

---

## Ιστοπαθολογική διάγνωση και ανοσοϊστοχημεία

Αλεξία Τσίγκα

Η ανακάλυψη του Ελικοβακτηριδίου του πυλωρού (*H. pylori*) ως αιτιοπαθογενετικού παράγοντα για το πεπτικό έλκος και τη γαστρίτιδα, κατέρριψε δογματικές αντιλήψεις και έφερε επανάσταση στην αντιμετώπιση αυτών των ασθενειών. Το αποτέλεσμα ήταν η θεραπεία και η αποκατάσταση της ποιότητας ζωής εκατομμυρίων πασχόντων και η δημιουργία μιας νέας φιλοσοφίας σχετικά με το ρόλο που μπορεί να διαδραματίζουν διάφοροι μικροοργανισμοί στα χρόνια φλεγμονώδη νοσήματα του πεπτικού, αλλά και άλλων συστημάτων. Οι δύο γιατροί που συσχέτισαν το *H. pylori* με τη γαστρίτιδα και το πεπτικό έλκος σε βιοψίες στομάχου, είναι οι Marshall B. (γαστρεντερολόγος) και Warren R. (παθολογοανατόμος), από το Perth Αυστραλίας, που τιμήθηκαν με το Βραβείο Νόμπελ Ιατρικής το 2005.

Η ιστολογική διάγνωση του *H. pylori* απαιτεί τη λήψη βιοψιών με επεμβατικό τρόπο (ενδοσκόπηση ανώτερου πεπτικού). Επίσης αυξάνει το συνολικό κόστος διάγνωσης της λοίμωξης και η απάντηση δεν είναι άμεση (απαιτούνται τρεις τουλάχιστον ημέρες για την τεχνική επεξεργασία των δειγμάτων και τη διάγνωση σε ένα παθολογοανατομικό τμήμα με «κανονικό» φόρτο εργασίας).

Παρόλα αυτά, η ιστολογική εξέταση βιοψιών στομάχου έχει μοναδικά πλεονεκτήματα σε σύγκριση με τις άλλες διαγνωστικές μεθόδους: έχει υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα και παρέχει μόνιμο αρχείο της εξέτασης με δυνατότητα επανεκτίμησης των πλακιδίων και πραγματοποίησης νέων χρώσεων/μεθόδων σε τομές παραφίνης.<sup>1,2</sup>



**Εικόνα 1.** Λήψη βιοψιών βάσει του αναθεωρημένου συστήματος Sydney<sup>3</sup>.

Επιπλέον είναι ο μόνος τρόπος να εκτιμηθούν η ατροφία, η εντερική μεταπλασία, η δυσπλασία, η παρουσία λεμφοεπιθηλιακής αλλοίωσης, MALT- λεμφώματος και καρκίνου.

Όσον αφορά τον αριθμό των απαιτούμενων ιστολογικών δειγμάτων που λαμβάνονται κατά την ενδοσκόπηση, οι βιβλιογραφικές αναφορές υποστηρίζουν ότι ακόμη και ένα δείγμα από το έλασσον τόξο και σε απόσταση 2-3 εκ. από τον πυλωρό, θα δώσει θετικά αποτελέσματα στο 90% των ασθενών.<sup>2</sup> Όμως, η ευαισθησία βελτιώνεται αν εξετασθούν επιπλέον δείγματα από άντρο και σώμα. Οι βιοψίες από το σώμα είναι πολύτιμες όταν υπάρχει εκτεταμένη εντερική μεταπλασία στο άντρο (δυσκολία ανίχνευσης *H. pylori*) και μετά τη θεραπεία (μπορεί να παραμένει *H. pylori* στο σώμα και όχι στο άντρο). Το αναθεωρημένο σύστημα του Sydney για την ταξινόμηση

της γαστρίτιδας προτείνει τη λήψη πέντε δειγμάτων από διάφορα σημεία του στομάχου<sup>3</sup> (Εικόνα 1). Τα δύο ιστοτεμάχια (ένα από το σώμα και ένα από το άντρο) είναι ο ελάχιστος αριθμός για να θεωρηθεί σχετικά επαρκής η δειγματοληψία.

