



HISTOLOGIJA

UVOD U HISTOLOGIJU

HISTOLOŠKI LABORATORIJ I HISTOLOŠKE TEHNIKE

- osnovni cilj i svrha histoloških tehnika je pripremiti i obojiti tkivo tako da se dobije što vjerniji prikaz staničnih elemenata uz što manji gubitak strukture
- Red postupaka u histološkom laboratoriju:
 1. preuzimanje materijala (priprema za procesuiranje)
 2. Fiksiranje tkiva
 3. Dehidriranje tkiva
 4. Uklapanje tkiva (procesuiranje)
 5. Rezanje, bojenje i pokrivanje preparata
- najvažnije je zapamtiti da se radi o jedinstvenom materijalu koji je najčešće neponovljiv (ne može se ponovo uzeti identični uzorak tkiva) te ga treba pažljivo tretirati da se ne uništi

VRSTE MATERIJALA

- A) biopsijski materijal
- B) endoskopski materijal (sitni komadići, najčešće sluznice probavnih organa dobivene gastrokopijom i kolonoskopijom)
- C) materijal sa obdukcija
- D) tkivo eksperimentalnih životinja

PODJELA MATERIJALA PO REDU VAŽNOSTI:

1. *intraoperativne (hitne) biopsije*
 2. *rutinske biopsije- operativni uzorci*
 3. *obdukcijski materijal*
 4. *eksperimentalni materijal*
1. *Intraoperativne (hitne) biopsije*
 - patolog preuzme uzorak donesen direktno iz operacijske sale, a tehničar zapisuje opis uzorka i odmah izrađuje preparat
 2. *Rutinske biopsije i operativni uzorci*
 - patolog preuzima materijal, a tehničar zapisuje opis materijala, bilježi način orijentiranja i posebne zahtjeve u obradi i bojenju
 3. *Obdukcijski materijal*
 - ne mora biti odmah obrađen, manje je zahtjevna obrada
 4. *Eksperimentalni uzorci*
 - nižeg su reda hitnosti, zahtjevaju vrlo usku suradnju patologa i tehničara

1) PREUZIMANJE MATERIJALA

- u preuzimanju surađuju liječnik patolog i tehničar laborant
- patolog diktira tehničaru opis primljenog uzorka tkiva, uzima uzorke koji su najpodobniji za obradu te objašnjava tehničaru na koji način želi da se uzorci obrade i koja posebna bojenja treba provesti
- svaki materijal treba pratiti odgovarajuća uputnica s osobnim podacima pacijenta, dijagnozom i vrstom uzetog materijala uz potpis operatera

2) FIKSIRANJE TKIVA

- upotrebljavaju se kemikalije koje zovemo fiksativi, a većina tkiva u laboratorij dolaze u fiksativu, osim onih koja se obrađuju svježa (npr. tkiva za hitne biopsije)
- neadekvatno ili slabo fiksirano tkivo ne može proći postupak obrade i izgubljeno je za analizu
- **Pravila fiksacije:** fiksativa mora biti u dovoljnoj količini (20 puta više od volumena tkiva koje se fiksira), najprije se u posudu stavlja fiksativ, a potom tkivo, posuda u kojoj se tkivo fiksira mora biti dovoljno velika da ne dođe do deformacije tkiva. fiksativ se vremenom troši pa kod velikih komada tkiva ga treba promijeniti nakon 24 sata, prevelika koncentracija fiksativa može "spržiti" materijal pa treba paziti na pravilno razrijeđenje, tkivo treba čim prije staviti u fiksativ da se spriječe procesi raspadanja, posuda mora biti adekvatna za transport, treba paziti na otvor posude jer neki fiksativi dovode do skvrčavanja, a drugi do širenja tkiva pa se materijal ne može izvaditi

NAJČEŠĆI FIKSATIVI:

