

Sbobbature Anatomia Patologica

- Parte Generale

Origini ed evoluzione dell'Anatomia patologica: Morgagni e Virchow ... pag 2

Sbobbature 2015/16

- Riscontro diagnostico ... pag 3
- Citologia diagnostica ... pag 7
- Tecniche di patologia molecolare e ultrastrutturale ... pag 10
- Danno e adattamento cellulare ... pag 13
- Infiammazione acuta e cronica ... pag 14
- Patologia di origine vascolare ... pag 15
- Iperplasia, metaplasia e neoplasia ... pag 16
- Focus on: cancro della cervice e pap test ... pag 26
- Tecniche: Immunoistochimica pag ... 28
 - Immunoenzimatica pag ... 31
 - Profili Immunofenotipici pag ... 33
 - Ibridazione in situ pag ... 34
 - Citofluorimetria pag ... 36
 - PCR pag ... 38

ADE Anatomia Patologica

- Tecniche autoptiche ... pag 40
 - Ruolo dell'anatomo patologo ... pag 45
 - Processazione del campione ... pag 46
- Esame estemporaneo ... pag 52
 - Tecniche varie ... pag 55
 - Excursus sullo studio dei linfomi e sarcomi ... pag 57
 - Colorazioni ... pag 64
 - Caratterizzazione istologica ... pag 71
 - Linfonodo sentinella ... pag 73
- Tumori rari ... pag 75

Sbobbatura 2016

- Generalità ... pag 76
- Riscontro diagnostico ... pag 78
 - Fenomeni cadaverici ... pag 80
 - Autopsia perinatale ... pag 82
- Adattamenti cellulari ... pag 85
- Infiammazione ... pag 103
- Infiammazione cronica + pap test (prof.ssa Costanzo) ... pag 112
 - Continuo* Pap test ... pag 123

Integrazione

- Angiogenesi ... pag 131
- Oncogeni ... pag 131
- Oncosoppressori ... pag 137

NB: Per il file sono state utilizzate le fonti citate sulle varie guide (principalmente quella del 05/19): Sbobbatura 2015/16; Sbobbatura 2016/17; Sbobbature di patologia generale; Internet; appunti 2019/20