Ο παθολογοανατόμος θα αξιολογήσει καταρχάς ένα πλακίδιο Αιματοξυλίνης-Ηωσίνης (Hematoxylin-Eosin, H&E), η οποία αποτελεί τη χρώση ρουτίνας στη συντριπτική πλειοψηφία των παθολογοανατομικών εργαστηρίων παγκοσμίως. Επίσης θα αξιολογήσει και μία ειδική ιστοχημική χρώση, συνήθως την τροποποιημένη Giemsa. Υπάρχει διαθέσιμη ποικιλία ιστοχημικών χρώσεων<sup>4-8</sup> για την ανίχνευση του *H. pylori*, καθώς και ανοσοϊστοχημικής<sup>5,8</sup> μεθόδου με τη χρήση μονοκλωνικών και πολυκλωνικών αντισωμάτων.

Στη χρώση ρουτίνας ο παθολογοανατόμος θα εκτιμήσει την παρουσία και την κατανομή της χρόνιας φλεγμονής (λεμφικές αθροίσεις, λεμφοζίδια), της δραστηριότητας (πολυμορφοπύρνα στο επιθήλιο και στο χόριο) και την παρουσία άλλων ευρημάτων (διαβρώσεις, κυτταρικό οίδημα, απόπτωση επιθηλιακών κυττάρων, αποστημάτια, έλκος), καθώς και ελικοβακτηριδίων.<sup>1</sup>

Όπως είναι γνωστό από πολλές μελέτες, υπάρχουν σημαντικές ποσοτικές διαφορές στη σχέση ένταση φλεγμονής/αριθμός ελικοβακτηριδίων, μεταξύ των ασθενών.

Η φλεγμονή εξελίσσεται ως εξής: αρχικά το χρόνιο φλεγμονώδες διήθημα εντοπίζεται επιφανειακά στο βλενογόνο. Κατόπιν παρατηρείται κατάληψη όλου του πάχους του βλενογόνου.<sup>1,9</sup> Αυξάνονται τα T λεμφοκύτταρα και εισέρχονται ουδετερόφιλα, ηωσινόφιλα, πλασματοκύτταρα, μαστοκύτταρα. Αν η λοίμωξη αντιμετωπιστεί θεραπευτικά, ο βλενογόνος αναγεννάται σχεδόν πλήρως. Στην αντίθετη περίπτωση, τη θέση των αδενίων καταλαμβάνουν ινοβλάστες και συνδετικός ιστός, με αποτέλεσμα την ατροφία του βλενογόνου.<sup>9</sup>

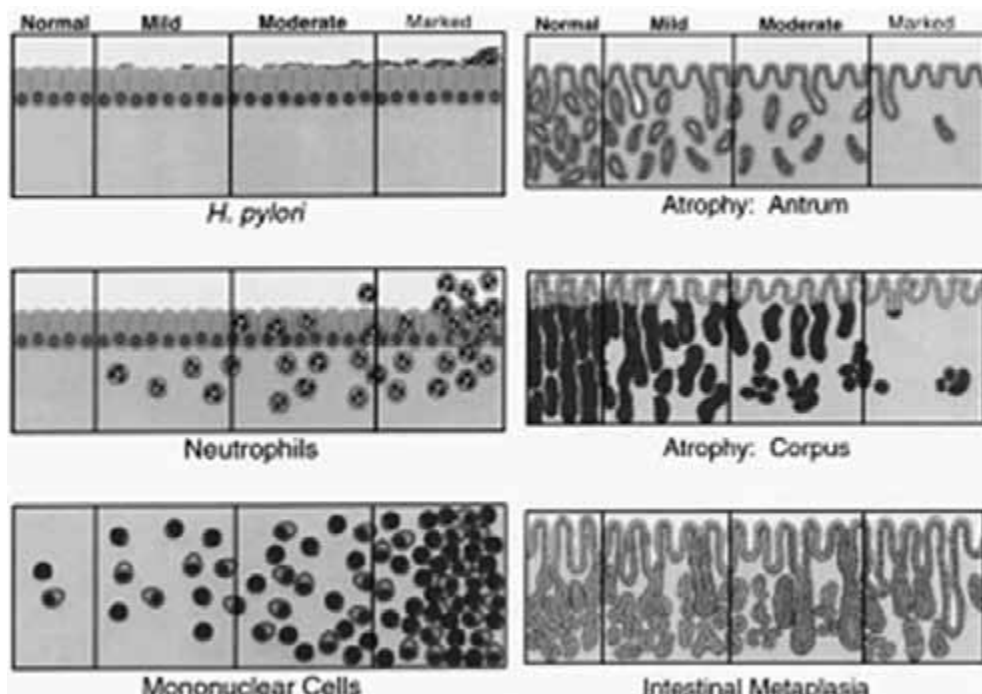
Μεγάλος αριθμός παθολογοανατόμων ταξινομεί τις παραμέτρους της γαστρίτιδας βάσει του αναθεωρημένου συστήματος Sydney.<sup>10</sup> Το σύστημα αξιολογεί τις εξής παραμέτρους: χρόνια φλεγμονή, δραστηριότητα, ατροφία σώματος και άντρου, παρουσία εντερικής μεταπλασίας και παρουσία ελικοβακτηριδίων, με τη διαβάθμιση «ήπια, μέτρια, ικανή» (Εικόνα 2).<sup>10</sup>

