

## PARTE GENERALE DI ANATOMIA PATOLOGICA

### AUTOPSIA

Detto anche esame necroscopico. Trattasi di un esame dettagliato compiuto su un cadavere e sui suoi organi interni. Ecco quali possono essere gli scopi di una autopsia:

- RISCONTRO DIAGNOSTICO DI CAUSA DI MORTE. E' l'indicazione principale.
- DETERMINAZIONE DEGLI EFFETTI DI UNA TERAPIA FARMACOLOGICA SOSTENUTA IN VITA
- STUDIO DEGLI ASPETTI MORFOLOGICI DI NUOVE MALATTIE
- COMPIMENTO DI INDAGINI SU MALATTIE INFETTIVE A SCOPO PREVENTIVO
- ANALISI DI FETI MALFORMATI
- DIDATTICO

#### **Materia giuridica**

Per i pazienti sotto assistenza medica, sarà il medico curante loro riferibile a denunciarne la causa di morte.

Per i pazienti senza assistenza medica, sarà il medico necroscopo nominato dall'ASL a rivelarne la causa di morte.

In entrambi i casi, se l'esame esterno non sarà chiarificatore, sarà possibile effettuare una autopsia (**facoltativo**) da parte dell'anatomo-patologo.

L'autopsia è obbligatoria (inconfutabile da parte dei familiari) **ESCLUSIVAMENTE** per coloro che giungeranno in ospedale post-mortem; eccezione vien fatta per i lattanti morti per SIDS, per la cui autopsia è necessario il consenso dei genitori.

Post-autopsia → ricomposizione del cadavere, stesura ed invio all'ASL di scheda di morte.

Se per una morte sorge sospetto di reato → autopsia giudiziaria da parte di medico legale, da effettuarsi ad almeno 24 ore di distanza dall'evento del decesso.

#### **Fasi dell'autopsia**

-ESAME ESTERNO: caratteristiche somatiche (sesso, età, colorito delle sclere, costituzione fisica, condizioni di nutrizione) e fenomeni cadaverici (ipostasi, disidratazione, rigor mortis, putrefazione → ora presunta della morte).



-APERTURA ED EVISCERAZIONE

-DESCRIZIONE

-EPICRISI: interpretazione complessiva; individua: causa terminale dell'exitus, causa primaria dell'exitus, patologie associate.

**Prelievo di campioni di tessuto per indagini microscopiche e biomolecolari e di fluidi corporei per l'analisi tossicologica**

Il giudizio diagnostico spesso necessita di conferme laboratoristiche ed istologiche.

**PRELIEVO DI FLUIDI PER ANALISI MICROBIOLOGICHE E TOSSICOLOGICHE**

-ANALISI MICROBIOLOGICA: campioni ematici da cavità cardiache; urina dalla vescica; liquor da SNC; tali campioni → 4°C e invio a laboratorio.

-ANALISI TOSSICOLOGICA: campioni ematici da vene periferiche (il sangue nelle cavità cardiache potrebbe essere contaminato da sostanze farmacologicamente attive); urine (stesso prelievo dell'analisi microbiologica); bile → ricerca di morfina, metalli pesanti (prelievo con siringa senza ago post-incisione della colecisti); contenuto gastrico.

**PRELIEVO DI TESSUTI**

-INDAGINI MICROSCOPICHE

-INDAGINI BIOMOLECOLARI: tessuti prelevati → congelamento con isopentano, raffreddamento e conservazione a -80°C in azoto liquido. La milza, ricca in linfociti, è la sede adatta da cui estrarre il DNA.

**Autopsia fetale e perinatale**

Da effettuarsi per affinamento delle tecniche diagnostiche in utero e a mo' di sostegno dell'affinamento della neonatologia.

## DIAGNOSI ISTOLOGICA

**Biopsia tissutale**

Prelievo di tessuto finalizzato all'allestimento di un vetrino su cui porre diagnosi istologica.

Esistono diverse modalità di prelievo dei tessuti, di cui servirsi diversamente in relazione ad alcune variabili, tra cui la sede anatomica:

-AGOBIOPSIA: ago di 21 Gauge → cilindro di tessuto di 2 cm. *ECO o TAC-guidata* → lesioni focali e masse profonde (mammella, polmone, prostata). Le agobiopsie stereotassiche sono biopsie mirate che richiedono elevata precisione, atte al prelievo di campioni di masse cerebrali o lesioni mammarie ridotte; *a cielo coperto* → *fegato, rene, midollo osseo*.