Origini ed evoluzioni dell'Anatomia Patologica *Morgagni e Virchow*

Giovanni Battista **Morgagni** è il padre della medicina moderna grazie alla introduzione del metodo anatomo-clinico. L'innovazione del metodo morgagniano consiste nella correlazione tra alterazione patologica dell'organo, fenomenologia clinica e causa di quel preciso stato morboso. In pratica Morgagni rivisitò il concetto e la mission dell'anatomia patologica, attribuendole un significato clinico con una importante ricaduta sulla cura dei pazienti. L'anatomia patologica moderna vede nel referto istopatologico, elaborazione ed atto diagnostico complesso ed articolato, che richiede precise e profonde conoscenze dell'anatomia macroscopica e microscopica, il momento culminante nel quale vengono riassunte tutte le informazioni essenziali per la gestione terapeutica del paziente. Questo assunto è particolarmente vero se si considera che la moderna terapia oncologica è basata sulla valutazione di fattori prognostici (eventi attesi come il tasso di recidiva e di mortalità) e di fattori predittivi (risposta della malattia ai diversi trattamenti terapeutici). A questo proposito, l'immunoistochimica prima e la diagnostica molecolare ora, sono strumenti nelle mani del patologo atti ad una migliore e più fine definizione diagnostica. In particolare, la patologia molecolare correla i profili geno-fenotipici dei tumori con i parametri clinico-patologici pertinenti, identificando bersagli adeguati da utilizzare per migliorare, non solo l'aspetto diagnostico, ma anche il trattamento dei pazienti. L'ambito attuale è quello della medicina di precisione e delle terapie personalizzate, obiettivo raggiungibile attraverso il corretto uso delle tecnologie a disposizione, competenze eccellenti e l'inserimento dell'anatomo-patologo all'interno dei team multidisciplinari di patologia. Aspetto non secondario è il ruolo fondamentale esercitato dalla anatomia patologica nella anticipazione diagnostica/diagnosi precoce dei tumori nell'ambito dei Programmi di Screening e non solo. Tale ruolo attiene alla cosiddetta prevenzione secondaria dei tumori. Ad oggi conosciamo più di 200 istotipi tumorali suddivisi per i vari organi, ma il numero degli stessi è destinato ad aumentare in modo esponenziale grazie all'utilizzo delle moderne tecnologie in campo biomolecolare. Il presente e il prossimo futuro segneranno un cambiamento epocale nella classificazione dei tumori, che, da una definizione morfologica, esiterà in una sottotipizzazione molecolare estremamente complessa. La conseguenza di ciò sarà la necessità di dedicare i patologi alle varie patologie d'organo, limitandone il raggio d'azione e focalizzando la loro attività solo ad alcune patologie d'organo al fine di ottenere competenze specifiche di eccellente livello. Questa visione attuale ed estremamente moderna del ruolo della anatomia patologica era stata tracciata ed anticipata da Morgagni nel 1700 quando egli già parlava di patologia d'organo, correlando le alterazioni dei visceri alla sintomatologia e alla eziologia di quella data patologia di quel particolare distretto dell'organismo umano. Da qui, ma non solo da questo, si evince la grandezza del Morgagni scienziato e medico. Con Morgagni l'anatomia patologica, fino allora trascurata e quasi non esistita, assunse la più alta dignità; egli indicò un nuovo modo di studio, con l'importanza di collegare sempre, con ragionamento preciso, i fenomeni clinici osservati nel malato, con i reperti autoptici quando il caso si concludeva con il decesso del paziente, e questo doveva essere fatto da un clinico esperto, che conosca bene l'anatomia, e sappia osservare attentamente le alterazioni presenti nei vari organi. Berlino 1849, **Virchow** assunse a Würzburg, con l'aiuto di alcuni personaggi di spicco, in particolare l'ostetrico Friedrich Wilhelm Scanzoni von Lichtenfels, la prima cattedra di anatomia patologica in Germania, appositamente creata per lui. Fu qui che, allontanatosi da preoccupazioni politiche di Berlino, trascorse sette anni particolarmente felici e prosperi: iniziò i suoi studi di antropologia e pose le basi per la successiva fondazione della patologia cellulare. Intuì infatti che una teoria cellulare che postulava la formazione di cellule da altre cellule e non da materiale amorfo, avrebbe potuto ampliare gli orizzonti della Medicina e dare una nuova visione dei processi patologici. Curò inoltre un annuario tedesco raffigurante i progressi della medicina. Nel 1846 Virchow, appena venticinquenne, si pose pubblicamente in contrasto con Karl von Rokitansky, famoso patologo viennese, che nel suo "Manuale di Anatomia Patologica" affermava che la formazione delle cellule avvenisse nel blastema e che dunque le malattie non sono altro che conseguenze di discrasie, responsabili della formazione di cellule malate. Virchow però forte delle sue ricerche effettuate di ogni tipo di tessuto decretò falsa e insostenibile questa teoria. *"di fornire un panorama della natura cellulare di tutte le forme viventi, di quelle fisiologiche e patologiche, di quelle animali e vegetali, e di richiamare nuovamente alla coscienza l'unità della vita in tutte le forme organiche, contrariamente alle unilaterali tendenze umorali e neurali, che si erano tramandate dai miti dell'antichità fino ai giorni nostri e di contrapporre contemporaneamente l'interpretazione anch'essa unilaterale di una tendenza di meccanica grossa e chimica alla meccanica fine e alla chimica della cellula"*. Era questo un ulteriore tassello che si andava ad aggiungere agli sforzi compiuti da Giovanni Battista Morgagni, il fondatore dell'anatomia patologica, nella patologia organica, da William Cullen nella patologia neurale, e da Marie François Xavier Bichat nella patologia tessutale, per allontanarsi dalla concezione umorale ippocratica e galenica. La sua teoria "omnis cellula e cellula" ('ogni cellula deriva da una cellula madre'), che a onor del vero non fu coniata da lui, ma dal naturalista e politico francese François Vincent Raspail, divenne ben presto il nuovo motto della neofondata teoria sulle malattie. Il nome di Virchow è internazionalmente legato alla patogenesi della trombosi, su cui pubblicò un trattato nel 1845, e ancora oggi mantiene la sua validità la cosiddetta "triade di Virchow", secondo la quale la trombosi venosa è attribuibile alla presenza di tre eventi: riduzione del flusso del sangue, alterazione della parete del vaso sanguigno e ipercoagulabilità. Virchow fornì inoltre ulteriori prove sperimentali sul processo di infiammazione, anche se erroneamente respinse la teoria della migrazione dei leucociti, e introdusse la concezione moderna sulla degenerazione amiloide, o amiloidosi. Parlando di patologia cellulare e di Virchow non si può poi non nominare il suo trattato monografico "I tumori patologici". In netto contrasto con la concezione di tumore del suo tempo, combatté contro l'importanza delle discrasie. Se infatti la formazione dei tumori, indipendentemente dalla loro localizzazione nel corpo, veniva ricondotta ad un'alterazione degli umori, allora ogni intervento chirurgico era inutile. La concezione di Virchow invece ridava importanza alla chirurgia, anche se era errata nella trattazione dei tumori multipli o metastasi, dove parlò di infezione, a causa di una sostanza tossica diffusa attraverso il sangue o i vasi linfatici. Il progresso della Medicina grazie a Virchow può essere ricondotto a tre fonti principali:

