmatolymfoid væv og dels tumorer i såvel CNS som i PNS. Muskelderiverede tumorer er typisk positive for intermediærfilamentet desmin, og yderligere subklassifikation i tumorer udgået fra glat muskulatur og tværstribet muskulatur foretages med antistoffer rettet hhv. glat muskelaktin og myogenin.
- **Hormon- og vækstfaktorreceptorer** – visse tumortyper er afhængige af hormoner og/eller vækstfaktorer, og disse udtrykker tilsvarende receptorer for disse molekyler. Der findes medikamenter, der kan blokere disse receptorer.
 - **Østrogen- og progesteronreceptorer** i mammacancer (østrogenreceptor-antagonist: Tamoxifen)
 - **Epidermal growth factor-receptorer** er lokaliseret i cellemembranen. Hovedårsagen er amplifikation af genet, der forårsager at receptoren er overeksprimeret (monoklonalt antistof: Herceptin)
 - **Tyrosinkinase-receptorer** – f.eks. den gastrointestinale stromale tumor viser overekspression af tyrosinkinase-receptoren c-kit. Kronisk myeloid leukæmi skyldes tyrosinaseaktiviteten af fusionsgenet BCR/ABL, som kan blokeres med tyrosinkinaseinhibitoren (Glivec)

Mere detaljeret undersøgelser:• **In situ hybridisering (ISH)**

Sekvenser af polynukleotider enten i DNA eller mRNA påvises ved inkubation med mærkede nukleotidprober med kendt sammensætning. De vigtigste trin i undersøgelsen er denaturering ved 95 °C, hybridisering, vask og detektion. Bruges overvejende ved påvisning af virus.

• **Fluorescerende ISH (FISH)**

Små ændringer i kromosomerne påvises, der ikke kan ses ved almindelig cytogenetisk undersøgelse. Efter forbehandling af patient-DNA og en fluorokrommærket DNA-probe vil proben bindes til komplementære DNA-sekvenser, der efterfølgende kan visualiseres i et fluorescens mikroskop. Man kan påvise specifikke translokationer og de resulterende gen-rearrangementer.

- **Cytogenetik (karyotypering, kromosomanalyse)**

Her undersøges kromosomernes antal og struktur. Denne teknik anvendes til præ-, peri og postnatal diagnostik af kromosomsygdomme f.eks. Downs syndrom (trisomi 21), og kromosomale forandringer ved neoplasier, specielt leukæmi og malignt lymfom, også ved visse solide tumorer.

- **Flowcytometri (DNA eller overflademærker)**

Her undersøges celler i celleduspension, hvor de er mærket med fluorescerende stof. Når cellerne passerer gennem en lyskilde, exciteres det fluorescerende stof og udsender et signal, der kan registreres. Ved hjælp af denne teknik er det muligt at analysere 5-10.000 celler/sekund. Ved DNA FCM binder det fluorescerende stof til DNA, således der er et lineært forhold mellem mængden af DNA i kernen og det fluorescerende stof. Her exciteres også det fluorescerende stof, når cellerne passerer lyskilden. På den måde kan man få et mål for DNA og dermed afvigende DNA-indhold. DNA FCM har den ulempe, da den kun giver information om det totale DNA-indhold, ikke evt. DNA-skader f.eks. deletioner og duplikationer, som kan balancere hinanden osv. På den måde vil den samlede indhold af DNA være normalt. Metoden er usikker fordi mange maligne tumorer har normal DNA-indeks. Man kan også mærke celler med fluorescerende antistoffer rettet mod overfladeantigener og dermed bestemme mængden af celler, der er i besiddelse af et givet antigen.

- **Molekylærbiologiske metoder**

Anvendes til påvisning af deletion og amplifikation, punktmutationer samt rearrangementer som translokationer af DNA. Påvisning af ændringer i DNA-sekvenser (Southern blotting) og RNA (Northern blotting) kan anvendes til påvisning af DNA-rearrangement ved maligne lymfomer, onkogenaktivering og ekspresion i maligne tumorer.