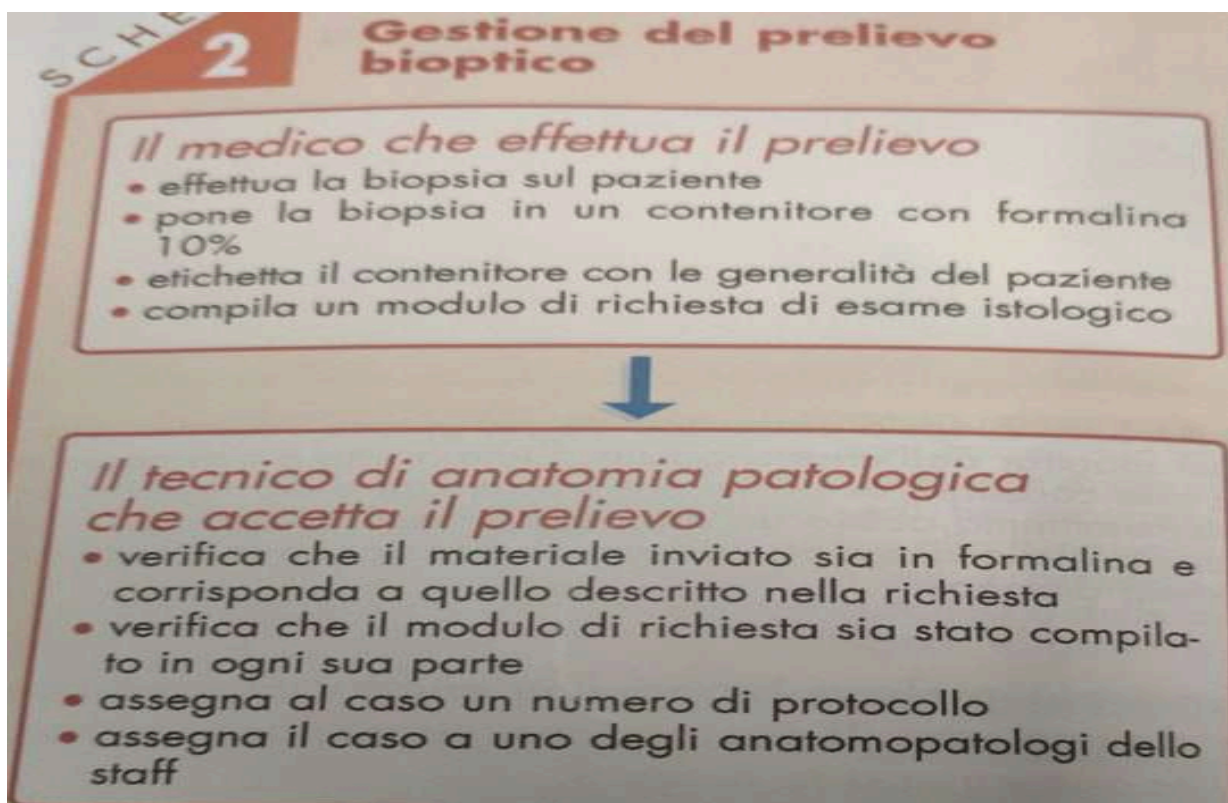
Post-prelievo → inclusione in paraffina e taglio.