- Formalin (40% vodena otopina plina formaldehida) - najčešće se koristi 10% formalin- koristi se za sva tkiva, postoje slijedeći oblici: nepuferirani, neutralni, puferirani i Kaisering (za muzejske preparate- fiksira se oko 14 dana)
 - nepuferirani stvara talog, puferirani ne stvara talog pa je bolji za stanične detalje
- Glutaraldehyd - koristi se uglavnom za tkiva u elektronskoj mikroskopiji, koristi se puferiran
- Živin klorid – najbolji fiksativ za hematopoetska i retikuloendotelna tkiva
- Kalijev dikromat- pogodan je za histokemijske reakcije
- Osmijev tetroksid- vrlo je skup, koristi se gotovo isključivo u elektronskoj mikroskopiji, za pojedinačne stanice i male uzorke tkiva
- Trikloroocetna kiselina- koristi se za dekalciniranje okoštalih tkiva
 - osim njih rijede se koriste kromna kiselina, pikrinska kiselina, etilni alkohol i aceton, obično u kombinacijama s drugim fiksativima

FIKSIRANJE PARAMA

- Koristi se kod smrznutih rezova svježeg tkiva, ne upotrebljava se u rutinskoj upotrebi, već za histokemijske reakcije i tada se najčešće koriste pare formaldehida

FREEZE-DRYING (sušenje smrzavanjem)

- Postupak koji zamjenjuje fiksaciju, potrebna je skupa tehnika pa se ne koristi u rutinskom radu

3) DEHIDRACIJA

- Tkivo prije uklapanja u parafin treba dehidrirati što se obično provodi etilnim alkoholom sve veće koncentracije (uzlazni red) – započinje se sa 70% (50% kod vrlo osjetljivih tkiva), nastavlja sa 90% te potom 100%
- svaki se alkohol mijenja tri puta i u svakoj otopini tkivo stoji 1-2 sata (za uzorke tkiva debljine do 7 mm, za veće i deblje dehidracija traje duže)
- Iza postupka dehidracije, a prije uklapanja u parafin, uzorci tkiva se stavljaju u **intermedij** koji služi za bistrenje
- Najbolji su kao intermediji: *benzen*, *toluen* i *ksilen*, te *derivati jestivog ulja*
- *Benzen* se najrijeđe koristi jer je izrazito toksičan, dok su *toluen* i *ksilen* manje toksični pa se najčešće koriste, naravno uz odgovarajuće mjere zaštite
- *Derivati jestivog ulja* su najmanje toksični, ali najskuplji i tehnički komplicirani za upotrebu pa se ne koriste rutinski

4) IMPREGNACIJA PARAFINOM I UKLAPANJE

- Vrijeme prožimanja parafinom je izrazito važno, jer ukoliko se tkivo provede kroz premali broj promjena parafina, uzorak će ostati sirov te se neće moći rezati i pripremiti za očitavanje
- bitna je i vrsta tkiva, gusta tkiva (npr. mozak) zahtjevaju dvostruko duže vrijeme prožimanja parafinom od jetre ili bubrega, dok tkiva koja sadrže mnogo krvi zahtjevaju kraće vrijeme prožimanja
- većina intermedija zahtjeva 2-3 promjene parafina
- proces prožimanja parafinom najčešće se odvija pomoću uređaja za procesuiranje **histokineta** u kojem se u košarice ili kazete stavljaju uzorci tkiva koji se kroz rupice na košaricama (kazetama) prožimaju kemikalijama

UKLAPANJE

- prenošenje prožetog tkiva u tekući parafin koji se nalije u kalup te se hlađenjem pretvara u kocku ili blok
- tkivo se utiskuje u kocku parafina dok je on još tekući
- potom se kocka označi naljepnicom na kojoj je napisan broj uzorka
- nakon toga se kocke stavljaju u frižider na hlađenje i kad se u potpunosti ohlade s njih se skida kalup i potom se režu

