



2nd
PACIT

2nd Joint Meeting of Croatian Societies
for Pathology and Clinical Cytology

KNJIGA SAŽETAKA

2. zajedničkog skupa hrvatskih društava
za patologiju i citologiju

October 2 - 5, 2025 / Terme Sv. Martin



HDPSM
Croatian Society
of Pathology and
Forensic Medicine



Hrvatsko društvo za
kliničku citologiju
Hrvatski liječnički zbor



NAKLADNIK

Zaklada Sergej Saltykow
Šalata 10
10000 Zagreb

ZA NAKLADNIKA

Sven Seiwert

GLAVNI UREDNICI

Sven Seiwert
Anita Škrtić
Dinka Šundov
Tajana Štoos Veić
Suzana Hančić
Sandra Šlegl

UČESTALOST IZLAŽENJA

Dvogodišnje

MJESTO IZDAVANJA

Zagreb, 2025.

ISSN 3102-3959

ORGANISING COMMITTEE

Sven Seiwerth
Anita Škrtić
Dinka Šundov
Tajana Štoos Veić
Suzana Hančić
Sandra Šlegl
Lukrecija Anžić
Dunja Holcinger
Sara Hrg
Ivan Franin

SCIENTIFIC COMMITTEE

HDPSM i HDKC

Lovorka Batelja Vuletić
Marina Cindrić
Marijana Ćorić
Ines Krivak Bolanča
Danica Galešić Ljubanović
Slavko Gašparov
Marija Milković Periša
Vedrana Petrovečki
Jasmina Rajc
Silvana Smojver Ježek
Snježana Tomić
Monika Ulamec
Danijela Vrdoljak Mozetić

SCIENTIFIC COMMITTEE

HDHC i HUCIT

Silvia Arbanas
Marina Bakula
Marica Barukčić
Kristina Bedrina
Anita Breški
Helga Frketić
Barka Horvat
Nevena Radičević
Katica Rubić
Viktorija Švencbir Popovski
Suzana Tomas
Miran Židić

PLATINASTI SPONZOR:



ZLATNI SPONZORI:



SREBRNI SPONZOR:



BRONČANI SPONZORI:



SADRŽAJ

SAŽECI / SUMMARIES

Hrvatskog društva za patologiju i sudsku medicinu	5
Usmene prezentacije.....	6
Poster prezentacije.....	32

SAŽECI / SUMMARIES

Hrvatskog društva za Kliničku Citologiju.....	79
Usmene prezentacije.....	80
Poster prezentacije.....	87

SAŽECI / SUMMARIES

Hrvatskog društva histo i citotehnologa	93
Usmene prezentacije.....	94
Poster prezentacije.....	123

SAŽECI / SUMMARIES

Hrvatske udruge citotehnologa	143
Usmene prezentacije.....	144
Poster prezentacije.....	153





HDPSM

Hrvatsko društvo
za patologiju
i sudsku medicinu

SAŽECI / SUMMARIES

**Hrvatskog društva za patologiju
i sudsku medicinu**

2nd
PACIT



USMENE PREZENTACIJE

NEW INSIGHT INTO THE ROLE OF PTCH1 PROTEIN IN SEROUS OVARIAN CARCINOMAS

Valentina Karin-Kujundzic^{1,2}, Adriana Covarrubias - Pinto³, Anita Skrtic^{2,4,5}, Semir Vranic⁶, Ljiljana Serman^{1,2}

¹Department of Biology, School of Medicine, University of Zagreb, 10000 Zagreb, Croatia

²Centre of Excellence in Reproductive and Regenerative Medicine, School of Medicine, University of Zagreb, 10000 Zagreb, Croatia

³Institute of Biochemistry II, School of Medicine, Goethe University, D-60590 Frankfurt am Main, Germany

⁴Department of Pathology, School of Medicine, University of Zagreb, 10000 Zagreb, Croatia

⁵Department of Pathology, University Hospital Merkur, 10000 Zagreb, Croatia

⁶College of Medicine, QU Health, Qatar University, 2713 Doha, Qatar

The Hedgehog (Hh) signaling pathway is essential for normal embryonic development, while its hyperactivation in the adult organism is associated with the development of various cancers. The role of the Hh signaling pathway in ovarian cancer has not been sufficiently investigated. Therefore, the present study investigated the role of protein patched homolog 1 (PTCH1), a component of the Hh signaling pathway, and changes in the promoter methylation status of the corresponding gene in a cohort of low-(LGSC) and high-grade serous ovarian carcinomas (HGSC) and HGSC cell lines (OVCAR8 and OVSAHO). PTCH1 protein expression level was analyzed using immunohistochemistry in tissue samples and immunofluorescence and western blotting in cell lines. DNAmethylation patterns of the PTCH1 gene were analyzed using methylation-specific PCR. PTCH1 protein expression was significantly higher in HGSCs and LGSCs compared with controls (healthy ovaries and fallopian tubes). Similarly, ovarian cancer cell lines exhibited significantly higher PTCH1 protein expression compared with a normal fallopian tube non-ciliated epithelial cell line (FNE1). PTCH1 protein fragments of different molecular weights were detected in all cell lines, indicating possible proteolytic cleavage of this protein, resulting in the generation of soluble N-terminal fragments that are translocated to the nucleus. DNAmethylation of the PTCH1 gene promoter was exclusively detected in a proportion of HGSC (13.5%) but did not correlate with protein expression. PTCH1 protein was highly expressed in serous ovarian carcinoma tissues and cell lines, while PTCH1 promoter methylation was only detected in HGSC. Further investigation is required to elucidate the possible mechanisms of PTCH1 activation in serous ovarian carcinomas.

Keywords: Hedgehog signaling pathway, ovarian cancer, ovarian cancer cell lines, protein patched homolog 1, serous ovarian carcinoma

e-mail: aaaaaaa@gmail.com

BREAST IMPLANT-ASSOCIATED ANAPLASTIC LARGE CELL LYMPHOMA – A CASE REPORT

Martina Murković^{1,2}, Ita Hadžisejdić^{1,2}, Koraljka Rajković Molek^{1,2}, Davor Jurišić³, Irena Seili-Bekafigo^{1,2}

¹Clinical Department of Pathology and Cytology, Clinical Hospital Centre Rijeka, Rijeka, Croatia

²The Faculty of Medicine of the University of Rijeka, Rijeka, Croatia

³Department for Plastic and Reconstructive Surgery, Clinical Hospital Centre Rijeka, Rijeka, Croatia

Breast Implant-Associated Anaplastic Large Cell Lymphoma (BIA-ALCL) is a rare subtype of non-Hodgkin lymphoma characterized by abnormal proliferation of CD30-positive lymphocytes within the fibrous capsule of a breast implant or in the surrounding seroma. The estimated incidence ranges from 1 in 3,817 to 1 in 30,000 among women with breast implants, and it is almost exclusively associated with textured-surface implants. The pathogenesis is believed to involve gram-negative biofilm formation, chronic T-cell stimulation and host genetics. BIA-ALCL was recognized as a distinct entity in the 2017 WHO classification, although the first cases were described as early as 1997. The aim of this case report is to present the diagnostic process in a patient with BIA-ALCL.

We present the case of a 68-year-old female diagnosed with BIA-ALCL four years after right breast reconstruction with a microtextured silicone implant following mastectomy for breast cancer. The patient presented with right breast pain and redness. Ultrasonography and MRI revealed subcutaneous lymphedema, skin thickening, and a large periprosthetic fluid collection without a soft tissue mass. Fine needle aspiration (FNA) of the periprosthetic fluid showed numerous atypical large pleomorphic lymphoid cells with irregular nuclei and prominent nucleoli. Immunocytochemical analysis of the cell block demonstrated a CD30+, CD3+, CD20- immunophenotype, confirming the diagnosis of BIA-ALCL. A multidisciplinary team recommended surgical removal of the implant and surrounding capsule. Histopathological examination revealed hyalinized capsule lined with fibrin and scattered atypical lymphoid cells with horseshoe-shaped nuclei beneath the fibrin layer. Immunohistochemistry confirmed a CD30+ (strong, diffuse), CD4+, ALK-, CD20- phenotype, consistent with T-cell lymphoma, ALCL subtype, associated with a breast implant. No pathological lymphadenopathy was detected in the right axilla. The patient was advised to undergo regular follow-up with PET/CT scans every six months for the first two years and annually thereafter for a total of five years. BIA-ALCL is an extremely rare lymphoma, with approximately 1,600 cases reported worldwide. Given its rarity, clinicians should maintain a high index of suspicion in patients presenting with breast swelling or seroma in the context of breast implants, particularly those with textured surfaces. Early diagnosis and complete surgical excision can lead to favourable outcomes. In this case, despite the patient's complex

oncological history, timely recognition with minimally invasive procedure enabled early-stage diagnosis and likely curative treatment through surgical management alone.

Keywords: Anaplastic large cell lymphoma, Breast neoplasm, Breast implant, Case report, Cell block, Seroma

e-mail: mmurkovic75@gmail.com

MIXED EPITHELIAL AND STROMAL TUMOR OF THE KIDNEY

Martina Vuletić, Valdi Pešutić Pisac

University Hospital Center Split, Split, Croatia, Department of Pathology, forensic medicine and citology

Mixed epithelial and stromal tumor of the kidney (MEST) is a rare benign biphasic lesion composed of a mixture of stromal and epithelial elements. The histogenesis of MEST is unknown. It occurs overwhelmingly in women with history of hormone therapy. A 29-year-old male patient was incidentally diagnosed with a lesion of the left kidney on abdominal ultrasound as part of systematic medical examination. MR imaging showed an avascular, expansive mass measuring 24 mm in the largest diameter with no other pathologic findings. He had no history of hormone therapy. Left sparing nephrectomy was performed. The tumor was well-circumscribed. Histopathological evaluation showed a biphasic tumor containing solid and cystic components with unusual immunophenotype. Multiple cysts and tubules of varying sizes were separated by focally hypocellular, partially sclerotic and collagenous stroma admixed with hypercellular areas displaying ovarian-like features. Stromal calcifications were found. The cysts and tubules were lined by single layer of flat, cuboidal and hobnail epithelium. No mitoses, atypia or necrosis were identified. Immunohistochemically, epithelial component was positive for cytokeratin-7, PAX-8, AMACR, CD10, progesterone (PR) and estrogen receptors (ER). A few stromal tumor cells were positive for CD34 and the rest of the stromal cells were negative for the WT-1, ER, PR, Inhibin and CD10. The diagnosis in this case was performed according to the essential histological characteristics typical for this entity (a complex solid and cystic tumor with epithelial elements in a variably cellular spindle-shaped stroma). We missed the desirable stromal immunohistochemical positivity for PR and/or ER but we decided to rely on morphology. In the same procedure we excluded other potential entities like cystic nephroma, synovial sarcoma, clear cell papillary tumour, and tubulocystic renal cell carcinoma.

Keywords: mixed epithelial stromal tumor, renal tumor, MEST

e-mail: marti.vuletic@gmail.com

INVAZIVNI LOBULARNI KARCINOM – PATOLOŠKE ZNAČAJKE I DIJAGNOSTIČKI IZAZOVI

Danijel Antonio Grubišić, Snježana Tomić

Klinički zavod za patologiju, sudsku medicinu i citologiju, Klinički bolnički centar Split

Cilj:

Invazivni lobularni karcinom (ILC) je drugi po učestalosti histološki tip raka dojke, na kojeg se odnosi 15% svih novodijagnosticiranih karcinoma dojke¹. Molekularno je karakteriziran mutacijom u CDH1 genu pri čemu su najčešće tzv. mutacije skraćivanja (frameshift, nonsense i indels) koje se obično javljaju u kombinaciji s gubitkom chr16q, gdje se nalazi CDH1 gen, što uzrokuje potpuni gubitak e-cadherin proteina². Dijagnostički se često ne primijeti na mamografiji, pa iako se danas MRI smatra zlatnim standardom preoperativne dijagnostike za ILC, neke studije pokazuju da čak i MRI može značajno podcijeniti veličinu invazivnoga tumora³. Zbog morfološke raznolikosti, različitih histoloških varijanti i slabe dijagnostičke podudarnosti među patolozima, i dalje predstavlja izazov u svakodnevnom radu patologa.

Metode:

Iako morfološke značajke ostaju zlatni standard za dijagnozu, podudarnost u postavljanju dijagnoze ILC-a među patolozima značajno može biti poboljšana korištenjem imunohistokemijske analize (IHC) ($\kappa = 0.58$ (morfolologija) $\rightarrow \kappa = 0.75$ (morfolologija + IHC))⁴. Razlikovanje invazivnog lobularnog karcinoma (ILC) i invazivnog karcinoma dojke nespecijalnog tipa (NST) može ponekad biti izazovno, ponajviše pri analizi uzoraka iglene biopsije dojke (CNB): IDC može pokazivati gubitak ekspresije e-cadherina, dok s druge strane 10% ILC-ova zadržava izražaj e-cadherina ili pak pokazuje aberantnu ekspresiju e-cadherina. Osim histoloških značajki, između ILC-a i NST-a postoje i brojne druge razlike kao što su genomske osobitosti, tumorski mikrookoliš (TME), s ER-povezan transkripcijski put, lipidni metabolizam i aktivacija PI3K puta⁵. Za razliku od NST-a, ILC-i se predominantno javljaju kod nešto starijih pacijentica, češće budu veći, multifokalni i bilateralni, češće zahvaćaju aksilarne limfne čvorove, češće metastaziraju na serozalne površine te gastrointestinalni i ginekološki trakt⁶. Odgovor na neoadjuvantnu kemoterapiju (NAT) je gotovo uvijek lošiji, a lošiji su i dugotrajni ishodi liječenja⁷. Klasični je lobularni karcinom građen od malih, nekohezivnih epitelnih stanica koje tvore linearne tračke koji okružuju nepromijenjene kanaliće dojke⁸. Gotovo polovica ILC-a se svrstava u klasični podtip, a druga polovica uključuje solidnu varijantu (nekohezivne stanice u većim solidnim nakupinama), trabekularnu varijantu (trabekule debljine 2-3 epitelne stanice, varijanta koja se najčešće pogrešno dijagnosticira kao invazivni NST) i alveolarnu varijantu (agregati <20 stanica u kolageniziranoj stromi, koja može oponašati LCIS)¹. Citomorfološki razlikujemo

pleomorfnu varijantu (18% svih ILC-a, koja je povezana s agresivnim ponašanjem, češće je HER2 pozitivna, a građena od stanica koje su >4 puta veće od veličine limfocita, izraženog nuklearnog pleomorfizma i visoke mitotske aktivnosti), apokrinu varijantu (granularna eozinofilna citoplazma i ekscentrično smještena jezgra), signet-ring varijantu (mucinom ispunjene vakuole, jezgre u obliku polumjeseca) i histiocitoidnu varijantu (pjenušava ili granularna citoplazma nalik na histiocite)¹. Za pleomorfnu i apokrinu varijantu ILC-a može biti indicirano molekularno testiranje za dodatnu ciljanu terapiju⁹. Danas su opisane i dodatne histološke varijante ILC-a: ILC s ekstracelularnim mucinom koju karakterizira klinički agresivnije ponašanje te ILC sa solidnim papilarnim rastom koji histološki podsjeća na lobularni karcinom in situ (LCIS) ili solidni papilarni karcinom^(10, 11). Neki slučajevi ILC-a histološki pokazuju tubularni rast pri čemu nalikuju NST-u, pri čemu se može raditi o: tubulolobularnom karcinomu (IHC e-cadherin je pozitivan u obje komponente), invazivnom miješanom NST i ILC karcinomu (IHC e-cadherin je pozitivan u NST komponenti, a negativan u ILC komponenti) i ILC s tubulima (IHC e-cadherin negativan u obje komponente) ⁽¹²⁻¹⁴⁾. Većinu ILC-a karakterizira imunofenotip ER+/HER2-, što uvelike utječe i na njihove terapijske opcije¹⁵. Mada neke studije (Gelato studija) sugeriraju da bi pojedine podgrupe pacijentica s ILC-om imale koristi od imunoterapije, vrijedno je zamijetiti da su razine stromalnih tumor-infiltrirajućih limfocita (sTILs) niže u ER+/HER2- ILC-ima u usporedbi s ER+/HER2- NST-ima te su potrebna daljnja istraživanja kako bismo mogli precizirati prave benefite od primjene imunoterapije u ovoj skupini tumora¹⁶. Metastatski ILC-i pokazuju značajno niže razine ER i PGR u usporedbi s primarnim ILC-om, koji nastaju kao posljedica klonalne progresije ili gubitka receptora pod djelovanjem anti-hormonskog liječenja¹⁷.

Zaključak:

Točna patohistološka dijagnoza ILC-a je ključna za adekvatno liječenje pacijentica. Potrebna su daljnja istraživanja povezana s hormonskom ekspresijom, terapijskim odgovorom i molekularnim osobitostima invazivnih lobularnih karcinoma. ILC i njegove varijante pokazuju različite histološke slike. Premda klinički značaj svake varijante nije do kraja jasan, prepoznavanje ovih histoloških podtipova kao i utvrđivanje standardnih dijagnostičkih kriterija za pojedine varijante, ključno je za točnu i preciznu patohistološku dijagnozu o kojoj ovisi adekvatno liječenje pacijenata. Mada napredak u molekularnim studijama ILC-a uvelike obećava poboljšanje same klasifikacije i kliničkog liječenja, točno određivanje stadija bolesti i procjena zahvaćenosti kirurških rubova kod ovakvih tumora ostaju glavni dijagnostički izazovi.

Reference:

1. Batra H, Mouabbi JA, Ding Q, Sahin AA, Raso MG. Lobular Carcinoma of the Breast: A Comprehensive Review with Translational Insights. *Cancers* (Basel). 2023 Nov 20;15(22):5491. doi: 10.3390/cancers15225491. PMID: 38001750; PMCID: PMC10670219.
2. Zhang H, Peng Y. Unique Molecular Alteration of Lobular Breast Cancer: Association with Pathological Classification, Tumor Biology and Behavior, and Clinical Management. *Cancers* (Basel). 2025 Jan 27;17(3):417.

doi: 10.3390/cancers17030417. PMID: 39941785; PMCID: PMC11816017.

3. Pereslucha AM, Wenger DM, Morris MF, Aydi ZB. Invasive Lobular Carcinoma: A Review of Imaging Modalities with Special Focus on Pathology Concordance. *Healthcare (Basel)*. 2023 Mar 3;11(5):746. doi: 10.3390/healthcare11050746. PMID: 36900751; PMCID: PMC10000992.
4. Yu J, da Silva EM, La HS, Clark BZ, Fine JL, Carter GJ, Villatoro TM, Soong TR, Lee AV, Oesterreich S, Basili T, Blanco- Heredia J, Selenica P, Ye Q, Da Cruz Paula A, Dopeso H, Gazzo A, Marra A, Pareja F, Reis-Filho JS, Bhargava R. Clinicopathologic and genomic features of lobular like invasive mammary carcinoma: is it a distinct entity? *NPJ Breast Cancer*. 2023 Jul 13;9(1):60. doi: 10.1038/s41523-023-00566-7. PMID: 37443169; PMCID: PMC10345141.
5. Pramod N, Nigam A, Basree M, Mawalkar R, Mehra S, Shinde N, Tozbikian G, Williams N, Majumder S, Ramaswamy B. Comprehensive Review of Molecular Mechanisms and Clinical Features of Invasive Lobular Cancer. *Oncologist*. 2021 Jun;26(6):e943-e953. doi: 10.1002/onco.13734. Epub 2021 Mar 16. PMID: 33641217; PMCID: PMC8176983.
6. Carcoforo P, Rajji MT, Langan RC, Lanzara S, Portinari M, Maestroni U, Palini GM, Zanzi MV, Bonazza S, Pedriali M, Feo CV, Stojadinovic A, Avital I. Infiltrating lobular carcinoma of the breast presenting as gastrointestinal obstruction: a mini review. *J Cancer*. 2012;3:328-32. doi: 10.7150/jca.4735. Epub 2012 Jul 25. PMID: 22866167; PMCID: PMC3408697.
7. Loibl S, Volz C, Mau C, Blohmer JU, Costa SD, Eidtmann H, Fasching PA, Gerber B, Hanusch C, Jackisch C, Kümmel S, Huober J, Denkert C, Hilfrich J, Konecny GE, Fett W, Stickeler E, Harbeck N, Mehta KM, Nekljudova V, von Minckwitz G, Untch M. Response and prognosis after neoadjuvant chemotherapy in 1,051 patients with infiltrating lobular breast carcinoma. *Breast Cancer Res Treat*. 2014 Feb;144(1):153-62. doi: 10.1007/s10549-014-2861-6. Epub 2014 Feb 7. PMID: 24504379.
8. Floris G, Djerroudi L, Zels G, De Schepper M, Richard F, Brahima R, Derksen PWB, Christgen M, Lakhani SR, Van Diest PJ, Brogi E, Desmedt C, Schnitt SJ, Vincent-Salomon A; European Lobular Breast Cancer Consortium. Pitfalls in the Histological Diagnosis of Morphologic Variants of Invasive Lobular Carcinoma of the Breast. *Mod Pathol*. 2025 Jul 3;38(9):100837. doi: 10.1016/j.modpat.2025.100837. Epub ahead of print. PMID: 40617531; PMCID: PMC12311960.
9. Riedlinger GM, Joshi S, Hirshfield KM, Barnard N, Ganesan S. Targetable alterations in invasive pleomorphic lobular carcinoma of the breast. *Breast Cancer Res*. 2021 Jan 13;23(1):7. doi: 10.1186/s13058-020-01385-5. PMID: 33441174; PMCID: PMC7805167.
10. Burky MJ, Ray EM, Ollila DW, O'Connor SM, Hertel JD, Cathoun BC. Pleomorphic Invasive Lobular Carcinoma of the Breast With Extracellular Mucin and HER2 Amplification. *Breast Cancer (Auckl)*. 2020 Nov 24;14:1178223420976383. doi: 10.1177/1178223420976383. PMID: 33281451; PMCID: PMC7691944.
11. Motanagh SA, Muller KE. Invasive lobular carcinoma with papillary features: A newly described variant that poses a difficult histologic differential diagnosis. *Breast J*. 2020 Jun;26(6):1231-1233. doi: 10.1111/tbj.13784. Epub 2020 Feb 18. PMID: 32068324.
12. Esposito NN, Chivukula M, Dabbs DJ. The ductal phenotypic expression of the E-cadherin/catenin complex in tubulolobular carcinoma of the breast: an immunohistochemical and clinicopathologic study. *Mod Pathol*. 2007 Jan;20(1):130-8. doi: 10.1038/modpathol.3800721. Epub 2006 Nov 24. PMID: 17143261.
13. McCart Reed, A.E., Kalinowski, L., Simpson, P.T. et al. Invasive lobular carcinoma of the breast: the increasing importance of this special subtype. *Breast Cancer Res* 23, 6 (2021). <https://doi.org/10.1186/s13058-020-01384-6>
14. Christgen M, Bartels S, van Luttikhuisen JL, Bublitz J, Rieger LU, Christgen H, Stark H, Sander B, Lehmann U, Steinemann D, Derksen PWB, Kreipe H. E-cadherin to P-cadherin switching in lobular breast cancer with tubular elements. *Mod Pathol*. 2020 Dec;33(12):2483-2498. doi: 10.1038/s41379-020-0591-3. Epub 2020 Jun 22. PMID: 32572153; PMCID: PMC7685979.
15. Varga Z, Mallon E. Histology and immunophenotype of invasive lobular breast cancer: daily practice and pitfalls. *Breast Dis*. 2008-2009;30:15-9. doi: 10.3233/BD-2009-0278. PMID: 19850991.
16. Voorwerk L, Isaeva OI, Horlings HM, Balduzzi S, Chelushkin M, Bakker NAM, Champagnet E, Garner H, Sikorska

- K, Loo CE, Kemper I, Mandjes IAM, de Maaker M, van Geel JLL, Boers J, de Boer M, Salgado R, van Dongen MGJ, Sonke GS, de Visser KE, Schumacher TN, Blank CU, Wessels LFA, Jager A, Tjan-Heijnen VCG, Schröder CP, Linn SC, Kok M. PD-L1 blockade in combination with carboplatin as immune induction in metastatic lobular breast cancer: the GELATO trial. *Nat Cancer*. 2023 Apr;4(4):535-549. doi: 10.1038/s43018-023-00542-x. Epub 2023 Apr 10. PMID: 37038006; PMCID: PMC10132987.
17. Trillo P, Sandoval J, Trapani D, Nicolò E, Zagami P, Giugliano F, Tarantino P, Vivanet G, Ascione L, Friedlaender A, Esposito A, Criscitiello C, Curigliano G. Evolution of biological features of invasive lobular breast cancer: Comparison between primary tumour and metastases. *Eur J Cancer*. 2023 May;185:119-130. doi: 10.1016/j.ejca.2023.02.028. Epub 2023 Mar 8. PMID: 36989828.

Ključne riječi: invazivni lobularni karcinom, dojka, ILC, NST, CDH1 gen, e-cadherin, histološke varijante, klasični podtip, solidna varijanta, trabekularna varijanta, alveolarna varijanta, pleomorfna varijanta, apokrina varijanta, signet-ring varijanta, histiocitoidna varijanta, MRI, NAT, sTILs

e-mail: dagrubisic@gmail.com

JEDINSTVEN MEĐU RIJETKIMA

Martina Luetić¹, Snježana Tomić^{1,2}

¹Klinički zavod za patologiju, sudsku medicinu i citologiju, KBC Split

²Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet

Adenoid-cistični karcinom (ACC) čini svega 0,1-3,5% svih tumora dojke koji se prema 5. izdanju SZO klasificira u skupinu rijetkih i tumora tipa žlijezda slinovnica. Morfološki je građen od epitelnih i mioepitelnih tumorskih stanica s tubularnim, kribriformnim ili solidnim načinom rasta. Često je povezan s fuzijom MYB-NFIB koja dovodi do povećane ekspresije MYB proteina. Prema imunofenotipu pripada skupini trostruko negativnih tumora, ali s odličnom prognozom. Dijeli se na klasični podtip, solidno-bazaloidni te s transformacijom u visoki gradus.

Solidno-bazaloidni podtip je izrazito rijedak, a od klasičnog se razlikuje po arhitekturnalnim i citološkim karakteristikama. Građen je od otočića bazaloidnih stanica s izraženom atipijom, mitotskom aktivnosti i nekrozom. Često je prisutna perineuralna invazija kao i metastaze u aksilarne limfne čvorove. Prognostički je agresivniji, više nalikuje ostalim trostruko negativnim tumorima (TNBC, NST) s većom učestalosti recidiva, regionalnih i distalnih metastaza. Međutim, za razliku od TNBC, NST slabo odgovara na neoadjuvantnu kemoterapiju.

Prilikom postavljanja dijagnoze ACC-a, diferencijalno-dijagnostički treba isključiti druge tumore bazaloidne morfologije kao i sitnostanične neuroendokrine tumore. Kolagena sferuloza i invazivni kribriformni karcinom dojke mogu nalikovati ACC-u, ali je za njih karakterističan nedostatak dualne populacije tumorskih stanica, te luminalni Imunofenotip. Solidno-bazaloidni ACC je agresivniji od klasičnog ACC-a te u velikom broju slučajeva zahtijeva liječenje kemoterapijom. Ipak zbog nedostatka značajnog odgovora na takav tip liječenja, potrebno je istražiti nove terapijske mogućnosti. Sadašnja istraživanja usmjerena su na NOTCH inhibitore koji bi mogli biti potencijalna terapijska opcija budući da je u dijelu ovih tumora pronađena aktivacijska NOTCH mutacija.

Reference

1. WHO Classification of Tumours Editorial Board. Breast tumours. 5th ed. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2019.
2. Schulz-Costello K, Fan F, Schmolze D, Arias-Stella JA 3rd, Taylor L, Tseng J, et al. Solid basaloid adenoid cystic carcinoma of the breast: A high-grade triple negative breast carcinoma which rarely responds to neoadjuvant chemotherapy. Hum Pathol. 2025.
3. Massé J, Truntzer C, Boidot R, Khalifa E, Pérot G, Velasco V, et al. Solid-type adenoid cystic carcinoma of the breast, a distinct molecular entity enriched in NOTCH and CREBBP mutations. Mod Pathol. 2020.

Ključne riječi: adenoid-cistični karcinom, TNBC, solidno-bazaloidni podtip, MYB-NFIB fuzija

IGG4 RELATED DISEASE OF TESTIS CONCURRENT WITH DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMA: A CASE REPORT

Marta Popović Dolić¹ , Lucija Kralj¹ , Lovro Marinović¹ , Slavko Gašparov^{1,2}

¹University Hospital Merkur, Zagreb, Croatia

²School of Medicine, University of Zagreb, Zagreb, Croatia

IgG4 related disease (IgG4-RD) is a fibroinflammatory condition causing tumefactive lesions. It most commonly affects pancreas, orbital structures and salivary glands, but can occur in virtually any organ. There is a rising number of case reports suggesting possible correlation between IgG4-RD and lymphoproliferative disease but probable pathogenesis remains unknown.

We report a case of a 55-year-old male who presented with a left testicular mass. His past medical history included diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) of the right testis diagnosed and treated surgically and with chemotherapy in 2007. At this admission lymphoma recurrence was suspected and patient underwent left-sided orchidectomy. We received the testis measuring 6,0: 4,0 : 3,8 cm with a solid tumor 3,2 cm in diameter. Histologically the tumor was mostly composed of storiform fibrosis with a dense infiltrate of lymphocytes and numerous plasma cells. Nearly all plasma cells stained positive both for IgG and IgG4. Within the same lesions there were few small foci of large, atypical lymphocytes, immunohistochemically confirmed to be DLBCL. To our knowledge concurrent IgG4-RD with DLBCL of testis has never been reported in the literature. This case adds to the pool of potential IgG4-RD sites as well as contributes to the growing evidence connecting IgG4-RD and lymphoma.

Keywords: IgG4-RD, DLBCL, testis

e-mail: marta.popovic1702@gmail.com

TUMOR SPOLNOG TRAČKA S ANULARNIM TUBULIMA (SCTAT) POVEZAN S PEUTZ-JEGHERSOVIM SINDROMOM

Mia Mamić¹, Danijel Antonio Grubišić², Snježana Tomić²

¹Odjel za patologiju i citologiju, Opća bolnica Šibenik

²Klinički zavod za patologiju, sudsku medicinu i citologiju, Klinički bolnički centar Split

Cilj

Tumor spolnog tračka s anularnim tubulima (SCTAT) je neoplazma nesigurnog malignog potencijala jajnika. Može se javiti u bilo kojoj dobnoj skupini, a često se nađe kao incidentalan nalaz u sklopu Peutz-Jeghersovog sindroma (PJS).

Najčešće se prezentira nespecifičnim simptomima, a mogu biti prisutni i poremećaji menstrualnog ciklusa (1). U ovom prikazu slučaja predstavljamo 24-godišnju ženu s PJS-om koja se prezentira novonastalim bolovima u trbuhu, kod koje se prilikom slikovne obrade na Hitnom ginekološkom prijemu u KBC-u Split, u području desnog jajnika pronađe multicistična tvorba veličine 19x11 cm. Prethodno je pacijentici u prosincu 2024. godine, nakon cistektomije desnoga jajnika, dijagnosticiran mucinozni cistadenom. Kontrolnim ultrazvučnim pregledom verificira se daljnje povećanje multilokularne, anehogene ciste koja ispunjava cijeli trbuh te se ordinirajući ginekolog odluči za operacijsko liječenje.

Metode

Pri operacijskom zahvatu prikazu se lijevi jajnik i maternica bez osobitosti te multicistično promijenjen i uvećan desni jajnik glatke vanjske stijenke te se operater odluči za desnostranu adnektomiju i biopsiju lijevog jajnika. Na patohistološku analizu primljena je multicistična tvorba veličine 20x12x4,5 cm, debljine stijenke fokalno do 2,5 cm, glatke i sivkaste vanjske površine, ispunjena mucinoznim sukrvavim sadržajem s jajovodom duljine 9,5 cm, promjera do 0,8 cm. Pod oznakom biopsije lijevog jajnika, odvojeno su primljena tri komadića tkiva od čega se na površini jednog komadića makroskopski uoče dvije nodularne promjene na površini promjera 0,8 cm i 0,3 cm.

Rezultati

Histološki, šuplja tvorba desnog jajnika građena je od vezivne, edematozne stijenke fokalno prožete mononuklearima, na čijoj površini je najvećim dijelom pravilni mucinozni epitel, a fokalno i reparatorno promijenjeni cilindrični mucinozni epitel. U vezivnoj stijenci i periferno smještenom tkivu jajniku vide se manje nakupine građene od tubula obloženih cilindričnim stanicama, svijetlih citoplazmi i bazalno položenih, okruglastih jezgara, dok se u lumenu vidi hijalini materijal nalik bazalnoj membrani. Imunohistokemijski, opisane stanice su pozitivne na kalretinin, WT1 i inhibin, a negativne na EMA i CD10. Histološkim pregledom biopsijskih uzoraka lijevog jajnika

vidi se proliferacija tubula istovjetne građe kao i u prethodno opisanom uzorku, a nodularne promjene odgovaraju papilarnoj proliferaciji na površini jajnika.

Zaključak

PJS je rijetka, autosomno dominantna bolest uzrokovana zametnim patogenim varijantama u genu *STK11* koju najčešće karakteriziraju polipi gastrointestinalnog sustava i mukokutane pigmentacije. U sklopu ginekoloških promjena povezanih sa PJS-om opisani su i SCTAT, adenokarcinom vrata maternice gastričnog tipa, neovisan o HPV-u, kao i povećana učestalost karcinoma endometrija [2]. SCTAT je globalno rijedak (<1% svih tumora spolnog tračka). U 1/3 slučajeva nalazi se u sklopu PJS-a te se često prezentira bilateralnim i multifokalnim lezijama. SCTAT u sklopu PJS-a najčešće ima benigni tijek, dok nesindromski oblici u 20% slučajeva pokazuju ekstraovarijalno širenje [3]. Osim što adekvatno postavljanje patohistološke dijagnoze SCAT-a može pravovremeno pomoći u potvrđivanju dijagnoze PJS-a, osobito kod pacijentica kod kojih klinička slika nije u potpunosti razvijena, identifikacija SCTAT-a ima važnu ulogu u dijagnostici, prognozi i planiranju daljnje medicinske skrbi za pacijentice s PJS-om.