- 1) le osservazioni cliniche, compreso l'esame del paziente con l'ausilio di metodi fisico-chimici,
- 2) la sperimentazione sugli animali per lo studio dei farmaci,
- 3) l'anatomia patologica, in particolar modo a livello microscopico.

L'AUTOPSIA (*riscontro diagnostico*)

Detta anche *riscontro diagnostico necroscopico*, è un esame dettagliato condotto sul cadavere e gli organi interni per formulare una diagnosi sulla causa di morte (principalmente); può essere utilizzata anche per determinare gli effetti di terapie farmacologiche effettuate in vita, caratterizzare gli aspetti morfologici di nuove malattie, indagare su malattie infettive al fine di evitare il contagio, analizzare feti malformati o usata come sostegno didattico per gli studenti delle facoltà scientifiche.

Regolamentazione giuridica della disciplina necroscopica

- I medici curanti sono obbligati a comunicare al comune la causa di morte dei propri assistiti. Se il deceduto non usufruiva di assistenza medica, sarà il medico *necroscopo* nominato dall'ASL a denunciare la causa di morte. Se l'esame esterno del cadavere non è sufficiente a formulare una diagnosi → autopsia.
- L'autopsia è effettuata dall'anatomo patologo. Al termine dell'analisi il cadavere viene ricomposto e si redige una relazione dei risultati diagnostici da inviare al direttore sanitario o della casa di cura e in seguito al comune per la compilazione della scheda di morte che viene poi inviata all' ASL.
N.B. L'autopsia è obbligatoria per i pazienti privi di assistenza medica, morti e poi trasportati in ospedale; è facoltativa in tutti gli altri casi; non richiede il consenso dei familiari. Eccezione fa la morte inaspettata del feto e la sindrome della morte improvvisa del lattante (SIDS) in cui è necessario il consenso dei genitori.
- Se per la morte di una persona sorge il sospetto di reato, il medico mette a disposizione il cadavere alle autorità giudiziarie (*autopsia giudiziaria, è effettuata dal medico legale*). L'autopsia deve essere praticata non prima di 24 ore dal decesso.