5) REZANJE, BOJENJE I OČITAVANJE

- da bi se tkivo moglo gledati pod mikroskopom treba ga učiniti prolaznim za zrake svjetlosti (kod svjetlosnog mikroskopa) ili snop elektrona (kod elektronskog mikroskopa)
- osnovni cilj je izraditi jednoliki, tanki preparat, bez pukotina i pruga
- preparati se režu na uređaju koji se zove **mikrotom**
- **mikrotom** se sastoji od držača preparata (stolića), držača noža s nožićem te naprave koja omogućava približavanje preparata nožiću
- debljina reza morala bi se kretati oko 4 mikrona, dok se jako celularna tkiva (npr. limfni čvorovi) režu na 2 mikrona
- tipovi mikrotoma: rotacioni, klizni (najčešći), vibracioni (za histokemiju i imunohistokemiju), mikrotom za smrzavanje ili kriostat (u postupku se koristi tekući dušik- smrzavaju se tkiva za intraoperativne biopsije na -40 C), ultramikrotom (za izradu vrlo tankih rezova- obično u znanstvene svrhe)

SMRZNUTI REZOV I

- ova tehnika upotrebljava se kad je potrebno hitno izraditi preparat ili kad treba dokazati neku tvar ili stanični element koji se rutinskom obradom gubi (npr. masti, enzimi, antigeni)
- u rutinskom radu često treba hitno izraditi preparate tijekom operativnog zahvata, a takve se biopsije nazivaju *intraoperativne* ili *hitne biopsije*
- za izradu rutinskih preparata potrebno je najmanje 24 sata, dok se hitni preparati izrađuju u vremenu od 5-15 minuta. kriostatskom tehnikom
- pregledom hitne biopsije potrebno je odgovoriti na pitanja je li tumor zloćudan ili dobroćudan, dopire li do rubova uzorka ili se širi izvan granica uzorka
- danas se tkiva mogu prije smrzavanja podvrgnuti djelovanju fiksativa koji u kratkom vremenu uništavaju virus HIV-a
- tkiva se moraju smrzavati brzo, jer sporo smrzavanje dovodi do stvaranja velikih, nepravilnih kristala koji kidaju tkivo
- brzo smrzavanje postiže se primjenom tekućeg dušika, ugljik-dioksida ili suhog leda
- tehnika rada: smrznuto tkivo se pomoću vode ili želatine lijepe za stolić, smrzavanjem se fiksira za stolić te potom reže pomoću smrzavajućeg mikrotoma
- postoje tri debljine rezova: ultratanki (50nm), polutanki (0.5-2 u) te tanki (10 u)
- kriostatski rezovi potom se pohranjuju u plastičnoj posudi u frižideru

BOJENJE U HISTOPATOLOGIJI

- rutinsko bojenje koje se upotrebljava u histopatologiji za prikazivanje jezgre i citoplazme naziva se "*hematoksilin-eozin*" ili *HE-metoda*
- tom metodom jezgre se boje plavo, a citoplazme ružičasto
- hematoksilin je prirodna boja ekstrahirana iz drveta, a da bi postao upotrebljiv mora se oksidirati u hematein
- kako bi postao boja za jezgre hematein se mora vezati s metalima (aluminijem, kromom, željezom)
- najčešće se upotrebljava hematein vezan s aluminijem te nastaje kompleks *hemalaun*
- u histokemiji postoje različite otopine hemalauna kao što su Mayerova, Harrisova, Lilliejeva, Hansenova
- za rutinsko bojenje operativnog materijala upotrebljava se Harrisova otopina, a za obdukcijski materijal Mayerova
- sve otopine osim Lilliejeve moraju se mijenjati svaki tjedan jer se količina hemalauna smanjuje uslijed vezivanja na tkiva
- hemalaun je boja koja "dozrijeva" te nakon pripreme mora "odležati" na svijetlu najmanje 14 dana
- za razliku od hematoksilina, eozin je umjetna boja koja se veže za komponente citoplazme te daje citoplazmi žućkasto-crvenu boju
- osim najčešćeg HE bojenja koriste se i druge metode, npr. Giemsa za prikaz karakteristika jezgre i citoplazme, Feulgeneova reakcija za prikaz jezgrine DNA, Kernechtrot kojim se jezgre boje crveno
- ostale metode za bojenje jezgara: modificirani cresyl fast violet, azure-eozin, Jonesov srebrni metionin, argirofilna tehnika bojenja (sa srebrom)

METODE BOJENJA ZA VEZIVNO TKIVO

- najčešće korištene metode bojenja za prikaz vlakana veziva: Van Gieson, Masson trikrom metoda (Mallory), Pinkusovo bojenje s kiselim orceinom i Giemsom (za kožu), Gomory (za retikulinska vlakna), orcein (za elastična vlakna), Giemsa (za vezivo, bakterije i koštanu srž)