Reference

1. Young RH, Welch WR, Dickersin GR, Scully RE. Ovarian sex cord tumor with annular tubules: review of 74 cases including 27 with Peutz-Jeghers syndrome and four with adenoma malignum of the cervix. *Cancer*. 1982 Oct 1;50(7):1384-402. doi: 10.1002/1097-0142(19821001)50:7<1384::aid-cnrcr2820500726>3.0.co;2-5. PMID: 7104978.
2. Banno K, Kisu I, Yanokura M, Masuda K, Ueki A, Kobayashi Y, Hirasawa A, Aoki D. Hereditary gynecological tumors associated with Peutz-Jeghers syndrome [Review]. *Oncol Lett*. 2013 Nov;6(5):1184-1188. doi: 10.3892/ol.2013.1527. Epub 2013 Aug 16. PMID: 24179492; PMCID: PMC3813608.
3. Scully RE. Sex cord tumor with annular tubules a distinctive ovarian tumor of the Peutz-Jeghers syndrome. *Cancer*. 1970 May;25(5):1107-21. doi: 10.1002/1097-0142(197005)25:5<1107::aid-cnrcr2820250516>3.0.co;2-7. PMID: 5429475.

Ključne riječi: tumor spolnog tračka s anularnim tubulima, SCTAT, Peutz-Jeghersov sindrom, PJS, jajnik, *STK11*, mucinozni cistadenom, kalretinin, *WT1*, inhibin, EMA, CD10

e-mail: mia.mamic912@gmail.com

SVEOBUHVAATNO ZBRINJAVANJE BOLESNIKA S KARCINOMOM PROSTATE - MULTIDISCIPLINARNI PRISTUP

Matej Knežević^{1,2}, Igor Tomašković^{1,2,4}, Monika Ulamec^{3,5}

¹Klinika za urologiju, KBC Sestre milosrdnice, Zagreb

²Medicinski fakultet, Hrvatsko katoličko sveučilište, Zagreb

³Klinički zavod za patologiju i citologiju "Ljudevit Jurak", KBC Sestre milosrdnice, Zagreb

⁴Medicinski fakultet Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera, Osijek

⁵Medicinski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb

Karcinom prostate najučestaliji je solidni tumor u muškaraca te predstavlja značajan javnozdravstveni problem zbog svoje prevalencije, heterogenog biološkog ponašanja i širokog raspona terapijskih mogućnosti. Uspješno zbrinjavanje zahtijeva individualizirani pristup temeljen na kliničkom stadiju, biološkim obilježjima bolesti, komorbiditetima i očekivanom životnom vijeku bolesnika. Zbog složenosti dijagnostičko-terapijskog procesa, optimalni ishodi mogu se postići jedino kroz koordinirani multidisciplinarni tim u kojem sudjeluju urolog, patolog, radiolog, onkolog, radioterapeut, ali i specijalisti palijativne skrbi, psiholozi te nutricionisti.

U dijagnostici, integracija kliničkog pregleda, laboratorijske analize PSA, multiparametrijskog MR-a i ciljane biopsije prostate omogućuje preciznu stratifikaciju rizika. Molekularni biomarkeri te genomika dodatno doprinose individualizaciji liječenja. Kirurški pristupi, uključujući minimalno invazivne i robotski asistirane tehnike, nude povoljne onkološke ishode, dok je radioterapija, uz suvremene modalitete, jednako vrijedna opcija. U lokalno uznapredovalim i metastatskim stadijima, hormonska terapija ostaje temelj liječenja, nadopunjen novim antiandrogenima, kemoterapijom i imunoterapijom.

Multidisciplinarni tim ključan je u odabiru optimalne strategije liječenja, a kontinuirano praćenje ishoda i kvalitete života bolesnika omogućuje pravovremene terapijske prilagodbe. Sve veća važnost pridaje se i participaciji bolesnika u donošenju odluka, što pridonosi boljoj suradnji i zadovoljstvu liječenjem. Sveobuhvatno zbrinjavanje karcinoma prostate stoga zahtijeva integraciju stručnog znanja različitih specijalnosti, usvajanje novih tehnologija i lijekova te stalnu komunikaciju unutar multidisciplinarnog tima, s ciljem postizanja najboljih onkoloških i funkcionalnih rezultata, uz očuvanje kvalitete života bolesnika.

Ključne riječi: Karcinom prostate, multidisciplinarno liječenje

e-mail: matejknezevic1@gmail.com

STEROID CELL TUMOR OF THE OVARY

Ivana Čović¹, Snježana Tomić^{1,2}

¹Department of Pathology, Forensic Medicine and Cytology, University Hospital Centre Split

²School of Medicine, University of Split

We present a case of an 81-year-old woman who was examined at an outside facility due to the sudden growth of her stomach. A patient reported weight loss in the last few months. Physical examination was performed, and symptoms of virilization and hirsutism were observed. ACT-scan was performed and it revealed ascites and a left ovarian mass measuring 6:4 cm. The mass was interpreted as a solid expansive tumor or proliferative process. Hysterectomy with bilateral salpingo-oophorectomy was performed at an outside facility. Both ovaries, fallopian tubes and a uterus were admitted for histological examination. The left ovary measured 6:4 cm. It had a ruptured capsule. On the cut surface, a lobulated, solid, yellowish tumor was observed.

The specimen of the left ovary was sent to our department for consultation. Histologically, the lesion was composed of solid areas and alveolar-like cells with abundant cytoplasm, which was partly pale and partly eosinophilic. The intervening stroma of the tumor was scant. Some areas of necrosis and haemorrhage, along with neutrophilic inflammatory infiltrate, were detected. Immunohistochemically, tumor cells were positive for inhibin alpha, calretinin, and vimentin. 30% of the tumor cells were positive for androgen receptors. Tumor cells were negative for Melan A and PAX-8. Ki-67 proliferation index was low (1-2%). The diagnosis of a steroid cell tumor of the ovary was set. Histological examination of the uterus, left fallopian tube, and right ovary and right fallopian tube, which was performed at an outside facility, revealed no tumor.

Steroid cell tumor (SCT) of the ovary is a rare neoplasm composed of steroid cells. This tumor has a wide age distribution (2-80 years). Different clinical presentations have been described. Symptoms vary from nonspecific, such as abdominal pain, to androgenic manifestations (half of patients) such as virilization or hirsutism. Patients can also present with Cushing syndrome or estrogenic manifestations (postmenopausal bleeding). These tumors are usually unilateral. They vary in size (1,2-45 cm). Differential diagnoses include: Leydig cell tumor, luteinized thecoma, luteinized granulosa cell tumor, pregnancy luteoma, ovarian clear cell tumor, endometrioid carcinoma as well as many metastatic tumors such as renal clear cell carcinoma, melanoma and others. Steroid cell tumors have been documented in patients with a germline mutation in VHL, indicating a connection between the hypoxia signaling pathway and tumorigenesis. Most of these tumors are benign, but up to one-third can be malignant. Malignant steroid cell tumors in 20% of cases present with extra-ovarian disease. Histologic characteristics favoring malignant lesions are more than 2 mitoses/10 HPFs, hemorrhage, necrosis, size more than 7 cm and 2-3 grade nuclear atypia. On the molecular level, they exhibit

more global genomic instability and the BAP1 mutation in some tumors. The standard treatment of steroid cell tumors includes unilateral salpingo-oophorectomy or total abdominal hysterectomy with bilateral salpingo-oophorectomy, depending on the woman's age and the stage of the disease. These tumors are usually insensitive to chemotherapy, and malignant variants may recur after many years.

Keywords: steroid cell tumor, ovary

e-mail: ivana.covic5@gmail.com

HEPATIC AMYLOIDOSIS ASSOCIATED WITH IGG4-RELATED AUTOIMMUNE PANCREATITIS AS A MORPHOLOGICAL MIMIC OF PANCREATIC CARCINOMA WITH LIVER METASTASIS

Lucija Kralj¹, Marta Popović Dolić¹, Lovro Marinović¹, Darija Mužinić^{1,2}, Eva Lovrić^{1,2}, Anita Škrtić^{1,2}

¹Klinička bolnica Merkur, Zajčeva ulica 19, Zagreb

²Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Šalata 10, Zagreb

Autoimmune pancreatitis (AIP) type 1 represents the most common manifestation of IgG4-related disease (IgG4-RD). It is characterized by obstructive jaundice, abdominal pain or discomfort, weight loss, and steroid response. Dense lymphoplasmacytic infiltration and fibrosis are found histologically. Long-term inflammation may lead to secondary amyloidosis, which was identified in the setting of various chronic inflammatory and autoimmune disorders.

We are reporting a case of a 71-year-old female patient with type 2 diabetes complaining of abdominal discomfort, irregular blood sugar, and weight loss since last year. A computed tomography (CT) scan showed a diffusely enlarged pancreas, together with a low-density lesion measuring 35 mm in the 6th hepatic segment. Carbohydrate antigen 19-9 (CA19-9) values were 38. Endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) was performed twice, revealing stenosis in the terminal part, followed by progression to the middle part of the common bile duct. Atypical glandular cells were identified cytologically. No tumor nor hepatic tissue has been proven histologically in the hepatic lesion biopsy. Serum IgG4 values turn out to be slightly elevated, measuring more than 3,3 g/L. Progressive pancreatobiliary malignancy was suspicious, leading to total pancreatectomy with hepatic lesion resection. Grossly, the pancreas was almost entirely firm and whiteish. Histologically, storiform fibrosis was present, with over 100 IgG and IgG4-positive plasma cells per high-power field. Veins were reduced in number, also showing inflammatory changes. Coeliac lymph nodes exhibited reactive changes accompanied by a wreath-like granuloma. By the mentioned features, a diagnosis of AIP type 1 and IgG4-related lymphadenopathy was presumed. Positive Congo red staining of the hepatic lesion, together with focal infiltration of IgG and IgG4-positive plasma cells, confirmed amyloidosis secondary to IgG4-RD. By revision, amyloidosis was also confirmed on the hepatic lesion biopsy taken during diagnostic examination. None of the complications, abdominal pain or discomfort, nor blood sugar abnormalities have been identified one month postsurgically. Elevated serum IgG4 and CA 19-9, together with radiological findings of diffusely swollen pancreas accompanied by distal common bile duct stenosis, should raise suspicion regarding

AIP and IgG4-RD despite the clinical presentation overlapping with malignancy. Amyloidosis in the setting of IgG4-RD is a rare occurrence. In the available literature, we found four reported cases. Nevertheless, the possible coexistence of such entities shouldn't be overlooked, particularly in the presence of suggestive clinical, radiological, and pathohistological findings.

Keywords: autoimmune pancreatitis, IgG4-related disease, amyloidosis, liver, metastasis, slide seminar

e-mail: lucijakralj13@gmail.com

KIKUCHI LYMPHADENITIS MIMICKING LYMPHOMA

Lea Jukić¹, Ivana Ilić², Sandra Bašić Kinda³, Snježana Dotlić^{1,4}

¹Department of Pathology and Cytology, University Hospital Centre Zagreb, Zagreb, Croatia

²Department of Pathology and Cytology, Dubrava University Hospital, Zagreb, Croatia

³Division of Hematology, Department of Internal Medicine, University Hospital Centre Zagreb, Zagreb, Croatia

⁴School of Medicine, University of Zagreb, Zagreb, Croatia

BACKGROUND: Kikuchi lymphadenitis is a benign, self-limiting necrotising lymphadenitis¹, that usually affects young adults². The etiology of this disease remains unknown, although research points towards an infectious or autoimmune origin². Diagnosing Kikuchi lymphadenitis can be challenging, with lymphoma and lupus lymphadenopathy being the most important differential³ diagnoses.

CASE PRESENTATION: The patient is a 25-year-old female who initially presented with an enlarged, painless cervical lymph node. Other systemic symptoms were absent as well. Serological work-up revealed a normal complete blood count (CBC), no evidence of viral infection (HIV, hepatitis B or hepatitis C), and no evidence of autoimmune disease. The MSCT showed several enlarged lymph nodes in the Ib and IIb cervical regions, with no other sites involved. Biopsy of the enlarged lymph node was performed and H&E slides revealed large subcapsular and paracortical areas of necrosis, surrounded by a mixture of mononuclear cells including histiocytes with curved nuclei ("crescentic" histiocytes), clusters of plasmacytoid dendritic cells, and lymphocytes with scattered large immunoblasts. The histiocytes showed immunohistochemical expression of CD68 and MPO (myeloperoxidase), and medium-sized lymphocytes and immunoblasts displayed focal nuclear pleomorphism and the immunophenotype of mature T-cells (CD2+, CD3+, CD5+), with the predominance of CD8+ cells. No EBV-encoded RNA(EBER+) cells were present. In the necrotic area, abundant karyorrhectic debris was seen, but notably, without any neutrophils. Additional molecular analysis showed no evidence of TCR rearrangement. Put together, these findings were consistent with Kikuchi lymphadenitis.

CONCLUSIONS: Histologically, the reactive lymphocytes and necrosis can mimic the atypical lymphocytes and tumor necrosis seen in lymphoma, especially in cases with numerous immunoblasts. Those features are often indistinguishable from lupus lymphadenopathy. Thus, careful interpretation of the clinical symptoms, histology, and IHC staining, unveils the diagnosis of a benign lesion, with no need for further aggressive therapy.

References:

- Kristiani, E., Natalia, S., Ritonga, E. V. F., Djokomuljanto, S., & Kan, E. F. (2021). Kikuchi-Fujimoto disease in pediatrics. *Journal of Pediatric Surgery Case Reports*, 73, 101989. <https://doi.org/10.1016/j.epsc.2021.101989>
- Perry, A. M., & Choi, S. M. (2018). Kikuchi-Fujimoto disease: A review. *Archives of Pathology & Laboratory*

Medicine, 142(11), 1341–1346. <https://doi.org/10.5858/arpa.2018-0219-RA>

Bosch, X., Guilabert, A., Miquel, R., & Campo, E. (2004). Enigmatic Kikuchi-Fujimoto disease: A comprehensive review. *American Journal of Clinical Pathology*, 122(1), 141–152. <https://doi.org/10.1309/YF08-1L4T-KYWV-YVPQ>

Keywords: Lymphoma, lymphadenitis, Kikuchi lymphadenitis, Kikuchi-Fujimoto disease

e-mail: lea.jukic99@gmail.com

PROLIFERTIVNI GLOMERULONEFRITIS S MONOKLONSKIM IMUNOGLUBULINSKIM DEPOZITIMA: PRIKAZ SERIJE SLUČAJEVA, ISKUSTVA JEDNOG CENTRA

Anja Stadnik¹, Petar Šenjug^{1,2}, Gloria Mikan^{1,2}, Matija Horaček², Danica Galešić Ljubanović^{1,2}

¹Klinička bolnica Dubrava

²Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Uvod

U posljednja dva desetljeća, spektar patoloških lezija bubrega povezanih s monoklonskim gamapatijama proširio se s novim entitetima, kao što je proliferativni glomerulonefritis s monoklonskim Ig depozitima (PGNMID).

Materijali i metode

Proveli smo retrospektivno istraživanje baze podataka Zavoda za nefropatologiju i elektronsku mikroskopiju za dijagnozu PGNMID-a na nativnim i transplantiranim bubrezima u Kliničkoj bolnici Dubrava od siječnja 2024. do kolovoza 2025. godine.

Rezultati

Identificirali smo 11 pacijenata s PGNMID-om (7 muškaraca, 4 žene, medijan dobi 65 godina). Dva su slučaja dijagnosticirana u transplantiranom bubregu, 13 godina te 1 godinu i 10 mjeseci nakon transplantacije. Sedam slučajeva prezentiralo se s nefritičkim sindromom, 1 s nefrotskim sindromom i 3 slučaja (uključujući dva transplantirana) sa zatajenjem bubrežne funkcije. Svi pacijenti imali su hematuriju, medijan 24-satne proteinurije bio je 3,7 g, a medijan eGFR-a 30 ml/min/1,73m². Svi su slučajevi imali membranoproliferativni obrazac glomerularne ozljede, osim jednog koji je imao predominantno membranski obrazac. U deset slučajeva našla se endokapilarna hipercelularnost, a celularni i/ili fibrocelularni polumjeseci bili su prisutni u 6 slučajeva. Deset slučajeva bili su PGNMID-IgG (8 IgG3, 2 IgG1), a jedan slučaj bio je PGNMID-IgA. Pet slučajeva imalo je monoklonske lambda lance, a 6 slučajeva kappa lanace (Tablica 1).

Slučajevi 2, 3 i 8 imali su ranije dijagnosticiranu kroničnu limfocitnu leukemiju.

Rasprava i zaključak

Dijagnoza PGNMID-a može biti izazovna. Ovdje prikazujemo naših 11 slučajeva u protekle gotovo dvije godine. Dobra imunofluorescentna analiza (na smrznutom i na parafinskom tkivu), uključujući analizu subklasa IgG-a i elektronsku mikroskopiju, od velike je važnosti za ispravnu dijagnozu.

Ključne riječi: proliferativni glomerulonefritis s monoklonskim Ig depozitima, PGNMID, monoklonalne gamapatije od bubrežnog značenja

e-mail: stadnik.anja@gmail.com

BOLESTI BUBREGA POVEŽANE S HEMATOLOŠKIM MALIGNITETIMA UKLJUČUJUĆI MONOKLONSKJE GAMAPATIJE U NATIVNIM BIOPSIJAMA BUBREGA – ISKUSTVO JEDNOG CENTRA

Anja Stadnik¹, Petar Šenjug^{1,2}, Matija Horaček², Krešimir Galešić¹, Danica Galešić Ljubanović^{1,2}

¹Klinička bolnica Dubrava

²Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Uvod

Hematološki maligniteti, osobito monoklonske gamapatije, imaju različite prezentacije kada zahvaćaju bubrege. Spekter bubrežnih lezija povezanih s monoklonskim gamapatijama značajno se proširio u posljednja dva desetljeća, s opisom novih entiteta i varijanti ranije poznatih entiteta.

Materijali i metode

Proveli smo retrospektivno istraživanje baze podataka Zavoda za nefropatologiju i elektronsku mikroskopiju za bolesti bubrege povezane s hematološkim malignitetima, uključujući monoklonske gamapatije, u Kliničkoj bolnici Dubrava od 2003. godine, kada je Zavod osnovan, do kraja 2024. godine.

Rezultati

Identificirali smo 297 pacijenata s nekim oblikom bubrežne bolesti povezane s hematološkom bolešću. Najčešća dijagnoza bila je cast nefropatija povezana s monoklonskom gamapatijom (135, 46,5%), a slijedila je amiloidoza (115, 38,7%). Ostali entiteti i kombinirani entiteti u istoj biopsiji prikazani su na Slici 1. Kategorija "sumnjivo na cast nefropatiju" obuhvaća slučajeve koji ne zadovoljavaju sve konsenzus kriterije RPS/IKMG iz 2025. za dijagnozu cast nefropatije.

Rasprava i zaključak

Dijagnoza bolesti povezanih s hematološkim malignitetima, osobito monoklonskim gamapatijama, može biti izazovna. Međutim, razlikovanje među njima od velike je važnosti i nije samo pitanje akademskog interesa. Moramo biti svjesni mogućnosti istodobne prisutnosti više od jednog entiteta u istoj bubrežnoj biopsiji.

Ključne riječi: monoklonske gamapatije od bubrežnog značenja, hematološke neoplazme, biopsija bubrega

e-mail: stadnik.anja@gmail.com

FROM CLINICAL HERNIA TO DIAGNOSTIC SURPRISE: A CASE REPORT

Martina Britvar¹, Nikolina Kurtović^{1,2}, Luka Klobučarić^{1,2}, Zlatka Radičević^{1,2}, Dag Dušanić^{3,2}, Andrej Kovačević^{1,2}, Jasmina Rajc^{1,2}

¹University Hospital Centre Osijek

²Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

³General Hospital Našice

Desmoid tumors are benign neoplasms arising from connective tissue. Their etiology remains unclear, although they are frequently associated with genetic predispositions, hormonal influences, trauma, and prior surgical interventions. These lesions pose a diagnostic challenge due to their rarity, diverse clinical manifestations, locally aggressive behavior, and high recurrence rates.

A 46-year-old male presented with a two-month history of a noticeable bulge in the right groin. On clinical examination, the abdomen was soft, and a palpable, painless, reducible right inguinal hernia was noted. The patient underwent hernioplasty. A tissue specimen measuring 6.8 × 6.0 × 0.2 cm was submitted for pathological examination. Grossly, a whitish, spherical formation measuring 3.0 × 0.8 × 0.6 cm was identified within the hernia sac. Histological evaluation showed unremarkable mesothelium overlying connective tissue with blood vessels lined by normal endothelium. The lesion demonstrated spindle cell proliferation without atypia or mitosis, embedded in a collagenous stroma with a partially keloid appearance.

Immunohistochemical staining was positive for Smooth Muscle Actin, Beta-Catenin (nuclear and cytoplasmic), and focally for Desmin. Other markers, including CD34, ALK, S100, Calretinin, Cytokeratin AE1/AE3, and Cytokeratin 5/6, were negative. Fluorescence in-situ hybridization analysis for the MDM2 gene showed no amplification. Based on these findings, the lesion was diagnosed as a desmoid tumor.

Desmoid tumors remain challenging to manage due to their unpredictable biological behavior and variable responses to treatment, which may include observation, surgery, radiotherapy, or systemic therapy. A multidisciplinary approach is recommended, with close clinical follow-up being crucial after treatment.

Keywords: Desmoid tumor, Fibromatosis, Hernia, Immunohistochemistry

e-mail: britvarm@gmail.com

WHEN DIVERTICULOSIS ISN'T JUST DIVERTICULOSIS: AN UNUSUAL PRESENTATION OF LYMPHOMA IN A TRANSPLANT RECIPIENT

Nikolina Kurtović^{1,2}, Luka Klobučarić^{1,2}, Zlatka Radičević^{1,2}, Martina Britvar¹,
Darija Alpeza^{1,2}, Ivana Ilić^{3,4}, Jasmina Rajc^{1,2}

¹Department of Pathology and Forensic Medicine, University Hospital Centre Osijek, Osijek

²Faculty of Medicine Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Osijek

³Department of Pathology and Cytology, University Hospital Dubrava, Zagreb

⁴Faculty of Medicine, University of Zagreb, Zagreb

Anaplastic large cell lymphoma (ALCL) is a rare subtype of non-Hodgkin lymphoma, with the ALK-negative variant associated with poorer prognosis. In transplant recipients, it may occur as part of post-transplant lymphoproliferative disorder (PTLD), with T-cell variants being exceptionally rare.

We present a 62-year-old male patient with chronic glomerulonephritis, treated with hemodialysis until 2005, when he underwent kidney transplantation. The patient was maintained on long-term immunosuppressive therapy. In January 2025, he underwent elective laparoscopic sigmoid resection due to recurrent diverticulitis. Macroscopically, in a 20 cm resected bowel segment, 5.5 cm from the proximal resection margin, a mural thickening with luminal narrowing and superficial mucosal ulceration was noted. Histologically, partially preserved colonic mucosa was seen, with the ulcerated area covered by granulation tissue. Throughout the bowel wall, there was an infiltrate predominantly composed of small T- lymphocytes with fewer B-lymphocytes. Foci of atypical, large, pleomorphic, and multinucleated cells were observed.

These cells were immunohistochemically negative for CD20, CD3, CD56, CD15, ALK, and LEF1, and positive for CD30 and CD2. The histological and immunophenotypic findings were consistent with ALK-negative ALCL, while subsequent analysis confirmed absence of DUSP22 mutation. In the remaining samples, multiple diverticula lined by unremarkable epithelium were found. Bone marrow biopsy showed no disease infiltration, and radiological work-up revealed no systemic dissemination.

Following diagnosis, the patient was referred for further hematology evaluation and initiated on BV-CHP protocol with reduction of immunosuppression. Treatment is ongoing, and renal graft function remains stable. This case illustrates a rare occurrence of ALK-negative ALCL in a transplant recipient, initially presenting as diverticulosis. Histopathological and immunohistochemical findings were crucial for timely diagnosis and initiation of targeted therapy.

Keywords: Anaplastic large cell lymphoma, ALK-negative, colonic neoplasms, kidney transplantation, post-transplant lymphoproliferative disorders

e-mail: nikolinakurtovic97@gmail.com



POSTER PREZENTACIJE

MUCINOUS TUBULAR AND SPINDLE CELL RENAL CELL CARCINOMA

Iva Markota Lochert, Karolina Krstanac, Lucija Matošin, Anja Stadnik, Martina Fadljević, Vlatka Vrbaneć

Klinička bolnica Dubrava

Mucinous tubular and spindle cell carcinoma (MTSCC) is a rare variant of renal cell carcinoma. It is characterized by a unique histological pattern consisting of tightly packed tubules with spindle-shaped cells areas embedded in a mucinous/myxoid stroma. It is a rare renal epithelial tumor, accounting for less than 1% of all renal cell carcinomas, typically affecting adults.

A 77-year-old female patient underwent a CT scan as part of the preoperative evaluation for a planned thyroid lobectomy. The CT imaging incidentally revealed a well-circumscribed, solid mass measuring 3,5 cm in the upper pole of the right kidney. The patient underwent a laparoscopic radical nephrectomy of the right kidney. On gross inspection, in the upper pole of the right kidney, there is a well-circumscribed, white mass measuring 3,5 cm. Histologically, it is characterised by a elongated, tightly packed tubular structures and spindle-shaped cells arranged in parallel or interlacing fascicles. The tumor is embedded in a mucinous stroma. The tubular components are lined by cuboidal to columnar epithelial cells with small, uniform nuclei and inconspicuous nucleoli. No significant nuclear pleomorphism, necrosis, or sarcomatoid differentiation is observed. Immunohistochemical staining shows positivity for CK7, vimentin, AMACR and PAX8, with negative staining for CD10 and CAIX marker, supporting the diagnosis.

MTSCC is a rare, low-grade renal epithelial neoplasm recognized as a distinct subtype of renal cell carcinoma. Although MTSCC is typically considered a low malignant potential tumor with excellent long-term outcomes following complete surgical resection, rare cases with aggressive clinical behavior, including metastasis and recurrence, have been reported, particularly in tumors with high grade histologic transformation. Therefore, while the overall prognosis remains excellent in the absence of adverse pathological features, continued clinical and radiological surveillance is advised to ensure early detection of any unexpected progression. This case contributes to the growing body of literature supporting the generally favorable biological behavior of MTSCC, while also emphasizing the need for awareness of its rare but possible aggressive variants.

Keywords: spindle-shaped, tubular, mucinous, low-grade, immunohistochemistry

e-mail: iva.markota01@gmail.com

A PAEDIATRIC CASE OF AUTOIMMUNE POLYGLANDULAR SYNDROME TYPE 1

Petra Madžar^{1,2}, Kristina Lah-Tomulić^{2,3}, Gordana Đorđević^{1,2}

¹Department of Pathology and Cytology, Clinical Hospital Center Rijeka, Croatia

²University of Rijeka, Faculty of Medicine, Croatia

³Department of Pediatrics, Clinical Hospital Center Rijeka, Croatia

Authors present the clinical and autopsy findings in the case of a paediatric patient with type I autoimmune polyendocrinopathy syndrome.

Autoimmune polyglandular (polyendocrinopathy) syndrome type 1 (APS 1) is due to mutations in the autoimmune regulatory gene (AIRE), with about 60 different mutations described so far. Pathogenic gene variants lead to multiorgan autoimmunity characterized by multiple endocrine glands' functional impairment due to loss of immune tolerance. Atwo-year-old girl initially presented with high body temperature, vomiting, positive meningeal signs and elevated inflammatory laboratory parameters. On admission, she was somnolent with a GCS of 14. Lumbar puncture indicated a bacterial infection. Brain MSCT showed extensive brain oedema with the absence of grey and white matter differentiation bilaterally temporally and frontobasally. Cerebrospinal fluid culture was positive for *Streptococcus pneumoniae*, even though she had been vaccinated. Despite intensive treatment measures, the patient died 11 days after admission.

Autopsy verified acute suppurative meningoencephalitis, nonspecific interstitial pneumonitis and chronic pancreatitis with extensive fibrosis and steatonecrosis. Due to organ donation, the heart, liver, gall bladder, part of the spleen, kidneys and adrenal glands were not available for examination. The results of genetic testing proved the presence of a pathogenic variant of the AIRE gene.

APS-1 is a potentially underdiagnosed condition due to the rarity and enormous variability in its presentation. Patients with APS-1 have an increased risk of mortality due to abnormal autoimmune response, particularly hepatitis, nephritis and pneumonitis. Although APS-1 is characterised by multiorgan autoimmunity, patients may have a clinically significant immune deficiency in response to infection before any autoimmunity symptoms, as seen in the presented case.

Keywords: Autoimmune polyglandular syndrome type 1, autoimmune regulatory gene (AIRE)

e-mail: petra.madzar@medri.uniri.hr

CNS EMBRYONAL TUMOR NEC/NOS IN A 52 YEAR OLD MAN, A CASE REPORT

Hrvoje Lončar, Antonia Jakovčević, Ivan Franin

Department of Pathology and Cytology "Ljudevit Jurak," Univesity Hospital Center Sestre milosrdnice, Vinogradska cesta 29, Zagreb 10000, Croatia

INTRODUCTION

Central Nervous System (CNS) embryonal tumors are rare, heterogeneous and highly malignant neoplasms that occur mostly in children and adolescents in form of medulloblastoma, in cerebellum as the most common site, but they can be found anywhere along the neuraxis. In adults, they are exceedingly uncommon and pose significant diagnostic and therapeutic challenges. According to the World Health Organization (WHO) 2021 classification, embryonal tumors that cannot be assigned to specific molecular or histopathological subtypes are categorized as CNS embryonal tumor, not elsewhere classified (NEC).

We present a case of an adult patient with a rare spinal manifestation of CNS embryonal tumor, NEC, including clinical presentation, neuroradiological findings, histopathological features, treatment course, and outcome.

CASE REPORT

A 52-year-old male presented with progressive neurological deficits, including lower limb weakness, pain and sensory disturbances. MRI of the spine revealed an intradural extramedullary mass at the T12–L1 level. Surgical resection was performed, and histopathological examination demonstrated a highly cellular tumor composed of closely packed, atypical cells with hyperchromatic nuclei with a high proliferative index (Ki-76) of 80%. Molecular analysis performed using a broad panel of different genes confirmed CTNNB1 mutation which encodes beta-catenin. Immunohistochemistry and molecular analysis was not specific for any of the defined embryonal subtypes, leading to the diagnosis of CNS embryonal tumor, NEC.

After surgery, due to changes in mental status, the patient was furtherly examined and cranial CT scan revealed hemorrhage around foramen magnum and inside cerebral ventricles. Surgical evacuation of the hemorrhagic tissue was performed and histology confirmed the same embryonal tumor, NEC, which was consistent with metastatic spread.

CONCLUSION

CNS embryonal tumor, NEC, is an exceptionally rare diagnosis in adults. This case highlights the unusual spinal presentation with subsequent cerebellar involvement and illustrates the aggressive biological behaviour of this entity. Accurate diagnosis



requires integration of histopathological, immunohistochemical and molecular analysis, while prognosis remains poor despite intensive multimodal treatment.

Keywords: embryonal tumors, molecular analysis, CTNNB1

e-mail: hrvojel93@gmail.com

A RARE CASE OF GASTROINTESTINAL STROMAL TUMOR OF THE APPENDIX: A CASE REPORT

Anja Stadnik¹, Karolina Krstanac¹, Martina Fadljević¹, Iva Markota Lochert¹, Lucija Matošin¹, Vlatka Vrbaneć²

¹Dubrava University Hospital, Gojko Šušak Avenue 6, 10000 Zagreb

²County Hospital Čakovec, Street Ivan Goran Kovačić 1E, 40000 Čakovec

Gastrointestinal stromal tumors (GISTs) are the most common mesenchymal neoplasms of the gastrointestinal (GI) tract, arising from the interstitial cells of Cajal or their precursors. They most frequently occur in the stomach (60–70%) and small intestine (20–30%), with far fewer cases identified in the colon, rectum, or esophagus. GISTs of the appendix are exceptionally rare, comprising only 0.1–0.2% of all cases, with limited documentation in the literature. These tumors often remain asymptomatic and are typically discovered incidentally during surgeries for unrelated GI pathologies. Histologically, GISTs commonly exhibit spindle cell or epithelioid morphology, and immunohistochemical analysis plays a key role in diagnosis, with CD117 (KIT) and DOG1 as the most specific markers.

We present the case of a 78-year-old male admitted for surgical treatment of cecal adenocarcinoma, previously diagnosed following evaluation for anemia and lower gastrointestinal pain. Colonoscopy revealed an obstructive mass at the ileocecal valve, with biopsy confirming adenocarcinoma. Imaging showed no visceral metastases, though suspected metastatic lesions were present in the iliac bones. The patient underwent right hemicolectomy, during which an incidental 3 mm mass was found at the tip of the appendix. Histological examination revealed a lesion with mixed spindle and epithelioid morphology. Immunohistochemistry showed positivity for CD117 and DOG1, and negativity for S-100, smooth muscle actin (SMA), desmin, and SOX-10, consistent with a diagnosis of GIST. The tumor was confined to the muscularis propria with early subserosal extension, showed no mitotic activity or necrosis, and was classified as a low-grade (G1) lesion with no risk of progression per CAP guidelines and WHO prognostic group I.

This case underscores the diagnostic importance of histopathological evaluation of incidental findings, even in clinically unrelated surgeries, and contributes to the scarce documentation of appendiceal GISTs.

Keywords: GIST, Appendiceal GIST, immunohistochemistry, CD117, DOG1, incidental tumor, Low-grade neoplasm

e-mail: stadnik.anja@gmail.com

INTRANODAL PALISADED MYOFIBROBLASTOMA: A CASE REPORT

Klara Pavlić, Ivana Prkačin, Tihana Regović Džombeta

Univeristy Hospital Centre "Sestre milosrdnice", Zagreb, Croatia; University of Zagreb School of Medicine, Zagreb, Croatia

Intranodal palisaded myofibroblastoma (IPM) represents an exceptionally rare primary benign tumor of the lymph nodes emerging from myofibroblasts. According to available literature, less than 100 cases have been described. We report a case of IPM presenting as a hard and immobile swelling in the inguinal region in a female patient, which was cytologically suspicious of metastatic melanoma. Despite the rarity of primary benign tumors of lymph nodes and given isolated lymphadenopathy is often worrisome, it is important to include them in differential diagnosis to avoid overtreatment.