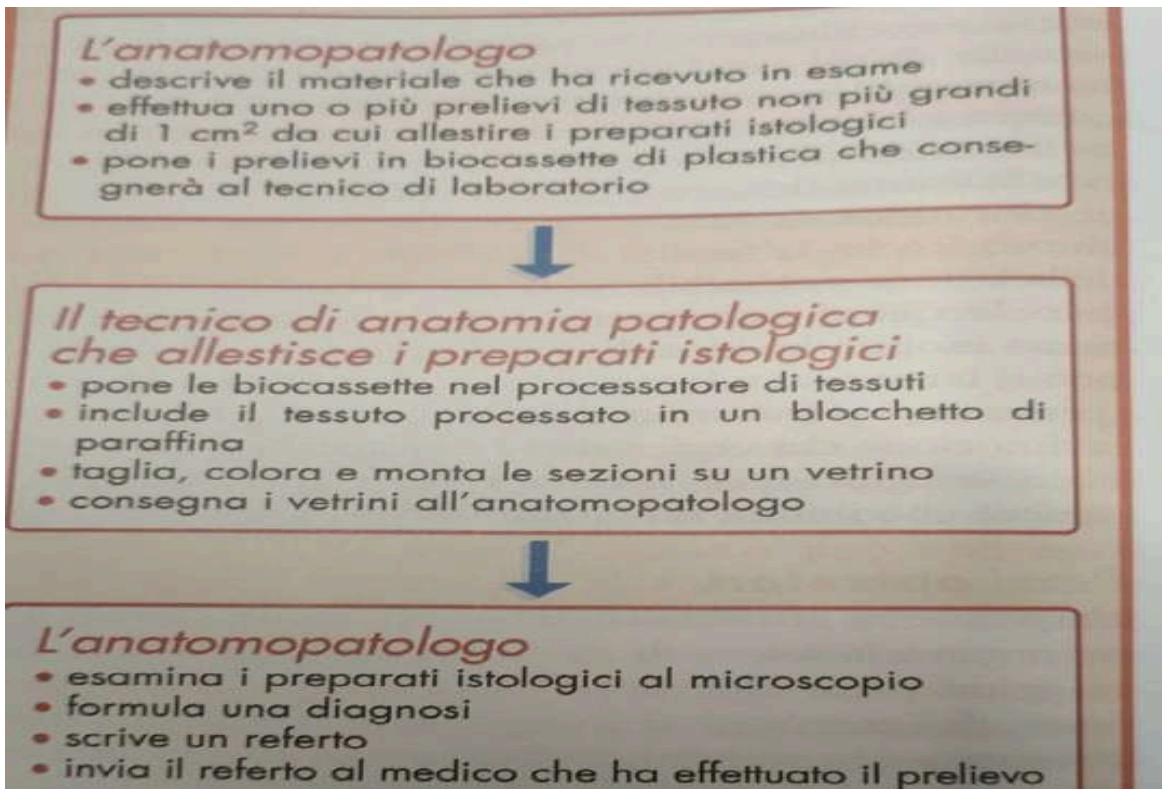
I prelievi agobiottici richiedono dunque siringhe di calibro maggiore rispetto a quelle utili per agoaspirato; il prelievo da agoaspirato, inoltre, può essere direttamente strisciato su vetrino.

-BIOPSIA ENDOSCOPICA: ci si serve di una pinza montata ad hoc su un endoscopio. Consente il prelievo di frammenti di pochi millimetri. Circa i distretti in cui è possibile servirsi di tal metodica: GUT, vie respiratorie, vie urinarie, apparato genitale femminile.

-BIOPSIE CHIRURGICHE: laddove sia necessario un intervento chirurgico per prelevare almeno un frammento di tessuto, in sede di diagnosi. Può essere "incisionale" (da lesione non eradicabile; → diagnosi di natura) o "escissionale" (escissione dell'intera lesione. Linfonodi e lesioni pigmentate vanno sempre escisse e mai incise).

-PEZZI OPERATORI: analisi istologica di organi in toto o parte di essi rimossi per scopi terapeutici, specialmente su neoplasie già diagnosticate precedentemente, in sede di diagnosi, con altra metodica biottica. Scopi: conferma della diagnosi, valutazione dell'estensione della lesione.





**Allestimento del vetrino (trattasi del penultimo box della sovrastante immagine)**

-FISSAZIONE: avvenuto l'inserimento del frammento di 1 cm<sup>2</sup> in biocassette, occorre fissare il tessuto. Il fissaggio permette la conservazione dell'architettura istologica nonché citologica, arrestando i fenomeni auto-litici. Può avvenire mediante:

- *A caldo*: molto raro.
- *A freddo*: per esame estemporaneo o per lunga conservazione del tessuto.
- *In formalina*: da non confondere con ciò che viene effettuato dal medico che preleva la biopsia. Qui si parla di reperto già etichettato, analizzato macroscopicamente, tagliato in sezioni di 1 cm<sup>2</sup> e incluso in cassette. La formalina, idrofila e quindi capace di permeare attraverso i tessuti, crea ponti tra le strutture secondarie delle proteine, fissandone e bloccandone l'attività (→no fenomeni autolitici); immobilizza anche i batteri, impedendo la putrefazione del tessuto.

-PROCESSAZIONE: tale tappa rende possibile la realizzazione della successiva, l'inclusione in paraffina. Poiché la paraffina non è idrofila, occorre privare i tessuti della propria rilevante quota idrica. La processazione è quella tappa che provvede a questo. Si compone di:

1. *Disidratazione*: immersione in etanolo a concentrazioni crescenti → sostituzione dell'acqua con l'alcol;
2. *Diafanizzazione*: sostituzione dell'etanolo con lo xilolo. Si sostituisce così l'alcol con una soluzione in grado di fungere da solvente per la paraffina.
3. *Permeazione*: il tessuto è fatto stazionare in una vaschetta metallica contenente paraffina liquida a 56°C per permetterne l'impregnazione.

