

Biopsie žalúdka a čreva – možnosti a hranice diagnostiky

Histopatologické vyšetrenie bioptátov predstavuje dôležitý diagnostický nástroj pri riešení gastrointestinálnych ochorení u psa a mačky.

Nasleduje prehľad ochorení gastrointestinálneho traktu, pri ktorých má zmysel histopatologické vyšetrenie transmurálnych resp. endoskopických bioptátov.

Anamnéza

Pre interpretáciu histopatologických nálezov majú význam anamnestické údaje o plemene, veku, klinických symptómoch, kŕmení, predchádzajúcej terapii (napr. kortikoidmi), výsledkoch vyšetrení (napr. ultrazvuku, parazitológie, bakteriológie, hodnotách kobalamínu a kys. listovej, PLI, TLI), ako aj nálezy počas endoskopického odberu vzorky a klinické diferenciálne diagnózy.

Transmurálne bioptáty sa odoberajú v rámci laparotómie alebo laparoskopie. Ich prednosťou je, že dochádza k menšiemu znefunkčneniu vzorky artefaktmi z pomliaždenia alebo suboptimálnej orientácie vzorky. Môžeme posúdiť všetky vrstvy črevnej steny. Okrem toho pri laparotómii/laparoskopii môžu byť odobrané aj vzorky z lokalizácií, ktoré nie sú endoskopicky dostupné (napr. jejunum). Ďalej máme možnosť odberu vzoriek z ďalších orgánov ako pečeň, pankreas, lymfatické uzliny (obr. 1) alebo punkcie žlčníka.

Odber **endoskopických bioptátov** je menej invazívny a umožňuje posúdenie povrchu sliznice a cielený odber vzorky zo zmenených častí. Odporúča sa pritom odber viacerých vzoriek (až 8 bioptátov na jednu lokalitu).



Obr. 1: OP-situs so zväčšenými mezenterálnymi lymfatickými uzlinami, mačka
© Tierklinik Rupphübel, Beiwil am See, Švajčiarsko

Vzorky by mali byť rozdelené podľa lokality odberu (ideálne v plastových kapsliach na filtračnom papieri), umiestnené do vhodných nádob so 4% formalínom, a tak zasielané do laboratória.

Histopatologické vyšetrenie sa realizuje po spracovaní vzoriek pomocou svetelnej mikroskopie na parafínových rezoch zafarbených HE (hematoxilín-eozín). Typ a stupeň lézií slizníc, ako aj infiltrácia zápalových buniek, sú posudzované podľa noriem WSAVA (World Small Animal Veterinary Association Gastrointestinal Standardization Group; Day et al. 2008).

Infekcie helikobakterom

Patogénny význam infekcií druhmi *Helicobacter* a tzv. helikobakterom podobnými pôvodcami u psov a mačiek je stále sporný. Štúdie ukazujú, že *Helicobacter* spp. sú detegované aj u klinicky zdravých zvierat. Existujú kontroverzné výsledky o vplyve helikobakterov na funkčné parametre žalúdka.

Predpokladá sa patogenetická úloha *Helicobacter* spp. v súvislosti s miernou gastritídou a klinicky recedivujúcim zvracaním,

hlavne ak sa v bioptáte nájde veľký počet baktérií.

Dôkaz je možný neinvasívnymi testami (ELISA test na antigén). Naproti tomu má histopatologické vyšetrenie bioptátov žalúdočnej sliznice tú výhodu, že môžeme posúdiť množstvo prítomných pôvodcov (obr. 2) a zápalové zmeny sliznice. Môžeme tak objasniť gastritídy z iných príčin (erozívne-ulceratívne, so zmiešanými bunkami, lymfoplazmocytárne).

Odporúča sa odobrať vzorky hneď z viacerých miest žalúdka (kardia, fundus, pylorus).



Obr.2: Helicobacter spp. farbenie Warthin- Starry, 400x

Neznášanlivosť krmiva a alergie

Potravinová intolerancia a alergia môže u psa a mačky vyvolať gastrointestinálne príznaky, ako sú zvracanie, hnačka a strata hmotnosti.

Pri histopatologickom vyšetrení nachádzame zápalové infiltrácie sliznice žalúdka a čreva, pričom prevažujú lymfocyty a plazmatické bunky. Nedajú sa odlíšiť od lymfoplazmocytárnej formy IBD (Inflammatory Bowel Disease).