Keywords: intranodal palisaded myofibroblastoma, inguinal lymph nodes

e-mail: klara.pavlic@kbcsm.hr

MALIGNANT MELANOMA OF THE FEMALE URETHRA: A CASE REPORT

Dunja Holcinger¹, Nives Kolesarić², Ivan Franin¹, Monika Ulamec¹

¹Sestre milosrdnice University Hospital Center, Ljudevit Jurak University Department of Pathology and Cytology, Zagreb, Croatia

²Zabok General Hospital, Department of Pathology and Cytology, Zabok, Croatia

We report the case of a 75-year-old female who presented with bloody vaginal discharge and was initially evaluated by gynecologist before being referred to a urologist. The patient had previously undergone excision of the urethral tumor at another institution, where histological examination suggested urothelial carcinoma. The specimen was sent to our hospital for further immunohistochemical evaluation. Histological examination showed tumor fragments composed of atypical, large epithelioid cells with abundant eosinophilic cytoplasm, arranged in solid clusters, with brisk mitotic activity, absence of melanin pigment, and a dense inflammatory infiltrate. Areas of necrosis and granulation tissue were also identified. Immunohistochemistry revealed diffuse expression of Melan-A and vimentin, focal positivity for S100 and SOX10, and negativity for epithelial, neuroendocrine, and muscle markers, thus excluding carcinoma and sarcoma. Based on histological and immunohistochemical findings, the diagnosis of malignant mucosal melanoma of the urethra was confirmed.

Primary malignant melanoma of the urethra is a very rare neoplasm, accounting for only 0.2% of all melanomas and approximately 4% of urethral cancers. It is more frequently seen in women and is characterized by aggressive behavior, early metastatic potential, and a poor prognosis. Clinical manifestations often overlap with those of urothelial carcinoma, which contributes to delayed diagnosis and treatment. Because of its rarity, therapeutic strategies remain poorly defined, and most evidence is limited to single case reports and small case series.

This case highlights the diagnostic challenges of urethral melanoma, particularly in amelanotic forms, and importance of considering urethral melanoma in the differential diagnosis of urethral and vaginal bleeding, as early recognition is crucial for patient outcomes.

Keywords: Mucosal melanoma, female urethra

e-mail: dunjah8@gmail.com

ACUTE APPENDICITIS ASSOCIATED WITH ENTEROBIUS VERMICULARIS INFECTION – A CASE REPORT

Ivona Mićović^{1,2}, Martina Murković^{1,2}, Marko Radman^{2,3}, Filip Bedenik^{2,3}, Koviljka Matušan Ilijaš^{1,2}

¹Clinical Department of Pathology and Cytology, Clinical Hospital Centre Rijeka, Rijeka, Croatia

²The Faculty of Medicine of the University of Rijeka, Rijeka, Croatia

³Department of Pediatric Surgery, Clinical Hospital Centre Rijeka, Rijeka, Croatia

Enterobius vermicularis (pinworm) is the most common cause of helminthic infections in humans, with the highest prevalence in the paediatric population. It is estimated to affect hundreds of millions of people worldwide, particularly in areas with lower hygienic standards and in collective settings such as kindergartens and schools. The most frequent clinical manifestation of infection is perianal pruritus, while up to 40% of infected individuals remain asymptomatic. The infection is most commonly diagnosed by Graham's perianal tape test, and transmission occurs via the faecal–oral route. Although *E. vermicularis* primarily parasitizes the cecum and causes mild or no symptoms, it may occasionally migrate into the lumen of the appendix. The most common cause of acute appendicitis is luminal obstruction by a fecalith, whereas parasitic infections are a much rarer etiological factor. The global incidence of *E. vermicularis*–associated appendicitis is estimated at around 4%. The pathogenesis of the inflammatory response in such cases is still not fully elucidated. It is thought that mechanical obstruction of the lumen, local immune reaction to the parasite, and possible secondary bacterial infection may contribute to the development of inflammation. Due to heterogeneous findings in the literature, the association between *E. vermicularis* infection and acute appendicitis remains somewhat controversial. The aim of this paper is to present a rare case of acute appendicitis associated with *E. vermicularis* infection in a child, confirmed by histopathological examination.

A six-year-old girl initially presented to the Pediatric Surgery Emergency Office with a two-day history of abdominal pain. On follow-up examination, inflammatory markers were elevated and there was tenderness on palpation in the lower right abdominal quadrant. An exploratory laparotomy and appendectomy were therefore performed. Histopathological findings revealed focal denudation of the appendiceal mucosa, prominent hyperplasia of lymphoid tissue in the lamina propria, and numerous eosinophils in all layers of the wall. Intraluminally, adult forms of multicellular parasites were identified. The diagnosis of acute appendicitis associated with *E. vermicularis* infection was established. The postoperative recovery was uneventful, and at the follow-up visit an anal swab and antihelminthic therapy were recommended. Although *E. vermicularis* rarely causes acute appendicitis, this case highlights the importance of careful histopathological analysis of every surgical specimen, especially in children.

Timely recognition of parasitic aetiology enables targeted treatment, reduces the risk of recurrence, and may prevent unnecessary surgical interventions in the future. Since the exact mechanism of appendiceal inflammation in the presence of *E. vermicularis* is not fully understood and research findings remain inconsistent, further studies could contribute to a better understanding of this rare but clinically significant phenomenon.

Keywords: Appendectomy, Appendicitis, Case report, *Enterobius vermicularis*, Helminth, Parasites

e-mail: ivonamicovic1@gmail.com

MEDULARNO - PAPILARNI KARCINOM ŠTITNE ŽLIJEZDE

Patricija Sesar¹, Marija Škerlj¹, Marina Lovrenčić²

¹KBC Sestre milosrdnice, Zagreb

²OB " Dr. Ivo Pedišić", Sisak

Prikazujemo slučaj 74 - godišnje pacijentice sa dijagnozom medularno - papilarnog karcinoma štitne žlijezde. Radi se o rijetkoj vrsti tumora, koji čini 1 % svih karcinoma štitne žlijezde.

Ključne riječi: medularni karcinom, papilarni karcinom, štitna žlijezda

e-mail: patricijasesar@yahoo.com

HOMOLOGOUS RECOMBINATION REPAIR (HRR) TESTING IN CROATIA: IDENTIFYING TARGETS FOR PARP INHIBITOR THERAPY IN METASTATIC CASTRATION-RESISTANT PROSTATE CANCER

Ivan Franin¹, Ivana Čelap^{2,3}, Igor Tomašković^{4,5}, Jure Murgić⁶, Ivan Šamija^{7,8}, Monika Ulađec^{1,9,10}

¹Ljudevit Jurak Department of Pathology and Cytology, Sestre milosrdnice University Hospital Centre, Zagreb, Croatia

²Department of Clinical Chemistry, Sestre milosrdnice University Hospital Centre, Zagreb, Croatia

³Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb, Zagreb, Croatia

⁴Department of Urology, Sestre milosrdnice University Hospital Centre, Zagreb, Croatia

⁵School of Medicine, Catholic University of Croatia, Zagreb, Croatia

⁶Department of Oncology and Nuclear Medicine, Zagreb, Croatia, Sestre milosrdnice University Hospital Centre, Zagreb, Croatia

⁷School of Dental Medicine, University of Zagreb

⁸Department of Clinical Chemistry, Sestre milosrdnice University Hospital Centre, Zagreb, Croatia

⁹Department of Pathology, School of Medicine, University of Zagreb, Zagreb, Croatia

¹⁰Scientific Centre of Excellence for Reproductive and Regenerative Medicine, School of Medicine, University of Zagreb, Zagreb, Croatia

Background & objective:

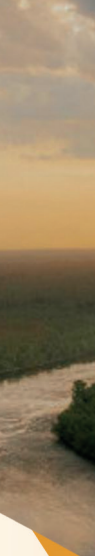
Homologous recombination repair (HRR) pathogenic variants, play a significant role in DNA repair mechanisms. Defective HRR pathways, especially in advanced cancers like metastatic castrate-resistant prostatic adenocarcinoma (mCRPC), make tumors susceptible to targeted therapies such as poly ADP-ribose polymerase inhibitors (PARPi). At the beginning of the year, we initiated the development of a testing algorithm, given that patients became eligible for PARP inhibitor therapy in the setting of castration-resistant metastatic carcinoma. Based on this, we established an algorithm according to which testing is performed in patients receiving the last line of therapy.

Methods:

A total of 40 mCRPC patients were selected for HRR pathogenic variants testing using formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tissue samples. The HRR gene panel included full-length sequencing of the following genes: ATM, BARD1, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDK12, CHEK2, FANCD2, MRE11, NBN, PALB2, PPP2R2A, RAD51B, RAD54L, and TP53. Pathohistological findings (GG, pTN, tumor volume) and clinical data (age, stage, therapy, OS) were compared to molecular testing results.

Results:

Of the 40 patients, 15 % (n=6) displayed pathogenic variants in HRR-related genes. The most frequently pathogenic variants were ATM (7,5%), followed with BARD1 (5%), BRCA1 (2,5%) and CHEK2 (2,5%) (Table 1). No cases of co-occurring mutations in multiple



HRR genes were found. Alongside the pathogenic variants in HRR-related genes, 12,5 % (n=5) of the tumours also had a TP53 pathogenic variation. These genetic alterations were strongly associated with poor prognosis, indicating aggressive disease and an accelerated progression to metastatic castration resistance. Mutations were found in patients with higher GG and stage, often within cribriform pattern. All of the 11 tumors which displayed a pathogenic mutation were graded as „gleason group grade 3” with a dominant cribriform growth pattern (Figure 1). Out of the 40 analyses performed, one initially failed to yield results. However, upon repetition, the analysis was successful and confirmed the previously mentioned BRCA1 gene mutation. Another one of the 40 analyses definitively failed to produce results.

Conclusion:

Homologous recombination repair (HRR) gene testing is a pivotal step in the molecular characterization of metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC), as it enables the identification of patients most likely to benefit from poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor (PARPi) therapy. Within our cohort, a substantial proportion of patients carried pathogenic variants, particularly in ATM, BARD1, BRCA1, and CHEK2—genes that are recognized biomarkers of PARPi sensitivity. Within our panel TP53 variant was addressed as well, as an indicator for poor prognosis and resistance to some therapies. To address this, our group participated in the development of a national HRR testing algorithm, designed to standardize diagnostic workflows and ensure timely identification of eligible patients across Croatia. The results underscore the clinical value of integrating routine molecular profiling into standard care, not only to inform therapeutic decision-making but also to provide prognostic insights. HRR-mutated tumors were associated with higher Gleason grade groups, advanced stages, and aggressive histopathological features such as cribriform growth. Incorporating PARPi-based strategies for HRR-deficient mCRPC patients holds the potential to improve survival outcomes, delay disease progression, and reduce treatment-related morbidity.

Keywords: Homologous Recombination Repair (HRR), PARP Inhibitor Therapy, Castration-Resistant Prostate Cancer

e-mail: franin.ivan@gmail.com

EOZINOFILNI VAKUOLIZIRANI TUMOR BUBREGA (EVT)

Dorotea Vodeničar¹, Danijel Antonio Grubišić², Katarina Vilović²

¹Odjel za patologiju i citologiju, Opća bolnica Zadar

²Klinički zavod za patologiju, sudsku medicinu i citologiju, Klinički bolnički centar Split

Cilj

Eozinofilni vakuolizirani tumor pripada heterogenoj skupini onkocitnih tumora bubrega koji se ne mogu klasificirati kao onkocitom, kromofobni karcinom bubrežnih stanica ili drugi tip tumora s eozinofilnim karakteristikama (1). Prihvatljiva terminologija ove skupine je onkocitni tumor, NOS. Pacijent kojeg u ovom slučaju prikazujemo je 57-godišnji muškarac koji se javio na Hitni prijem KBC-a Split sa simptomima nefrokolika. Tada je radiološkom obradom utvrđena nefrolitijaza i hidronefroza lijevog bubrega i tumor gornjeg pola desnog bubrega. Nefrolitijaza je liječena ESWL-om i postavljenjem JJ-stenta, nakon čega je napravljena parcijalna nefrektomija desnog bubrega. U ovom prikazu slučaja prezentiramo kliničko- patološka obilježja eozinofilnog vakuoliziranog tumora bubrega s naglaskom na važnosti detaljne patohistološke, imunohistokemijske i molekularne analize kako bi se postavila precizna patohistološka dijagnoza.

Metode

Makroskopski, zaprimljen je kuglast komad tkiva veličine 2,2x2x1,2 cm, bjelkasto-smečkast na prerezu. Histološki, tumorsko tkivo je građeno od pojedinačnih stanica i nakupina različite veličine i različitog oblika u hipocelularnoj, miksoidnoj stromi. Većina tumorskih stanica ima naglašenu citoplazmatsku vakuolizaciju i eozinofilnu citoplazmu. Jezgra je vezikularna s prominentnim nukleolom. Znakovi malignosti, kao što su nekroza te rabdoidne ili sarkomatoidne karakteristike tumorskih stanica, nisu nađeni. Ne vidi se limfovaskularne ni perineuralne invazije. Periferno se nalazi oskudan bubrežni parenhim te dio površine prekriva tanka vezivna ovojnica, a dijelom tumorsko tkivo dopire do ruba preparata.

Rezultati

Imunohistokemijska analiza je pokazala da su tumorske stanice CK8/18, CKAE1/AE3, PAX8 i CD117 difuzno pozitivne, CK7 i CK20 pojedinačne stanice pozitivne, a vimentin, GATA3, WT1 i HMWCK negativne. Molekularna analiza metodom NGS pokazala je da je tumor mikrosatelitski stabilan (MSS, 16,95%) s niskim tumorskim mutacijskim opterećenjem (1,8 mut/Mb - TMB low). Nađene su mutacije u genima TSC2, TSC1 i MTOR, s vrlo niskom frekvencijom varijantnog alela (VAF) u svim navedenim genima, a navedene mutacije kod ovog tipa tumora su opisane i u nekim drugim studijama (2). Diferencijalno dijagnostički, EVT kao tumor visokog gradusa treba razlikovati od drugih onkocitnih tumora niskog gradusa, ponajprije morfološkom i imunohistokemijskom

analizom (1). EVT je karakteriziran solidnim rastom eozinofilnih stanica s vakuoliziranom citoplazmom i prominentnim nukleolom, fokalnom imunohistokemijskom CK7 ekspresijom i CD117 pozitivitetom, dok onkocitni tumori niskog gradusa nemaju istaknute nukleole ni polimorfne jezgre te se tumorske stanice difuzno imunohistokemijski bojažu na CK7, a negativne su na CD117 (2). Kada se radi o solitarnim tumorima s borderline karakteristikama važno je isključiti onkocitom, kromofobni karcinom bubrežnih stanica, ali i dobro definirane tumore koji ih oponašaju, primjerice epitelioidni angiomiolipom ili neki od molekularno definiranih bubrežnih karcinoma, u svrhu čega se provodi molekularna analiza tumora (1,2). Tumori koji se javljaju u sklopu Birt-Hogg-Dubé sindroma su obično multifokalni i bilateralni, a mikroskopski dijele karakteristike onkocitoma i kromofobnih karcinoma bubrega, često su svijetlih citoplazmi i mozaičnog izgleda (1).

Zaključak

EVT je prvi put izdvojen kao zaseban entitet 2021. godine u radu Društva genitourinarnih patologa te se još naziva i „onkocitnim tumorom visokog gradusa“ ili „sporadičnim karcinomom bubrežnih stanica s eozinofilnom i vakuoliziranom citoplazmom“. Pripada heterogenoj skupini tumora bubrega s eozinofilnom, tj. onkocitnom citoplazmom koji pokazuju preklapajuća obilježja onkocitoma i kromofobnog karcinoma bubrežnih stanica i kao takvi izbjegavaju definitivnu klasifikaciju (3). Patohistološko prepoznavanje EVT-a bubrega od iznimne je važnosti jer omogućuje razlikovanje ovog, biološki indolentnog entiteta od drugih potencijalno agresivnih bubrežnih tumora, čime se izbjegava nepotrebno agresivno liječenje i omogućuje adekvatno kliničko praćenje.

Reference

1. WHO Classification of Tumours Editorial Board. Other oncocytic tumours of the kidney. In: WHO Classification of Tumours: Urinary and Male Genital Tumours [Internet]. 5th ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2022 [citirano 2025 Sep 2]. Dostupno na: <https://tumourclassification.iarc.who.int>
2. Farcaş M, Gatalica Z, Trpkov K, Swensen J, Zhou M, Alaghebandan R, et al. Eosinophilic vacuolated tumor (EVT) of kidney demonstrates sporadic TSC/MTOR mutations: next-generation sequencing multi-institutional study of 19 cases. *Mod Pathol*. 2021; doi:10.1038/s41379-021-00923-6.
3. Trpkov K, Williamson SR, Gill AJ, Adeniran AJ, Agaimy A, Alaghebandan R, et al. Novel, emerging and provisional renal entities: The Genitourinary Pathology Society (GUPS) update on renal neoplasia. *Mod Pathol*. 2021 Jun;34(6):1167-1184. doi: 10.1038/s41379-021-00737-6. Epub 2021 Feb 1. Erratum in: *Mod Pathol*. 2021 May;34(5):1037. doi: 10.1038/s41379-021-00775-0. PMID: 33526874.

Ključne riječi: eozinofilni vakuolizirani tumor, bubreg, EVT, onkocitni tumori, CK8/18, CKAE1/AE3, PAX8, CD117, CK7, CK20, vimentin, GATA3, WT1, HMWCK, NGS, MSS, TMB low, TSC2, TSC1, MTOR

e-mail: dorotea.vodenicar@gmail.com

DIAGNOSIS AND TREATMENT OF IRIS LESIONS

Biserka Pigac, Jasmina Justament

Opća bolnica Varaždin, Odjel za patolgiju, citologiju i sudsku medicinu

The most common lesion of the iris are iris nevi, iris melanomas and cysts of the iris pigment epithelium.

The diagnosis can be made using a variety of methods, including the slit-lamp examination, gonioscopy, tonometry, transillumination, ultrasound biomicroscopy (UBM), optical coherence tomography, fluorescein angiography, standardized photography-assisted documentation and biopsy with pathohistological analysis.

The key factor is early detection of malignant lesions, specifically melanoma. Statistically, up to 11% of iris nevi may develop into iris melanomas within 20 years.

Treatment options for iris melanoma include radiotherapy, such as brachytherapy, proton beam radiation therapy, as well as surgical excision.

Side effects and complications associated with treatment can differ amongst treatment modalities. After the initial treatment, patients should be followed up every 3 - 6 months. Tumor-related mortality ranges between 0 and 11%, therefore it is significantly lower than in other uveal melanomas.

Common genetic alterations, which have been identified as significant prognostic factors in posterior uveal melanoma, have not been shown as prognostic factors for iris melanoma.

We present a case of a 58-year-old woman who was diagnosed with an iris lesion at our hospital.

Keywords: Diagnosis, treatment, iris lesions

e-mail: varosanka1@gmail.com

SUPRASELLAR ATYPICAL TERATOID RHABDOMYOID TUMOR IN A 37-YEAR-OLD WOMAN

Kamelija Žarković

Department of Pathology, Medical Faculty Zagreb, Department of Pathology and Cytology Clinical Medical Center Zagreb

Introduction: Central nervous system (CNS) atypical teratoid rhabdoid tumors (AT-RT) are aggressive tumors mainly affecting infants, while in adults such cases are rare and linked to inactivation of SMARCB1 (INI1) or SMARCA4 (BRG1). AT-RTs are associated with a very poor prognosis, with a median survival of 6–12 months reported in most pediatric case studies. The literature reports the incidence of these tumors usually in the supratentorial region, in the cerebral hemispheres or near the pineal region, often with invasion into adjacent structures and less often occurring in supratentorial and infratentorial regions, potentially in the cerebellopontine angle, while up to 10% may be multifocal.

Clinical presentation: A 37-year-old woman had a right-sided headache for two months, accompanied by nausea and mild dizziness. Afterwards, she noticed double vision and swelling of the right eyelid, without erythema. Native MRI T2-weighted images have shown isointense formation of the sellar region, measuring 20x17x10 mm, infiltrating the right cavernous sinus, with protrusion into the sphenoid sinus and signs of central necrosis. After contrast application, inhomogeneous imbibition of the tumor was observed. The tumor cranially elevated the optic nerve chiasm and the right optic nerve without signs of infiltration. The right carotid artery was embedded in the tumor. The infundibulum was thickened latero-positioned to the left. In the left half of the sella, residual pituitary gland tissue with a diameter of 2.2 mm was visible. The clinical conclusion was that the expansive process can correspond to macroadenoma, less likely some other tumor process.

Pathohistological and molecular analysis: Multiple irregular, gray pieces of tissue were received after transsphenoidal surgery in total of 0.7 cm in diameter. Histology revealed the tumor tissue consisting of fields of atypical, mostly oval cells, highly polymorphic with often prominent bright nuclei and visible nucleoli. The reticulin stroma surrounded individual cells and smaller groups of cells. Up to six mitoses per ten HPF were observed in the tumor tissue. Lymphocytes and macrophages, few plasma cells, and eosinophils could be seen in the tumor stroma. Moreover, the tumor process was infiltrative towards the surrounding adeno- and neurohypophysis. Neither PAS-positive nor fuchsinophilic granules were observed in tumor cells by PAS and Mallory staining. Immunohistochemically, tumor cells were: Oskar-, AE1/3-, chromogranin-, synaptophysin-, Ki67 48%+, p53 42%+, GH-, PRL-, LH-,FSH-, TSH-, ACTH-, ER-, PR-, Melan A-, HMB45-, tyrosinase-, MITF-, vimentin+, SMA-, desmin-,

EMA nonspecific sporadic+, OCT3/4-, PAX8-, CD10-, CD34-, STAT-6-, S-100-, CD163-, langerin-, CD1a-, BRAF, GFAP-, Olig2-, H3K27 NM held, H3K27M-, CD45-, CD30-, CD138-, and CD68-. The methylation profile of the tumor clearly classified it as an atypical teratoid rhabdoid tumor (AT-RT). The copy number profile, however, did not show homozygous deletion of SMARCB1, which is the most frequent alteration in these tumors. Re-evaluation of INI1 immunohistochemistry showed a nuclear expression loss in tumor cells with retained expression in fragments of pituitary gland infiltrated by tumor. Therefore, the integrated diagnosis was AT-RT WHO grade 4.

Conclusion: Accurate integrated diagnosis of rare and poorly differentiated brain tumors is only possible with molecular diagnostic methods.

Keywords: AT-RT, SMARCB1, methylation profile of the tumor

e-mail: kamelijazarkovic@gmail.com

ČISTI PLOČASTI KARCINOM DOJKE: DIJAGNOSTIČKI IZAZOV

Tonči Vodopić, Maja Maglić, Ilija Jurković, Mario Nalbani, Velibor Puzović

Opća bolnica Dubrovnik

Prikaz slučaja: Sedamdesetčetverogodišnja pacijentica javila se u siječnju 2025. na pregled zbog palpabilne mase u desnoj dojci, u gornjem lateralnom kvadrantu, promjera 3,5 cm. Lezija je bila bezbolna i pomična u odnosu na podlogu. Core biopsijom dokazan je tumor s ekstenzivnom pločastom diferencijacijom. Imunohistokemijski se radilo o trostruko negativnom karcinomu dojke uz proliferacijski indeks određen pomoću Ki-67 protutijela koji je iznosio 25%. Diferencijalno- dijagnostički je razmatran metaplastični karcinom dojke s pločastom diferencijacijom, primarni pločasti karcinom dojke te metastatski pločasti karcinom drugog sijela.

Unatoč provednoj neoadjuvantnoj kemoterapiji došlo je do progresije bolesti, zbog čega je u kolovozu 2025. učinjena klasična mastektomija s disekcijom aksile. Makroskopski, tumor je bio veličine 8,5 cm, centralno razmekšan, oštro ograničen s ulceracijom kože promjera 8,5. Histološki se radilo o dobro do umjereno diferenciranim pločastim stanicama s izraženim orožnjavanjem, dok je centralni razmekšani dio bio građen od roževine. U aksili je izolirano 15 limfnih čvorova, svi bez tumorskog tkiva.

U diferencijalnoj dijagnozi isključen je primarni pločasti karcinom kože (bez znakova displazije epitela) te metastatski pločasti karcinom bilo kojeg drugog sijela (negativan PET-CT).

Na temelju kliničkih i radioloških podataka, histološke slike i imunohistokemijskih analiza, postavljena je dijagnoza trostruko negativnog metaplastičnog karcinoma dojke – čistog pločastog tipa.

Rasprava: Metaplastični karcinom dojke (MBC) čini manje od 1 % svih karcinoma dojke, a većinom se radi o trostruko negativnim karcinomima. Karakterizira ga visoki histološki gradus, lokalno agresivan rast te veća dimenzija pri dijagnozi, uz relativno rjeđe zahvaćanje limfnih čvorova u odnosu na invazivni duktalni karcinom 1. Čista pločasta varijanta, kakva je prikazana u ovom slučaju, izuzetno je rijetka i nosi posebne dijagnostičke poteškoće 2.

Najveći izazov u dijagnostici predstavlja razlikovanje od drugih tumora s pločastom diferencijacijom. Primarni pločasti karcinom kože dojke potrebno je isključiti pažljivim pregledom epitela, pri čemu odsutnost displazije govori u prilog da se radi o tumoru koji potječe iz žljezdanog tkiva dojke 3. Metastatski pločasti karcinom izvan dojke mora se također uzeti u obzir, a njegovo isključivanje temelji se na detaljnoj radiološkoj obradi, najčešće PET-CT-om 1, 3. Histološki, prisutnost keratinskih perli i orožnjavanje tipični su za pločastu komponentu, no nespecifični, pa se u konačnoj potvrdi dijagnoze ključnom pokazuje imunohistokemijska analiza 2.

S terapijskog stajališta, metaplastični karcinom dojke je izrazito zahtjevan. Standardna kemoterapija, koja se koristi u liječenju trostruko negativnih karcinoma dojke, u ovoj skupini često pokazuje slab učinak. U više serija opisano je da dolazi do progresije bolesti tijekom neoadjuvantne terapije, što potvrđuje kemorezistentnost ovih tumora 1, 2. Kirurško liječenje, uz po potrebi adjuvantnu radioterapiju, i dalje je osnovni pristup. Ipak, novija istraživanja usmjerena su prema primjeni kemoterapije zasnovane na platini i imunoterapije, s pojedinačnim prikazima povoljnih odgovora 4.

Zaključak: Metaplastični karcinom dojke, osobito čista pločasta varijanta, izuzetno je rijedak i dijagnostički izazovan entitet koji zahtijeva pažljivo razlikovanje od primarnog karcinoma kože i metastatskih pločastih tumora. U ovom slučaju potvrđena je trostruko negativna priroda tumora, s progresijom bolesti unatoč neoadjuvantnoj kemoterapiji i odsutnošću metastaza u limfnim čvorovima. S obzirom na kemorezistentnost i lošiju prognozu, optimalno liječenje temelji se na kirurškom pristupu, dok nove terapijske opcije kemoterapije zasnovane na platini i imunoterapije zahtijevaju daljnja istraživanja.

Reference:

1. Thapa B, Arobelidze S, Clark BA et al. Metaplastic Breast Cancer: Characteristics and Survival Outcomes. *Cureus*. 2022 Aug 29;14(8):e28551.
2. Yan Q, Deng Y, Zhang Q. A comprehensive overview of metaplastic breast cancer: Features and treatments. *Cancer Sci*. 2024 Aug;115(8):2506-2514.
3. Benoist P, Mureau A, Joueidi Y et al. Management and prognosis of pure primary squamous cell carcinoma of the breast. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. 2018 Sep;47(7):275-280.
4. Moreno AC, Lin YH, Bedrosian I et al. Outcomes after Treatment of Metaplastic Versus Other Breast Cancer Subtypes. *J Cancer*. 2020 Jan 1;11(6):1341-135.

Ključne riječi: Metaplastični karcinom dojke, Trostruko negativni karcinom dojke

e-mail: tonci.vodopic1990@gmail.com

DIABETIC NEPHROPATHY WITH EXTENSIVE HYALINOSIS – A CASE REPORT

Petar Dolonga, Ana Dunatov Huljev, Ivana Bočina, Merica Glavina Durdov

Klinički bolnički centar Split

Introduction

Despite the high prevalence of chronic kidney disease caused by diabetes, renal biopsies in these patients are typically performed only when there is clinical suspicion of an additional glomerular disease [1]. The aim of this report is to present a patient with class III diabetic nephropathy and extensive glomerular hyaline lesions.

Case Report

A 71-year-old male was admitted to the Nephrology Department of the Internal Medicine Clinic at University Hospital Center Split for a percutaneous kidney biopsy due to nephrotic-range proteinuria (4 g/L) and elevated serum creatinine (392 $\mu\text{mol/L}$). He had a 17-year history of type 2 diabetes mellitus, essential arterial hypertension, and hyperlipidemia, for which he was on chronic therapy.

Kidney biopsy revealed 11 glomeruli, 4 of which were globally sclerotic. The glomeruli were hypertrophic, with diffusely uneven mesangial expansion and the presence of Kimmelstiel-Wilson nodules. Mesangiolysis was observed in three glomeruli, along with microaneurysms larger than 35 μm , filled with PAS-positive material staining red with Masson's trichrome and negative on silver impregnation, consistent with hyaline caps. Histochemical Sudan staining confirmed the presence of lipids in the walls of arterioles and small arteries. Congo red staining for amyloid was negative. Indirect immunofluorescence for fibronectin was also negative. Interstitial fibrosis and tubular atrophy affected 70% of the cortical area, with moderate mononuclear inflammatory infiltrate in these regions. Arteries showed moderate subintimal fibrosis, while both afferent and efferent arterioles exhibited hyalinosis with luminal narrowing of up to 50%. Direct immunofluorescence for IgA, IgG, IgM, C1q, C3, and kappa and lambda light chains was negative.

Electron microscopy showed thickened glomerular basement membranes (761 nm). Hyaline deposits were present in the mesangium and walls of arterioles.

Conclusion

In addition to evident diabetic nephropathy, differential diagnoses considered cryoglobulinemia, fibronectin glomerulopathy, and lipoprotein glomerulopathy. Cryoglobulinemia was excluded by negative immunofluorescence, fibronectin glomerulopathy by negative fibronectin staining, and lipoprotein glomerulopathy by

negative Sudan staining. Microaneurysms filled with hyaline material and cells may mimic glomerular lesions seen in thrombotic microangiopathy (1), which was excluded due to the absence of other signs of vascular injury. Electron microscopy revealed hyaline deposits but no organized deposits. Ultimately, the pathological findings were interpreted as class III diabetic nephropathy with extensive glomerular hyaline lesions. Integration of all three diagnostic methods — light microscopy, immunofluorescence, and electron microscopy — remains the gold standard for the evaluation of renal biopsies, as was applied in this case.

Literature

Jennette CJ, D'Agati V, Fogo AB, Nickleleit V, Stokes MB. Heptinstall's Pathology of the Kidney, 8th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2024. p. 477–517.

Keywords: diabetes mellitus, diabetic nephropathy, kidney biopsy

e-mail: pdolonga@kbsplit.hr

CITOLOŠKA I PATOHISTOLOŠKA DIJAGNOSTIKA HONDROSARKOMA TORAKALNE STIJENKE – PRIKAZ SLUČAJA

Katarina Žeravica¹, Andrea Alpeza¹, Nikolina Kurtović^{2,4}, Andrea Šumanović³, Irena Zagorac^{2,4,5}, Marija Perić^{1,4}, Branka Lončar^{1,4}

¹Klinički bolnički centar Osijek, Odjel za kliničku citologiju

²Klinički bolnički centar Osijek, Odjel za kliničku patologiju i sudsku medicinu

³Opća županijska bolnica Vinkovci, Odjel za patologiju i citologiju

⁴Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet

⁵Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Fakultet za dentalnu medicinu i zdravstvo

Hondrosarkom je zloćudni tumor koji nastaje iz hrskavičnog tkiva i ubraja se u skupinu primarnih malignih tumora kostiju. Karakterizira ga spor rast, ali i sklonost lokalnom širenju te mogućnost metastaziranja, ponajprije u pluća. Tipične lokalizacije su zdjelica, rebra, lopatica i duge kosti. Liječenje je zahtjevno jer tumor pokazuje ograničenu osjetljivost na kemoterapiju i radioterapiju pa kirurška resekcija ostaje osnovna metoda terapije.

U ovom slučaju riječ je o pacijentu koji je u ožujku 2025. primijetio tumorsku tvorbu na prednjoj torakalnoj stijenci, inframamarno. Na CT-u je opisana dobro ograničena mekotkivna lezija u području prednjeg ruba 6. rebra lijevo i kostohondralnog prijelaza dimenzija 5,5×6,5×7,4 cm koja destruirala prednji rub 6. rebra, utiskuje se intratorakalno te diferencijalno može odgovarati osteosarkomu. Citološkom punkcijom dobiven je obilan želatinozni sadržaj. Mikroskopski, u razmazima (MGG, Papanicolaou) opisana je obilna metakromatski obojena miksoidna stroma u koju su uklopljene izrazito pleomorfne, multinuklearne stanice ovalnih hiperkromnih jezgri sa sitnim multiplim nukleolima, a prisutni su i mononuklearni oblici s izraženim centralno smještenim nukleolom. Citoplazma stanica je obilna, bazofilna, dobro ograničena i mjestimice vakuolizirana. Nalaz je upućivao na maligni mezenhimalni tumor (diferencijalno dijagnostički osteoblastični/hondroblastični osteosarkom. Iz uzorka je izrađen stanični blok u kojem su nađene degenerativno promijenjene suspektne maligne stanice i nekrotični detritus zbog čega uzorak nije bio adekvatan za daljnju analizu. Pacijent je prezentiran na multidisciplinarnom timu koji je indicirao resekciju tumorske tvorbe i rekonstrukciju prednje prsne stijenke. Na Zavod za patologiju zaprimljeni su dijelovi rebra sa sivim, čvrstim tumorom promjera do 6,5 cm. Mikroskopski se radilo o hondrosarkomu histološkog gradusa 2, s obilnom nekrozom, povećanom celularnosti i umjerenim pleomorfizmom, infiltracijom kosti te urednim resekcijskim rubovima. Imunohistokemijski tumorske stanice su S-100 i D2-40 pozitivne. Onkolog nije indicirao adjuvantnu onkološku terapiju, a pacijent trenutno čeka kontrolni pregled s nalazom novog CT-a toraksa.

Citološka dijagnostika je u ovom slučaju omogućila rano prepoznavanje malignog mezenhimalnog tumora i usmjerila daljnje dijagnostičke postupke. Međutim, zbog ograničenja citološkog uzorka konačna potvrda i precizno određivanje histološkog gradusa postignuti su tek patohistološkom analizom resekata. Ovaj prikaz slučaja potvrđuje da citološka dijagnostika ima važnu ulogu u ranom otkrivanju i usmjeravanju daljnje obrade, dok je histopatološka analiza neizostavna za definitivnu dijagnozu i planiranje optimalnog terapijskog pristupa. Pravovremena i precizna kombinacija obje metode ključna je za uspješno liječenje i prognozu pacijenata s hondrosarkomom.