HISTOLOGIJA (NAUKA O TKIVIMA)

EPITELNA TKIVA

- Epitelno tkivo je prvo i osnovno tkivo koje se javlja u najranijem embrionalnom razvoju
- građeno je od stanica koje su gusto poredane u zatvorenom smještaju, a raspoređene su u jedan ili više slojeva stanica
- slobodna površina epitelnih stanica okrenuta je prema vanjskom svijetu (npr. koža) ili prema lumenu šupljeg organa (npr. crijevo, dušnik) *se nastavlja na*
- ispod epitelnih stanica nalazi se bazalna membrana koja ~~prilježe~~ *prilježe* vezivnu podlogu (kad tumorsko tkivo nastalo u epitelu probije bazalnu membranu, karcinom prelazi iz in situ stadija u invazivni karcinom koji ima sposobnost stvaranja metastaza)
- Razlikujemo 3 vrste epitela: a) pokrovni
b) žljezdani
c) osjetni

a) POKROVNI EPITEL

- pokriva površinu tijela te sve slobodne površine u unutrašnjosti tijela, štiti tijelo mehanički od oštećenja, te od isušivanja i drugih štetnih utjecaja
- Kod pokrovnog epitela razlikujemo tri osnovna tipa stanica: pločaste, kubične i cilindrične te prijelazne (mogu biti raspoređene u jedan sloj ili više slojeva)
- Jednoslojni pločasti epitel oblaže npr. najmanje izvodne kanale žlijezda, završne zračne kanaliće te alveole
- specijalni oblici jednoslojnog pločastog epitela su endotel (koji oblaže krvne žile, te unutarnju površinu srca), mezotel (oblaže poplučnicu *na površini pluća*) te mezenhimni epitel (oblaže zglobove, čahure i ovojnice mozga)
- Mnogoslojni pločasti epitel je najčešći i najotporniji, kao koža se nalazi na površini tijela, a oblaže i usnu šupljinu, ždrijelo, jednjak, glasnice i rodnicu
- Jednoslojni cilindrični epitel oblaže probavni sustav od želuca do anusa, lumen jajovoda te maternice
 - Mnogoslojni cilindrični oblaže veće odvodne kanale žlijezda te dio uretre
 - Višeredni cilindrični epitel s trepetiljkama posebna je varijanta cilindričnog epitela koji oblaže najveći dio dišnog sustava
 - Prijelazni epitel oblaže najveći dio mokraćnog sustava

b) ŽLJEZDANI EPITEL

- Specijaliziran je za funkciju sekrecije
- epitelne stanice imaju sposobnost da sintetiziraju i izlučuju tvari koje nazivamo sekreti (npr. hormoni) koje organizam treba za svoje potrebe ili ekskrate, produkte razgradnje koji se odbacuju

c) OSJETNI EPITEL

- sastavni dio osjetnih organa (*oko, uho*)

POTPORNO TKIVO

Zajednički naziv za sva tkiva koja u organizmu imaju mehaničku ulogu

- Sva potporna tkiva izgrađena su od dviju različitih elemenata- stanica i međustanične tvari
- Podjela potpornih tkiva zasniva se na svojstvima međustanične tvari pa razlikujemo:
 - a) VEZIVNO TKIVO
 - b) HRKAVIČNO TKIVO
 - c) KOŠTANO TKIVO

A) VEZIVNO TKIVO

- povezuje kosti u obliku ligamenata i zglobnih čahura, obavija mišiće i spaja ih s kostima, čini stromu unutar epitelnih organa
- **Stanice vezivnog tkiva:** fibrociti, histiociti, leukociti, mastociti, mezenhimske stanice, plazma stanice, masne i pigmentne stanice

Medustanična tvar

- Između stanica nalazi se međustanična tvar, sastoji se od *vezivnih vlakana* i *amorfne tvari*
- a) vezivna vlakna dijele se u tri skupine:
 - kolagena*
 - retikularna*
 - elastična*