Prelievo di fluidi biologici per analisi microbiologiche e tossicologiche

- analisi microbiologica: campioni ematici vengono prelevati dalle cavità cardiache, urina dalla vescica, liquor dal SNC con una siringa; i campioni vengono posti immediatamente a 4°C e inviati al laboratorio di analisi
- analisi tossicologica: campioni ematici vengono prelevati dalle vene periferiche perché il sangue nelle cavità cardiache può essere contaminato post mortem da sostanze farmacologicamente attive presenti nel tubo digerente. L'esame delle urine è utile per l'analisi della maggior parte delle sostanze tossiche, il prelievo è uguale a quello microbiologico; nella bile si ricercano in particolare clorpromazina, morfina e metalli pesanti, il prelievo è effettuato con una siringa senza ago dopo incisione della colecisti. Viene analizzato anche tutto il contenuto gastrico.

Prelievo di tessuti per le indagini microscopiche e biomolecolari

- microscopiche
- biomolecolari: tessuti prelevati sono congelati rapidamente con isopentano, raffreddati in azoto liquido e conservati in congelamento a -80°C. La milza essendo ricca di linfociti è il campione ideale per l'estrazione del DNA.

Autopsia fetale e perinatale

Dovrebbe essere effettuata in questi casi:

- affinamento delle tecniche di diagnostica in utero: l'accuratezza dei dati ecografici o di risonanza magnetica è correlato con i risultati dell'autopsia, soprattutto in un soggetto con sindrome malformativa ereditaria
- rapida evoluzione della neonatologia e della medicina fetale.

Fasi dell'autopsia

1. esame esterno
2. apertura ed eviscerazione
3. descrizione a cui segue la diagnosi anatomopatologica

4. epicrisi: interpretazione complessiva dell'autopsia, si propone di individuare la causa terminale dell'exitus (diagnosi di morte), la malattia iniziale (causa primaria dell'exitus) ed eventuali altre patologie associate.

LA DIAGNOSI ISTOLOGICA

La biopsia tissutale

Biopsia tissutale: prelievo di tessuto finalizzato all'allestimento di un preparato istologico (o vetrino) su cui porre una diagnosi istologica. Ne esistono diversi tipi:

Agobiopsia

Effettuata con aghi a scatto (calibro 21 Gauge) per prelevare un cilindro di 2 cm. Può essere:

- Eco o TAC-guidata (lesioni focali): con l'ausilio di ecografia o TAC per analizzare masse profonde in mammella, polmone, prostata. Un tipo particolare di Tac-guidate sono le *agobiopsie stereotassiche*, prelievi mirati di elevata precisione, si usano per prelevare masse cerebrali o piccole lesioni mammellari;
- A cielo coperto: senza ausilio di strumenti guida, si effettuano su fegato, rene e midollo osseo per analizzare patologie diffuse (es. cirrosi, glomerulonefriti)

N.B. Differenza con agoaspirato: in questo la siringa più piccola e il campione prelevato è già pronto per essere posto su vetrino, il prelievo con agobiopsia deve invece essere prima incluso in paraffina e poi tagliato.

Biopsia endoscopica

I frammenti di tessuto (di pochi millimetri) si prelevano con una pinza biottica montata su un endoscopio a fibre ottiche. E' molto usata per le malattie dell'apparato digerente, respiratorio, vie urinarie, apparato genitale femminile.

Biopsie chirurgiche

E' necessario un intervento chirurgico per prelevare il frammento di tessuto.

- Biopsia incisionale: prelievo chirurgico di un frammento di tessuto da una lesione non resecabile, è fatta per diagnosticare la natura della lesione e così impostare una terapia;
- Biopsia escissionale: prevede l'escissione dell'intera lesione. E' fatta per diagnosticare la natura della lesione e confermare la completezza della resezione. *Le lesioni pigmentate, così come i linfonodi, non vanno mai incisi, ma escissi, perché la diagnosi va fatto osservando l'intera struttura della lesione.*

Pezzi operatori

Prevede l'asportazione di un organo in toto o di parti di esso; si esegue durante interventi chirurgici che hanno fini curativi, e specialmente su organi con neoplasie maligne diagnosticate precedentemente con biopsia endoscopica o agobiopsia. Lo scopo è per confermare la natura e l'estensione della lesione.