Ključne riječi: citološka punkcija, hondrosarkom, mezenhimalni tumor

e-mail: katarinazeravicaa@gmail.com

EMBRYONAL RHABDOMYOSARCOMA IN A 3-YEAR-OLD PATIENT WITH A HISTORY OF CEREBELLAR GANGLIOGLIOMA

Ana Mayer, Marina Čaleta Rade

University Hospital Split

A 3-year-old patient presented with abdominal and suprapubic pain. Abdominal ultrasound, MSCT and MR showed round, heterogenous mass sized 6x5.3 cm adjacent to the bladder. Surgery showed a solid mass, looking like it's from the bladder. Differential diagnosis included ovarian or mesenteric cyst, Meckel's or bladder diverticulum, but most likely torqued necrotic urachal cyst.

Macroscopically, tumour was greyish, predominantly solid, measuring 5,5x4,5x3 cm. Histology showed an extremely cellular tumour made of spindle cells with high mitotic activity, focally with big anaplastic cells. There were areas of lower and higher cellularity. Immunohistochemically, tumour cells were MyoD1 positive, actin and desmin partially positive, CD34, GFAP, PAX8, GATA3 and CKAE1/AE3 negative. Ki67 was high.

Histologically and immunohistochemically the described tumour is a soft tissue malignant tumour - rhabdomyosarcoma. The sample was sent to another University hospital for a consultation and additional molecular analysis.

The consultation confirmed the diagnosis. RT-PCR was negative for PAX3:FOXO1 and PAX7:FOXO1 fusions, which excluded alveolar rhabdomyosarcoma. NGS showed only one possibly clinically significant mutation - FGFR4 p.V550E. The tumour is embryonal rhabdomyosarcoma.

After the diagnosis, additional examinations were made - PET/CT showed residual tumour in pelvis and one supraumbilical node next to the abdominal wall - dissemination.

Our patients history is also important - when she was 3 months old she was diagnosed with cerebellar ganglioglioma with BRAF V600 mutation. The presence of a second malignancy at this early age rises the possibility of an underlying genetic syndrome. Costello syndrome, neurofibromatosis type1 and Noonan syndrome are known to increase the risk for developing rhabdomyosarcoma.

Rhabdomyosarcoma is the most common soft tissue sarcoma in children.

Embryonal rhabdomyosarcoma has a favourable prognosis and patients aged 1-9 years have a better outcome than infants or adolescents.

The patient has started chemotherapy (RMS protocole 2005). Even though treatment is the same in sporadic and genetic rhabdomyosarcoma, the next step for our patient is NGS.

Keywords: Embryonal rhabdomyosarcoma, ganglioglioma

e-mail: anamayer994@gmail.com

MALIGNANT PERIPHERAL NERVE SHEATH TUMOR (MPNST) OF THE BREAST: CASE REPORT

Lucija Kutija¹, Zlatko Marušić^{1,2}, Petra Jurešić¹, Tamara Pikivača¹, Lea Korša¹

¹Department of Pathology and Cytology, University Hospital Centre Zagreb, Zagreb

²Department of Pathology, School of Medicine, University of Zagreb, Zagreb, Croatia

Malignant peripheral nerve sheath tumor (MPNST) is a rare mesenchymal neoplasm and a malignant variant of peripheral nerve sheath tumor. It most frequently occurs in the trunk and extremities and is commonly associated with neurofibromatosis type 1. However, MPNST may also arise sporadically or at sites of prior radiation exposure. Involvement of the breast is uncommon. Malignant peripheral nerve sheath tumor typically demonstrates aggressive clinical behavior. A 45-year-old woman with a history of neurofibromatosis type 1 presented with a palpable breast lesion. MRI identified a 3.9 x 3.1 cm polylobular mass in the lateral quadrants. Biopsy and surgical excision were performed at another institution, resulting in a diagnosis of probable mesenchymal tumor. Five paraffin-embedded tissue blocks and three hematoxylin and eosin-stained slides were submitted for review. Histological analysis revealed a tumor composed of spindle cells with variable cellularity, dense chromatin, prominent nucleoli, and up to 15 mitoses per 10 HPF, without evidence of necrosis. Immunohistochemistry showed retained H3K27-NM expression and p53 overexpression. Other markers, including cytokeratin AE1/3, SOX10, OSCAR, p63, ER, desmin, caldesmon, calponin, CD34, ERG, ALK, and STAT6, were negative, while S-100 was positive in less than 1% of tumor cells. Given the clinical context, malignant peripheral nerve sheath tumor was considered the most likely diagnosis.

Malignant peripheral nerve sheath tumor is a rare sarcoma that presents diagnostic challenges due to its variable histological features. Immunohistochemical evidence of Schwannian differentiation is helpful but observed in only half of cases. Consequently, accurate diagnosis relies on integrating clinical and radiological findings, particularly a history of neurofibromatosis type 1 or precursor lesions.

Keywords: e-poster, malignant peripheral nerve sheath tumor

e-mail: lucija.kutija@gmail.com

IRON PILL GASTRITIS - A CASE REPORT

Juraj Aničić¹, Jelena Lucin², Ivan Budimir², Alma Demirović^{1,3}

¹University Department of Pathology and Cytology, University Hospital Center Sestre Milosrdnice, Zagreb, Croatia

²Department of Gastroenterology, University Hospital Center Sestre Milosrdnice, Zagreb, Croatia

³University Of Zagreb, School of Dental Medicine, Zagreb

Iron supplementation, most commonly in the form of ferrous sulfate, is widely prescribed for the treatment of iron deficiency anemia. While generally well tolerated, oral iron can cause gastrointestinal adverse effects, including a distinctive but underrecognized clinicopathological entity known as iron pill gastritis. We report a case of a 74-year-old male patient who was referred to our institution for gastroenterological evaluation due to hematochezia, microcytic anemia and unintentional weight loss. The patient had a history of taking iron(II) sulfate (ferrous sulfate) for the treatment of anemia. Initial gastroscopy revealed a large (5 cm) ulcer at the fundus-proximal corpus transition, covered with fibrin and displaying irregular margins, raising high suspicion for gastric neoplasia. Pathohistological analysis of the biopsy specimens demonstrated chronic metaplastic gastritis. A second-look gastroscopy showed a smaller ulcer (1 cm) at the same location and a repeated biopsy was done. Microscopic evaluation revealed eroded gastric mucosa with fibrin and inflammatory cells, reactive epithelium, mixed inflammatory infiltrate in the lamina propria and extracellular brown crystalline deposits (Prussian blue positive). These features were consistent with iron pill gastritis. Subsequent work-up at colonoscopy identified a semicircular proliferative lesion 10 cm from the anal margin, with histopathology confirming colorectal adenocarcinoma. Iron pill gastritis results from localized corrosive injury due to concentrated iron deposition, manifesting as erosions or ulcerations with extracellular crystalline iron deposits demonstrable by Prussian blue staining. Endoscopically, such lesions may closely resemble peptic ulcer disease or even gastric malignancy, creating a significant diagnostic challenge. This case highlights the importance of recognizing iron pill gastritis as a clinically relevant iatrogenic condition that can mimic or coexist with neoplastic processes of the gastrointestinal tract.

Keywords: iron pill gastritis, gastric ulcer, pathology, endoscopy

e-mail: juraj.anicic@kbcsm.hr

COLON ENDOMETRIOSIS – DIAGNOSTIC PITFALLS

Ivan Novak¹, Sanja Stojšavljević Shapleski², Lucija Virović Jukić^{2,3}, Alma Demirović^{1,4}

¹University Department of Pathology and Cytology, University Hospital Center Sestre Milosrdnice, Zagreb, Croatia

²Department of Gastroenterology and Hepatology, University Hospital Center Sestre Milosrdnice, Zagreb, Croatia

³University of Zagreb, School of Medicine, Zagreb, Croatia

⁴University of Zagreb, School of Dental Medicine, Zagreb, Croatia

Background: Endometriosis affects 7–10% of the female population and it is characterized by the presence of endometrial tissue, specifically endometrial stroma and glands, outside the uterus. It most frequently occurs within the pelvic cavity, affecting reproductive organs, while extragenital forms are rarer and are most commonly found in the gastrointestinal tract, particularly in the rectosigmoid segment of the colon. Due to the unusual clinical presentation and the limitations of imaging techniques, histopathological analysis is essential for establishing a definitive diagnosis.

Case Presentation: A 44-year-old woman, mother of two, with no significant medical history, presented with cyclical pelvic pain over the past few months, associated with defecation. The pain would begin two days before menstruation and persist until two days after the end of menstruation. Physical examination revealed no abnormalities, and a colonoscopy was scheduled and performed after three and a half months. Endoscopically, a relative stenosis of the lumen was visualized 10 cm from the anocutaneous junction, with superficial irregular mucosal patterning, raising suspicion for a tumor. Histopathological analysis of the affected area revealed colonic mucosa with a small focus composed of edematous stroma and several gland-like formations lined with columnar epithelium. Immunohistochemical staining showed epithelial cells positive for CK7, while the stroma was positive for CD10, confirming the diagnosis of colonic endometriosis.

Conclusions: This case highlights the essential role of pathology in the diagnostic process of intestinal endometriosis—a known but nonetheless uncommon condition. Histopathological and immunohistochemical analyses enable a clear distinction between normal endometrial tissue and neoplastic conditions such as colorectal carcinoma, as well as malignant transformation of endometriosis into endometrioid adenocarcinoma, which represents a more severe complication of the disease.

Keywords: Endometriosis, colon, histopathology, immunohistochemistry, diagnostic procedure

e-mail: ivan.novak@kbcsm.hr

GIANT-CELL HEPATITIS IN 83-YEAR OLD PATIENT

Matea Klarica¹, Toni Čepnja², Merica Glavina Durdov², Dorotea Božić³

¹Department of Pathology and Cytology, General Hospital Zadar

²Clinical Institute for Pathology, Forensic Medicine and Cytology, University Hospital Split

³Institute for Gastroenterology, University Hospital Split

Objective

Gigantocellular hepatitis (GCH) was first described in 1991 as syncytial giant cell hepatitis caused by drugs, viruses, or toxins. (1) Histologically, numerous multinucleated hepatocytes are found, as well as mixed inflammatory infiltration in the portal tract and lobules. (2) GCH has been relatively frequently described in neonates, but very rarely in adults, and we present one such case.

Case report

An 83-year-old woman was admitted to the Department of Internal Medicine in April 2025 due to persistently elevated transaminases. She had a history of weight loss, a long-standing urinary tract infection treated with antibiotics, and increased use of analgesics due to hip surgery in August 2024. Laboratory findings were: ALT 251, AST 191, GGT 48, and AP 164. Ultrasound showed a normal-sized liver with more echogenic parenchyma. Esophagogastroduodenoscopy and colonoscopy did not reveal any pathological substrates. Serological tests excluded autoimmune diseases, storage diseases, hepatotropic viral infection, or paraneoplastic processes. Finally, a liver biopsy was performed and the specimen was sent to the Department of Pathology.

Methods and results

Two liver cylinders measuring 0.8 cm and 0.7 cm were dehydrated, embedded in a paraffin block and dissected into 3 µm sections. Slides were stained with H&E, standard histochemistry and immunohistochemistry using CK7, CD34, Glypican D and HSA. Histologically, the architecture of the liver was not preserved. The portal tracts were dilated, fibrotic and had short active fibrous septa. They were infiltrated by lymphocytes and a small number of neutrophils and eosinophils that penetrated into the periportal lobules. Amoderate proliferation of the bile ductules was observed. The lobules contained numerous multinucleated hepatocytes, which were regularly arranged in a preserved reticulin network. These cells had 2- 18 uniform nuclei with inconspicuous nucleoli and abundant eosinophilic cytoplasm. Immunohistochemically, they expressed HSA, but did not express Glypican D and CK7; endothelial cells expressed CD34. Pathologically was diagnosed active giant-cell hepatitis. After excluding all other causes, hepatologists assumed that long-term antibiotic and analgesic therapy caused this rare liver injury. Our patient is still under clinical follow-up, treated with

the corticosteroid budesonide. Liver transaminase values in August 2025 were AST 120, ALT 158, GGT 35.

Conclusion

In adults, scattered multinucleated hepatocytes are not an uncommon finding in regeneration after various liver injuries. However, if more than 75% of these cells are found, it is GCH. [3] In this case report, multinucleated hepatocytes did not show pleomorphism and proliferative activity. Two possible pathophysiological mechanisms for the formation of multinucleated hepatocytes are increased nuclear proliferation without cell division or fusion of adjacent hepatocyte membranes. The clinical course of GCH varies from spontaneous resolution to progression to cirrhosis and liver failure, indicating the importance of early diagnosis. [4]

Reference

1. Phillips MJ, Blendis LM, Poucell S, et al. Syncytial giant-cell hepatitis. Sporadic hepatitis with distinctive pathological features, a severe clinical course and paramyxoviral features. *Nengl J med.* 1991;324:455-460.
2. Shetty S, Janarthanan K, Leelakrishnan V, Nirmala V, et al. Giant-cell Hepatitis – Rare Entity in Adults. *J Clin Exp Hepatol.* 2016 Mar 4;6(3):244–245. doi: 10.1016/j.jceh.2016.02.007.
3. McGoldrick M, Castrodad-Rodriguez C, Huang Y, Tow C, et al. Facing the Unknown: Idiopathic Giant Cell Hepatitis. *ACG Case Reports Journal* 2023 Jan 10(1):p e00966. doi: 10.14309/crj.0000000000000966.
4. Jiao J, Zhang X, et al. Post-infantile Giant Cell Hepatitis: A Literature Review and Meta-analysis. *Journal of Clinical and Translational Pathology* 2022;2(3):100-107. doi: 10.14218/JCTP.2022.00016.

Keywords: giant-cell hepatitis, multinucleated hepatocytes, liver transaminases, inflammatory infiltrate, GCH, Glypican D, CK7, CD34, HSA

e-mail: matea.verlic@gmail.com

PEDIATRIC CHONDROBLASTIC OSTEOSARCOMA

Silvija Mašić Binder¹, Monika Ulamec², Sven Seiwerth³, Matija Mesić⁴, Aleksandra Bonevski⁵

¹Clinical Department of Pathology and Cytology "Ljudevit Jurak", University Clinical Hospital Centre Sestre milosrdnice, Zagreb

²Clinical Department of Pathology and Cytology "Ljudevit Jurak", University Clinical Hospital Centre Sestre milosrdnice; Department of Pathology, School of Medicine; Department of Pathology, School of Dental Medicine, University of Zagreb, Zagreb

³Department of Pathology, School of Medicine, University of Zagreb, Zagreb

⁴Department of Pediatric Surgery, Children's Hospital Zagreb, Zagreb

⁵Department of Pediatric Oncology, Children's Hospital Zagreb, Zagreb

Osteosarcoma is an intramedullary high grade osteoid- producing sarcoma. It's divided based on predominant matrix component into osteoblastic as the most common variant, then into chondroblastic and fibroblastic as rarer types.

Chondroblastic osteosarcoma occurs in 10-13% of osteosarcoma cases and is characterized by hyaline cartilage with severe atypia as predominant component usually affecting younger population of patients. We present a pediatric patient with chondroblastic osteosarcoma of the thorax which represents rare region for this tumor. An 11- year- old female patient was admitted to hospital due to inability of standing and walking. She complained of the weakness of her lower extremities which appeared the day prior, however no pain or neurological deficit involving touch or sensation was noticed. Neurological examination revealed normal muscle tone of both upper and lower extremities, but flaccid paraparesis of lower extremities was present while tendon reflexes were absent. No other abnormalities were found during physical examination. Spinal cord MRI revealed tumoral mass involving paravertebral space (from Th1- Th4), 48x28x35 mm in size with propagation to spinal canal and infiltration of dura (Th2-Th5), 43x14x13 mm in size. Initial biopsy was resolved as Ewing sarcoma, but after admission of chemotherapy, patient's condition did not improve. Another biopsy of the tumor was performed. We received 25 tissue samples 0,2- 2,4 cm in diameter. Microscopically, received samples were tumoral tissue mostly composed of polymorph, large, polygonal atypical cells, partially of small cells with hyperchromatic nuclei and scarce cytoplasm. Also, some of the samples corresponded to neoplastic cartilage with some lacy osteoid. Larger areas of necrosis were also present. Tumoral cells were diffusely positive for PAN cytokeratin, partially to CD99, vimentin, S100 and TLE-1, while FLI-1, GFAP, MyoD1, myogenin, LCA, calretinin, SATB2 and Melan A were negative. According to histology, immunohistochemistry and clinical data (age, localization) final diagnosis was osteosarcoma with chondroblastic differentiation. Chondroblastic osteosarcoma is a rare, aggressive neoplasm with high rate of recurrence. It still represents diagnostic and therapeutical challenge. Therapeutic options include

surgery and chemotherapy, however, the prognosis is still unfortunate. Diagnosis in pediatric population is also challenging, therefore it is important to mention that in this population when considering among other entities such as chondrosarcoma and chondroblastoma, diagnosis should preferably be chondroblastic osteosarcoma.

Keywords: Pediatric, Oncology, Chondroblastic, Osteosarcoma

e-mail: silvija.masic@kbcsm.hr

MELANOMAS ARISING IN BAP1-DEFICIENT MELANOCYTOMA: A MINI CASE SERIES

Magdalena Sikirić¹, Marija Buljan², Kamelija Žarković^{1,3}, Zlatko Marušić^{1,3}

¹Clinical Department of Pathology and Cytology, University Hospital Centre Zagreb, Croatia

²Department of Dermatology and Venerology, Sestre Milosrdnice University Hospital Centre, Zagreb, Croatia

³University of Zagreb, School of Medicine

BAP1-inactivated melanocytoma (BIM) is a rare melanocytic neoplasm defined by an initial mitogenic driver mutation, most commonly in BRAF and rarely in NRAS or RAF1 fusions, followed by BAP1 inactivation. Histologically, BIMs consist of large epithelioid melanocytes with abundant eosinophilic cytoplasm and well demarcated borders, showing loss of nuclear BAP1 expression by immunohistochemistry, usually arising within a conventional nevus. Clinically, they appear as flesh-colored papules or nodules, most commonly on the head, neck, trunk, or upper extremities, usually solitary, with multiple lesions suggesting a germline BAP1 mutation and cancer predisposition. Most BIMs are indolent, though progression to melanoma can occur in both germline and sporadic cases.

This report showcases three melanomas arising in association with BIM. The first two cases involved a father and a daughter, highlighting hereditary predisposition. The 53-year-old daughter presented with a solitary, pink, slightly elevated lesion in the lumbar region, while her 82-year-old father had multiple pink papules on the shoulder. Histological examination in both cases revealed nodular melanomas arising within BAP1-deficient melanocytic lesions, with residual BAP1-inactivated melanocytomas seen at the periphery. Tumors were composed of large epithelioid melanocytes with prominent nuclei, lacking maturation, and showed sparse lymphocytic infiltration. Immunohistochemistry confirmed loss of nuclear BAP1 expression in melanoma cells. The third case involved a 61-year-old man presenting with a cervical lymph node metastasis, histologically containing large nests of atypical melanocytes with hyperchromatic, pleomorphic nuclei, mitotic activity, and focal melanin pigment. Immunohistochemistry was positive for S100, Melan A, and focally HMB45. Molecular testing revealed a BRAF V600 mutation. Subsequent excision of a 1.2 cm cutaneous lesion from the right nasolabial fold confirmed a nodular melanoma with nevoid architecture, arising within a partially BAP1-negative intradermal nevus. The melanoma component showed complete loss of BAP1, with a Ki67/Melan A proliferative index of approximately 5%. No ulceration, regression, lymphovascular or perineural invasion was observed, and the closest margin was 2 mm from lateral resection edge. During follow-up, additional metastases occurred in a cervical lymph node with extracapsular extension and later in the liver, where metastases showed atypical melanocytes with areas of necrosis and melanin pigmentation. Repeat testing confirmed

the BRAF mutation.

This case series highlights the rare progression of BAP1-inactivated melanocytomas to melanoma, which can occur in both hereditary and sporadic cases. Due to the rarity of such cases, further research is needed to clarify the genetic sequence of events leading to melanoma and whether hereditary BIM-associated melanomas carry a better prognosis than sporadic ones.

Keywords: BAP1-inactivated melanocytoma, melanoma, BAP1 mutation, germline predisposition

e-mail: magdalena.sikiric@gmail.com

KORELACIJA HISTOLOGIJE, IMUNOHISTOKEMIJE I MOLEKULARNIH MARKERA U DIJAGNOSTICI OLIGODENDROGLIOMA

Tena Gržan¹, Marina Cindrić¹, Kamelija Žarković², Ivana Brnadić², Antonia Jakovčević³

¹Laboratorij za molekularnu patologiju, Klinički zavod za patologiju i citologiju, Klinički bolnički centar Zagreb i Zavod za patologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Šalata 10, Zagreb

²Odjel za neuropatologiju, patologiju oka, ORL patologiju, Klinički zavod za patologiju i citologiju, Klinički bolnički centar Zagreb, Kišpatičeva 12, Zagreb

³Klinički zavod za patologiju i citologiju „Ljudevit Jurak“, Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice, Vinogradska cesta 29, Zagreb

CILJ: Prema smjernicama Svjetske zdravstvene organizacije (WHO) iz 2021. godine, klasifikacija difuznih glioma kod odraslih temelji se na molekularnim obilježjima. Prema tome, gliomi se razvrstavaju u tri glavne kategorije: oligodendrogliomi (IDH-mutirani i 1p/19q-kodeletirani), astrocitomi (IDH-mutirani) i glioblastomi (IDH-divlji tip). U praksi, početnu dijagnozu usmjeravaju histologija i imunohistokemija (IHK). Tipični oligodendrogliom prepoznaje se po monomorfnim stanicama s okruglim jezgrama i perinuklearnim haloom. Međutim, često oligodendroglijalni tumori nemaju tipičnu histološku sliku, a s imunohistokemijskim markerima moguće ih je tek s djelomičnom sigurnošću potvrditi. IHK panel (GFAP, Olig2, IDH1 R132H, ATRX i p53) usmjerava daljnju podtipizaciju glioma. Mutacija u genu IDH1 zabilježena je u astrocitomima i oligodendrogliomima. Nadalje, oligodendroglijalni tumori najčešće imaju koekspresiju GFAP i Olig2 u različitom intenzitetu. Također, gubitak proteina ATRX uz visoki p53 podupire dijagnozu astrocitoma, dok očuvan ATRX uz niski p53 ukazuje na oligodendrogliom. Konačna potvrda dijagnoze oligodendroglioma zahtijeva molekularnu analizu kodelecije krakova kromosoma 1p/19q, koja je ključna za prognozu i liječenje.

Polazeći od potrebe za integracijom histologije, IHK-a i molekularnih markera, proveli smo ovo istraživanje kako bismo kvantificirali dijagnostičku vrijednost takvog integriranog pristupa. Cilj je bio utvrditi koliko tipična oligodendroglijalna morfologija u kombinaciji s IDH mutacijom pouzdano upućuje na molekularno definiran oligodendrogliom (IDH-mut + 1p/19q-kodelecija).

METODE: Proveli smo retrospektivnu statističku analizu glioma obrađenih 2024. godine, obuhvaćajući histološka obilježja (oligodendroglijalna morfologija/histološka sumnja na oligodendrogliom), imunohistokemijske markere (IDH1 R132H, ATRX, p53 deskriptivno) i molekularne markere (1p/19q; te, u dijelu uzoraka, IDH1/2 i pTERT). U primarnoj analizi, unutar 1p/19q-pozitivne kohorte, procijenili smo udio slučajeva koji zadovoljavaju kriterij “oligo-like/histološka sumnja + IDH-mut” i na toj osnovi izračunali osjetljivost. Specifičnost smo procijenili na nasumično odabranom uzorku 1p/19q-negativnih slučajeva (n=50) s istim dostupnim podacima (morfologija/histološka

sumnja i IDH status), primjenjujući isti kriterij.

Pozitivnu prediktivnu vrijednost (PPV) definirali smo kao udio 1p/19q-pozitivnih među svim test-pozitivnim slučajevima (račun na kombiniranom skupu 1p/19q-pozitivnih i nasumičnog 1p/19q-negativnog uzorka). Dodatno smo odredili učestalost mutacija promotora TERT i status ATRX-a u 1p/19q-pozitivnoj skupini.

REZULTATI: Oligodendroglijalna morfologija u kombinaciji s IDH mutacijom pokazala je osjetljivost 78,9% (15/19), specifičnost 98% (49/50) i pozitivnu prediktivnu vrijednost 93,8% (15/16) za identifikaciju 1p/19q-kodelecije (POZ n=19; NEG n=50). Mutacija u promotoru gena TERT zabilježena je u 7/8 1p/19q-pozitivnih slučajeva s provedenim testiranjem (C228T: n=5, C250T: n=2). ATRX je bio očuvan u 17/18 (94%) 1p/19q-pozitivnih slučajeva s dostupnim nalazom, a u 1/18 slučajeva je zabilježen gubitak ATRX-a.

ZAKLJUČAK: Naši rezultati snažno podupiru upotrebu integriranog, WHO-usklađenog algoritma za dijagnozu oligodendroglioma. Kombinacija oligodendroglijalne morfologije i imunohistokemijskog statusa IDH-a služi kao pouzdan alat za usmjeravanje i potvrdu dijagnoze putem molekularnog testiranja kodelecije 1p/19q.

Visoka pozitivna prediktivna vrijednost od 93,8% predstavlja ključan nalaz našeg istraživanja jer pokazuje da patolozi mogu s velikom sigurnošću predvidjeti prisutnost 1p/19q kodelecije na temelju kombiniranih histoloških (oligodendroglijalni fenotip) i IHK markera (IDH-mut). Ovi nalazi naglašavaju važnost multidisciplinarnog pristupa, koji omogućuje precizniju dijagnostiku u skladu s najrecentnijim smjernicama WHO-a iz 2021. godine te odabir najprikladnije terapije za pacijente s oligodendrogliomima.

Ključne riječi: Oligodendrogliom, 1p/19q, IDH mutacija

e-mail: tena.grzan@kbc-zagreb.hr

WHO WOULD HAVE THOUGHT THAT AMYLOID COULD BE FOUND IN THE VITREOUS? - CASE REPORT OF HEREDITARY AMYLOIDOSIS

Toni Bubić¹, Martina Bogdan Pleština¹, Ivana Čović¹, Ljubo Znaor², Dinka Šundov¹, Merica Glavina Durdov¹

¹Zavod za patologiju, sudsku medicinu i citologiju, KBC Split

²Zavod za oftalmologiju, KBC Split

We present the story of a family, their fight against a little-known enemy, the journey of discovering it and overcoming all obstacles.

Our knowledge of a case begins when a 54-year-old male came to the emergency room of the ophthalmology department due to a persistent spot in the visual field of his left eye. He noted that his mother and all of his five siblings suffer from transthyretin amyloidosis and that his brother underwent a heart transplant due to a restrictive cardiomyopathy. Fundus examination of a patient revealed dense vitreous opacities that reduced visual acuity in his left eye, while ultrasonography identified a conglomerate of membranous echoes in the vitreous body. Apars plana vitrectomy (PPV) was performed and vitreous body sample was sent for cytological analysis that revealed abundant fibrillar and amorphous eosinophilic material along with occasional phagocytes. The remaining sample was embedded into cell block, using CytoPath disc, and was sent to a pathology department for further histochemical analysis using Congo red staining. Polarization microscopy revealed small orange congophilic deposits exhibiting a characteristic apple-green birefringence under polarized light, thereby confirming a diagnosis of amyloidosis.

Hereditary transthyretin amyloidosis (ATTRv) exhibits significant clinical heterogeneity, marked by incomplete penetrance and variable age of onset. Transthyretin (TTR), a protein primarily synthesized by the liver (90%), is a transport plasma protein for thyroid hormone and retinol/vitamin A. The human TTR gene, located on chromosome 18, has been shown to be affected by >120 different point mutations, resulting in diverse clinical phenotypes, predominantly neuropathy and cardiomyopathy. Ocular manifestations, observed in approximately 10% of ATTRv cases, typically present as late-stage complications and may involve virtually any ocular tissue. These ocular manifestations are primarily attributed to local TTR production by the retinal pigment epithelium (RPE) since it can't cross the blood-retina barrier. Diagnosis is established through positive genetic testing for TTR mutations and histopathological confirmation of amyloid deposits in tissue biopsies. The primary therapeutic intervention for ATTRv is liver transplantation, however, ocular manifestations continue to occur post-transplantation due to continued TTR synthesis by the RPE. The standard treatment

for vitreous opacities in ATTRv is complete PPV, as partial PPV is associated with a risk of amyloid deposition recurrence.

Keywords: hereditary amyloidosis, transthyretin, vitreous, poster

e-mail: tonibubic15@gmail.com

CONGENITAL NEUROBLASTOMA – A CASE REPORT

Sara Hrg¹, Rea Taradi¹, Tena Gržan¹, Ana Marija Alduk^{2,3}, Marijana Ćorić^{1,4}

¹University Hospital Centre Zagreb, Department of Pathology and Cytology

²University Hospital Centre Zagreb, Department of Radiology

³University of Zagreb, School of Medicine

⁴University of Zagreb, School of Medicine, Institute of Pathology

According to the 5th edition of WHO Classification of paediatric tumours, neuroblastoma is a peripheral neuroblastic tumour of neural crest origin. It is the third most common childhood neoplasm, the most common neoplasm during the first year of life and the most common extracranial solid tumour in the first two years of life. The tumour is composed of neoplastic cells of various grades of neuroblastic differentiation, which proliferate in tumour tissue with less than half being Schwannian stromal content. It can be located along the migration of neural crest cells, most common site being the adrenal glands (40 %) and the abdominal (25 %) ganglia, followed by other sites such as thoracic, pelvic and cervical sympathetic ganglia. Clinical symptoms correlate with the site of the tumour, often being abdominal distension, constipation, respiratory distress, but also paraneoplastic syndromes can occur. One of the major oncogenic driver of neuroblastoma is the MYCN oncogene, since its amplification is seen in quarter of neuroblastoma cases. Other possible common mutations found in neuroblastoma are TERT overexpression, ALK rearrangements or amplifications and segmental chromosomal alterations or chromosomal aberrations, especially 1p loss and 17q gain. Histologically, there are three subtypes based on the grade of neuroblastic differentiation – undifferentiated, poorly differentiated and differentiating neuroblastoma.

A female newborn was delivered in 38+3 gestational week with normal neonatal parameters. The antenatal ultrasound made in 33rd gestational week showed a foetal abdominal mass, confirmed further on with foetal MRI and following ultrasounds, measuring approximately 5 cm, highly suspicious of neuroblastoma. Upon delivery and first inspection, the newborn's abdomen was slightly above the chest level, with palpable resistance in the upper left quadrant. The baby was carefully monitored and examined. Postnatal MRI confirmed the existence of a mass measuring 5,7x4,9x4,8 cm, coming from the left adrenal gland. Liver was enlarged with diffuse metastases measuring up to 5,5 cm and possible metastasis in the right adrenal gland. Lab results showed elevated levels of vanilmandelic (157 HPLC, N<11 HPLC) and homovanilic (218, N<20) acid, again raising suspicion of neuroblastoma. Biopsy of the tumour, along with bone marrow aspirations from multiple sites were performed.

Cytology revealed normocellular bone marrow with normal haematopoiesis. However, samples taken from left iliac crest and right tibia also contained up to 5 % of blast-

type, small, blue round tumour cells with gentle chromatin and scarce cytoplasm, focally forming pseudorosetae.

Pathology received two cylinders showing tumour formed of poorly differentiated, small cells with scarce cytoplasm and "salt and pepper" chromatin. There were also few Homer-Wright pseudorosetae forming. Immunohistochemically, tumour cells were positive for CD56, synaptophysin and chromogranin. Mitosis-karyorrhexis index was <100/5000 cells. Sample was also sent to molecular pathology.

Molecular testing included FISH with four relevant markers (MYCN, 1p, 11q and 17q) and genome-wide profiling by array- CGH (Comparative Genomic Hybridization). The tumour showed no MYCN amplification, 1p loss, 17q gain and no 11q loss, i.e. an unfavourable SCA(segmental chromosomal aberration) profile (1p-/17q+), despite MYCN non-amplified status.

The diagnosing of neuroblastoma is challenging and multidisciplinary. Molecular tests are of utmost importance, primarily for the prognosis of the tumor, since N-MYC amplified or TERT overexpressed tend to show aggressive clinical behaviour. Another important prognostic factor is mitosis-karyorrhexis index (MKI), showing the number of cells undergoing mitosis or karyorrhexis on 5000 cells. Our patient, which had mixed prognostic factors (high-risk molecular profile, bone marrow infiltrate, metastases, but low MKI, histological subtype) is currently under chemotherapy with good partial regression of primary tumour as well as the metastases.

Keywords: neuroblastoma, bone marrow aspirate, biopsy, molecular pathology

e-mail: sara.hrg@kbc-zagreb.hr

STATUS PD-L1 U KARCINOMIMA VRATA MATERNICE – PRIKAZ REZULTATA KBC-a ZAGREB

Lukrecija Anžić¹, Katarina Mihaljević¹, Mirna Ivandić-Lončar¹, Davor Petrović¹, Marija Milković-Periša^{1,2}

¹Klinički zavod za patologiju i citologiju, KBC Zagreb, Ulica Mije Kišpatića 12, 10 000 Zagreb, Hrvatska

²Katedra za patologiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Šalata 10, 10 000 Zagreb, Hrvatska

Uloga imunosnog sustava je obrana organizma prvenstveno od infekcija, ali i sudjelovanje u drugim patološkim procesima poput sprječavanja nastanka i razvoja tumorskih procesa. U zdravom tkivu na membrani stanica postoje PD-L1 receptori na koje se vežu citotoksični T limfociti, ali i druge imunosne stanice koje na svojoj mebrani imaju PD-1 receptor. Tim vezanjem postiže se inaktivacija imunosnih stanica, koja može potaknuti i programiranu smrt imunosnih stanica. Tumorske stanice koje na svojoj membrani imaju PD-L1 receptor istim načinom inaktiviraju imunosne stanice čime se brane od njihovog napada. Otkrivanje izraženosti PD-L1 receptora na membranama tumorskih stanica omogućuje primjenu imunoterapije kojom se blokira povezivanje stanica s tim receptorima te posljedično imunosne stanice mogu napadati i uništavati tumorske stanice. Isto tako PD-L1 receptor na tumorskim stanicama karcinoma vrata maternice predstavlja biomarker koji omogućuje primjenu anti-PD-1 terapije. Studija kojom se dokazala učinkovitost te terapije koristila je rezultate statusa PD-L1 receptora 22C3 klona, a izraženost u tumorskom tkivu i upalnim stanicama se određivala pomoću CPS-a (engl. Combine Positive Score) s potrebnom razinom ≥ 1 .