- *kolagena vlakna* su najrasprostranjeniji ~~sastavni dio međustanične tvari~~, pretežno su građene od bjelančevine kolagena (zbog specifične molekularne strukture kolagena vlakna pokazuju dvostruki) formiraju snopove
- ~~Do sada je opisano 5 vrsta kolagena (tip I-najčešći, tip II-uglavnom u hrskavici, tip III-najčešće zajedno s tipom I, tip IV- u bazalnoj membrani, tip V-najmanje proučen-~~ nalazi se također u bazalnoj membrani)
-
- *retikularna vlakna*- vrlo tanka, tvore mrežu, otporna na kiseline, lužine i vruću vodu, iz njih mogu nastati kolagena vlakna, pa se retikularna još nazivaju *prekolagena vlakna*
- nalaze se u retikularnom tkivu- limfni čvorovi, slezena, koštana srž)
- *elastična vlakna*- tanja su od kolagenih, ne formiraju snopove, imaju izrazito veliku elastičnost, rastezanjem se mogu produljiti 100-150%, nalaze se u plućima i stijenkama krvnih žila srca
-
- *amorfna tvar*- ispunjava prostor između stanica i vlakana, sastoji se od *osnovne tvari* i *tkivne tekućine*
- *Osnovnu tvar* čine glikozaminoglikani i strukturni glikoproteini (fibronektin, laminin i hondronektin)
- *Tkivna tekućina* je transudat krvne plazme, sadrži bjelančevine, hormone i produkte metabolizma
- preko nje hranjive tvari dopijevaju iz krvi do stanica, a produkti stanica dopijevaju u krv

PODJELA VEZIVNOG TKIVA

- Vezivno tkivo dijeli se na: a) neformirano (rahlo i gusto vezivno tkivo)
- b) formirano (tetive, fibrozne membrane)
- c) vezivno tkivo s posebnim svojstvima (elastično tkivo, masno tkivo, pigmentno tkivo)

B) HRSKAVIČNO TKIVO

- razlikujemo: hijalinu, elastičnu i vezivnu hrskavicu

C) KOŠTANO TKIVO

- građeno je od koštanih stanica (osteoblasti- stvaraju kost, osteoklasti- razaraju kost) i međustanične tvari

MIŠIĆNO TKIVO

sastoji se od vlakana koja imaju izraženu sposobnost kontrakcije

- S obzirom na građu, inervaciju i način kontrakcije, mišićno se tkivo djeli na:
a) glatko, b) skeletno i c) srčano

- *a) glatko mišićno tkivo*: nalazi se u organima koji nisu pod utjecajem naše volje, nego autonomnog živčanog sustava, npr. želudac, crijeva, dušnik, mokraćni mjehur

- *b) skeletno mišićno tkivo*: specijalizirano je za kratkotrajne snažne kontrakcije, to su npr. mišići lica i vrata, ošit, mišići jezika i jednjaka

- *c) srčano mišićno tkivo*: specijalizirano je za snažne ritmične kontrakcije

ŽIVČANO TKIVO

- izgrađuje središnji i periferni živčani sustav

- sastoji se od:

- 1) živčanih stanica, 2) živčanih vlakana i 3) neuroglije

1) živčane stanice: izgrađuju sivu supstancu središnjeg živčanog sustava i ganglije

- 2) živčana vlakna: izgrađuju periferne živce i živčane puteve (bijela supstanca)
- 3) neuroglija: vrši potpornu ulogu i sudjeluje u izmjeni tvari u živčanom tkivu (čini oko 50% volumena mozga)

- najčešće metode: berlinsko modriko (za hemosiderin i melanin), Lill (za željezo), Masson-Fontana (za melanin), Fuscbe (za bilirubin)

IMUNOHISTOKEMIJA

- metode bojenja u imunohistokemiji odgovaraju onima u imunocitokemiji
- uloga joj je vizualizacija tkivnih antigena pomoću brojnih antiseruma u kojima su protutijela koji se vežu na tkivne antigene

više čimbenika utječe na rezultat imunohistokemijskih metoda, a vezani su za:

- fiksaciju i procesuiranje tkiva
- metode demaskiranja antigena
- agense i metode bojenja
- znanje i iskustvo osoblja
- očitanje rezultata

PROTUTIJELA

- pripadaju skupini imunoglobulina koji se stvaraju kontaktom imunološkog sustava sa stranim tvarima (antigenima) te imaju sposobnost vezivanja na antigene koji su izazvali njihovu sintezu

VRSTE IMUNOGLOBULINA

- IMUNOGLOBULIN G- čini tri četvrtine svih imunoglobulina u ljudskoj krvi
- osnovna mu je funkcija neutralizacija virusa i bakterijskih toksina te pospješivanje fagocitoze
- IMUNOGLOBULIN A - drugi je po količini u plazmi i prvi u vanjskim sekretima (sline, suze, vaginalni sekret, bronhalni sekret)
- osnovna mu je uloga zaštita mukoznih površina (sluznica) od virusa i bakterija
- IMUNOGLOBULIN M- glavno protutijelo u primarnoj reakciji
- IMUNOGLOBULIN D- nalazi se u tragovima u serumu

TEST
(+ EPII
TKIVA
Samo
ve!

e) IMUNOGLOBULIN E- najmanje zastupljen. sudjeluje u alergijskim reakcijama

- postoje **MONOKLONALNA** i **POLIKLONALNA** protutijela
- **poliklonalna** su imunohistokemijski različita i vežu se na različite epitope na molekuli antigena
- **monoklonalna** su imunohistokemijski identična i vežu se na jedan specifični epitop na antigenu
- u proizvodnji poliklonalnih antitijela koriste se životinje (kunići, koze) kojima se u kožu unese antigen te njihov organizam tada stvara protutijela koja se potom uzimaju iz krvi životinje
- u proizvodnji monoklonalnih protutijela koriste se miševi kojima se u trbušnu šupljinu ubaci antigen te se potom skuplja ascites sa protutijelima

AFINITET PROTUTIJELA

- Razlikujemo unutrašnji i funkcijski afinitet- unutrašnji se odnosi na specifičnost, a funkcijski na jačinu vezivanja antigena i protutijela

KRIŽNA REAKTIVNOST

- nastaje kad su na dva različita antigena prisutni isti epitopi (mjesto vezivanja), pa protutijelo može reagirati i sa normalnim tkivnim proteinima

RUKOVANJE I POHRANA PROTUTIJELA

- Za pohranu je bitno voditi računa o temperaturi i načinu čuvanja – većina protutijela pohranjuje se na temperaturi od 4-8°C, dok se razrijeđeni serum i frakcije imunoglobulina čuvaju na -20°C
- posuda za čuvanje ne smije imati svojstvo apsorpcije proteina

OSNOVNI PARAMETRI U IMUNOHISTOKEMIJI

- 1) Titar protutijela-definira se kao najveće razrijeđenje antiseruma s optimalnim obojenjem preparata
 - ako je titar protutijela konstantan, protutijela visokog afiniteta reagiraju brže s tkivnim antigenima od onih s niskim afinitetom i intenzivnije se boje u kraćem inkubacijskom razdoblju

2) Razrijeđenja protutijela

- Proizvođači obično nude unaprijed razrijeđene otopine ili preporučaju omjer razrijeđenja uz optimalnu temperaturu i vrijeme inkubacije

3) Vrijeme inkubacije

- najprije je potrebno odrediti optimalno vrijeme, jer ako ono nije konstantno može uzrokovati velike varijacije u kvaliteti i intenzitetu reakcije, a potom se određuje optimalno razrijeđenje

4) Temperatura inkubacije

- ravnoteža između antigena i protutijela najbolje se postiže na temperaturi od 37°C, a može se primijeniti i temperatura od 4°C u kombinaciji s dužom inkubacijom ili inkubacijom preko noći
- preparati inkubirani duže vrijeme na 37°C moraju se pohraniti u vlažnoj komori da bi se spriječilo isušivanje
- viša temperatura inkubacije dozvoljena je za veća razrijeđenja protutijela