Gestione del prelievo bioptico

1. Il medico che effettua il prelievo:

- effettua la biopsia sul paziente
- pone una biopsia in un contenitore con formalina 10%: *in alcuni casi può essere saltato questo passaggio ed inviare "a fresco" il campione in laboratorio quando ad esempio si deve congelare il campione per successive caratterizzazioni biomolecolari,*
- etichetta il contenitore con le generalità del paziente
- compila un modulo di richiesta di esame istologico (contiene anche la descrizione del campione)

2. Il tecnico di anatomia patologica che accetta il prelievo:

- verifica che il materiale inviato sia in formalina e corrisponda alla descrizione nella richiesta d'esame
- verifica che il modulo di richiesta sia completo
- assegna al caso un numero di protocollo
- assegna il caso ad un anatomopatologo

3. L'anatomopatologo

- descrive il materiale ricevuto in esame

- effettua prelievi di tessuti non più grandi di 1cm² da cui allestire preparati istologici (*riduzione del pezzo*); per tessuti come l'osso bisogna effettuare prima processi di decalcificazione, poi vengono tagliati;
- pone i rilievi in biocassette di plastica che consenta al tecnico di laboratorio

4. Il tecnico di anatomia patologica che allestisce i preparati

- pone le biocassette nei processori di tessuti
- include il tessuto processato in paraffina
- taglia, colora e monta le sezioni su vetrino
- consegna i vetrini all'anatomopatologo

5. L'anatomopatologo

- esamina i preparati al microscopio
- formula una diagnosi
- scrive un referto
- invia il referto al medico che ha effettuato il prelievo.

Allestimento di preparati istologici

Preparato istologico (o vetrino): lama di vetro su cui è posta una sezione istologica.

Fasi di allestimento:

- 1. Fissazione:** ha la funzione di preservare la morfologia tissutale e cellulare; infatti si bloccano i processi autolitici post-mortem. Può avvenire con metodi fisici: a caldo (molto raro), a freddo (si effettua per l'esame estemporaneo o per conservare il campione per un tempo indefinito, inoltre si evitano molti dei traumi che si hanno con la fissazione chimica) si usa solo nel 1-2% dei campioni. Nella maggior parte dei casi il metodo di fissazione è chimico: il preparato è fissato in *formalina 10%* (detta anche formaldeide 4%). Questa crea dei ponti tra le strutture secondarie delle proteine, fissandole e bloccandone l'attività enzimatica → blocco della degradazione tissutale. Fissa in questo modo anche i batteri → blocco putrefazione. La formalina è una soluzione acquosa quindi penetra bene nei tessuti contenenti acqua, la fissazione dura moltissimi anni. Il tempo di fissazione varia a seconda dei tessuti. Può avvenire mediante processi fisici o chimici.
- 2. Processazione:** il frammento biotipico deve essere incluso in *paraffina* per essere tagliato. La paraffina non è miscibile nell'acqua (che si trova in tutti i tessuti); per consentire la permeazione del tessuto con la paraffina è necessaria prima una:
 - disidratazione: immersione in *etanolo* a concentrazioni crescenti → H₂O sostituita da alcol
 - diafanizzazione: l'*etanolo* viene sostituito da *xilolo* che è un solvente della paraffina
 - permeazione: il tessuto viene fatto stazionare in paraffina liquida per impregnarlo
- 3. Inclusione in paraffina:** il tessuto viene posto in una vaschetta metallica contenente paraffina; tutto è posto su una piastra fredda. La paraffina si raffredda → si solidifica; il blocchetto contenente il tessuto è così pronto per il taglio
- 4. Taglio delle sezioni istologiche:** lo strumento usato è il microtomo che può essere:
 - rotativo: la lama è fissa e il blocco va su e giù (più frequentemente usato)
 - a slitta: la lama è mobile e il blocco è fisso. I preparati tagliati vengono separati, inserendoli in acqua calda. Da un'inclusione si tagliano più sezioni che vanno su un unico vetrino per avere un quadro completo.
- 5. Colorazione:** i coloranti sono soluzioni acquose o alcoliche, perciò si deve eliminare la paraffina che è idrofoba → *sparaffinatura*.