-INCLUSIONE IN PARAFFINA: completamento del bagno in paraffina + posizionamento su piastra fredda → solidificazione del blocchetto.

-TAGLIO: tramite microtomo.

-SPARAFFINATURA: la paraffina è idrofoba e non consentirebbe l'imbibizione del preparato con i coloranti, acquosi o alcolici.

-COLORAZIONE:

**Box – Colorazioni**

- Ematossilina – Eosina: la più usata, ematossilina è basica e colora i nuclei di blu, eosina è debolmente acida e colora il citoplasma di rosa
- PAS (colorazione con acido periodico di Schiff): si colora in rosso magenta il glicogeno, le mucosostanze neutre, le membrane basali, molti funghi e parassiti
- Ziehl-Neelsen: colora batteri alcol-acido resistenti in rosso brillante. E' molto utile nella diagnosi di tubercolosi
- Rosso Congo: colora i depositi di sostanza amiloide e ne accentua la colorazione bifrangente verde mela quando osservati a luce polarizzata
- Gomori (colorazione reticolinica): colora le fibre reticolari (soprattutto collagene tipo III) e le membrane basali. E' usata per evidenziare le fasi iniziali di malattie fibrosanti quali la cirrosi epatica e la fibrosi del midollo osseo
- Blu di Prussia (colorazione di Perls): colora di blu intenso i pigmenti contenenti ferro (es. emosiderina). E' utile per evidenziare accumuli di ferro come nell'emosiderosi
- Giemsa: usata nella patologia linfatica evidenzia bene H.Pylori e Leishmania • Gram: usata per i batteri

dopo queste tappe è possibile effettuare l'osservazione, al MO o al ME.

**Diagnosi intraoperatoria**

Consente di effettuare una diagnosi nel corso di un intervento in 20 minuti. Indicazioni: identificazione di neoplasia maligna in modo da poter infiltrare in un solo tempo operatorio anche i tessuti vicini, probabilmente infiltrati; operabilità.

Il tessuto è fissato a freddo ed è tagliato con criostato (microtomo che funziona a -25°C).

**CITOLOGIA DIAGNOSTICA**

Studio delle caratteristiche morfologiche della cellula.

**Raccolta**

La citologia può essere:

-ESFOLIATIVA: studio delle cellule che si distaccano dal tessuto d'appartenenza. A sua volta può essere: diretta (raccolta di cellule già esfoliate presenti nel liquido/pleurico/urine/espettorato...) o indiretta (il distacco è favorito da: abrasione come nel Pap Test; spazzolamento come nei bronchi; lavaggio tramite un getto; apposizione appoggiando un vetrino ad un frammento di tessuto come avviene per raccogliere cellule da linfonodo sentinella).

AGOASPIRATIVA: siringa → aspirazione → posizionamento su vetrino → scorrimento sul primo vetrino di un secondo vetrino. Può essere effettuata a mano libera o TAC/ECO/ecoendo-guidata.

**Allestimento**

Il materiale ottenuto per aspirazione od esfoliazione viene posto sul vetrino utilizzando una delle seguenti strategie:

-STRISCIO: da citologia aspirativa → goccia su un vetrino e posizionamento di un secondo vetrino sul primo → fissazione con etanolo al 95% per le colorazioni di base od essiccamento all'aria per altre. Da citologia esfoliativa di urine e versamenti → centrifuga del materiale → prelievi di sedimento e strisciamento su vetrino → fissazione con etanolo → colorazione con metodo di Papanicolau e se possibile → cell block. Da citologia esfoliativa per abrasione o spazzolamento → striscio su vetrino con spatola → fissazione in etanolo → colorazione di Papanicolau.

-STRATO SOTTILE: raccolta del materiale in contenitori con etanolo → prelievo e posizionamento delle cellule computerizzati → isolamento, visibilità, attendibilità migliori e minor tracce di muco.

-CELL BLOCK: raro. Il materiale prelevato, centrifugato, è sospeso in etanolo ed eosina. Il tutto è incluso poi in parafina.

-FILTRAZIONE A MEMBRANE POROSE: applicabile a tutti i campioni fluidi a bassa densità cellulare. Il materiale ottenuto è trasferito su un vetrino posto su supporto freddo (→ +adesione).

-CITOSPIN: si usa sul liquor. Permette sistemazione di cellule da campioni a bassissima densità.