NAJČEŠĆE KORISTENI TKIVNI ANTIGENI

- 1) intermedijalni filamenti (citokeratin- za epitel, vimentin- za vezivo, dezmin- za mišićno tkivo, GFAP- za gliju u mozgu i NF- neurofilament za živčana vlakna)
- 2) epitelni antigeni: citokeratin, EMA(epitelni membranski antigen)
- 3) mišićni antigeni: dezmin, mioglobin, aktin(za glatke mišiće)
- 4) vaskularni (krvožilni) antigeni: faktor VIII, CD 34, CD 31
- 5) izoantigeni krvnih grupa: ulex-lecitin
- 6)-antigeni za živčano tkivo: S-100, NSE(neuron specifična enolaza), NF, GFAP
- 7) histiocitni antigeni: CD 68, alfa1-antitripsin, alfa1-antikimotripsin
- 8) ostali antigeni: MIC-2(genski produkt), antigeni bazalne membrane, p 53(tumor supresor gen)

PRIMJERI BOJENJA U IMUNOHISTOKEMIJI

1. CITOKERATIN: epitelni tumori, mezoteliomi, rabdoidni tumori, epiteloidni sarkomi
2. DEZMIN: tumori skeletne, srčane i glatke muskulature
3. FAKTOR VIII: benigni vaskularni tumori, hemangioendoteliomi
4. S-100: benigni i maligni tumori živčanih ovojnica, hondrosarkomi, neki liposarkomi

MOLEKULARNE TEHNIKE U PATOLOGIJI

- U laboratorijima kliničkih ustanova u standardnoj upotrebi je nekoliko metoda koje se temelje na hibridizacijskim tehnikama
- primjeri su : a) FILTER HIBRIDIZACIJA
b) IN SITU HIBRIDIZACIJA

a) FILTER HIBRIDIZACIJA

- to je metoda hibridizacije nukleinskih kiselina
- postupak: ciljna DNK ekstrahira se iz tkiva i prenese na nitrocelulozu ili najlonski filter (taj postupak može biti izravan -- kad je potrebno poznavati veličinu frakcije nukleinskih kiselina) ili neizravan(kad to nije potrebno)
- potom slijedi hibridizacija vezanjem proba nukleinskih kiselina obilježenih radionuklidom
- filter hibridizaciju je najbolje izvoditi na svježem tkivu, ali se dobri rezultati postižu i na tkivu koje je fiksirano alkoholom ili formalinom te uklopljeno u parafin
- ova metoda je standardna i pouzdana, ali zbog tehničkih problema danas se manje izvodi

b) IN SITU HIBRIDIZACIJA

- Najsloženija i najosjetljivija metoda za detekciju mitohondrijske RNA
- metoda je vrlo osjetljiva, a bazira se na principu vezanja obilježenih odsječaka jednolančane DNA ili RNA koje sadrže komplementarni slijed baza na ciljnu staničnu DNA ili RNA stvarajući stabilne hibride
- za obilježavanje proba koriste se radioaktivni izotopi (vodika, sumpora i fosfora)
- zbog nekih nedostataka obilježavanja radioaktivnim izotopima, danas se sve više koriste ne-radioaktivne probe obilježene biotinom te češće, digoksinom koji se pokazao stabilnijim, otpornijim i osjetljivijim

ARHIVIRANJE PREPARATA I NALAZA

- histološka stakla i parafinske kocke pohranjuju se svakódnnevno kako bi se zaštitili od vanjskih utjecaja (npr. izbjeljivanja preparata na svjetlu) te se izbjeglo nagomilavanje i omogućilo lakše pronalaženje preparata
- za pravilno arhiviranje potrebno je osigurati adekvatan prostor te sustav evidencije
- histološki preparati u arhivi se čuvaju najmanje 5 godina, dok se parafinske kocke histoloških preparata te obdukcijškog materijala čuvaju 10 godina
- histološki preparati čuvaju se u ormarima i kutijama s okomitim pretincima kako bi se izbjeglo sljepljivanje stakala
- preparati te njihove parafinske kocke zavedeni su u arhivi pod brojevima kako bi se olakšalo traženje te vadenje iz arhive

HISTOLOGIJA (NAUKA O TKIVIMA)

EPITELNA TKIVA