U Kliničkom zavodu za patologiju i citologiju status PD-L1 receptora u karcinomu vrata maternice određuje se od ožujka 2025. godine na zahtjev onkologa. U periodu od 6 mjeseci odredili smo izraženost PD-L1 receptora 22C3 klona u 30 uzoraka karcinoma vrata maternice. Od 30 uzoraka u 23 uzorka CPS je bio ≥ 1 , a u 7 < 1 . Prema histološkom tipu, 21 je bio uzorak planocelularnog karcinoma (8 CPS ≥ 1 , 3 CPS < 1), 7 adenokarcinoma (4 CPS ≥ 1 , 3 CPS < 1), 1 mezonefrički (CPS < 1) i 1 nediferencirani karcinom (CPS ≥ 1). Prema dobi, pacijentice smo podijelili u 3 dobne skupine (do 40 godina, od 41 do 60 godine, starije od 60 godina starosti). U dobnoj skupini do 40 godina bile su 4 pacijentice, sve (100%) CPS ≥ 1 , u dobnoj skupini od 41 do 60 godina bilo je 12 pacijentica od kojih je 10 (83%) imalo CPS ≥ 1 , a u dobnoj skupini starijoj od 60 godina 14 pacijentica od kojih je 9 (64%) imalo CPS ≥ 1 . Iz prikaza rezultata statusa PD-L1 određivanih u karcinomima vrata maternice može se zaključiti da je CPS ≥ 1 bio u većem postotku u planocelularnim karcinomima u odnosu na adenokarcinome, kao i u mlađim dobnim skupinama s padom prema starijoj dobnoj skupini.

Dobiveni rezultati zahtijevaju daljnje praćenje i statističku obradu na zadovoljavajućem većem broju uzoraka.

Ključne riječi: PD-L1, CPS, cerviks, planocelularni karcinom, adenokarcinom

e-mail: lukrecija.anzic@gmail.com

UTJECAJ HISTOLOŠKIH KARAKTERISTIKA TUMORA I POZITIVNIH RUBOVA RADIKALNE PROSTATEKTOMIJE NA RANI BIOKEMIJSKI RELAPS U BOLESNIKA S ADENOKARCINOMOM PROSTATE

Iva Kurdija¹, Ana Lukač¹, Anita Zenko Sever¹, Tvrtko Hudolin³, Tomislav Kuliš³, Luka Penezić³, Marijana Čorić^{1,2}, Lucija Kutija¹, Stela Ilijaš², Barbara Karačić², Stela Bulimbašić^{1,2}

¹Klinički zavod za patologiju i citologiju, KBC Zagreb

²Medicinski Fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb

³Klinika za Urologiju, KBC Zagreb

Cilj: Rad predstavlja retrospektivnu analizu oboljelih od adenokarcinoma prostate liječenih radikalnom prostatektomijom uz analizu učestalosti biokemijskog relapsa bolesti u odnosu na histološke karakteristike, stadij tumora i status resekcijskih rubova opisan u patohistološkom nalazu.

Metode: Analizom su uključeni bolesnici koji su zbog adenokarcinoma prostate u razdoblju 1.1.-31.12. 2024. na KBC Zagreb kirurški liječeni radikalnom prostatektomijom. Analizirana je vrsta kirurškog pristupa (otvorena ili laparoskopska te robotom asistirana prostatektomija), diferenciranost (Gleasonov zbroj i gradusna skupina prema klasifikaciji SZO) i proširenost tumora (pTNM) te status rubova kirurške resekcije. Kao vrijednost PSAkoja upućuje na biokemijski relaps (BCR) uzeta je vrijednost jednaka ili veća od 0,2 ng/ml. Bolesnici su praćeni do 1.9.2025.

Rezultati: U analiziranom razdoblju učinjene su 383 radikalne prostatektomije, od kojih 32 (8,35%) otvorenim, 34 (8,88%) laparoskopski pristupom te 317 (82,77%) robotom asistiranih radikalnih prostatektomija (RARP). Prema učestalosti, najviše je tumora bilo gradusne skupine 2 (64,5%); slijede gradusne skupine 3 i 1 (17,5% i 9,4%), dok su tumori gradusne skupine 4 (2,6%) i 5 (6%) činili manji dio nađenih tumora. Lokalizirana bolest u prostati (pT2) nađena je u 228 (59,5%) bolesnika; početno ekstraprostatično širenje (pT3a) u 113 (29,5%) te zahvaćanje sjemenih mjehurića (pT3b) u 42 (10%) bolesnika. Pozitivni limfni čvorovi su nađeni u 9 (7,9%) bolesnika kod pT3a i u 10 (23,8%) bolesnika s pT3b stadijem bolesti. Ukupno gledajući, pozitivni resekcijski rubovi su nađeni u 157 (41%) bolesnika, uključujući 34% bolesnika liječenih klasičnom otvorenom prostatektomijom; 50% bolesnika operiranih laparoskopski te u 41% bolesnika s RARP. Pozitivni resekcijski rubovi su nađeni u 71 (31,1%) bolesnika u pT2 stadiju; 60 (58,2%) bolesnika u pT3a i 26 (61,9%) bolesnika u pT3b stadiju bolesti.

U vremenu praćenja do 1.9.2025.godine, BCR je dokazan u 47 (12,27%) bolesnika, od kojih je 10 bilo (21,2%) u pT2 stadiju; 18 (38,2%) u pT3a i 19 (40,4%) u pT3b stadiju bolesti. Bolesnici s tumorima gradusnih skupina 1 i 2 su imali niski postotak BCR

(2,78% i 4,86%); u gradusnoj skupini 3 je postotak bio viši (22,39%), dok su bolesnici s tumorima gradusnih skupina 4 i 5 imali visoki postotak BCR (40% i 65,22%).

Ukupno 12 (63,1%) bolesnika s pozitivnim limfnim čvorovima je imalo dokazan BCR; 4 od 9 u pT3a stadiju i 8 od 10 u pT3b stadiju. Od svih bolesnika s BCR, 17 (36,1%) je prema patohistološkom nalazu imalo negativne, a 30 (63,8%) pozitivne reseksijske rubove. Promatrajući ukupan broj bolesnika analiziranog razdoblja, BCR je dokazan u 17/226 (7,5%) s negativnim i 30/157 (19,1%) s pozitivnim reseksijskim rubovima.

Zaključak: Učestalost BCR raste sa stadijem bolesti, izraženije u slučaju pozitivnih limfnih čvorova. BCR je puno rjeđi u tumorima gradusnih skupina 1 i 2 u odnosu na slabije diferencirane tumore gradusnih skupina 4 i 5. Negativni reseksijski rubovi ne isključuju mogućnost BCR, a učestalost je puno veća u slučaju pozitivnih reseksijskih rubova.

Ključne riječi: adenokarcinom prostate, gradusne skupine, radikalna prostatektomija, reseksijski rubovi, biokemijski relaps

e-mail: iva.kurdija@kbc-zagreb.hr

PROGRESIVNA MULTIFOKALNA LEUKOENCEFALOPATIJA KOD PACIJENTICE LIJEČENE KLORAMBUCILOM

Vinko Pavlov, Marina Čaleta Rade

Klinički bolnički centar Split

Cilj

U ovom prikazu slučaja prikazati ćemo slučaj razvoja progresivne multifokalne encefalopatije kod pacijentice rođene 1947. godine koja boluje od kronične limfocitne leukemije (CLL). Pacijentica je primarno pregledana od strane neurologa putem OHBP-a prezentirajući se sa simptomima slabosti, preznojavaanja, diplopije, vrtoglavice, oslabljenog vida na desno oko i nestabilnosti u hodu. Pacijentica je također navodila i pojavu povremenih epizoda smetenosti unatrag 15 dana. Od ostalih komorbiditeta navodi trombocitopeniju i hiperlipidemiju te redovno pohađa kontrolne preglede hematologa zbog CLL-a. U terapiji navodi klorambucil, statine, deksametazon i pantoprazol. Upućena je na MSCT mozga koji ukazuje na infrateritorijalno lobulirano zadebljanje korteksa malog mozga. MR iz vanjske ustanove potvrđuje navedeni nalaz uz naglasak da se najvjerojatnije radi o infiltraciji osnovnom bolešću- Uzimajući u obzir navedeni nalaz, pacijentica je pregledana od strane neurokirurga te je hospitalizirana zbog potrebe za daljnjom obradom. Po učinjenoj daljnjjoj obradi i neuroradiološkoj dijagnostici, neurokirurški konzilij donosi odluku o provođenju subokcipitalne kraniotomije i stereotaksijske biopsije navedene lezije. Pacijentica je postoperativno, uz pomoć fizijatra, vertikalizirana, uz zadovoljavajuće kontrolirane laboratorijske parametre i uredan daljnji postoperativni tijek te je otpuštena kući uz preporuke. Sedam dana nakon dospijea patohistološkog nalaza, pacijentica je preminula. Cilj ovog rada je prikazati slučaj pacijentice koja je razvila PML tijekom liječenja kronične limfocitne leukemije klorambucilom, uzimajući u obzir da je u literaturi opisano samo nekoliko slučajeva na navedenu temu.

Rezultati

Na intraoperativnu analizu primljeni su sitni komadići tkiva, pod uputnom dijagnozom suspektnog limfoma, koji su u cijelosti uklopljeni u jedan parafinski blok. Histološki, intraoperativni uzorak odgovarao je parenhimu malog mozga bez vidljivog patološkog supstrata. Naknadno su primljeni dodatni sitni biopsijski uzorci tkiva, koji su također uklopljeni u cijelosti u jedan parafinski blok. Histološki, uočava se tkivo malog mozga koje je tek mjestimice prožeto oskudnim limfatičnim tumorskim tkivom građenim od srednje velikih i manjih limfocita koji su imunohistoekmijski CD20, CD5, CD23 i Bcl2 pozitivni, a CD3 i Bcl6 negativni što odgovara oskudnoj infiltraciji bijele tvari B-limfostaničnim limfomom (CLL/SLL). U navedenom uzorku prisutna su i područja

bijele tvari koja su infiltrirana obilnim histiocitima (CD163+, CD68+, CD1a -) između kojih su atipični astrociti koji su imunohistokemijski p53 pozitivni, s povećanom proliferacijskom aktivnošću mjerenom Ki67 proliferacijskim faktorom. Opisani astrociti su SV40/BKV pozitivni (imunohistokemijski biljeg koji ima križnu reakciju s JC Virusom) što potvrđuje aktivnu fazu infekcije JC virusom.

Zaključak

Progresivna multifokalna leukoencefalopatija (PML) je letalna demijelinizirajuća bolest središnjeg živčanog sustava uzrokovana reaktivacijom John-Cunningham (JC) poliomavirusa. Većina ljudi su asimptomatski nositelji virusa, dok kod imunodeficientnih i imunosuprimiranih bolesnika dolazi do reaktivacije virusa koji napada oligodendrocite, stanice odgovorne za proizvodnju mijelina, što dovodi do upale i oštećenja bijele tvari mozga. Navedeni patofiziološki slijed dovodi do pojave kliničkih simptoma koji se razlikuju ovisno o zahvaćenom dijelu mozga (progresivna slabost, smetenost, disorijentiranost, promjene osobnosti, ataksija, afazija, dvoslike, nistagmus i sl.). PML je rijetka i letalna bolest koju je teško dijagnosticirati, posebno u slučajevima s netipičnom kliničkom slikom. (1,2) Sumnju na razvoj PML trebalo bi postaviti prvenstveno kod imunokompromitiranih pacijenata s pogoršanjem neurološkog statusa, kod kojih rezultati magnetske rezonancije i identifikacija JC-virusa omogućuju ranu dijagnozu PML-a, povećavajući šanse pacijenta za preživljenje. Patohistološki glavni diferencijalno-dijagnostički entiteti koji dolaze u obzir prilikom postavljanja definitivne dijagnoze uključuju neinflamatorne demijelinizacijske bolesti i gliozu. Definitivnoj dijagnozi pridonosi pažljivo uočavanje nukleo-citoplazmatskih omjera kao i viralnih inkluzija u uzorku. Za ovu bolest ne postoji specifična terapija te uglavnom završava letalnim ishodom. Pokušaji liječenja pacijenata uglavnom se sastoje od mjera koje nastoje poboljšati pacijentov imunološki odgovor u borbi protiv virusa. Ponekad kod tih pacijenata može doći do paradoksalnog pogoršanja simptoma uzrokujući tzv. Upalni sindrom prilikom imune rekonstrukcije koji popušta na primjenu kortikosteroidne terapije (3).

Reference:

1. Kartau M, Sipilä JO, Auvinen E, et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy: current insights. *Degener Neurol Neuromuscul Dis* 2019;9:109–21.
2. Bag AK, Curé JK, Chapman PR, Roberson GH, Shah R. JC virus infection of the brain. *American Journal of Neuroradiology*. 2010 Oct 1;31(9):1564–76.
3. Gheuens S, Ngo L, Wang X, Alsop DC, Lenkinski RE, Koralnik IJ. Metabolic profile of PML lesions in patients with and without IRIS: an observational study. *Neurology*. 2012 Sep 4;79(10):1041–8. doi: 10.1212/WNL.0b013e318268465b. Epub 2012 Aug 22. PMID: 22914832; PMCID: PMC3430711

Ključne riječi: klorambucil, kronična limfocitna leukemija, imunosupresija, prognoza, progresivna multifokalna leukoencefalopatija

OLIGODENDROGLIOM S MULTIPLIM KLONOVIMA PROMOTORA GENA TERT: PRIKAZ SLUČAJA

Paula Gršković¹, Marina Cindrić¹, Petra Jurešić¹, Tena Gržan¹, Anamarija Salar¹, Klara Biškup¹, Ivona Kaloper Lovreković²

¹Klinički zavod za patologiju i citologiju, Klinički bolnički centar Zagreb, Kišpatićeva 12, Zagreb, Republika Hrvatska

²Zavod za patologiju, Medicinski fakultet Zagreb, Sveučilište u Zagrebu, Šalata 10, Zagreb, Republika Hrvatska

Oligodendrogliomi su podtip glioma, skupine tumora koji pripadaju tumorima središnjeg živčanog sustava (CNS, od engl. central nervous system). Prema smjernicama Svjetske zdravstvene organizacije (WHO, od engl. World Health Organisation) iz 2021. godine, oligodendrogliome na molekularnoj razini karakteriziraju prisutnost mutacije u genima IDH1 ili IDH2, nedostatak mutacija u proteinu ATRX i prisutnost ko-delecije kraćeg kraka kromosoma 1 (1p) i duljeg kraka kromosoma 19 (19q). Sekvenciranje po Sangeru promotora gena TERT nije esencijalni dio dijagnostike oligodendroglioma prema WHO smjernicama, ali se mutacije u promotoru gena TERT često detektiraju u oligodendrogliomima. Prikazujemo slučaj oligodendroglioma kod kojeg su sekvenciranjem detektirani multipli klonovi promotora gena TERT.

Prvotno je imunohistokemijskim bojanjem u uzorku bila potvrđena prisutnost mutiranog proteina IDH1 s promjenom p.R132H (c.395G>A) u kodonu 132, eksonu 4 gena IDH1 te očuvanost proteina ATRX. Fluorescencijskom hibridizacijom in situ bila je detektirana ko-delecija 1p/19q te nedostatak homozigotne delecije gena CDKN2A. Promotor gena TERT bio je sekvenciran sekvenciranjem po Sangeru kako bi se detektirale potencijalne hot-spot mutacije C228T ili C250T. Nakon izolacije iz uzorka tkiva fiksiranog formalinom i uklopljenim u parafin, DNA je bila umnožena lančanom reakcijom polimerazom i vizualizirana na 2%-tnom agaroznom gelu. Amplikon uzorka od interesa bio je deblji u odnosu na pozitivnu kontrolu, ali nije bio vidljiv višak amplikona. Nakon pročišćavanja DNA amplikona i provedbe reakcije sekvenciranja, uzorak je još jednom bio pročišćen i bila je provedena kapilarna elektroforeza.

Unatoč opetovanom pročišćavanju reakcije sekvenciranja, u uzorku su detektirane preklapajuće sekvence, što je upućivalo na inserciju u regiji od interesa. Amplikon je potom bio razdvojen na 5%-tnom agaroznom gelu i četiri vizualizirana amplikona bila su izolirana iz gela i ponovno umnožena lančanom reakcijom polimerazom. Najkraći amplikon odgovarao je duljini amplikona promotora gena TERT pozitivne kontrole i bio je uspješno sekvenciran dok su za ostale amplikone ponovno bile dobivene preklapajuće sekvence pa su uzorci još jednom bili razdvojeni na 3%-tnom agaroznom gelu, izolirani iz gela te ponovno sekvencirani.

Uspješno su sekvencirani multipli klonovi koji sadrže insercije u regiji od interesa, ali u dijelu klonova ponovno su bile detektirane preklapajuće sekvence, što upućuje na postojanje dodatnih klonova koje nije bilo moguće razdvojiti elektroforezom na



agarnom gelu. Prema postojećim podacima, multiklonalost promotora gena TERT u gliomima dosad nije opisana.

Ključne riječi: oligodendrogliom, TERT, multipli klonovi

e-mail: paula.grskovic@kbc-zagreb.hr



**Hrvatsko društvo za
kliničku citologiju**

Hrvatski liječnički zbor

SAŽECI / SUMMARIES

**Hrvatskog društva
za Kliničku Citologiju**

**2nd
PACIT**



USMENE PREZENTACIJE

KARCINOM PLUĆA: JE LI CITO(PATO)LOGIJA DOVOLJNA ZA EGFR ANALIZU?

Ivan Švagelj¹, Ivona Gregorić², Sara Šormaz¹, Domagoj Knebl-Buklijaš^{1,2}, Magdalena Perak¹, Filip Petrik¹, Tomislav Kremer¹, Mirta Vučko¹, Mirta Sudarić BOgojević²

¹Opća Županijska Bolnica Vinkovci, Zvonarska 57, Vinkovci, Hrvatska, EU

²Odjel za biologiju, Ulica cara Hadrijana 8/A, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, Hrvatska, EU

Karcinom pluća jedna je od najčešćih malignih bolesti i vodeći uzrok smrti među karcinomima. Osim postavljanja dijagnoze, iz uzorka tumorskog tkiva potrebno je provesti i prediktivne analize, no zbog česte oskudnosti bioptičkog materijala sve se više koristi i preostali citološki materijal kao vrijedan izvor za dodatna testiranja. Cilj ovog istraživanja bio je usporediti kvalitetu DNAPri detekciji EGFR mutacija između citoloških uzoraka (osušenih na zraku i obojenih modificiranom Pappenheim metodom) i staničnih blokova (fiksiranih u formalinu i uklopljenih u parafin) korištenjem qPCR uređaja Idylla. U istraživanje je uključeno devet parova uzoraka (citološki uzorak i stanični blok istog pacijenta).

Ukupno su detektirane četiri EGFR mutacije. Vezana usporedba rezultata pokazala je potpunu podudarnost detekcije EGFR mutacija između citoloških i histoloških uzoraka, pri čemu je Fisherov egzaktni test dokazao statistički značajnu povezanost ($p=0,01$). Analizom Cq vrijednosti, koje odražavaju količinu početne DNA, ustanovljeno je da su citološki uzorci imali statistički značajno nižu prosječnu Cq vrijednost u odnosu na stanične blokove ($p < 0,05$). Nadalje, ΔCq vrijednosti, koje označavaju razliku između kontrolnog i mutacijskog signala, bile su niže u citološkim uzorcima nego u staničnim blokovima, no razlika nije statistički značajna ($p > 0,05$). U dodatnoj analizi ispitana je povezanost Cq vrijednosti s brojem tumorskih stanica. Iako su stanični blokovi u većini slučajeva sadržavali više od 1000 stanica, razlike u Cq vrijednostima nisu bile statistički značajne ni kada su uspoređeni s citološkim uzorcima niže celularnosti ($p > 0,05$). Ovi rezultati upućuju na višu koncentraciju i bolju kvalitetu DNA u citološkim uzorcima, a podržavaju širu primjenu različitih citoloških uzoraka osušenih na zraku u molekularnoj dijagnostici, osobito u situacijama kada je količina tkiva ograničena. Idylla sustav pokazao se kao brz, pouzdan i primjenjiv alat za molekularnu analizu EGFR mutacija iz citoloških uzoraka u svakodnevnoj kliničkoj praksi.

Ključne riječi: karcinom pluća, EGFR mutacije, citološki uzorci, stanični blokovi, kvaliteta DNA

e-mail: svagelj.ivan@gmail.com

CITOLOGIJA U DIJAGNOZI PRIMARNOG NON-HODGKIN LIMFOMA ŽLIJEZDE SLINOVNICE: NAŠA ISKUSTVA

Ljubica Fuštar Preradović, Nataša Višković Filipčić, Matija Čilić

Specijalna bolnica Agram

Primarni limfomi žlijezda slinovnica čine 1,7 – 3,1% svih neoplazmi i 0,6 – 5% svih tumorskih i tumorima sličnih lezija žlijezda slinovnica. Parotidna žlijezda je najčešća lokalizacija. Klinički se često prezentira kao palpabilna nespecifična masa.

Rad je usmjeren na prikaz minimalno invazivne citološke metode za dobivanje adekvatnog uzorka za citološki pregled te za identifikaciju morfoloških pokazatelja za razlikovanje primarnog limfoma žlijezde slinovnice od benignih lezija i drugih vrsta malignih bolesti. Prikazujemo 36 godišnjeg muškarca s primarnim limfomom parotidne žlijezde. U ordinaciju se javio zbog bezbolne palpabilne tvorbe u području desne parotide koju je uočio unazad 2 mjeseca. Nakon fizikalnog pregleda urađen je ultrazvučni pregled žlijezda slinovnica, obje facijalne regije i prednje vratne regije. U desnoj parotidi je nađena hipoehogena tvorba veličine 6 x 3,3 x 1,5 cm. Urađena je ultrazvučno vođena citološka punkcija (UG-FNA). Od dobivenog materijala načinjeni su konvencionalni razmazi i stanični blok (CB). Konvencionalni razmazi obojeni su standardnom, May-Grünwald-Giemsa, metodom. Za CB materijal je obrađen kao parafinski blok, bojan standardnom HE metodom te korišten za dodatna imunocitokemijska bojanja: CD45; CD3; CD5; CD19; CD 20; CD 10 i proliferacijski indeks Ki – 67.

Citološka dijagnoza: suspektan T – NHL, CD 3+. Bolesnik je upućen hematologu zbog dodatne dijagnostike i liječenja. Dijagnoza je potvrđena klinički i patohistološki.

S obzirom da se primarni limfomi slinovnica rijetko susreću u kliničkoj praksi mogu predstavljati veliki diferencijalno- dijagnostički problem, prvenstveno zbog potrebe za različitim pristupima i terapijskim modalitetima, preoperacijskom i poslijeoperacijom praćenju.

Zaključno, se može istaknuti da primjena ultrazvuka, UG-FNA, citomorfološke analize i CB uz primjenu imunocitokemijskih metoda, kao preoperativne metode, može pomoći u razlikovanju primarnih limfoma slinovnica od benignih lezija i drugih vrsta malignih bolesti.

Ključne riječi: citologija, limfom, žlijezde slinovnice

e-mail: ljubica.fustar-preradovic@agram-bolnica.hr

HPV NEGATIVNE LEZIJE VRATA MATERNICE – ISKUSTVA DVAJU CENTARA

Ana Barišić¹, Ines Krivak Bolanča^{2,3}, Tatjana Marijan³, Jasmina Vraneš^{3,4}

¹KBC Zagreb

²KB Merkur

³Referentni centar Ministarstva zdravstva za dijagnostiku spolno-prenosivih infekcija Službe za kliničku mikrobiologiju Nastavnog zavoda za javno zdravstvo dr. A.Štampar

⁴Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Cilj rada je usporediti rezultate tekućinske citologije i HPV testiranja iz istog uzorka s patohistološkim nalazom.

MATERIJALI I METODE

Uzorci tekućinske citologije obrađeni su u dva citološka laboratorija: Odjelu za ginekološku citologiju Kliničkog zavoda za patologiju i citologiju KBC-a Zagreb (prvi laboratorij) te u Odjelu za ginekološku citologiju Kliničkog zavoda za patologiju i citologiju KB Merkur (drugi laboratorij). HPV tipizacija rađena je u Laboratoriju za HPV tipizaciju Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo i u Referentnom centru Ministarstva za dijagnostiku spolno-prenosivih infekcija Službe za kliničku mikrobiologiju Nastavnog zavoda za javno zdravstvo dr. Andrija Štampar, a patohistološke analize rađene su u patološkom laboratoriju Opće bolnice Virovitica odnosno u Kliničkom zavodu za patologiju i citologiju KB Merkur.

REZULTATI

U prvom laboratoriju je u periodu od 2 godine analizirano 2059 uzoraka, a u drugom je, tijekom desetogodišnjeg razdoblja izdvojeno 1660 uzoraka kod kojih je iz istog uzorka učinjena citološka analiza i tipizacija HPV-a. Citološki i HPV negativnih nalaza bilo je 1874 (90%) u prvom, te 658 (39,6 %) u drugom laboratoriju. Citološki negativnih, a HPV pozitivnih je bilo 40 (2%) u prvom, a u drugom laboratoriju je udio HPV pozitivnih pacijentica s urednim citološkim nalazom iznosio 12 % (201/1660), te je rastao od s težinom cervikalne intraepitelne lezije: 35 % kod ASCUS-a; 63 % kod lezija niskog i 89 % kod lezija visokog stupnja. Citološki abnormalnih, a HPV negativnih je bilo 71 (3%) u prvom, te 304 (18,3 %) u drugom laboratoriju u padajućoj distribuciji: 65 % kod ASCUS-a, 36 % kod LSIL-a i 10 % kod HSIL-a. Citološki abnormalnih i HPV pozitivnih je bilo 90 (4%) u prvom, te 497 (29,9 %).

U prvom laboratoriju je patohistološka verifikacija je učinjena u 60 slučajeva: patohistološka dijagnoza pločastog karcinoma potvrđena je u 3 slučaja (svi HPV pozitivni, citološki 1 neadekvatan i 2 abnormalna), HSIL u 35 slučajeva (27 HPV pozitivni, 8 HPV negativni, svi citološki abnormalni) te LSIL u 22 slučajeva (15 HPV pozitivni, 7 HPV negativni, svi citološki abnormalni).

U drugom laboratoriju je patohistološka verifikacija je učinjena u 38 slučajeva: patohistološka dijagnoza adenokarcinoma sa HSIL lezijom je potvrđena je 1 slučaju (HPV pozitivan i citološki abnormalan), HSIL u 25 slučajeva (23 HPV pozitivni, 2 HPV negativni, svi citološki abnormalni) te LSIL u 12 slučajeva (svi HPV pozitivni i svi citološki abnormalni).

U prvom laboratoriju je bilo ukupno 15/60 (25%) patohistološki verificiranih abnormalnih nalaza, od čega 8/35 (22%) HSIL HPV negativno testiranih slučajeva. U drugom laboratoriju se kod 38 pacijentica moglo usporediti rezultati citologije i HPV testiranja. Abnormalnost epitela je histološki potvrđena kod 29 pacijentica (76%), od čega je bilo 7,6% (2/26) HPV negativnih intraepitelne lezije težeg stupnja.

ZAKLJUČAK

Po smjernicama brojnih država, HPV testiranje polako preuzima primarnu ulogu u probiru na rak vrata maternice. Naši rezultati pokazuju da postoje histološki potvrđene intraepitelne lezije težeg stupnja koje su HPV negativne. Kotestiranje (istovremeno citološko i HPV testiranje) omogućuje pronalazak abnormalnosti i kod HPV negativnih žena.

Ključne riječi: tekućinska citologija, HPV test, Papa test, HPV negativne intraepitelne lezije

e-mail: ana.ana.barisic@gmail.com

SVAKODNEVNI IZAZOV HEMATOCITOPATOLOGA U KBC-U ZAGREB - DIJAGNOSTIKA AKUTNE LEUKEMIJE (PRIKAZ SLUČAJA)

Lucija Bonković, Rea Taradi, Sunčica Ries

Klinički zavod za patologiju i citologiju KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska

Prikazujemo slučaj 50-godišnjeg pacijenta bez ranijih komorbiditeta koji se samostalno javio u hitnu službu KBC-a Zagreb. Pacijent je unazad deset dana od prijema bio febrilan do 40°C uz zimice i tresavice, pretežno u večernjim satima, te je imao oskudan suhi kašalj i kataralne simptome. Osip na trupu primijetio je oko dva tjedna ranije. Liječnik obiteljske medicine uveo je antibiotsku terapiju, nakon čega je zabilježeno djelomično poboljšanje u vidu regresije bolova i sekrecije, no febrilnost uz izražene zimice i tresavice je perzistirala. Pacijent se žalio i na bolove u leđima. U sklopu inicijalne obrade ustanovljena je pancitopenija, značajan porast upalnih parametara te prisutnost blasta u razmazu periferne krvi. Radi daljnje dijagnostičke obrade učinjena je sternalna punkcija, pri čemu je dobiven oskudan uzorak. Zbog toga je učinjena i punkcija prednje ilijačne kriste kojom su dobivena samo dva razmaza koštane srži. U njima se nalazilo obilno hematopoetsko tkivo bez strome, pri čemu je odnos bijele i crvene loze bio izrazito pomaknut u korist bijele loze.

Bijela loza bila je najvećim dijelom zastupljena blastima, od kojih je dio u citoplazmi sadržavao sitne, prašinate, crvenkaste granule. Zbog oskudnog uzorka nije bilo moguće učiniti citokemijska bojenja te je preporučena biopsija koštane srži. Citomorfološki nalaz upućivao je na akutnu leukemiju, no konačna dijagnoza bila je moguća tek uz dodatni citokemijski i histopatološki nalaz. Na koži trupa pacijenta bile su vidljive difuzne eritematozno-lividne makule promjera oko 0,5 cm, koje su blijedile na pritisak i mjestimično konfluirale. Učinjena je punkcija dviju promjena na lijevoj strani abdomena u lumbalnoj regiji. Prvi punktatsadržavao je oskudnu količinu eritrocita, dok je u drugom, izrazito slabo celularnom uzorku, uočen manji broj blasta. Citomorfološki nalaz bio je u skladu s kožnim leukemijskim infiltratima.

Biopsijom koštane srži dobiven je suboptimalan uzorak čija je analiza bila otežana. Razmaz je bio slabo celularan, uz prisutnu masnu stromu, bez megakariocita, s malim brojem eritroblasta i dominantno prisutnim blastima koji su bili MPO- pozitivni. Bojanjem po Gomoriju utvrđeno je umnažanje retikulinskih vlakana odgovarajuće MF-1 stupnju, što je upućivalo na blagu fibrozu koštane srži i objašnjavalo oskudnost uzorka. S obzirom na dostatan broj blasta u perifernoj krvi provedena je citokemijska analiza razmaza, koja je pokazala MPO-pozitivnost u blastima, dok je Sudan bio tehnički neadekvatan. CAE je bila pozitivna u manjem broju blasta, a ANAE i PAS negativni. Objedinjeni citomorfološki, citokemijski i histološki nalazi upućivali su na akutnu mijeloičnu leukemiju



sa sazrijevanjem. Prikazani slučaj ukazuje da dijagnostika akutne leukemije može biti izrazito zahtjevna kada su uzorci suboptimalni ili oskudni. Hematocitopatolog mora prepoznati ta ograničenja i primijeniti sve dostupne dijagnostičke metode, uključujući ponovnu punkciju ili kombinaciju različitih pristupa, kako bi se izbjegla nepotpuna ili pogrešna dijagnoza.

Ključne riječi: akutna leukemija, oskudan uzorak

e-mail: lucija274@gmail.com

POSTER PREZENTACIJE

PRIMARNA PREZENTACIJA VELIKOSTANIČNOG B-NHL-a U PERIKARDIJALNOM IZLJEVU

Marina Pažur, Biljana Jelić Puškarić, Mia Šunjić Stakor, Sandra Moslavac

KB Merkur, Klinički zavod za patologiju i citologiju, Zajčeva 19, Zagreb

55- godišnja pacijentica zaprimljena je u hitnu službu zbog opće slabosti i bolova u prsnom košu. Internističkom obradom isključeno je akutno koronarno zbivanje i plućna embolija. Pacijentica je upućena na daljnju dijagnostičku obradu te je nađen perikardijalni i pleuralni izljev. Perikardijalni izljev je citološki obrađen te su nađene brojne atipične stanice polimorfnih jezgara, ponegdje vidljivih nukleola, bazofilnih citoplazmi. Imunocitokemijski su pokazale pozitivnost na LCAi CD20, dok su bile negativne na BerEP4, stoga je postavljena sumnja na infiltraciju stanicama B-NHL-a. Učinjena je dodatna hematološka obrada, ali se nije našlo medijastinalne limfadenopatije niti infiltracije koštane srži.

Nakon 2 godine pacijentica je zaprimljena u bolnicu sa identičnim simptomima zaduže i bolova u prsima te se izvršenom radiološkom obradom nađe pleuralni i perikardijalni izljev sa medijastinalnom limfadenopatijom i velikom tumorskom masom u području perikarda. Citološkom analizom pleuralnog izljeva dobije se ista morfološka i imunocitokemijska slika kao i kod perikardijalnog izljeva. Pacijentica se podvrgne perkutanoj biopsiji tumorskih tvorbi u medijastinumu pod kontrolom CT-a. Patohistološki nalaz govori u prilog high grade B limfoma, ne drukčije klasificiranog (HGBL, NOS).

Daljnjom hematološkom obradom isključi se zahvaćenost koštane srži. Molekularnom analizom je pronađena i c-myc mutacija.

Pacijentica je započela liječenjem R-CHOP protokolom te je došlo do poboljšanja kliničkih simptoma i smanjenja tumorske mase.

Obzirom na neuobičajenu primarnu prezentaciju velikostaničnog B-limfoma u izljevu, diferencijalno dijagnostički u obzir dolazi primarni efuzijski limfom (PEL) koji ne pokazuje c-myc mutaciju i ima agresivan klinički tijek. Stoga je isključen kao dijagnoza kod naše pacijentice.