Επίσης χρησιμοποιείται ένα σύστημα βαθμολόγησης (Scoring) κατά Wotherspoon και Isaacson, με σκοπό τη διάκριση μεταξύ χρόνιας γαστρίτιδας και MALT λεμφώματος (Πίνακας 3).<sup>1</sup>

Οι φαινότυποι της γαστρίτιδας που σχετίζονται με το *H. pylori* είναι η διάχυτη γαστρίτιδα του άντρου (Diffuse Antral Gastritis- DAG), η πανγαστρίτιδα και η πολυεστιακή ατροφική γαστρίτιδα (Multifocal Atrophic Gastritis- MAG).<sup>1,9,11</sup>

Στις Εικόνες 4, 5 και 6 απεικονίζονται χαρακτηριστικές ιστολογικές εικόνες *H. pylori* γαστρίτιδας.

Εκτός από το *H. pylori*, παθογόνο για τον άνθρωπο είναι και το *H. Helmanii*, το οποίο ανευρίσκεται περίπου στο 1,1% των βιοψιών.<sup>9</sup> Το είδος αυτού του Ελικοβακτηριδίου δεν μπορεί να καλλιεργηθεί, δεν προσκολλάται στα επιθηλιακά κύτταρα, προκαλεί



**Εικόνα 2.** Οπτικό ανάλογο για το αναθεωρημένο σύστημα Sydney.<sup>1</sup>

**Πίνακας 3.** Σύστημα βαθμολόγησης (scoring) για τη διάκριση μεταξύ χρόνιας γαστρίτιδας και MALT λεμφώματος.

Score	Ερμηνεία
0	Φυσιολογικό
1	Χρόνια γαστρίτιδα με δραστηριότητα
2	Λεμφοζιδιακή γαστρίτιδα
3	Ύποπτο, πιθανώς αντιδραστικό
4	Ύποπτο, πιθανώς λέμφωμα
5	MALT λέμφωμα

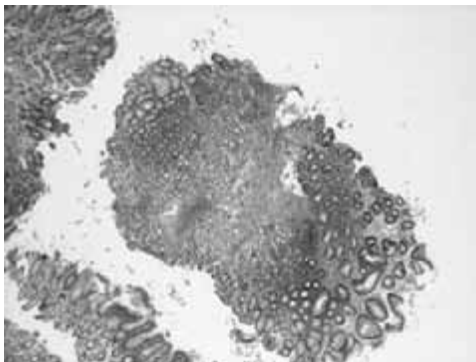
συνήθως ήπια χρόνια γαστρίτιδα, αλλά μπορεί να δούμε λεμφοζίδια και έλκη. Επίσης παρατηρείται αυξημένος κίνδυνος για καρκίνωμα στομάχου και MALT λέμφωμα όπως και με το *H. pylori*.<sup>9</sup>