Pre ďalšie objasnenie krmivovej intolerancie alebo alergie je preto (okrem dôkladnej anamnézy) nevyhnutná predovšetkým eliminačná diéta s následným provokačným testom. Eliminačná diéta by mala trvať minimálne 4-6 týždňov a mala by obsahovať jeden zdroj proteínov a jeden zdroj uhľovodíkov. Môže byť pripravená doma alebo kúpený komerčný variant. Pri výbere vhodných

zložiek diéty nám môže pomôcť sérologický alergický test*.

Inflammatory Bowel Disease (IBD)

Ide o idiopatické ochorenie s perzistujúcimi alebo opakujúcimi sa gastrointestinálnymi príznakmi u psov a mačiek. Klinicky sa prejavuje medziiným zvracaním, hnačkou, abdominálnou bolesťou, inapetenciou a stratou hmotnosti.

Poznáme rôzne formy tohto ochorenia, ktoré postihujú rôzne úseky gastrointestinálneho traktu a spájajú sa s rôznymi formami zápalu.

Príčinou sú rozličné faktory, ktoré vedú k strate imunologickej tolerancie voči antigénom vyskytujúcim sa v lúmen čreva, narušujú slizničnú bariérovú funkciu, ďalej porucha regulácie intestinálneho imunitného systému, zmeny v črevnej bakteriálnej flóre a genetické faktory.

Je potrebné si uvedomiť, že pri IBD ide o diagnózu per exclusionem. Samotný nález histopatologických zmien sliznice čreva nie je pre IBD diagnostický. Pred stanovením diagnózy IBD je nevyhnutné vylúčiť infekčné a extraintestinálne ochorenia, ako aj intoleranciu krmiva (viď vyššie).

Histopatologicky rozoznávame nasledujúce formy:

- lymfoplazmocytárna (gastro-)enteritída (LPE)
- lymfoplazmocytárna kolitída (LPC)
- eozinofilná gastroenteritída (EGE)
- granulomatózna kolitída

LPE/LPC sú najčastejšie formy IBD. Histopatologicky pozorujeme infiltráciu lymfocytmi a plazmatickými bunkami, skrátenie a fúzie klkov, poškodenie epitelu a lézie krýpt, ako aj miernu lymfangiektáziu (obr. 3).



Obr. 3: Histologické lézie pri LPE (šípka na lézie epitelu, L=mierna lymfangiektázia), HE 100x

EGE je druhou najčastejšie sa vyskytujúcou formou IBD. Charakteristická je dominancia eozinofilných granulocytov v zápalovom infiltráte sliznice, atrofia a spájanie klkov.

Granulomatózne formy IBD sú zriedkavé.

Histiocytárna ulceratívna kolitída (HUC), ktorá sa vyskytuje takmer výlučne u boxerov, sa už nezaraďuje medzi formy IBD, nakoľko bola preukázaná súvislosť s invazívnymi *Escherichia coli*.

Eozinofilná enteritída / hypereozinofilný syndróm

Eozinofilná gastroenteritída môže byť podmienená ako forma IBD (viď vyššie), parazitárne alebo alergicky (alergia na krmivo).

Okrem toho existuje u mačiek, zriedkavejšie u psov, systémové ochorenie v zmysle hypereozinofilného syndrómu.

Pri hypereozinofilnom syndróme nachádzame eozinofilné infiltráty v mnohých orgánoch, ako aj eozinofíliu v krvi.

V mnohých prípadoch je postihnutý aj tráviaci trakt a klinicky sa prejavujú gastrointestinálne príznaky. Často je možné (sonograficky) dokázať hypertrofiu muskularis.

Histopatologicky pozorujeme dobre diferencované eozinofilné granulocyty v celej stene čreva. V prípade podozrenia na hypereozinofilný syndróm môže byť užitočné vyšetrovanie vzoriek z pečene a sleziny.

Enteropatia so stratou proteínov (PLE)

Zápalové ochorenia tenkého čreva, ktoré sa klinicky manifestujú stratou bielkovín, nachádzame predovšetkým u šarpeiiov, nemeckých ovčiakov, rotvajlerov a jorkšírskych teriérov.

U jemnosrstých pšeničných teriérov bolo popísané pravdepodobne hereditárne podmienené ochorenie, ktoré sa prejavuje ako enteropatia so stratou proteínov (PLE) a/alebo nefropatia so stratou proteínov (PLN). U tohto plemena existuje genetický test* na PLN.