Ključne riječi: velikostanični B-NHL, pleuralni izljev, perikardijalni izljev, imunocitokemijska obrada

e-mail: marina.pazur@gmail.com

CT- GUIDED TRANSTHORACIC NEEDLE PROCEDURES- ACCURACY AND SAFETY OF CYTOLOGY

Vesna Šimić¹, Suzana Harabajsa^{1,3}, Božica Vrabec Branica¹, Ivana Kuhtić², David Stipan Žižić², Marko Jakopović^{4,5}, Silvana Smojver-Ježek^{1,3,5}

¹Department of Pathology and Cytology, Division of Pulmonary Cytology Jordanovac, University Hospital Centre Zagreb, Zagreb

²Clinical Department of Diagnostic and Interventional Radiology, Department of Cardiothoracic Radiology, University Hospital Centre Zagreb, Zagreb

³University of Applied Health Sciences, Zagreb

⁴Department of Respiratory Diseases Jordanovac, University Hospital Centre Zagreb, Zagreb

⁵School of Medicine, University of Zagreb, Zagreb

Aim: To evaluate the diagnostic accuracy of transthoracic cytology samples and the safety of CT-guided transthoracic fine needle aspiration (CT-TTFNA) compared with CT-guided transthoracic needle biopsy (CT-TTNB) in our institution.

Methods: This retrospective study included 391 patients with benign and malignant pulmonary lesions over 28 months. CT- TTFNA was done with or without concurrent needle biopsy. The procedure was done by an experienced radiologist, and/or supervised radiology resident, and cytologist at the site. Obtained materials of CT-TTFNA were expelled on the glass slide and smeared, or in the case of CT-TTNB, an imprint was made. Microscopic assessment of unstained slides for adequacy was done immediately on-site by a cytologist. If needed TTFNA procedure was repeated two times. Slides were May Grünwald Giemsa (MGG) stained, and immunocytochemistry (ICC) was done if necessary. Following the procedure, a control CT scan was done, and after 2 hours control X-ray. The final diagnosis was established through biopsy results, surgical correlation, microbiology, or clinicoradiologic follow-up for at least 18 months following the procedure.

Results: The patient population included 224 (57,3%) males and 167 (42,7%) females. Out of 391 CT-guided procedures, 239 (61,1%) were TTFNAs, 103 (26,3%) were CT-TTNBs with biopsy material imprint slides, 27 (6,9%) were CT-TTNBs with TTFNAs but without imprints for cytology, and 22 (5,6%) were combined CT-TTNBs and TTFNAs with biopsy imprints. Inadequate were 33 samples due to necrosis and peripheral blood. The overall accuracy of cytology was 88,9%, sensitivity was 87,6%, and specificity 96,1%. Following CT-TTFNA, 91/239 (38,1%), and after CT-TTNB, 32/103 (31,1%) patients had complications such as pneumothorax or hemorrhage, but only a few patients required surgical placement of a chest drain. **Conclusion:** CT-guided transthoracic needle aspiration is an accurate, relatively simple, and safe procedure that has been used for decades to diagnose predominantly peripherally located lung lesions.

Keywords: Transthoracic fine needle aspiration, transthoracic needle biopsy, pneumothorax, interventional, computed tomography (CT)

e-mail: vesnasimic55@gmail.com

CITOPATOLOGIJA LUPUSNOG MASTITISA: PRIKAZ SLUČAJA

Ivana Šitić Svirčić

KBC Split

Lupusni mastitis je varijanta lupusnog panikulitisa, rijetke kliničko-patološke varijante sistemnog eritematoznog lupusa. Može biti jedan od prvih znakova diskoidnog ili sistemnog lupusa ili se javiti u poodmakloj fazi bolesti. Očituje se kao benigna upalna reakcija dubokog masnog tkiva dojke. Najčešće pogađa žene fertilne dobi. Histološki se u zahvaćenom tkivu nađe gusti nodularni ili difuzni limfoplazmacitoidni infiltrat perilobularno i/ili periduktalno te hijalina nekroza masnog tkiva dojke. Također se može vidjeti limfocitni vaskulitis u nekim slučajevima. Iako spada u izuzetno rijetke promjene sa manje od 25 opisanih slučajeva, predstavlja dijagnostički izazov obzirom da se ultrazvučnim pregledom često ne može razlikovati od malignih ili infektivnih promjena dojke.

Prikaz slučaja:

Pacijentica je 75-godišnja žena s dijagnozom lupusnog panikulitisa kojoj se pri mamografskom pregledu dojki desno retromamilarno prikazala intenzivnija kondenzirana sjena. Ultrazvučnim pregledom dojki nađena je hiperehogena zona dimenzija 2,5 cm x 1 cm supkutano desno na granici gornjih kvadranta te se savjetovala citološka punkcija. Pri punkciji opisane promjene dobije se srednje obilan, nešto rjeđi sadržaj. Citološkom analizom dobivenog materijala nađu se fibrociti, fibroblasti, histioci, masne stanice, gole jezgre, limfociti, masni precipitat i nekrotični detritus. Iako je citološka slika diferencijalno dijagnostički prvenstveno upućivala na promjene vezane uz lupusni panikulitis, savjetuje se iglena biopsija obzirom na ultrazvučni i mamografski nalaz. Iglenom biopsijom nađe se zrelo masno tkivo, vezivna stroma u koju su uloženi duktusi i acinusi obloženi pravilnim epitelom, te hijalina nekroza masti uz perivaskularne i periduktalne nakupine limfocita, plazma stanica i histiocita što odgovara promjenama u sklopu osnovne bolesti.

Zaključak: Lupusni mastitis je rijetka benigna upalna promjena dojke. Prepoznavanje ovakve promjene je bitno pri diferencijalnoj dijagnozi prema malignim i infektivnim bolestima dojke.

Ključne riječi: Lupus, lupusni panikulitis, lupusni mastitis, dojka

e-mail: ivana.sitic@gmail.com

CITOLOGIJA EPITELOIDNOG ŠVANOMA DOJKE – DIJAGNOSTIČKI IZAZOV

Antonia Pavlović^{1,2}, Renata Beljan Perak^{1,2}, Dinka Šundov^{1,2}

¹Klinički bolnički centar Split

²Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet

Švanomi su dobroćudni tumori porijekla švanovih stanica perifernih živaca koji najčešće nastaju u području glave i vrata te na ekstremitetima. Incidencija u dojci je rijetka; čine svega 0.2% tumora dojke, odnosno 2.6% svih švanoma. Građeni su od vretenastih stanica koje palisadiraju, uz područja mikrocistične degeneracije i rijetke mitoze dok je epiteloidni švanom rijetka morfološka varijanta. Radiološki, švanomi u dojci se prikazuju kao dobro ograničene tvorbe, rijede mogu nalikovati cisti – u slučaju cistične degeneracije te karcinomu.

Prikaz slučaja:

45-ogodišnja žena, negativne obiteljske anamneze na karcinom dojke, upućena je na punkciju dobro ograničene hipoehogene promjene u desnoj dojci, smještene dijelom supkutano, veličine 23 mm. Radiološki nalaz kategoriziran je kao BIRADS-3 sa zahtjevom za citološkom verifikacijom opisane promjene. Čvor je pri punkciji bio čvršće konzistencije, bezbolan. Citološki, u bogato celularnim razmazima nađena je monomorfna populacija voluminoznijih, pojedinačnih te uglavnom u rahlim nakupinama epiteloidnih stanica okruglih do ovalnih jezgara, mjestimice sa sitnim nukleolom i relativno obilnom eozinofilnom citoplazmom. U pozadini je nađeno nešto golih jezgara i masni precipitat. Anizonukleoza je bila minimalna, nisu uočene mitoze, nekroza kao ni elementi cistične degeneracije. U pojedinim nakupinama epiteloidne stanice okruživale su eozinofilni globularni, dijelom mikroidni matriks (Slika a-d). Zbog bogate celularnosti, voluminoznijih stanica i epiteloidnog izgleda promjena je citološki kategorizirana kao atipija (B3) te je savjetovana iglena biopsija promjene. Histološki, promjena je dijagnosticirana kao epiteloidni švanom.

Epiteloidni švanom je rijetka morfološka varijanta švanoma, a lokalizacija u dojci je posebno rijetka. Iako nema karakterističnu radiološku sliku, na švanom je potrebno posumnjati prilikom punkcije dobro ograničenih promjena u dojci supkutane/dermalne lokalizacije, posebno u slučajevima bolne punkcije. Epiteloidna varijanta švanoma je poseban citološki izazov jer predstavlja dif.dg. prema malignim promjenama dojke zbog voluminoznijih stanica i istaknutih nukleola, što u slučajevima vretenaste varijante nije problem jer se većina takvih promjena kategorizira prvenstveno kao mezenhimalna promjena.

Literatura:

1. Swaroop MR, Reddy RR, Devaraj Y, Johnson RA, Panigrahi S. Epithelioid Schwannoma – An Uncommon Benign Nerve Sheath Tumor. *Clinical Dermatology Review* 9(2), Apr–Jun 2025.
2. Hart J, Gardner JM, Edgar M, Weiss SW. Epithelioid Schwannomas: An Analysis of 58 Cases Including Atypical Variants. *Am J Surg Pathol*. 2016 May;40(5):704-13.

Ključne riječi: švanom, epiteloidni švanom, dojka

e-mail: antonia.bendic@gmail.com



SAŽECI / SUMMARIES

Hrvatskog društva histo i citotehnologa



USMENE PREZENTACIJE

FORMALIN

Robert Terlević, Tanja Biloš

Odjel za patologiju i citologiju, Opća bolnica Pula

Formaldehid, uveden 1893. godine nakon otkrića njegovih fiksacijskih svojstava, i dalje je najčešće korišten fiksativ tkiva u histopatologiji. Pojam formalin potječe od nekih autora koji su tako nazivali 37 – 40 % otopinu formaldehida ("100 % formalin"), a u svakodnevnom radu koristi se radna otopina od 10 % formalina (3,7 – 4 % formaldehida). Radi stabilnosti i neutralnosti pH te točne osmolalnosti otopine u 10 % formalin dodaje se fosfatni pufer, a takva se otopina naziva 10 % neutralni puferirani formalin i danas predstavlja standardni fiksativ u rutinskoj laboratorijskoj praksi.

Formaldehid djeluje kao nekoagulantni i aditivni fiksativ stvarajući metilenske mostove između amino skupina proteina, čime stabilizira arhitekturu tkiva. Prodire brzo, ali se veze između tkivnih proteina stvaraju sporo, a potpuna fiksacija postiže se za 24 - 48 sati. Dok se proteini i glikogen dobro sačuvaju, lipidi se samo djelomično zadržavaju i gube se tijekom obrade u tkivnom procesoru.

Formalin uzrokuje manje skupljanje tkiva od većine drugih fiksativa te štiti morfologiju tkiva tijekom tkivne obrade i bojenja. Potrebno je koristiti 10 - 20 puta veći volumen fiksativa nego tkiva ne bi li fiksacija bila adekvatna. Veliki tkivni uzorci moraju se u svježem stanju razrezati ne bi li formalin uspješno dospio do svih dijelova uzorka. Korištenje premalih količina formalina može dovesti do autolize središnjih dijelova uzorka. Slabo fiksirana tkiva u tkivnoj obradi bivaju dodatno fiksirana u alkoholnoj fazi, što može dovesti do stvaranja artefakata. Osim artefakata koji otežavaju morfološku interpretaciju tkiva ovako obrađena tkiva često su neadekvatna za imunohistokemijsku te molekularnu dijagnostiku.

Zbog niske cijene, stabilnosti, kompatibilnosti s najvećim brojem dodatnih analiza (uključujući molekularnu dijagnostiku) i dijagnostičkih kriterija koji su utemeljeni na tkivu fiksiranom u formalinu, 10 % neutralni puferirani formalin i dalje ostaje zlatni standard u histopatologiji.

Ključne riječi: formalin, fiksacija tkiva

e-mail: robert.terlevic@gmail.com

UPOTREBA PARAFINA U HISTOPATOLOŠKOM LABORATORIJU

Darija Blaži, Maja Sokol

Odjel za patologiju i citologiju, Županijska bolnica Čakovec

Parafin je skupina zasićenih ugljikovodika čija opća formula glasi C_nH_{2n+2} , a široku primjenu pronalazi u histološkoj i patohistološkoj laboratorijskoj praksi. Njegova fizikalno-kemijska svojstva poput sposobnosti prelaska iz čvrstog u tekuće stanje u relativno uskom temperaturnom rasponu te ponovnog stvrdnjavanja hlađenjem, omogućuju njegovu idealnu uporabu u procesu infiltracije i uklapanja tkiva. Dobiva se kao nusprodukt rafiniranja mazivih ulja iz tzv. "slack waxa", a nakon dodatne obrade i pročišćavanja miješa se s različitim aditivima kako bi se postigla optimalna svojstva. U suvremenoj histologiji najčešće se koristi Histoplast parafin, koji se isporučuje u obliku granula ili bisera, a dostupan je u varijantama s različitim točkama taljenja (50 – 54 °C, 56 – 57 °C) što omogućuje prilagodbu različitim tipovima tkiva. Optimalna temperatura za obradu obično se kreće između 56 – 58 °C. Infiltracijom tkiva rastopljenim parafinom i naknadnim stvrdnjavanjem dobiva se čvrsta potpora koja omogućuje rezanje uzoraka na mikrotomu u tankim slojevima debljine 2 – 4 µm. Takvi rezovi predstavljaju temelj za histološka bojenja i različite analitičke metode, uključujući imunohistokemiju. Jedna od prednosti parafinske metode jest dugotrajno očuvanje uzoraka koji ostaju stabilni i prikladni za dodatna istraživanja i naknadne dijagnostičke postupke. Međutim, proces parafinske obrade može biti praćen različitim pogreškama koje značajno narušavaju kvalitetu uzorka. Najčešći problemi uključuju neadekvatnu fiksaciju tkiva, nedovoljnu ili predugu infiltraciju, nepravilnu kontrolu temperature te prisutnost nečistoća u parafinu. Takve pogreške mogu dovesti do pojave mjehurića, loše očuvanih staničnih struktura ili nepravilnog rezanja na mikrotomu. Osim toga, nepravilno postavljanje tkiva u kalup ili neodgovarajuće hlađenje parafinskog bloka mogu rezultirati deformacijama uzorka i otežati interpretaciju. Dodatni izazov u imunohistokemijskim analizama predstavlja smanjena ekspresija endogenog biotina nakon formalinske fiksacije i parafinskog uklapanja, osobito u osjetljivim tkivima poput jetre i bubrega. Primjena standardiziranih protokola, korištenje kvalitetnih reagensa i redovita kontrola uvjeta rada predstavljaju ključne čimbenike za postizanje reproducibilnih i pouzdanih rezultata u histopatološkoj dijagnostici. Parafin, kao materijal koji omogućuje očuvanje morfoloških značajki tkiva, predstavlja nezamjenjiv alat u suvremenoj patologiji, osobito kod onkoloških bolesti gdje detalji stanične građe izravno utječu na pouzdanost i točnost postavljene dijagnoze.

Ključne riječi: parafin, histologija, histopatologija, tkivo, dijagnostika

e-mail: darija.godinic@gmail.com

DEKALCINACIJA (DEKALCIFIKACIJA) U PATOHISTOLOŠKOM LABORATORIJU

Petra Medač Čorak, Nataša Benić, Marina Fraisberger, Marija Stipić, Robert Nović

Odjel za patologiju i citologiju, Opća županijska bolnica Požega

Dekalcinacija (dekalcifikacija) je važan predanalitički postupak u histološkoj obradi uzoraka koji sadrže kalcifikate – mineralne depozite kalcijevih soli koji onemogućuju kvalitetno narezivanje i pripremu optimalnih histoloških preparata. Cilj postupka je iz tkiva izdvojiti anorganski kalcij uz očuvanu arhitekturu tkiva sa svim tkivnim i staničnim obilježjima da bi se omogućila pouzdana patohistološka analiza. Kalcifikati su najčešće sastavljeni od kalcijevog fosfata u obliku hidroksiapatita, ali mogu sadržavati i druge soli poput karbonata, fluorida i magnezijevih spojeva. Njihova prisutnost onemogućava obradu uzorka, oštećuje oštrice mikrotoma i uzrokuje gubitak tkiva ili pojavu artefakata u preparatu.

Postupci dekalcinacije razlikuju se prema vrsti dekalcinata: dekalcinat na bazi kiseline (jake ili slabe) i dekalcinat na bazi kelatnih spojeva (etilendiamintetraoctena kiselina, EDTA). Ključni faktori pri odabiru postupka su vrsta kalcifikata, brzina dekalcinacije i planirane analize. Iako je dekalcinacija kiselinama brža, može narušiti kemijska i strukturna svojstva tkiva i stanica kao što je promjena pH vrijednosti unutar stanica, denaturacija proteina i očuvanost tkivnih antigena. To će negativno utjecati na histokemijska bojenja, imunohistokemijske (IHK) analize, *in situ* hibridizaciju (ISH) i druge molekularne analize (npr. PCR, NGS) rezultirajući dijagnostički nepouzdanim rezultatima – nezadovoljavajuće obojenje ili lažno negativni rezultati. Primjena kelatnih spojeva manje narušava ciljane obilježja tkiva, stanične i unutarstanične elemente pa se koristi kada su na uzorku planirane opsežnije analize, ali je postupak dugotrajniji. Kada je moguće, praksa i preporuka patologa je nakon fiksacije, a prije dekalcinacije, odvojiti segmente mekog tkiva u kojima se ne nalaze kalcifikati od kalcificiranih područja. Postupak dekalcinacije mora biti kontroliran od procjene mineralizacije tkiva i izbora dekalcinata pa sve do određivanja trenutka završetka postupka. Završetak postupka obično se određuje fizikalnim metodama poput uboda iglom ili oštricom. Temperatura i volumen dekalcinata utječu na učinkovitost i sigurnost postupka. Pretjerana dekalcinacija može ometati daljnju obradu uzorka. IHK i molekularne analize izuzetno su osjetljive na način na koji su uzorci tkiva obrađeni prije analize pa je izbor odgovarajućeg dekalcinata od presudne važnosti za kvalitetan rezultat.

Ključne riječi: dekalcinacija, dekalcifikacija, kiselina, kelatni spojevi

e-mail: petra.medac@gmail.com

BOJENJE PO GIEMSI – ZAJEDNIČKA PREZENTACIJA OB DUBROVNIK I OB „DR. JOSIP BENČEVIĆ“ SLAVONSKI BROD

Ivana Mrvelj¹, Karmela Kresić², Melita Petričević¹

¹Odjel za patologiju i citologiju, Opća bolnica “Dr. Josip Benčević” Slavonski Brod

²Odjel za patologiju i citologiju, Opća bolnica Dubrovnik

Cilj ovog rada je prikazati histokemijsku metodu bojenja po Giemsi, kao zajedničku suradnju OB “Dr. Josip Benčević”, Slavonski Brod i OB Dubrovnik te prikazati postupak bojenja i dobivene rezultate u dvije odvojene ustanove.

Metoda bojenja po Giemsi je histokemijska metoda koja se uglavnom koristi za dokazivanje bakterije *Helicobacter pylori* u uzorcima želučane sluznice. Princip se zasniva na vezivanju boje na nukleinske kiseline i stanične strukture, pri čemu se bakterije prikazuju kao sitni, zakrivljeni ili spiralni plavo-ljubičasti štapići, jasno odvojeni od okolnog tkiva.

Giemsa se sastoji od mješavine bazičnih i kiselih boja (metilensko modrilo, azur i eozin) pa omogućava razlikovanje jezgre, citoplazme i mikroorganizama u histološkim rezovima. Postupak bojenja se sastoji od rezanja parafinskog bloka na rez debljine 3 – 5 mikrona, deparafinizacije i hidracije. Preparat se zatim oboji otopinom Giemse (2 – 5 %), ispire, dehidrira te poklapa i pregleda pod mikroskopom.

Prednosti metode su jednostavnost, niska cijena, mogućnost procjene intenziteta kolonizacije te široka primjena u rutinskoj histopatološkoj dijagnostici.

Glavna ograničenja su nešto niža osjetljivost i specifičnost u odnosu na imunohistokemijske metode, naročito kod uzoraka nakon terapije.

Zaključno, Giemsa bojenje je pouzdana i praktična metoda koja se često koristi kao prvi izbor u dokazivanju *Helicobacter pylori* u uzorcima želučane sluznice.

Ključne riječi: bojenje po Giemsi, histokemijska metoda, *Helicobacter pylori*, želučana sluznica, osjetljivost, specifičnost

e-mail: ivanazxx@gmail.com

e-mail: karmelakresic@gmail.com

ENZIMSKJE CITOKEMIJSKE PRETRAGE: ESTERAZE

Davorka Bebek

Klinički zavod za kliničku citologiju, Klinički bolnički centar Osijek

Enzimске citokemijske pretrage su različite tehnike bojenja citoloških preparata kojima je moguće pomoću svjetlosnog mikroskopa vizualizirati enzime u stanicama. Imaju važnu ulogu u dijagnozi i klasifikaciji različitih hematoloških bolesti te se mogu koristiti u kombinaciji s drugim metodama. U enzimске citokemijske pretrage ubrajaju se reakcije dokazivanja mijeloperoksidaze, reakcije kojima se dokazuju esteraze i reakcije kisele i alkalne fosfataze.

Esteraze su enzimi koji kataliziraju hidrolizu esterske veze. U leukocitima je pomoću poliakrilamidne elektroforeze identificirano 9 izoenzima esteraza. Mnoštvo sintetičkih supstrata može se upotrijebiti za dokazivanje esterazne aktivnosti. U kombinaciji s diazo-solima, stvaraju se obojeni produkti koji prikazuju mjesta aktivnosti esteraza. Ovisno o supstratu koji se koristi, esteraze se mogu podijeliti na specifičnu i nespecifičnu. Termin specifičan odnosi se na to da će samo granulociti pokazati obojenje, dok nespecifične esteraze mogu dati pozitivne rezultate i u drugim stanicama. Najčešće korišteni supstrati su naftil acetat i butirat (oba nespecifična) te kloracetat (specifičan). Aktivnost specifične ili nespecifičnih esteraza određuje se na preparatima pune krvi ili koštane srži i koristi se za citokemijsko dijagnosticiranje leukemija, odnosno za razlikovanje akutnih leukemija granulocitnog porijekla od leukemija monocitnog porijekla.

Naftol-AS-D-klor-acetat esteraza (CAE) je specifična esteraza, lokalizirana je u lizosomima i marker je za stanice granulocitnog porijekla. Polimorfonukleari sadrže esteraznu aktivnost, osim eozinofila koji se dokazuju peroksidazom. Reakcija se temelji na sposobnosti stanične esteraze da katalizira hidrolizu naftol-AS-D-klor-acetata. Pri tome nastaje slobodni naftol koji u reakciji s diazo-solima stvara netopivi crveni precipitat na mjestu reakcije. Pozitivne su zrelije stanice granulocitopoeze (od promijelocita do granulocita). Mijeloblasti, za razliku od limfoblasta sadrže specifičnu esterazu, stoga prisutnost specifične esteraze u leukemijskim blastima pomaže u identifikaciji granulocitnog porijekla i razlikuje ih od limfoblasta. U usporedbi s ostalim markerima za granulocite, kao što su Sudan black B i peroksidaza, aktivnost specifične esteraze smatra se osjetljivijom i specifičnijom. Posebno je korisna u kombinaciji s nespecifičnim esterazama. Aktivnost CAE pojavljuje se prilikom sazrijevanja mijeloblasta u promijelocite, stoga je marker citoplazmatskog sazrijevanja u mijeloidnim leukemijama.

Alfa-naftil-acetat esteraza (ANAE) i alfa-naftil-butilat esteraza (ANBE) pripadaju skupini nespecifičnih esteraza. Nespecifične esteraze su citoplazmatski enzimi smješteni u lizosomima svih stanica hematocitopoeze, ali je njihova aktivnost izražena u monocitima. Ove esteraze hidroliziraju razne sintetičke supstrate, a najčešće korišteni supstrati



su alfa-naftil-acetat i butirat. Butirat je manje osjetljiv od acetata, ali je specifičniji u identificiranju monocita u akutnoj mijeloičnoj leukemiji. Tijekom reakcije esteraza hidrolizira naftil-acetat i nastaje slobodni naftol koji u reakciji s diazo-solima stvara netopivi crveno smeđi precipitat na mjestu reakcije. Aktivnost nespecifičnih esteraza može biti inhibirana u stanicama monocitnog reda dodatkom natrijeva fluorida (NaF). Tada reakcije neće biti samo u stanicama monocitopoeze, što pomaže u razlikovanju pojedinih tipova akutnih mijeloičnih leukemija; reakcija će biti pozitivna i inhibirana NaF-om u akutnoj monocitnoj i monoblastičnoj leukemiji.

Ključne riječi: akutne leukemije, citokemija, esteraze

e-mail: davorkabebek@gmail.com

GOMORY – HISTOKEMIJSKA METODA IMPREGNACIJE SREBROM ZA DOKAZIVANJE RETIKULINSKIH VLAKANA

Marina Bakula

Klinički zavod za patologiju i sudsku medicinu, Klinički bolnički centar Osijek

Histokemijske metode bojenja predstavljaju temelj za analizu mikroskopske građe tkiva, arhitekture pojedinih komponenti i njihovog izražaja kod točno određenih kemijskih promjena u tkivima. Omogućuju vizualizaciju staničnih i izvanstaničnih struktura koje nisu jasno vidljive osnovnim histološkim bojenjem.

Gomory histokemijsko bojenje specifična je metoda bojenja solima srebra. Koristi se prvenstveno za bojenje i prikaz retikulinskih vlakana koja imaju važnu ulogu u arhitekturi vezivnog tkiva i procjeni patoloških stanja, osobito u jetri, koštanoj srži i limfnim čvorovima. Metoda je složena i zahtjevna zbog specifičnosti vezanja metalnih spojeva, njihovih redukcija i oksidacija prilikom vezivanja na stanične i izvanstanične strukture.

Cilj rada je prikazati principe djelovanja, tehnički postupak i dijagnostičku vrijednost Gomory metode u svakodnevnoj histološkoj praksi. Bit će prikazana evaluacija reproducibilnosti kao i specifičnosti metode na uzorcima biopsije koštane srži, moguće pogreške kao i neuspjelo loše bojanje na koštanoj srži, mogući uzroci i inhibitori reakcije. Zaključno, Gomory bojenje ostaje relevantna i vrijedna histokemijska tehnika, osobito u kontekstu precizne morfološke procjene tkivnih uzoraka, unatoč sve većem razvoju imunohistokemijskih i molekularnih metoda.

Ključne riječi: Gomory bojenje, histologija, retikulinska vlakna, srebrne soli, oksidacija, redukcija

e-mail: bakula.marina@gmail.com

VAŽNOST PAS BOJENJA, PAS – DIJASTAZA BOJENJA I PAS – ALCIJAN BOJENJA U PATOHISTOLOŠKOJ OBRADI TKIVA

Katarina Ražnjević, Tatjana Kovačević, Ozrenka Poljak, Andreja Tarle, Martina Abramović

Klinički zavod za patologiju i citologiju, Klinički bolnički centar Zagreb

Cilj nam je predstaviti standardne histološke metode: PAS bojenje, PAS – Dijastaza bojenje i PAS – Alcijan bojenje. To su bojenja koje služe za detekciju ugljikohidrata i povezanih struktura u tkivnim uzorcima. Važno je istaknuti njihovu dijagnostičku vrijednost u rutinskoj i specijaliziranoj patohistološkoj obradi tkiva.

PAS (*Periodic Acid-Schiff*) bojenje temelji se na oksidaciji glikolnih skupina u ugljikohidratima periodičnom kiselinom čime nastaju aldehidne skupine koje reagiraju sa Schiffovim reagensom i daju karakterističnu ružičasto-ljubičastu boju. PAS – Dijastaza bojenje uključuje prethodnu inkubaciju uzorka s dijastazom (amilazom) koja razgrađuje glikogen te omogućuje razlikovanje glikogena koji ostaje PAS – negativan u odnosu na druge PAS – pozitivne tvari.

PAS – Alcijan bojenje kombinira PAS s Alcijan plavim bojilom koji specifično boji kisele mukopolisaharide plavo, dok PAS boji neutralne mukoproteine ružičasto-ljubičastom bojom.

PAS bojenje boji glikogen, glikoproteine, mukopolisaharide, bazalne membrane, stijenke gljiva i mukozi intenzivno ružičasto-ljubičastom bojom. Kod PAS – Dijastaza bojenja, nestanak boje potvrđuje prisutnost glikogena. Kod PAS – Alcijan bojenja, neutralne mukozne tvari ostaju ružičasto-ljubičasto obojene, dok kisele mukozne tvari prelaze u plavu boju te tako omogućuju diferencijaciju vrsta sluzi.

Ova bojenja imaju važnu ulogu u dijagnostici brojnih bolesti. PAS bojenje je korisno u otkrivanju metaboličkih poremećaja, poput bolesti skladištenja glikogena, i u evaluaciji bubrežnih bolesti, uključujući dijabetičku nefropatiju. Također je važan u identifikaciji adenokarcinoma koji proizvode mucin, detekciji gljivičnih infekcija te prikazu struktura poput bazalnih membrana i staničnih inkluzija (npr. Russellova tjelešca, lipofuscin). Kombinacijom PAS bojenja s PAS – Dijastaza bojenjem i PAS – Alcijan bojenjem omogućuje se bolja karakterizacija tkiva, povećava se specifičnost, proširuje se mogućnost otkrivanja i omogućuje precizniju dijagnostiku različitih patoloških stanja.

Ključne riječi: PAS bojenje, PAS – Dijastaza bojenje, PAS – Alcijan bojenje, patohistološka dijagnostika

e-mail: katarinazg@gmail.com

USPOREDBA SPECIJALNE METODE BOJENJA MALLORY U ZDRAVSTVENIM USTANOVAMA

Adriana Medur, Ema Kapitanović, Mario Balta

Klinički zavod za patologiju i citologiju "Ljudevit Jurak", Klinički bolnički centar „Sestre milosrdnice“, Zagreb

Mallory thrichrome bojenje u patohistologiji koristi se za isticanje vezivnog tkiva. Mallory otopina sadrži anilin plavu, kiseli fuksin, orange G i fosfomolibdensku kiselinu. Ovo bojenje ističe razliku između vezivnih tkiva, mišićnih tkiva, eritrocita i citoplazme najčešće kod analize jetre i mišićnih tkiva. U Kliničkom zavodu za patologiju i citologiju "Ljudevit Jurak" koristi se automatizirana metoda bojenja *Mallory thrichrome* i primjenjuje se na Dako Artisan Link Pro bojaču.

Kiseli fuksin veže negativno nabijene dijelove citoplazme i mišića, a fosfomolibdenska kiselina služi kao mordant. Anilinsko plava veže se na hidroksilne skupine kolagena. Orange G boji eritrocite u narančasto jer se veže na proteine u eritrocitima.

Usporedba preparata s ostalim zdravstvenim ustanovama u Hrvatskoj (KBC Split, KBC Zagreb te Medicinski fakultet Zagreb – Zavod za patologiju)

Ključne riječi: Mallory, patologija, vezivno tkivo, automatizirano bojenje, anilin, fuksin, orange G

e-mail: adrianamedur@gmail.com

UNAPRJEĐENJE PREDANALITIKE I ANALITIKE POMOĆU TEKUĆINSKE CITOLOGIJE (LBC) I AUTOMATIZIRANIH SLIKOVNIH SUSTAVA

Antonio Periš^{1,2}

¹Klinički zavod za kliničku citologiju, Klinički bolnički centar Osijek

²Katedra za patološku anatomiju i sudsku medicinu, Medicinski fakultet Osijek

Ginekološki karcinomi velik su izvor morbiditeta i mortaliteta među ženama, a podaci zadnje CONCORD-3 studije pokazuju da se Hrvatska, gledajući petogodišnje preživljenje raka vrata maternice, nalazi na 20. mjestu od 28 europskih zemalja. Rane abnormalnosti vrata maternice u obliku cervikalne intraepitelne neoplazije mogu se identificirati godinama prije početka invazivnog raka što je temeljna ideja citološkog probira. Konvencionalni Papa test ima niz nedostataka, uključujući suboptimalan transfer stanica, nestandardizirane razmaze, prisutnost artefakata i interferencija (upale i krvi). Cilj je predstaviti metode tekućinske citologije (LBC) (SurePath i ThinPrep) i automatizirane slikovne sustave (BD FocalPoint i ThinPrep Imaging system) kao tehnike koje imaju za cilj unaprijediti predanalitiku i analitiku i premostiti nedostatke konvencionalnog PAPAtesta.

Relevantni izvorni i pregledni radovi pretraživani su prema ključnim riječima 'cervical cancer', 'cervical intraepithelial neoplasia', 'cytology', 'ThinPrep', 'SurePath', 'computer-assisted screening' u bazama podataka PubMed i Google Scholar.

ThinPrep i Surepath, kao dvije najšire korištene metode tekućinske citologije (LBC), slične su prema tome da se temelje na resuspenziji stanica u tekućem mediju i stvaranju monosloja u obliku kruga na staklu. Ipak, dijagnostička preciznost tekućinske citologije (LBC) u odnosu na konvencionalni PAPAtest u ginekološkoj citodijagnostici ovisi o tome koja LBC metoda (SurePath ili ThinPrep) se koristi u studijama. SurePath se pokazao osjetljivijim od ThinPrep-a i konvencionalnog PAPAtesta u detekciji cervikalnih lezija niskog (LSIL) i visokog stupnja (HSIL), no u određenim studijama vidi se povećan broj lažno pozitivnih nalaza, poglavito niskog stupnja (ASCUS i LSIL). ThinPrep se u većini studija pokazao inferiorniji u odnosu na SurePath i komparabilan u odnosu na konvencionalni PAPAtest u dijagnostici cervikalnih lezija. U velikoj studiji objavljenoj u časopisu BMJ, SurePath je pokazao statistički značajno 19 % niži rizik od invazivnog raka vrata maternice u usporedbi s konvencionalnim papa testom te 29 % niži rizik od raka vrata maternice u usporedbi s ThinPrepom koji je imao 15 % veći rizik od raka od konvencionalnog papa testa. Problem konvencionalnog PAPAtesta je velika stopa neadekvatnih uzoraka (3 – 10 %), a u literaturi se vidi značajno poboljšanje stope neadekvatnosti kod oba LBC sustava, posebno kod Surepath-a (0.3 – 1.3 %; ThinPrep 1,1 – 3,4 %;). SurePath sustav efikasniji je od ThinPrep-a u uklanjanju interferirajućih

elemenata, a razlog je što metoda centrifugiranja u gradijentu gustoće kod SurePath-a bolje uklanja sluz i krv koji lako kompromitiraju vakuumsku membransku filtraciju ThinPrep-a.