- **PCR**

En hurtig og simpel metode til opformering af nukleinsyresekvenser. Her kan man efter udførelsen af PCR-reaktionen ved gelelektroforese analysere mulige produkter. Denne teknik bruges blandt andet til vurdering af restsygdom indenfor hæmatologien.

- **Elektronmikroskopi**

Til nyrebiopsier (fortykkelse af basalmembraner, sammensmeltning af fodprocesserne, aflejring af immunkomplekser, amyloid og mesengialproliferation) og sjældnere ved tumorklassifikation (identifikation af ultrastrukturelle cellebestanddele: desmosomer i pladeepitel, myofilamenter i muskelceller, melanosomer i melanocytter og granula i neuroendokrine celler), til påvisning af virus (størrelse, form og membranstruktur) og visse sjældne medfødte metaboliske sygdomme, der medfører abnorme aflejringer.

- **Stereologi**

Præcise metoder til opnåelse af viden om 3-dimensionale mikroskopiske strukturer ved observationer og målinger udført i 2-dimensionale vævssnit. Målingerne giver oplysninger om volumen, overfladeareal, længde og antal af histologiske og cytologiske strukturer. Den kan også give målinger af kernestørrelse, pleomorfi, celletæthed, mitoseaktivitet, proliferation osv.

Obduktion:

Obduktion er den ydre og indre undersøgelse af det afdøde menneskelegeme

Sektion betyder at skære eller at åbne

Autopsi betyder direkte iagttagelse ved synets hjælp

Obduktion betyder at tilhulle eller tildække og hentyder til den afsluttende procedure, hvor liget sys sammen og tildækkes.

Sammenfattende kan man sige, at man foretager sektion for ved autopsi at bedømme organforandringer og undersøgelsen afsluttes med obduktion.

Der er 2 typer af obduktion:

- **Lægevidenskabelig obduktion** - Hospitals- eller sygehusobduktioner, der foretages af læger ansat på de patologiske afdelinger. Der foretages ca. 4.500 obduktioner årligt i Danmark
- **Retslægelig obduktion** - De retslægelige obduktioner foretages på et af de 3 retsmedicinske institutter, som er tilknyttet universiteterne i København, Odense og Århus. Det er politiet, Arbejdsskadestyrelsen og forsikringsselskaber, der rekvirerer disse obduktioner. Der foretages ca. 1400 retslægelige obduktioner årligt.

Obduktions grundlæggende formål:

- At opnå viden og information til gavn for de levende patienter og deres pårørende.
- At forstå forløbet, der førte til dødens indtræden
- Til bearbejdning af skyldfølelse og sorg
- At afsløre arvelige lidelser og familiære dispositioner til sygdom og danne grundlag for genetisk rådgivning og kontrolundersøgelse.
- Til sygdomsforskning, undervisning og videreuddannelse.
- Identifikation af nye typer af erhvervs- eller miljøbetingede sygdomme
- Pålidelig statistik over sygdomme og dødsårsager

Der skal foreligge tilladelse som skal være udtrykkelig og direkte eller stiltiende og indirekte enten fra pårørende over 18 år eller fra afdøde selv. Pårørende kan nedlægge forbud hvilket har medført et fald i obduktioner fra ca. 70 % til ca 10 % af hospitalsindlagte

Dødskonstatering:

De tidlige sikre dødstegn:

- Ophør af vejrtrækning
- Ophør af hjerteraktion
- Stive pupiller ved lysning

De sene sikre dødstegn

- Livores (døds eller ligpletter)
- Rigor mortis (dødsstivhed)
- Cadaverositas (legemets henfald eller forrådnelsen pga. bakteriel nedbrydning og autolyse), Morguen er et kølerum med temperatur på ca. 4 °C, der hæmmer autolysen og bakteriel nedbrydning af legemet.
- Maceratio er afløsning af huden, som er mere eller mindre rød. Betinget af autolysen, ses kun ved post mortelt ophold i vand og ved dødsfødsel.

Mindst et af disse sene tegn skal være til stede før dødsattest kan udfyldes og obduktion kan begæres