Histopatologicky sú pre PLE typické silne dilatované lymfatické cievy v črevných klkoch a v hlbších vrstvách črevnej steny, ako aj infiltrácie makrofágmi s bublinkami. V muskularis príležitostne nachádzame lipogranulómy, ktoré makroskopicky rozpoznáme ako malé biele hrudky na seróze a v mezentériu.

Diferenciálne diagnosticky sa s enteropatiou so stratou proteínov môžu spájať aj napr. bakteriálne gastroenteritídy, intestinálne mykózy, neoplázie a chronické reakcie na cudzie telesá. U mačiek sú PLE zriedkavejšie a vyskytujú sa najčastejšie v súvislosti s intestinálnym lymfómom.

Neoplázie

Podozrenie na neopláziu gastrointestinálneho traktu vzniká klinicky medziiným pri palpačnom vyšetrení a pri vyšetrení zobrazovacími metódami (ultrazvukom). Pre potvrdenie diagnózy (a vylúčenie zápalu, napr. pri cudzom telese), ako aj určenie typu a charakteru neoplázie je potrebné histopatologické vyšetrenie.

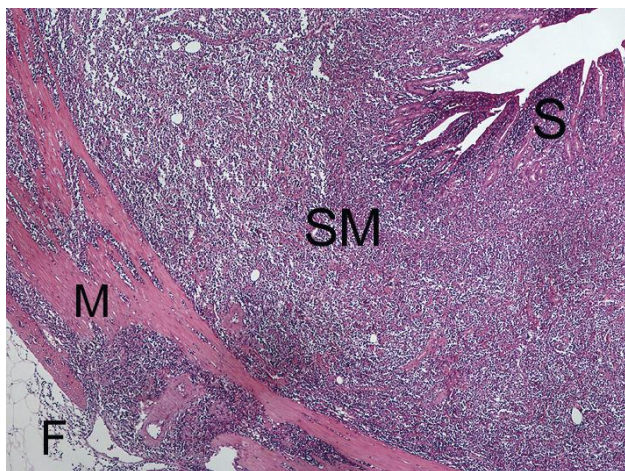
Najčastejšie tumory gastrointestinálneho traktu sú intestinálne lymfómy, adenokarcinómy,

leiomyómy, leiomyosarkómy a gastrointestinálne stromálne tumory (GIST).

Pri kompletnom odstránení nodulárnej neoplázie môžeme histologicky skontrolovať okraje resekcie. Pri bioptátoch musíme brať na zreteľ, že neoplázie sa často vyskytujú spolu s ulceratívne zápalovými zmenami a infiltratívny rast (hl. karcinómy žalúdka a rekta) sú histopatologicky spoľahlivo dokázateľné len v hĺbke tkaniva.

Intestinálne lymfómy sú u psov a mačiek najčastejšími nádormi gastrointestinálneho systému. Črevné lymfómy môžu postihovať hlbšie vrstvy steny čreva (obr4). Pre stanovenie diagnózy sú žiaduce transmurálne bioptáty, nakoľko skoré štádiá sú v niektorých prípadoch len ťažko odlišiteľné od LPE.

Diferenciácia bunkového pôvodu (T alebo B bunkový lymfóm) je možná len pomocou imunohistologického vyšetrenia alebo vyšetrenia klonality lymfocytov pomocou PARR* (PCR for Antigen Receptor Rearrangement).



Obr. 4: Intestinálny lymfóm s transmurálnou infiltráciou nádorovými bunkami (S-sliznica, SM-submukóza, M-muskularis, F-tukové tkanivo)

Polypy/karcinómy rekta sa vyskytujú predovšetkým u psov stredného a vyššieho veku. Možný je rozvoj vysoko malígnych karcinómov z adenomatóznych polypov cez *in situ* karcinómy. Povrchovo odobraté bioptáty nie sú v takýchto prípadoch diagnostické, pretože invazívny rast v submukóze a muskularis predstavuje dôležitý diagnostický a prognostický atribút.

BIOPSIE ŽALÚDKA A ČREVA

• Anamnéza

- vek, plemeno
- klinické príznaky
- nálezy z ďalších vyšetrení
- diferenciálne diagnózy
- predchádzajúca liečba (hl. podávanie kortikoidov)

• Odber vzoriek

- reprezentatívne miesta odberu
- dostatočný počet biopsií
- opatrné zaobchádzanie s bioptátmi
- biopsie rozdeliť podľa miesta odberu a zaslať v označených nádobách
- fixácia vzoriek v 4% formalíne

* Vyšetrenia možné v LABOKLINE