SurePath također omogućuje najbolji prinos stanica (100 %) što također doprinosi boljoj dijagnostičkoj osjetljivosti. Dodane prednosti glede automatizacije, standardizacije predanalitičke faze, skraćanja vremena analize te mogućnost provođenja refleksnih testova iz istog uzorka (HPV DNA, imunonocitokemija, stanični blok, analize mutacija, protočna citometrija) značajne su kod obje LBC metode u odnosu na konvencionalni PAPAtest. Također, adekvatan trening citologa i citotehnologa nužan je kako bi se adekvatno kategorizirala jedinstvena citomorfološka obilježja LBC metode (npr. viši nukleocitoplazmatski omjer, veća stanična diskohezija, 3D hiperkromatske grupe stanica u odnosu na konvencionalni PAPAtest). Automatizirani slikovni sustavi pokazali su komparabilne dijagnostičke performanse u odnosu na manualno mikroskopiranje, a najveća prednost leži u redukciji vremena interpretacije stakla, povećanju produktivnost tehnologa i smanjenju TAT-a (*'turn around time'*) u laboratoriju. BD FocalPoint sa funkcijom NFR (*'no further review'*) koja kategorizira do 25 % stakala kao negativna bez potrebe ljudskog pregleda ima veliku negativnu prediktivnu vrijednost i pruža mogućnost dodatno rasteretiti laboratorijsko osoblje.

SurePath sustav se u literaturi pokazao efikasnijim u detekciji premalignih cervikalnih lezija i u smanjenju stope neadekvatnih uzoraka u odnosu na ThinPrep i konvencionalni PAPAtest. No, čak i kod komparabilne efikasnosti LBC metoda i konvencionalnog PAPAtesta u detekciji cervikalnih lezija, velike i značajne praktične prednosti koje donosi ova metoda opravdavaju njezino korištenje i implementaciju u citodijagnostici. Automatizirani slikovni sustavi pružaju mogućnost povećanja produktivnost i skraćanja TAT-a no svaki laboratorij bi trebao napraviti analizu troška i potreba za takve sustave. Potrebne su studije kojima bi se utvrdila dijagnostička korisnost LBC metoda u Republici Hrvatskoj jer lokalni faktori kao što su različiti skrining protokoli, prevalencija CIN-a i iskustvo citotehnologa mogu bitno utjecati na rezultate istraživanja.

Ključne riječi: *cervical cancer, cervical intraepithelial neoplasia, cytology, ThinPrep, SurePath, computer-assisted screening*

Napomena: rad je dijelom bio prikazan na konferenciji „MLD: Od želje do stvarnosti - Transformacija laboratorijske dijagnostike“, Konferencija SR MLD HKZR, Osijek. No za ovaj kongres rad je modificiran, unaprijeđen, dodao sam nova saznanja i u prezentaciji ću prikazati nova morfološki zahtjevna vidna polja i dijagnoze vezane uz LBC koja sam snimio u KBC Osijek.

e-mail: antonioperis0@gmail.com

DOKAZIVANJE ŽELJEZA U TKIVU JETRE PERLOVOM METODOM ZA BOJENJE

Zvonka Bogović, Sanja Skočić, Maja Horvat, Antonia Jakovčević

Klinički zavod za patologiju i citologiju "Ljudevit Jurak", Klinički bolnički centar "Sestre milosrdnice", Zagreb

Jetra je najveća žlijezda u ljudskom organizmu koja ima više funkcija. Jedna od njih je i regulacija količine željeza u organizmu. Najčešća bolest jetre povezana s poremećajem u metabolizmu željeza je hemokromatoza. Metoda koja se i danas najčešće koristi za dokazivanje hemokromatoze je pomoću Berlinskog modrila, tj. Perlova metoda. Perlova metoda se temelji na kemijskoj reakciji između iona željeza (Fe^{3+}) i kalijevog fericijanida u kiseloj sredini, što rezultira stvaranjem plavog precipitata feriferocijanida.

Otopine koje koristimo su:

- 1) kalijev fericijanid
- 2) HCL
- 3) Kernechtrot boja (za kontrast)

Rezultat:

- željezo (Fe^{3+}) – tamnoplava boja
- jezgre – crvena boja
- citoplazma – ružičasta boja

Usporedba preparata s ostalim zdravstvenim ustanovama u Hrvatskoj: KBC Split, KBC Zagreb i Medicinski fakultet Zagreb – Zavod za patologiju.

Dokazivanje željeza u histološkim preparatima je bitna komponenta u dijagnostici ili istraživanju bolesti povezanih s metabolizmom željeza. Perlova metoda ili metoda bojenja Berlinskim modrilom je jako stara, klasična i efikasna metoda za dokazivanje željeza u tkivima. Glavne prednosti su joj specifičnost za željezo, jednostavna je u izvedbi i uz to je jeftina i pouzdana.

Ključne riječi: Perlova metoda, Berlinsko modrilo, željezo, hemokromatoza

e-mail: zvonkabogovic4@gmail.com

GOMORIJEV ALDEHID FUKSIN U OTKRIVANJU INTESTINALNE METAPLAZIJE

Magdalena Šamija¹, Suzana Hančić^{1,2}, Slavko Gašparov^{1,3}

¹Klinički zavod za patologiju i citologiju, Klinička bolnica „Merkur“, Zagreb

²Zdravstveno veleučilište, Zagreb

³Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Gomorijev aldehid fuksin (GAF) je histokemijska metoda koja koristi bazični fuksin, paraldehyd, klorovodičnu kiselinu i etanol za otkrivanje određenih histoloških struktura. Njime se selektivno boje elastična vlakna, mastociti, beta stanice Langerhansovih otočića te sulfirani mucini što omogućava preciznu vizualizaciju morfoloških promjena u tkivima. Posebnu važnost ova metoda ima u analizi probavnog sustava gdje pomaže u identifikaciji metaplastičnih i neoplastičnih promjena. Cilj rada je detaljno prikazati postupak bojenja tkiva jednjaka i želuca GAF metodom te analizirati kemijsku pozadinu dobivenih rezultata. U sklopu rada bojeni su uzorci normalne sluznice želuca i jednjaka te uzorci s intestinalnom metaplazijom i adenokarcinomom. Priprema boje uključivala je otapanje bazičnog fuksina u etanolu, uz dodatak paraldehyda i klorovodične kiseline, nakon čega je slijedio proces sazrijevanja boje u trajanju od 48 do 72 sata. Bojenjem i usporedbom različitih tkivnih uzoraka analizirane su promjene u obojenju, s naglaskom na diferencijaciju između normalnog epitela i područja intestinalne metaplazije te adenokarcinoma. U metaplastičnom tkivu uočeno je intenzivno ljubičasto obojenje sulfomucina, dok je neutralni mucin bio izrazito smanjen, a sialomucin pojačano prisutan u odnosu na normalnu sluznicu. Također, jasno se ljubičasto oboje vrčaste stanice crijevnog tipa, dok se stanice želučanog epitela ne oboje, što omogućava njihovo pouzdano razlikovanje. Ovakav kontrast u obojenju između normalnih i metaplastičnih struktura omogućava identifikaciju ranih promjena te diferencijaciju metaplastičnog epitela i adenokarcinoma od normalne sluznice.

Zaključno, GAF se pokazuje kao jednostavna i pouzdana histokemijska metoda koja omogućuje ranu detekciju i diferencijaciju patoloških promjena u probavnom sustavu. Zbog svoje selektivnosti, preciznosti i relativno jednostavne pripreme, ova metoda predstavlja vrijedan alat u histološkoj analizi i dijagnostici, osobito u slučajevima intestinalne metaplazije koja može prethoditi razvoju karcinoma.

Ključne riječi: GAF, intestinalna metaplazija, mucini, jednjak, želudac, histokemija

e-mail: magdalena.buci@gmail.com

USPOREDBA RUČNE I AUTOMATIZIRANE JONES METODE U NEFROPATOLOŠKOM LABORATORIJU KBC SPLIT

Kristina Bedrina

Klinički zavod za patologiju, sudsku medicinu i citologiju, Klinički bolnički centar Split

U Splitu se perkutana bubrežna biopsija izvodi od 1994. godine i redovito koristi u dijagnostici glomerularnih bolesti djece i odraslih. U nefropatološkom laboratoriju Kliničkog zavoda za patologiju, sudsku medicinu i citologiju se, iz bioptičkog cilindra bubrežne kore, izrađuju preparati za imunofluorescentnu, svjetlosnu i elektronsku mikroskopsku analizu.

Jedna od standardnih histokemijskih metoda je Jones bojenje kojim se na svjetlosnom mikroskopu prikazuju glomerularne bazalne membrane (GBM) i njihove patološke promjene, kao što su homogeno zadebljanje / kolaps, šiljci zbog ugradnje imunih kompleksa, ruptura GBM / fibrinoidna nekroza i ekstrakapilarni celularni polumjeseci. Stoga je ova važna metoda i njeno ispravno provođenje nemjerljiva pomoć u postavljanju točne dijagnoze.

Bojenje po Jonesu smo od samih početaka provodili ručnom metodom te, sve do uvođenja automatskog histokemijskog brojača, nismo imali značajnijih problema. Ova histokemijska metoda zahtjeva tanak i razvučen histološki rez, strogo pridržavanje recepture (uputa o radnom postupku i pripremi reagensa), dovoljno radnog vremena i predanost iskusnog histotehnologa.

Automatizacija laboratorijskih procesa i uvođenje automatskog histokemijskog bojača u radni proces značilo je uporabu komercijalnih *ready to use* reagensa, računalni nadzor izabranog protokola bojenja i omogućilo je manju izloženost histotehnologa kemijskim agensima. Unatoč izradi preparata po pravilima struke, iskustva nefropatologa koji analiziraju preparate ukazali su na problem neujednačene kvalitete i nepredvidivog rezultata automatskog bojenja metode po Jonesu. Stoga su kroz vrijeme rađene intervencije u protokol, a aparat se učestalije dekontaminirao da bi se izbjeglo bakterijsko zagađenje. No unatoč svemu učinjenom, rezultati automatskog bojenja po Jonesu su i dalje bili neujednačeni. Ponavljanje metode na novom rezu, naravno, nije bilo od pomoći jer izostaje analiza patološke promjene na određenom nivou.

Naš laboratorij je automatiziran i htjeli bismo i ovu metodu provoditi na isti način. No, dok se automatizirana metoda bojenja po Jonesu ne usavrši, u nefropatološkom laboratoriju KBC-a Split, ono se ponovno provodi ručnom metodom.

Ključne riječi: Jones, histokemija, ručna i automatizirana metoda

e-mail: kbedrina@yahoo.com

BOJENJE ELASTIČNIH VLAKANA U IMUNOHISTOKEMIJSKOM LABORATORIJU ZAVODA ZA PATOLOGIJU, SUDSKU MEDICINU I CITOLOGIJU KBC-a SPLIT

Antonio Barać

Klinički zavod za patologiju, sudsku medicinu i citologiju, Klinički bolnički centar Split

Elastična vlakna se mogu prikazati refraktilnima na standardnim H&E preparatima, ali se ne mogu jasno razlikovati od kolagenskih vlakana i glatkih mišića. Disfunkcionalnost i izmijenjena organiziranost ovih struktura primjećuje se prilikom identifikacije emfizema te kod dijagnostike vaskularnih bolesti i invazije tumora u krvne žile. U tu svrhu koristi se modificirana Van-Gieson metoda histokemijskog bojenja. U ovom radu prikazat će se principi bojenja elastičnih vlakana te iskustva s istim u rutinskom laboratorijskom radu imunohistokemijskog laboratorija Odjela patologije Zavoda za patologiju, sudsku medicinu i citologiju KBC-a Split.

Ovo bojenje je regresivno kvalitativno histokemijsko bojenje. Sastoji se od Verhoeff boje za elastična vlakna i van Gieson otopine za bojenje ostalih staničnih struktura. Bojenje elastičnih vlakana odvija se u dva koraka, a na principu vodikovih van der Waalsovih sila. U prvom koraku se koristi kompleks hematoksilina i željezovog klorida. Željezov klorid oksidira hematoksilin u hematein koji ima visoki afinitet za elastična vlakna u tkivu. Drugi korak je diferencijacija u kojem se nespecifično vezanje uklanja dodavanjem željezovog klorida u suvišku kako bi se uklonila slabije vezana boja sa svih struktura, osim s elastičnih vlakana. Van Gieson boja služi, u istoj metodi, za bojenje eritrocita i mišićnih vlakana (žuto) i kolagena (ružičasto) kako bi se kontrastiralo od crne boje elastičnih vlakana.

U imunohistokemijskom laboratoriju Odjela za patologiju na Zavodu za patologiju, sudsku medicinu i citologiju KBC-a Split koristi se Ventana "Elastic Stain Core kit" tvrtke Roche. Navedeni komplet namijenjen je za automatiziranu primjenu na aparatu Benchmark Special Stains. Postoje dva protokola, za kožu i za sva ostala tkiva.

Prema iskustvima u radu, potrebno je voditi računa o dobroj laboratorijskoj praksi. U tom smislu, potrebno je voditi računa o temperaturi skladištenja kompleta reagenasa, temperaturi pri kojoj se počinje proces bojenja, kao i o pripremi stakalca za mikroskopiranje. Uz minimalne modifikacije predložaka programa bojenja i uz zadovoljenje svih uvjeta koje predlaže proizvođač, bojenje je uspješno, što se pokazuje i u našem svakodnevnom laboratorijskom radu sa spomenutim reagensom.

Ključne riječi: elastična vlakna, imunohistokemija

e-mail: antoniobarac2407@gmail.com

HISTOKEMIJSKO DOKAZIVANJE AMILOIDA

Maja Vučetić¹, Suzana Hančić^{1,2}, Darija Mužinić¹

¹Klinički zavod za patologiju i citologiju, Klinička bolnica „Merkur“, Zagreb

²Zdravstveno veleučilište, Zagreb

Amiloidi su abnormalno presavijeni proteini koji se nakupljaju u tkivima i organima formirajući netopive agregate. Ove nakupine mogu ometati normalnu funkciju stanica i organa, što dovodi do različitih bolesti koje se zajednički nazivaju amiloidoze. Nakon bojenja hematoksilin-eozinom, u uzorku tkiva će se prikazati amorfnе mase koje se, ako su amiloid, mogu dokazati bojenjem Congo redom.

Cilj rada je prikazati kemijske procese, protokol i upotrebu Congo red histokemijske metode na tkivnim prerezima želudca, jetre i koštane srži.

Amiloid ima jedinstvenu strukturu, proteinski lanci se slažu u ravne slojeve koji tvore β-nabrane listove. Ti listovi su paralelni i ponavljajući, što stvara ravne, stabilne površine duž fibrila. Upravo ta jedinstvena struktura omogućuje stabilnu i selektivnu interakciju sa Congo red bojom. Molekula Congo red boje je duga i ravna, s dvostrukim azo-vezama i aromatskim prstenovima, ima dva naftolna prstena i sulfonatne grupe. Struktura molekule joj omogućuje da se paralelno ugradi između slojeva β-nabranih listova. Između negativno nabijenih sulfonatnih skupina na Congo redu i pozitivno nabijenih aminokiselina u amiloidu dolazi do elektrostatske interakcije koja rezultira privlačenjem bojila na mjesto vezanja.

Bojenje amiloida ima važno dijagnostičko značenje jer može upućivati na ozbiljne sistemske ili lokalne bolesti. Na primjer, kod multiplog mijeloma možemo očekivati nakupljanje amiloida u tkivima kod 10 – 15 % bolesnika. Te nakupine možemo pronaći u koštanoj srži, koži, jetri, bubrezima, jeziku i srcu. Prognoza je lošija ako je prisutna amiloidoza, posebno ako su zahvaćeni srce ili bubrezi i terapija mora biti prilagođena. Rezultat ove metode promatran svjetlosnim mikroskopom vidljiv je kao crveno-ružičasto do crveno-narančasto obojenje amiloidnih naslaga, a pod polarizacijskim mikroskopom kao jabuka-zelena obojenje. Pod polariziranim svjetlom amiloidni depoziti prikazuju karakterističnu jabuka-zelenu dvolomnost (apple-green birefringence). Taj efekt je dijagnostički ključan jer pomaže u sigurnom razlikovanju amiloida od drugih proteina ili struktura u tkivu.

Metoda je jednostavna i pristupačna, a danas se uglavnom odvija u automatiziranim uređajima za specijalna histokemijska bojenja. Također je i ekonomična i široko dostupna. Može se koristiti uz druge metode dokazivanja amiloida, npr. imunohistokemiju i fluorescencijska bojenja kako bi se odredio tip amiloidoze što je ključno za odgovarajuću terapiju.

Ključne riječi: Congo red, amiloidoza, amiloid, histokemija

e-mail: maja3018@gmail.com

PRIMJENA KREYBERG HISTOKEMIJSKE METODE NA KLINIČKOM ZAVODU ZA PATOLOGIJU I CITOLOGIJU KLINIČKOG BOLNIČKOG CENTRA RIJEKA

Vanessa Erić Pernjek¹, Mirna Staver Frolja¹, Helga Frketic^{1,2}, Sanjin Čop^{1,2}, Leo Nadarević¹, Larisa Matahlija^{1,2}, Renata Grabar^{1,2}, Dora Fučkar Čupić^{1,2}, Koviljka Matušan Ilijaš^{1,2}

¹Klinički zavod za patologiju i citologiju, Klinički bolnički centar Rijeka, Rijeka, Hrvatska

²Zavod za opću patologiju i patološku anatomiju, Medicinski fakultet u Rijeci, Rijeka, Hrvatska

Histokemijske metode u patohistološkoj dijagnostici su laboratorijske tehnike kojima se u tkivima otkrivaju i prikazuju određene kemijske tvari ili njihove reakcije. Cilj je da se u staničnim i izvanstaničnim strukturama vizualizira prisutnost nekog kemijskog spoja. Rezultat djelovanja reagensa s kemijskim sastojkom u tkivu je obojeni spoj koji se promatra svjetlosnim mikroskopom.

U ovom predavanju saznat ćemo više o histokemijskoj metodi Kreyberg (Kr) koju koristimo u našem Zavodu za patologiju i citologiju Kliničkog bolničkog centra u Rijeci. Ovu metodu razvio je Leiv Kreyberg (1896.-1984.), norveški patolog poznat po klasifikaciji karcinoma pluća i povezivanju pušenja s rakom pluća. Postoji više modificiranih Kreyberg metoda, a prvenstveno služi za razlikovanje keratina i mucina u histološkim preparatima. Kreyberg metoda koristi se u histopatologiji u diferencijaciji adenokarcinoma od pločastog karcinoma, a temelji se na različitom afinitetu tumorskih stanica prema kiselim i baznim bojama. U osnovi se koriste alcijansko modrilo (alcian blue) i neutralno crvenilo, čime se ističe prisutnost mucina (kiselih mukopolisaharida) u adenokarcinomima. U pravilu se adenokarcinomi boje plavo (zbog mucina koji veže alcijansko modrilo), dok se pločasti karcinomi oboje crveno jer ne sadrže mucin.

Modificirana Kreyberg metoda koju koristimo na našem zavodu je modifikacija po Lisonu. U ovoj modifikaciji metode koristi se Weighertov željezni hematoksilin za prikaz jezgara, zatim alcian blue za bojenje kiselih mucina, a kao kontrastno bojenje koristi se otopina picroponceau. Korištenjem ovih boja dobiju se sljedeći rezultati: stanične jezgre (tamno plavo do crno), kiselci mucini (modro zeleno, tj. tirkizno), a ostale strukture žuto-narančasto-crveno. Upotrebljava se za sve parafinske rezove, a lako se kombinira i s drugim metodama poput PAS - metode.

Na Kliničkom zavodu za patologiju i citologiju, Kliničkog bolničkog centra u Rijeci koristimo ovu metodu već više od 35 godina. Koristimo je rutinski uz HE za sve endoskopske biopsije iz gornjeg dijela probavnog trakta te po zahtjevu patologa u svim slučajevima kada treba potvrditi prisustvo sluzi u stanicama ili u intersticiju. Time je ova metoda najčešće korišteno histokemijsko bojenje u našem histokemijskom laboratoriju.

Ključne riječi: histokemijske metode, Kreyberg, Lison, mucin, adenokarcinom, Alcian blue, Weigert hematoksilin, Picroponceau

e-mail: helga.frketic@uniri.hr

MOVAT PENTAKROMNO BOJENJE

Petra Bešenić, Danijel Terzić, Suzana Tomas, Čedna Tomasović-Lončarić

Klinički zavod za patologiju i citologiju, Klinička bolnica Dubrava, Zagreb

Rutinsko bojenje koje se upotrebljava u histopatologiji za prikazivanje jezgre, citoplazme i njihovih struktura naziva se hemalaun-eozin (HE) metoda. Histokemijske i imunohistokemijske metode se koriste kao dodatne metode u analizi pojedinih uzoraka, u svrhu dobivanja konačne patohistološke dijagnoze. Histokemijske metode uključuju razne metode bojenja tkiva, a cilj im je jasnije označavanje različitih staničnih struktura (npr. vezivno tkivo, pigmenti, međustanične strukture...) i mikroorganizama kako bi se olakšala njihova vizualizacija.

Movat pentakromno bojenje (poznato i kao Movat-Russell bojenje) je višebojna histološka tehnika koja omogućava vizualizaciju pet različitih tkivnih komponenata u jednom histološkom presjeku, posebno u kardiovaskularnoj i plućnoj patologiji, za isticanje raznih komponenti tkiva poput kolagena, elastičnih vlakana, mucina, mišića i fibrina, omogućujući preciznu diferencijaciju strukturnih komponenti proučavanog tkiva.

Prvi put ju je 1955. godine uveo Henry Zoltan Movat.

Metoda koristi pet različitih boja za vizualizaciju tkivnih komponenti, koje imaju afinitet prema odgovarajućim strukturama: tako se elastična vlakna i jezgre prikazuju crno, kolagena vlakna žuto, mišićna vlakna crveno i osnovna tvar/mucin plavo, fibrin svijetlo crveno.

Svrha rada je prikazati različite tkivne komponente i olakšati njihovu vizualizaciju, standardnim i modificiranim pentakromnim bojenjem, u patološki promijenjenom tkivu pluća.

Rezultati: Obje metode su podjednako prikazale elastična vlakna, kolagen, mišić, fibrin i osnovnu tvar/mucin.

Zaključak: Istovremeni prikaz više komponenti vezivnog tkiva olakšava analizu promjena u strukturi plućnog tkiva u različitim patološkim stanjima, što je osobito važno u dijagnostici upalnih i intersticijskih bolesti pluća.

Ključne riječi: movat, pentakromno bojenje, histokemija, pluća

e-mail: pbesenic@gmail.com

PRIKAZ HISTOKEMIJSKE METODE VICTORIA BLUE – NUCLEAR FAST RED

Helga Frketic^{1,2}, Mirna Staver Frolja¹, Vanessa Erić Pernjek¹, Leo Nadarević¹, Sanjin Čop^{1,2}, Larisa Matahlija^{1,2}, Renata Grabar^{1,2}, Dora Fučkar Čupić^{1,2}

¹Klinički zavod za patologiju i citologiju, Klinički bolnički centar Rijeka, Rijeka, Hrvatska

²Zavod za opću patologiju i patološku anatomiju, Medicinski fakultet Rijeka, Rijeka, Hrvatska

Histokemijska metoda Victoria blue-Nuclear fast red razvijena je prvenstveno s ciljem da se u bioptičkim uzorcima jetre detektira i vizualizira površinski antigen hepatitisa B (HBsAg). Prvi put su je opisali japanski autori K. Tanaka, W. Mori i K. Suwa 1981. godine u časopisu *Acta Pathologica Japonica*. Osnovni princip metode temelji se na selektivnom bojenju: Victoria blue oboji HBsAg u karakterističnu plavu boju, dok Nuclear fast red daje kontrast bojeći jezgre u crveno, a citoplazmu i ostale komponente tkiva u svijetlocrveno ili ružičasto. Time se dobiva izrazit kontrast između pozitivnih hepatocita i okolnih struktura, što olakšava prepoznavanje stanica ispunjenih antigenom koje pokazuju tzv. „groundglass” izgled. Osim za detekciju HBsAg, Victoria blue se također koristi za prikazivanje vezivnog tkiva, elastičnih vlakana, fibroze i proteina povezanih s bakrom (CAP) u parafinskim rezovima biopsije jetre.

U našem histokemijskom laboratoriju metoda se izvodi od 1999. godine. Uvodi je prof. Dražen Kovač nakon boravka u Hampton Royal Hospital u Londonu, odakle je donio proceduru i implementirao je u rad patohistološkog laboratorija (tada: pri Katedri za opću patologiju i patološku anatomiju Medicinskog fakulteta u Rijeci). Od tada je koristimo kao jednu od rutinskih metoda za iglene biopsije jetre, zajedno s drugim standardnim histokemijskim postupcima poput PAS i PAS- dijastaze, Mallory trikroma, Gomorijevog bojenja retikulinskih vlakana te dokazivanja željeza. Time je osigurana široka paleta metoda koje omogućuju istodobnu procjenu virusnih infekcija, stupnja fibroze, taloženja željeza i drugih patoloških promjena u jetri.

Razvojem i primjenom drugih dijagnostičkih metoda kao što je FibroScan (neinvazivna ultrazvučna metoda) u procjeni fibroze i u dijagnosticiranju oštećenja jetre smanjuje se broj iglenih biopsija jetre. Također uvođenjem i razvojem imunohistokemijskih metoda i ova histokemijska metoda nema prvotni značaj, no obzirom na njezine glavne prednosti: jednostavnost izvođenja, dugotrajnu stabilnost boje, nisku cijenu i dobru specifičnost za HBsAg ostala je korisna i danas, osobito u laboratorijima s ograničenim resursima. U prezentaciji ćemo prikazati princip i mehanizam bojenja te postupak izvođenja ove metode s osvrtom na eventualne probleme prilikom bojenja i njihovom rješavanju. Rezultate bojenja prikazat ćemo na arhivskom materijalu Kliničkog zavoda za patologiju i citologiju Kliničkog bolničkog centra Rijeka.

Ključne riječi: histokemija, Victoria blue, Nuclear fast red, HbsAg, iglena biopsija jetre

e-mail: helga.frketic@uniri.hr

PRIMJENA GROCOTT'S METHENAMINE SILVER HISTOKEMIJSKE METODE U DIJAGNOSTICI GLJIVICA NA KLINIČKOM ZAVODU ZA PATOLOGIJU I CITOLOGIJU KLINIČKOG BOLNIČKOG CENTRA RIJEKA

Mirna Staver Frolja¹, Helga Frketić^{1,2}, Vanessa Erić Pernjek¹, Renata Grabar^{1,2}, Larisa Matahlija^{1,2}, Leo Nadarević¹, Sanjin Čop^{1,2}, Koviljka Matušan Ilijaš^{1,2}

¹Klinički zavod za patologiju i citologiju, Klinički bolnički centar Rijeka, Hrvatska

²Zavod za opću patologiju i patološku anatomiju, Medicinski fakultet u Rijeci, Rijeka, Hrvatska

Histokemijske metode u patohistološkoj dijagnostici omogućavaju uvid u kemijski sastav tkiva te detekciju mikroorganizama. Djelovanje reagensa na određeni kemijski sastojak u tkivu rezultira prikazom netopljivog obojenog spoja koji se promatra svjetlosnim mikroskopom. Određenim histokemijskim metodama dokazuju se i bakterije i gljivice u parafinskim rezovima.

Jedna od češće upotrebljivanih metoda za prikaz i potvrdu gljivica u bioptičkom uzorku je Grocott's methenamine silver bojenje (GMS) koje ćemo prikazati u ovom predavanju. Metodu prvi uvodi američki medicinski tehničar i certificirani histotehnolog Robert G. Grocott, modifikacijom postojeće Methenamin srebro nitrat metode prema Gomoryju, što objavljuje 1955. godine u *American Journal of Clinical Pathology*. Metoda je pogodna za korištenje na parafinskim tkivnim rezovima kao i na citološkim razmazima.

Princip metode temelji se na oksidaciji polisaharida u staničnoj stijenci gljivica do aldehida uz prisustvo kromne kiseline. Potom, aldehidi reduciraju srebro iz otopine srebro nitrata pri čemu dolazi do taloženja metalnog srebra. Rezultat je karakteristično crno obojenje gljivica. Radi boljeg morfološkog razlučivanja, pozadina se kontrastno boji svjetlozeleno korištenjem light green boje.

Na Kliničkom zavodu za patologiju i citologiju Kliničkog bolničkog centra u Rijeci, najčešće upotrebljavana metoda pri sumnji na prisustvo gljivičnih elemenata u tkivu je upravo GMS metoda, često u kombinaciji sa Periodic acid Schiff metodom (PAS). U predavanju ćemo usporediti navedene metode i potkrijepiti fotografijama mikroskopskih preparata iz arhive našeg zavoda. Nadalje, osvrnut ćemo se na vrste uzoraka koje najčešće susrećemo u praksi za ove metode, poput bioptata noktiju, kože, pluća, sluznica, ali i cito blokova.

Na taj ćemo način dobiti cjeloviti uvid u najčešće korištenu metodu za dokazivanje gljivica te njezinu praktičnu primjenu na uzorcima koji su dio naše rutinske dijagnostičke prakse.

Ključne riječi: histokemijske metode, gljivice, Grocott's methenamin silver

e-mail: mirna_staver@hotmail.com

ANEKSIN A1 – BIOMARKER ZA LEUKEMIJU VLASASTIH STANICA?

Ivana Barać, Dinka Šundov

Klinički bolnički centar Split

Aneksin A1 (AnxA1) ili lipokortin 1 je protein iz superobitelji od 13 proteina ovisnih o kalciju koji vežu fosfolipide. Poznate su i dobro opisane njegove uloge u apoptozi, staničnoj diferencijaciji kao i modulaciji upalnog odgovora. Kao dio kompleksnog sustava stanične biologije opisano je kako sudjeluje u patogenezi različitih bolesti i stanja. Nije ga moguće mjeriti u plazmi, ali ga je moguće naći u mnogim tkivima uključujući crijeva, pluća i naravno koštanu srž. Što se stanica tiče, moguće ga je detektirati u mnogim stanicama, a poglavito u neutrofilima i makrofazima.

Kao biomarker može se koristiti u dijagnostici mnogih bolesti, a najspecifičniji je za detekciju vlasaste leukemije (engl. „Hairy” cell leukemia). Ekspresija aneksina A1 specifična je za razlikovanje vlasaste leukemije od ostalih limfoma B stanica, ali uz korelaciju s drugim markerima B stanica jer je aneksin moguće naći i u stanicama T loze kao i u mijeloidnim stanicama.

U našem smo laboratoriju testirali modificirano imunohistokemijsko bojenje Annexinom A1 (MRQ-3) (Cell Marque) na citološkim uzorcima razmaza koštane srži pacijenata za koje se sumnjalo na dijagnozu leukemije vlasastih stanica. Kako je i u literaturi opisano, citokemijska metoda TRAP (engl. *Tartrate resistant acid phosphatase*) inferiorna je u usporedbi s imunohistokemijskim bojenjima. Također, citokemijsko bojenje marke koje se koristilo u predhodnom razdoblju više se ne proizvodi.

Obzirom na rijetku pojavu ovakvih vrsta leukemija, broj uzoraka na koje je bilo moguće testirati metodu bio je iznimno ograničen, što zbog samog broja pacijenata sa sumnjom na leukemiju vlasastih stanica, što zbog oskudnosti uzoraka (količina uzorka na predmetnici i/ili mali broj stakalaca za analizu). Preliminarni zaključci ovog testiranja su da je moguće imunocitokemijski izvesti bojenje aneksina a1 na citološkim uzorcima razmaza koštane srži u svrhu postavljanja dijagnoze leukemije vlasastih stanica. Ograničenja metode, osim otežane validacije i postavljanja protokola uslijed malog broja uzoraka, su i anticipiranje vrste predmetnice za sami razmaz kao i cijena testa obzirom na iskoristivost reagensa.

Obzirom da su istraživanja pokazala da je aneksin A1 prisutan i u drugim tkivima te njegova ekspresija povezana s malignostima drugih tipova, ne samo leukemije, isplativost metode bi se povećala kada bi se ispitala korist ovog bojenja i za druge uzorke, osim onih koštane srži.

Ključne riječi: aneksin A1, biomarker, leukemija vlasastih stanica, imunocitokemija

e-mail: barac.ivana000@gmail.com

VAŽNOST CITOLOŠKE ANALIZE INTRAOPERACIJSKOG OTISKA BAZE MAMILE KOD MASTEKTOMIRANIH PACIJENTICA ZBOG KARCINOMA DOJKE

Petra Dupčić Škoda

Odjel za patologiju i citologiju, Opća bolnica Dubrovnik, Dubrovnik, Hrvatska

Karcinom dojke jedan je od najčešćih malignih tumora kod žena, a rano otkrivanje bolesti ključno je za bolje ishode liječenja. Cilj ovog istraživanja bio je ispitati važnost citološke analize intraoperacijskog otiska baze bradavice (mamilla mammae) kod mastektomiranih pacijentica zbog karcinoma dojke te usporediti njezinu dijagnostičku točnost s konačnom patohistološkom analizom.

Retrospektivno je analizirano 47 citoloških nalaza intraoperacijskih otisaka baze bradavice pacijentica operiranih u Kliničkoj bolnici Dubrava u razdoblju od studenog 2010. do studenog 2011. godine. Citološka analiza omogućila je brzu intraoperacijsku procjenu prisutnosti malignih stanica, što je ključno za odluku o očuvanju bradavice. U sedam slučajeva nije postignuto podudaranje između hitne citološke i konačne patohistološke dijagnoze. Dijagnostička točnost intraoperacijske citološke analize iznosila je 86 %, s osjetljivošću od 87 % i specifičnošću od 97 %.

Rezultati potvrđuju visoku pouzdanost metode, ali i potrebu za oprezom u interpretaciji nalaza zbog mogućnosti skrivenih malignih stanica u histološkim preparatima.

Ključne riječi: citološki intraoperacijski otisak, bradavica, mastektomija, konačna patohistološka dijagnoza

e-mail: petra.dupcic@hotmail.com

PRIKAZ RADA PATOHISTOLOŠKOG LABORATORIJA OB PULA

Borna Barić, Tanja Biloš Belušić, Marina Belušić Krulčić, Irena Bakša, Jasenka Mišon Božić, Robert Terlević, Loredana Labinac

Opća bolnica Pula

Odjel za patologiju i citologiju u OB Pula djeluje kao jedinstveni odjel od 2018. godine, s jednim voditeljem odjela i jednim odgovornim inženjerom odjela. Organizacijski, na odjelu radi devet liječnika specijalista: četiri citologa i pet patologa, od kojih je jedan citopatolog, a jedan je ujedno i specijalist sudske medicine. U patohistološkom laboratoriju rade tri laboratorijska tehničara, jedan prvostupnik te jedan magistar medicinsko-laboratorijske dijagnostike, dok u citološkom laboratoriju radi šest prvostupnika i tri laboratorijska tehničara. U segmentu mrtvačnice i prosekture rade dva pomoćnika obducenta. Liječnici patolozi ujedno su mrtvozornici OB Pula, koji provode mrtvozorenja svih umrlih u OB Pula. Na Odjelu rade dvije administratorice od kojih jedna radi u segmentu citologije, a druga u segmentu patologije.