Οι ιστοχημικές χρώσεις που χρησιμοποιούνται επιπλέον της H&E για την ανίχνευση των ελικοβακτηριδίων είναι η Warthin-Starry, Leung, McMullen, Steiner, Genta, Acridine Orange, HpSS, και κυρίως η τροποποιημένη Giemsa (Εικόνα 7). Η τελευταία είναι γρήγορη, τεχνικά εύκολη, οικονομική, με καλή

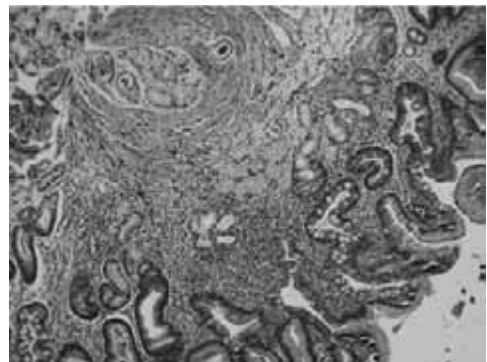
ευαισθησία και ειδικότητα.

Η ανοσοϊστοχημική ανίχνευση θα γίνει στις ακόλουθες περιπτώσεις: α) Ιστολογικά χαρακτηριστικά *H. pylori* γαστρίτιδας, αλλά απουσία μικροοργανισμών στην H&E/ιστοχημικές χρώσεις, β) επανέλεγχος μετά από εκρίζωση, ειδικά σε περιπτώσεις λεμφοεπιθηλιακής αλλοίωσης/MALT λεμφώματος και γ) κοκκώδης μορφή ελικοβακτηριδίου (δυσδιάκριτο στην H&E/Giemsa).<sup>12</sup> Η ανοσοϊστοχημεία έχει μεγάλη ευαισθησία και εξαιρετική ειδικότητα, αλλά είναι ακριβή και χρονοβόρος μέθοδος.

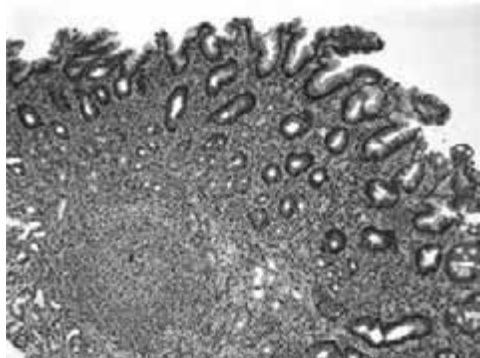
Η επανάληψη της ενδοσκόπησης μετά από εκρίζωση συστήνεται όταν έχει προηγηθεί διάγνωση λεμφοεπιθηλιακής αλλοίωσης/λεμφώματος (Score 3, 4, και 5 κατά Wotherspoon, Isaacson) καθώς και αν υπήρχε εντερική μεταπλασία/δυσπλασία.<sup>9</sup> Στη δεύτερη περίπτωση, υπάρχουν διαφορετικές γνώμες σχετικά με την ανάγκη και τη συχνότητα της παρακολούθησης των ασθενών.<sup>13,14</sup>



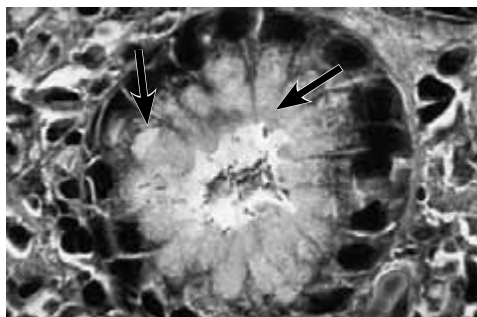
**Εικόνα 4.** *HP* γαστρίτιδα (x100).



**Εικόνα 5.** *HP* γαστρίτιδα (x200).



**Εικόνα 6.** Λεμφοζιδιακή ΗΡ γαστρίτιδα (x 100).



**Εικόνα 7.** Ελικοβακτηρίδια όπως φαίνονται με τη χρώση τροποποιημένη Giemsa (x 400).

Στον επανέλεγχο θα δούμε εξαφάνιση της δραστηριότητας (σε 2 εβδομάδες έως 2 μήνες) με σχεδόν φυσιολογικό βλεννογόνο σε 3-4 χρόνια. Επίσης παρατηρείται βελτίωση της ατροφίας, ενώ η εντερική μεταπλασία παραμένει δια βίου. Αν έχει αποτύχει η εκρίζωση, θα δούμε δραστηριότητα και πιθανόν κοκκοειδή μορφή ελικοβακτηριδίων.

Το μέλλον μας επιφυλάσσει τη λεγόμενη «Εικονική Παθολογοανατομική Εξέταση», με την εκτίμηση στον ορό του αίματος παραμέτρων που αντανακλούν με αξιοπιστία τις ιστολογικές αλλοιώσεις του στομάχου και την παρουσία ελικοβακτηριδίων,<sup>15,16</sup> καθώς επίσης και την καθιέρωση νέων συστημάτων ταξινόμησης των αλλοιώσεων της γαστρίτιδας (π.χ. The OLGA staging system for gastritis),<sup>17</sup> τα οποία να είναι περισσότερο αναπαραγώγιμα και να παρέχουν με άμεσο τρόπο πληροφορίες που σχετίζονται με την πρόγνωση και το θεραπευτικό χειρισμό των ασθενών.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Fenoglio-Preiser. Gastrointestinal Pathology, an atlas and text. 3rd Edition, Lippincott-Williams & Wilkins, 2008.
2. Moayyedi P, Dixon MF. Any role left for invasive tests? Histology in clinical practice. Gut 1998;43(Suppl 1):S51-S55.
3. Genta RM, Rugge M. Assessing risks for gastric cancer: new tools for pathologists. World J Gastroenterol 2006;12:5622-5627.
4. Kacar F, Çulhacı N, Yükselen V, et al. Histologic demonstration of *Helicobacter pylori* in gastric biopsies: which is the best staining method? The Internet Journal of Pathology 2004;3(1).

5. Weiss J, Tsang TK, Meng X, et al. Detection of *Helicobacter pylori* gastritis by PCR: correlation with inflammation scores and immunohistochemical and CLOtest findings. *Am J Clin Pathol* 2008;129:89-96.
6. Doglioni C, Turrin M, Macrù E, et al. A new silver staining method for *Helicobacter pylori*. *J Clin Pathol* 1997;50:461-464.
7. Haqqani MT. Acridine orange stain in the histological identification of *Helicobacter pylori*. *J Clin Pathol* 2001;54:734.
8. Rotimi O, Cairns A, Gray S, Moayyedi P, Dixon MF. Histological identification of *Helicobacter pylori*: comparison of staining methods. *J Clin Pathol* 2000;53:756-759.
9. Dilworth P. Gastritis and gastropathy. American College of Pathology, 2007. Online presentation (AP101, Part 2).
10. Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. Classification and grading of gastritis: The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis. Houston 1994. *Am J Surg Pathol* 1996;20:1161-1181.
11. Dursun M, et al. The Frequency of *Helicobacter pylori* in various gastric mucosal appearances. *Turk J Med Sci* 2003;33:307-310.
12. Ashton-Key M, Diss TC, Isaacson PG. Detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy and resection specimens. *J Clin Pathol* 1996;49:107-111.
13. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, et al. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht III Consensus Report. *Gut* 2007;56:772-781.
14. Ley C, Mohar A, Guarner J, et al. *Helicobacter pylori* eradication and gastric preneoplastic conditions: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004;13:4-10.
15. Kokkola A, Rautelin H, Puolakkainen P, et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in patients with atrophic gastritis: Comparison of histology, 13C-Urea breath test, and serology. *Scand J Gastroenterol* 2000;35:138-141.
16. Germana B, Di Mario F, Cavallaro LG, et al. Clinical usefulness of serum pepsinogens I and II, gastrin-17 and anti-*Helicobacter pylori* antibodies in the management of dyspeptic patients in primary care. *Dig Liver Dis* 2005;37:501-508.
17. Rugge M, Meggio A, Pennelli G, et al. Gastritis staging in clinical practice: the OLGA staging system. *Gut* 2007;56:631-636.