U patohistološkom laboratoriju preuzimaju se i obrađuju tkivni uzorci, koji pristižu s raznih odjela i ambulanti OB Pula, kao i ambulanti privatnih zdravstvenih ustanova, koje su s OB Pula sklopile ugovore o suradnji. Osim standardnih HE bojenja, u našem se laboratoriju rade i specijalne metode bojenja te imunohistokemijske analize. U 2024. godini u našem je laboratoriju analizirano ukupno 10 000 biopsija, odnosno učinjeno je 30 000 HE (hematoksilin-eozin) analiza. Također, učinjeno je više od 3600 histokemijskih i imunohistokemijskih analiza. U prosekturi je učinjeno ukupno 140 obdukcija (kako bolničkih, tako mrtvozorničkih i sudskomedicinskih). U svim slučajevima, kod kojih je rađena obdukcija, uzeti su tkivni uzorci, koji su obrađeni u našem laboratoriju, a radilo se o ukupno 2800 uzoraka tkiva.

Svake godine, počevši od 2021. Kontinuirano provodimo sustav vanjske kontrole imunohistokemijskih metoda: NordiQC. Kroz sustav vanjske kontrole postigli smo optimizaciju imunohistokemijskih metoda, što je važno za relevantnost i vjerodostojnost dobivenih nalaza.

U tekućoj godini započet ćemo s molekularnom analizom prisutnosti mutacija u tumorima iz parafinskih blokova. Uvođenje molekularne analize ubrzat će proces utvrđivanja mutacija u tumorima, što je iznimno važno za onkološke pacijente koji se personalizirano liječe u Istarskoj županiji.

Smatramo da je kontinuirani rast našeg Odjela usko povezan sa kontinuiranom edukacijom naših liječnika kao i laboratorijskog kadra, koji u procesu tkivne analitike djeluju kao cjelina. Sudjelovanje na stručnim skupovima, razmjena znanja s kliničkim patohistološkim laboratorijima te praćenje suvremenih trendova i preporuka iz područja



patohistologije dio su naše svakodnevnice. Sljedeću stepenicu, kao izazov u razvoju našeg laboratorija, predstavlja dodatna automatizacija radnog procesa, uvođenje barkodiranja te primjena digitalne patologije.

Ipak, briga o uzorcima, načinu njihove obrade i standardizacija patohistoloških metoda rada i postupaka ostaje i nadalje izazov u svakodnevnom radu.

Ključne riječi: patologija, laboratorij, djelatnici, razvoj odjela, Opća bolnica Pula

e-mail: bornaaab@gmail.com

CINTEC PLUS TEST U KONVENCIONALNIM PAPA RAZMAZIMA

Jozica Svilokos

Odjel za patologiju i citologiju, Opća bolnica Dubrovnik

Nalaz abnormalnih stanica u konvencionalnim Papa testovima kod pacijentica s blagom displazijom (LSIL) kao i kod pacijentica s rezultatom Papa testa ASC-US/ASC-H (atipične stanice neodređenog značenja/ne može se isključiti SIL visokog stupnja) iziskuje daljnju dijagnostiku. Učestalost nepotrebnih kolposkopija moguće je regulirati korištenjem CINtec PLUS testom na tim razmazima.

CINtec PLUS test je imunocitokemijski test za istodobno kvalitativno otkrivanje proteina p16INK4a i Ki-67 u cervikalnim citološkim preparatima. Indiciran je kao pomoć u podskupinama pacijentica s rezultatom citološkog nalaza Papa testa ASC-US/ASC-H, LSIL ili u pacijentica s pozitivnim testom na HPV visokog rizika.

Konvencionalni Papa razmazi najprije se odbojavaju te stavljaju u Ventana BenchMark GX automatizirani uređaj za bojenje stakalaca u kojima se koristi Komplet CINtec PLUS Cytology Kit. Nakon toga provodi se postupak uklapanja u dva koraka, vodenasto uklapanje CC Mount, a nakon toga se stakalca prekrivaju sredstvom za uklapanje na bazi ksilena.

Komplet CINtec PLUS Cytology stvara dva različito obojena produkta reakcije: smeđi talog na mjestima ekspresije antigena p16INK4a i crveni talog na mjestima ekspresije antigena Ki-67. Prisutnost jedne ili više cervikalnih epitelnih stanica uz kolonizaciju smeđe imunoboje citoplazme i crvene imunoboje jezgre unutar iste stanice smatra se pozitivnim rezultatom testa. Uz pomoć biomarkera p16INK4a i Ki-67 moguća je bolja trijaža pacijentica sa suspektim citološkim nalazima, a istovremeno se smanjuje broj nepotrebnih kolposkopija.

Glavne riječi: CINTEC PLUS test, p16INK4a, Ki-67, Papa razmazi

e-mail: jozica.svilokos@gmail.com

STANDARDIZACIJA POSTUPAKA I PREDANALITIKE U IMUNOCITOKEMIJSKIM BOJENJIMA

Branka Bedrina Jakičić

Odjel za patologiju i citologiju, OB Pula

Vanjska kontrola kvalitete (EQA) u citološkoj dijagnostici – iskustvo i poboljšanja u našem laboratoriju

Vanjska kontrola kvalitete (engl. *External Quality Assessment* – EQA) predstavlja temeljni dio sustava osiguranja kvalitete u laboratorijskoj medicini, a posebice u području citologije.

Riječ je o obliku neovisne procjene učinkovitosti i točnosti laboratorijskih postupaka kroz usporedbu rezultata jednog laboratorija s onima drugih referentnih ustanova ili akreditiranih laboratorija. Cilj EQA programa jest identifikacija odstupanja, podizanje razine stručnosti te standardizacija dijagnostičkih protokola kako bi se osigurala visoka razina pouzdanosti rezultata, neovisno o instituciji u kojoj se analiza provodi.

U citologiji, elementi vanjske kontrole uključuju sudjelovanje u organiziranim nacionalnim i međunarodnim programima kontrole kvalitete kao što su UK NEQAS (*United Kingdom National External Quality Assessment Service*), INSTAND (Njemačka), CAP (*College of American Pathologists*) i SCC (*Society of Cytopathology Canada*). U slučajevima kada u zemlji ne postoje strukturirani programi EQA, laboratoriji mogu uspostaviti sustav interne vanjske kontrole kroz suradnju i razmjenu uzoraka s drugim ustanovama unutar ili izvan zemlje.

Metode i vrste materijala u EQA programu

Uzorci koji se koriste u EQA programima u citologiji mogu biti različitog oblika i složenosti. Uobičajeni materijali uključuju citološka stakalca (konvencionalni razmazi), digitalne slike visoke rezolucije, te gotove preparate s već poznatim dijagnozama. Uzorci su pažljivo odabrani kako bi predstavljali različite stupnjeve dijagnostičke težine, od jednostavnih benignih nalaza do složenih ili rijetkih patoloških stanja. Time se ispituje preciznost, konzistentnost i dijagnostička oštrina svakog sudionika u programu.

Evaluacija pristiglih rezultata, kao i način bodovanja, može varirati ovisno o programu. Rezultati se potom uspoređuju s referentnim dijagnozama koje postavljaju paneli iskusnih citologa. Odstupanja se klasificiraju kao manja dijagnostička razlika (npr. benigni nalaz klasificiran kao atipičan) ili kao značajna pogreška – primjerice, propuštena dijagnoza maligne promjene.

Ovakvi nalazi služe kao temelj za preporuke dodatne edukacije, reviziju laboratorijskih protokola ili implementaciju novih tehnika kako bi se povećala dijagnostička točnost. Sudjelovanje našeg laboratorija u UK NEQAS programu

U nastojanju da unaprijedimo i dodatno validiramo naš svakodnevni rad, od svibnja 2022. godine naš laboratorij aktivno sudjeluje u programu vanjske kontrole kvalitete pod okriljem UK NEQAS-a. Riječ je o strukturiranom programu koji se provodi kvartalno, što znači da se analiza odvija tri puta godišnje. Svaki ciklus uključuje dostavu uzoraka u obliku citospin preparata koji zahtijevaju imunocitokemijsko bojanje dvaju zadanih antitijela.

U početnim fazama sudjelovanja koristili smo citološka stakla, koja su bila ili sušena na zraku ili arhivirana zamrzavanjem, kao pozitivne kontrole za zadana antitijela. Uzorci su potom fiksirani u 96% etanolu kroz 30 minuta, nakon čega se pristupalo imunocitokemijskom bojanju na automatskom sustavu Ventana Ultra. Evaluacija bojanja uključivala je i obaveznu samoprocjenu izvedenog rada, pri čemu je maksimalni broj mogućih bodova iznosio 20.

Zbog same akomodacije oka i neprovođenja vanjske kontrole bilo nam je potrebno neko vrijeme kako bi objektivizirali naš rad, te prihvatili promjene jer je naš dotadašnji način rada bio ocijenjen kao prihvatljiv, dobar, a neka obojana imunocitokemija bila je i neprihvatljiva. Primjetili smo, unutar istog evaluacijskog ciklusa (Run-a), uzorci koji su pristigli iz UK NEQAS-a, odnosno njihova stakla, često dobivala izvrsne ocjene, s oznakom „excellent“. Zaključili smo kako protokoli bojenja koje primjenjujemo nisu nužno pogrešni, već da najveći prostor za poboljšanje leži u predanalitičkom segmentu obrade uzoraka.

Suradnja i unaprjeđenje predanalitike

U svrhu dodatnog poboljšanja procesa obratili smo se za pomoć – i dobili je. Zahvaljujući suradnji s referentnim centrom u Ujedinjenom Kraljevstvu, uvedene su nove metode predanalitičke pripreme uzoraka koje su značajno podigle kvalitetu naših imunocitokemijskih preparata.

Nove metode uključuju:

- Mokru fiksaciju citospinova u hladnom metanolu.
- Prekrivanje preparata otopinom polietilen glikola (PEG) radi čuvanja na sobnoj temperaturi.
- Ograničavanje manipulacije uzorkom u staničnom mediju na maksimalno 48 sati. (Detalje o pripremi PEG-a moguće je pronaći u plakatu i njegovom sažetku Sonje Gaćine Tomićić, bacc.med.lab.dg., OB Pula, Odjel za patologiju i citologiju.)

Identificirani problemi i njihovo rješenje

Tijekom inicijalne analize našeg laboratorijskog rada uočene su sljedeće ključne slabosti:

- A. Kontaminacija uzoraka različitim staničnim elementima (eritrociti, leukociti, sluz, koagulum i itd.)
- B. Nedostatan broj stanica za analizu
- C. Nedostatak standardizacije postupaka

Postupkom pročišćavanja uzoraka pomoću CellTrics filtera (Sysmex) i ispiranjem stanične suspenzije s posebnom otopinom (MEDIJ), riješen je problem tzv. „prljavih“ preparata. Time je omogućena izrada citospinova s jasno definiranim staničnim slojem, bez neželjenih pozadinskih elemenata, a hladni metanol, kao fiksativ, pokazao se izrazito učinkovitim u očuvanju stanične reaktivnosti, uz minimalnu pozadinsku obojenost i izostanak nespecifične distribucije antitijela – što je često bio jedan od glavnih prigovora prilikom evaluacije u UK NEQAS programu.

U suradnji s liječnicima u našoj ustanovi uključili smo uporabu staničnog medija za ispiranje različitih igala i četkica koje se primjenjuju u FNA, bronhoskopiji, TTP, TBP i time povećali brojnost stanica u uzorku potrebnih za dodatna specifična bojenja i analize. Uvođenjem poboljšane predanalitike značajno je smanjen broj neadekvatnih uzoraka, a povećan je broj stanica dostupnih za analizu. Time je omogućena kvalitetnija manipulacija uzorcima – ne samo u kontekstu osnovne dijagnostike, već i u smislu dodatnih imunocitokemijskih bojenja, primjene u prediktivnoj citologiji te izrade pozitivnih kontrola za nepoznate uzorke.

Zaključak

Iskustvo sudjelovanja u vanjskoj kontroli kvalitete, kroz UK NEQAS program, bilo je za naš laboratorij izrazito korisno i poticajno. Ne samo da smo uspjeli objektivizirati naš dotadašnji rad, već smo kroz stručnu suradnju i implementaciju novih tehnika značajno unaprijedili sve faze rada – osobito predanalitiku. Smanjen broj pogrešaka, bolja kvaliteta uzoraka i pozitivne ocjene stručnih tijela potvrđuju da smo na dobrom putu. Sustavno praćenje kvalitete, otvorenost za promjene i spremnost na suradnju ključni su čimbenici u stvaranju laboratorijskog sustava koji zadovoljava najviše stručne i dijagnostičke standarde.

Ključne riječi: predanalitika, metanol, PEG, imunocitokemija

e-mail: branka.jakicic01@gmail.com

POSTER PREZENTACIJE

ULOGA OSNOVNOG HITOKEMIJSKOG BOJENJA TKIVA HEMATOKSILIN-EOZINOM (HE) PRI UTVRĐIVANJU INFARKTA MIOKARDA U SUDSKO-MEDICINSKOJ PRAKSI

Silvia Arbanas, Dražen Cuculić, Lara Nuić, Martina Pereza Guščić, Valter Stemberg

Zavod za sudsku medicinu i kriminalistiku, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

Cilj: Cilj ove studije je istaknuti značaj osnovne histokemijske metode bojenja hematoksilin-eozinom (HE) u prepoznavanju i vremenskom određivanju infarkta miokarda (IM) tijekom sudsko-medicinskih obdukcija, s posebnim naglaskom na primjenu u slučajevima nagle srčane smrti (NSS).

Metode: Hematoksilin-eozin (HE) bojenje je temeljna metoda u rutinskoj patohistološkoj obradi, kojom se vizualizira arhitektura tkiva i stanični detalji. Hematoksilin boji jezgre stanica plavoljubičasto, dok eozin boji citoplazmu i izvanstanične strukture ružičasto. U kontekstu ishemijskih oštećenja srčanog mišića, HE preparati omogućuju identifikaciju promjena specifičnih za pojedine stadije IM: valovitost mišićnih vlakana, gubitak poprečnog pruganja, eozinofiliju, neutrofilnu infiltraciju, kariolizu, fagocitozu, fibroblastičnu proliferaciju i formiranje ožiljkastog tkiva. Uzorci miokarda se fiksiraju u formalinu, slijedi dehidratacija, parafinska obrada, rezanje mikrotomom (4 – 5 µm), bojenje HE metodom te analiza svjetlosnim mikroskopom. Ova metoda omogućuje razlikovanje vitalnih od postmortalnih promjena, što je ključno u forenzičkoj interpretaciji. **Rezultati:** HE bojenje omogućilo je prepoznavanje ishemijskih promjena i u vrlo ranom stadiju (< 24 h), kada makroskopski znakovi infarkta još nisu vidljivi. Na temelju mikroskopske slike moguće je odrediti starost lezije unutar vremenskog raspona od nekoliko sati do više tjedana, što ima velik značaj pri forenzičnoj procjeni uzroka smrti. Metoda je potvrdila prisutnost infarkta u slučajevima gdje se kliničko-patološki nalazi nisu podudarali ili je uzrok smrti bio nejasan.

Zaključak: HE bojenje predstavlja jednostavnu, dostupnu i ekonomičnu metodu koja je nezamjenjiva u sudsko- medicinskoj dijagnostici infarkta miokarda. Omogućuje preciznu morfološku evaluaciju promjena u srčanom tkivu te doprinosi točnoj forenzičkoj interpretaciji uzroka smrti. U uvjetima rastuće primjene virtualnih obdukcija i ograničenih resursa, važnost ove klasične histokemijske metode dodatno raste.

Ključne riječi: obdukcija, infarkt miokarda, HE bojenje, histopatologija, sudska medicina

e-mail: silvia.arbanas@medri.uniri.hr

DEKALCINATI NA BAZI KISELINA

Nataša Benić, Petra Medač Čorak

Odjel za patologiju i citologiju, Opća županijska bolnica Požega

Dekalcinacija kiselinama temelji se na kemijskoj reakciju između kiselina i kalcijevih soli. Cilj primjene je uklanjanje mineralnih depozita - kalcifikata iz tkiva čineći ga prikladnim za histološku analizu. Ovi postupci su brzi i učinkoviti, ali mogu imati negativan utjecaj na morfologiju i kemijska svojstva tkiva. Dekalcinati na bazi kiselina dijele se na one s jakim (anorganskim) i slabim (organskim) kiselinama.

Dekalcinati na bazi jakih kiselina, poput klorovodične kiseline, učinkovito uklanjaju kalcij u roku od nekoliko sati, ali često oštećuju stanične strukture i utječu na rezultate histokemijskih bojenja, imunohistokemijskih i molekularnih analiza.

Najčešće se koriste u kombinaciji s fiksativima (formaldehidom) kako bi se umanjio gubitak karakteristika i tkivne arhitekture. Utječu na analitičku fazu i mogu ometati vezanje bazičnog hematoksilina za kromatin u jezgri, uzrokovati neujednačeno bojenje eozinom i narušiti ekspresiju antigena. Zbog toga su ograničeno primjenjive u analizama gdje je očuvanost epitopa ciljanih antigena i DNA/RNA od presudne važnosti.

Dekalcinati na bazi slabih kiselina, poput mravlje i octene, djeluju sporije, ali su blaže prema tkivu. Češće se koriste u rutinskoj praksi. Omogućuju bolju očuvanost staničnih jezgri i proteinskih struktura od upotrebe dekalcinata na bazi jakih kiselina. Kada vrijeme to omogućava, a patolozi planiraju analize koje uključuju imunohistokemijske (IHK) i molekularne analize, bolji je izbor dekalcinat na bazi slabe kiseline. Za razliku od jakih kiselina, u manjoj mjeri imaju negativan utjecaj na većinu histoloških bojenja, analizu citoplazmatskih IHK markera te na molekularne analize, ali nisu pogodni za *in situ* hibridizaciju (ISH) zbog veće mogućnosti lažno negativnih rezultata. Ako se uzorak priprema za opsežnije IHK, ISH i molekularne analize, bolja opcija su dekalcinati na bazi kelatnih spojeva.

Vrijeme dekalcinacije kiselinama ovisi o vrsti kiseline, veličini i mineralizaciji uzorka. Male lezije u mekim tkivima mogu biti obrađene za nekoliko minuta, dok uzorci visokog stupnja mineralizacije poput kostiju, zahtijevaju od nekoliko sati do nekoliko dana. Proces se mora pažljivo pratiti kako bi se izbjegla pretjerana dekalcinacija, koja uzrokuje probleme u rezanju tkiva, slabiju morfološku očuvanost i gubitak ciljanih obilježja. Dekalcinati na bazi kiselina su korisni za brzu pripremu tkiva, ali zahtijevaju pažljiv odabir i nadzor.

Ključne riječi: dekalcinacija na bazi kiselina

e-mail: natasabenic11@gmail.com

ZNAČAJNOST DETEKCIJE BAKTERIJE *HELICOBACTER PYLORI* U PATOHISTOLOŠKOJ DIJAGNOSTICI

Kristina Štingl, Matea Kos, Anamarija Ferro, Zorana Lipšanski, Karolina Krstanac, Luka Manojlović, Iva Škifić, Arijana Pačić

Klinička bolnica Dubrava

Helicobacter pylori je spiralna patogena bakterija gastrointestinalnog sustava (želuca i duodenuma) kojom je zaraženo gotovo 50 % svjetske populacije, a u Hrvatskoj je taj postotak čak i veći. Infekcija se može manifestirati na nekoliko načina: kronični gastritis (najčešće), ulkusi želuca/duodenuma te karcinom želuca ili maligni limfom želuca. Kako infekcija može biti i asimptomatska, vrlo je važna pravovremena i točna detekcija navedenog uzročnika kako bi se što prije započela terapija. Gastroskopija i uzimanje biopsije sluznice želuca za patohistološku dijagnostiku se, uz ostale manje invazivne metode, koristi za detekciju *H. pylori*. Biopsija bi se prema OLGA/OLGM klasifikaciji trebala uzeti iz antruma, incizure ingularis te korpusa želuca. Cilj ovog rada bio je procijeniti dodatnu dijagnostičku vrijednost imunohistokemije (IHC) nakon negativnih ili dvojbjenih Giemsa nalaza.

Patohistološka obrada uzoraka sluznice želuca uključuje bojenje preparata hematoksilin-eozin bojenjem te bojenjem metodom po Giemsi kojom se prikazuje *H. Pylori*. Ukoliko je na Giemsa preparatima uzročnik nedetektabilan ili dvojbjen, moguće je napraviti i imunohistokemijsko bojenje. Na Odjelu za imunohistokemiju i molekularnu patologiju Kliničkog zavoda za patologiju i citologiju KB Dubrava je u razdoblju od lipnja 2023. do lipnja 2025. napravljeno 177 imunohistokemijskih preparata koristeći protutijelo *H. Pylori* (DAKO Autostainer48 i DAKO Omnis), nakon negativnog rezultata bojenja po Giemsi. U dvogodišnjem razdoblju analizirano je ukupno 177 IHC preparata na prisutnost bakterije *Helicobacter pylori*. Ti preparati sadržavali su ukupno 266 biopsijskih uzoraka želuca, uključujući gastroscopske uzorke, djelomične i potpune resekcije želuca te jedan uzorak polipa želuca. IHC bojenje provedeno je u slučajevima kada je prethodno histokemijsko bojenje po Giemsi bilo negativno ili dvojbno, s ciljem potvrde ili isključenja prisutnosti *H. pylori*. Analizom dobivenih podataka utvrđeno je da je 125 uzoraka (47 %) bilo negativno na obje metode. U 13 uzoraka (4,9 %) bakterija je potvrđena i bojenjem po Giemsi i IHC bojenjem. Najzanimljiviji i dijagnostički najvažniji nalaz odnosi se na 32 uzorka (12 %) koji su bili negativni na Giemsu, ali pozitivni na IHC bojenju. Ukupan broj IHC pozitivnih uzoraka iznosio je 45, što čini 17 % svih analiziranih uzoraka. Od toga su 32 uzorka bila iz ženskih, a 13 iz muških uzoraka, što pokazuje veću učestalost pozitivnog nalaza među ženama (71 %). Gastroscopski uzorci činili su većinu, odnosno 162 uzorka (60,9 %), dok je 14 uzoraka (5,3 %) bilo iz resektata želuca. Najčešće mjesto detekcije bakterije bio je antrum želuca, što je u skladu s važnošću uzorkovanja tog

područja prema OLGA/OLGM klasifikacijama.

Iako je bojenje po Giemsi korisna i rutinski dostupna metoda za detekciju *H. pylori*, rezultati ovog istraživanja pokazuju da čak 12 % uzoraka s negativnim bojanjem po Giemsi može biti pozitivno na *H. pylori* imunohistokemijskom analizom, što može imati izravan utjecaj na kliničku dijagnozu i terapijske odluke. S obzirom na kliničku važnost identifikacije *H. pylori*, osobito u razlikovanju tipova gastritisa, preporuča se uvođenje IHC potvrde u svim sumnjivim i negativnim uzorcima bojanih po Giemsi, čime se značajno povećava dijagnostička osjetljivost i pouzdanost.

Ključne riječi: *Helicobacter pylori*, patohistološka dijagnostika, Giemsa bojenje, imunohistokemija

e-mail: kristina.stingl@gmail.com

PREDANALITIČKI PROBLEMI U PATOHISTOLOŠKOM LABORATORIJU VARAŽDIN

Nikolina Kolenko, Martina Zimić

Opća bolnica Varaždin

Na Odjelu je ukupno zaposleno petnaest djelatnika, te dva administratora. Tri su doktorice specijalisti patologije, od kojih je jedina i specijalistica sudske medicine. HISTOLOŠKI LABORATORIJ

U radu histološkog laboratorija sudjeluju tri laboratorijska tehničara te tri inženjera medicinsko-laboratorijske dijagnostike. U prizemlju zgrade obnovljena je prostorija za preuzimanje patohistološkog materijala sa ugrađenim sustavom cijevi za ventilaciju. Kako bi se mogućnost pogreške svela na minimum i osigurala kvaliteta rada nabavljen je novi printer za kazete, digestor za preuzimanje materijala te ventilirajući ormari za spremanje rezerva (slika 1. Prostorija za preuzimanje materijala). Međutim, laboratorij se često suočava sa značajnim izazovima koji primarno proizlaze iz predanalitičke faze, a koji uvelike utječu na kvalitetu i pouzdanost dijagnostičkih rezultata. Godišnja obrada oko 10 000 biopsija i 50 000 pripadajućih stakalaca zahtjeva besprijekoran tijek rada, no uočeni problemi ometaju učinkovitost trenutačne automatizacije u samom laboratoriju. Laboratorij često zaprima uzorke koža (najčešće iz OHBP sale) koji su naizgled sirovi, što sugerira kašnjenje u fiksaciji formalinom nakon uzimanja (slika 2. Grafički prikaz nesukladnog materijala u 2024. godini). Nedostatak kontrole nad vremenom uranjanja uzoraka u fiksativ značajno kompromitira morfologiju tkiva i otežava dijagnostiku. Osim toga, materijal često dolazi u neadekvatnim, premalim posudama, što rezultira skupljenim i nedovoljno fiksiranim tkivom (slika 3a. i 3b. Ne odgovarajuća veličina bočice u odnosu na materijal).

Pojedini materijali zahtijevaju preuzimanje u svježem stanju (konizat), no taj se protokol zna zanemariti u operacijskim salama. Tako su se i intraoperativni uzorci, poput onih sa odjela neurokirurgije (tkivo mozga), znali dostaviti uronjeni u fiziološku otopinu (slika 4. Intraoperativni biopat tretiran f.o.?). Svi intraoperativni uzorci moraju biti obrađeni svježi jer se smrzavanjem omogućuje brza analiza ključna za donošenje hitnih kirurških odluka.

Nadalje, primijećeno je da se tkivna boja ne upija adekvatno u cilindre prostate, za razliku od cilindara dojke koji izvrsno poprimaju boju. Postoji sumnja da se bioptati prostate tretiraju s nečim na odjelu prije slanja u laboratorij, što utječe na kvalitetu bojenja i samim time na mogućnost točne dijagnostike (slika 5. Cilindar prostate lijevo u odnosu na cilindar dojke desno). Čest je problem da se vrsta materijala navedena na uputnici ne podudara s rednim brojevima i oznakama na bočici (slika 6. Nesukladna uputnica koja ne prati oznake na materijalu). Ova neusklađenost stvara rizik od zamjene

uzorka te produkuje vrijeme obrade zbog potrebe za provjerama i može dovesti do ozbiljnih dijagnostičkih pogrešaka (slika 7. Pogrešna identifikacija pacijenta). Ključno je uspostaviti bolju komunikaciju patologa s kirurzima i osobljem u operacijskim salama kako bi se osiguralo striktno pridržavanje protokola za fiksaciju i rukovanje uzorcima. Kao direktna posljedica navedenih predanalitičkih pogrešaka, kvaliteta imunohistokemijskog bojenja je često upitna. Neadekvatna fiksacija i uvjeti skladištenja prije dolaska u laboratorij mogu dovesti do degradacije antigena, što otežava ili onemogućuje točnu interpretaciju imunohistokemijskog bojenja ključnog za preciznu dijagnozu i terapiju. Da bi se smanjio rizik od pogrešaka koje nastaju djelovanjem ljudskog faktora u analitičkoj fazi, težimo automatizaciji što više laboratorijskih postupaka. Ključno je izraditi i implementirati pisane protokole koji će jasno definirati procedure za rukovanje uzorcima od trenutka uzimanja u operacijskim salama do predaje u laboratorij čime bi se smanjili mogući predanalitički problemi. Ti bi protokoli trebali detaljno opisati standardizirano vrijeme i način fiksacije uzoraka, postupke za rukovanje svježim materijalom, te jedinstveni sustav označavanja uzoraka i usklađivanja s uputnicama. Ovi protokoli trebali bi biti obvezujući za sve sudionike u procesu, uz potrebnu edukaciju i redovite provjere pridržavanja. Uspostava jasnih i obvezujućih propisa neophodna je za osiguravanje visokokvalitetne dijagnostike i sigurnost pacijenta.

Ključne riječi: predanalitika, patohistološki laboratorij, patohistološki materijal, fiksacija, nesukladnosti, intraoperativni uzorci, imunohistokemija, protokoli

e-mail: nkolenko25@gmail.com

PRIMJENA ZIEHL-NEELSEN BOJENJA U DETEKCIJI ACIDOREZISTENTNIH BAKTERIJA U HISTOPATOLOGIJI

Doroteja Štiber¹, Biserka Pleško¹, Suzana Hančić^{1,2}, Katarina Horvat Pavlov¹

¹Klinički zavod za patologiju i citologiju, Klinička bolnica „Merkur“, Zagreb

²Zdravstveno veleučilište, Zagreb

Histopatološka bojenja se koriste kako bi se olakšala identifikacija i vizualizacija određenih komponenti stanica. Bojenjem po Ziehl-Neelsenu možemo prikazati acidorezistentne bakterije. To su bakterije koje zbog svojih lipidnih sastojaka zadržavaju boju nakon ispiranja kiselim alkoholom. Cilj ovog rada je prikazati važnost Ziehl-Neelsen bojenja u detekciji acidorezistentnih bakterija, s posebnim naglaskom na *Mycobacterium tuberculosis* kao najznačajnijeg predstavnika ove skupine. Također, cilj je detaljno opisati postupak i mehanizam bojenja, prikazati metodu na tkivnom prerezu pluća gdje omogućuje razlikovanje acidorezistentnih od ne-acidorezistentnih bakterija.

U prvom koraku Ziehl-Neelsen bojenja tkivni preparati na stakalcu prekrivaju se karbol-fuksinom u trajanju od 30 minuta. Potom se ispiru vodovodnom vodom te tretiraju kiselim alkoholom 15 do 30 sekundi radi uklanjanja boje s ne-acidorezistentnih bakterija. Nakon ponovnog ispiranja tekućom vodom, preparati se kontrastno boje metilenskim modrilom 30 sekundi. Završno se višak metilenskog modrila ispire te su preparati nakon pokrivanja spremni za mikroskopiranje.

Dobiveni preparati jasno prikazuju razliku između acidorezistentnih i ne-acidorezistentnih bakterija. Acidorezistentne bakterije zadržale su jarkocrvenu boju karbol-fuksina, dok su se ne-acidorezistentne obojile u plavo nakon kontrastnog bojenja metilenskim modrilom. Ova diferencijacija omogućila je preciznu identifikaciju *Mycobacterium tuberculosis* i drugih acidorezistentnih mikroorganizama poput *Nocardia* i *Actinomyces*. Ziehl-Neelsen metoda ostaje nezamjenjiv alat u histopatologiji jer omogućuje specifičnu i pouzdanu detekciju acidorezistentnih bakterija. Njena jednostavnost i učinkovitost čine je pogodnom za rutinsku primjenu u laboratorijskoj dijagnostici. Poseban značaj ima u potvrđivanju infekcija uzrokovanih *Mycobacterium tuberculosis*. Primjena ove metode doprinosi poboljšanju dijagnostičkih standarda i osigurava veću točnost u prepoznavanju infektivnih i patoloških promjena u tkivima.

Ključne riječi: Ziehl-Neelsen, acidorezistente bakterije, histokemija, *Mycobacterium tuberculosis*

e-mail: doroteja.stiber@gmail.com

MORFOLOŠKE PROMJENE U RAZMAZIMA PERIFERNE KRVI PACIJENATA SA SARS-CoV-2 INFEKCIJOM

Anamarija Pernjek¹, Mirjana Stupnišek^{2,3}, Ivana Prvulović⁴, Zvonimir Bosnić¹, Valerija Miličić^{1,3}

¹Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet, Osijek, Hrvatska

²Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet za dentalnu medicinu i zdravstvo, Osijek, Hrvatska

³Klinika za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević", Zagreb, Hrvatska

⁴Poliklinika Prvulović, Slavonski Brod, Hrvatska

Ciljevi: Odrediti udio razmaza periferne krvi s vidljivim reaktivnim promjenama limfocita i monocita te granulocitne loze i trombocita; ispitati povezanost promijenjene morfologije nađene u razmazu periferne krvi u odnosu na vrijednosti laboratorijskih nalaza leukocita, laktat dehidrogenaze (LDH) i C- reaktivnog proteina (CRP) te ispitati postoje li razlike u promijenjenoj morfologiji u odnosu na ishod liječenja.

Metode: Studijom je obuhvaćeno 217 ispitanika kojima je tijekom hospitalizacije zbog infekcije koronavirusom (SARS-CoV- 2 od engl. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2), u razdoblju od početka pandemije 2020. do kraja 2023. godine u Klinici za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević" u Zagrebu, napravljen razmaz periferne krvi i određene vrijednosti leukocita, CRP-a i LDH. Iz istraživanja su isključeni ispitanici inficirani virusom humane imunodeficijencije, oboljeli od hepatitisa, infektivne mononukleoze i hematoloških malignoma. Razmazi su bojani metodom po May Grünwald-Giemsi, mikroskopski analizirani od strane dva iskusna te jednog neiskusnog promatrača, a kao rezultat uzimana je srednja vrijednost sve tri analize. Pri analizi razmaza, morfološke promjene limfocita razvrstane su u šest kategorija (limfociti normalne morfologije, polimorfni, reaktivni, „coviciti“, veliki granularni limfociti i limfoplazmocitoidne stanice). Podatci o pacijentima prikupljeni su iz medicinske dokumentacije, a za statističku analizu korišten je program MedCalc® Statistical Software version 22.023 (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium; 2024).

Rezultati: Izražene reaktivne promjene limfocita vidljive su u 35 %, a monocita u 18,9 % razmaza. Skretanje u lijevo vidljivo je u 30,9 % ispitanika. Toksične granule u granulocitima nađene su u 91 % razmaza, a Döhleova tjelešca u 85 %. U 31,3 % ispitanika nađen je barem jedan „coviciti“. Povišene vrijednosti leukocita ima 47 % ispitanika, značajnije više vrijednosti leukocita imaju ispitanici u kojih „coviciti“ nisu nađeni. U istoj skupini značajno je više umrlih ispitanika. Povišene vrijednosti CRP-a i LDH nalaze se u većine ispitanika i više su u onih ispitanika kod kojih „coviciti“ nisu nađeni. S obzirom na morfologiju eritrocitne loze gotovo svi ispitanici imaju izraženu anizocitozu, polikromaziju i poikilocitozu, dok su u 13,4 % razmaza nađeni eritroblasti (bazofini, polikromatofini i/ili acidofilni). Makrotrombociti su prisutni kod 59,9 % ispitanika.



Zaključak: SARS-CoV-2 uzrokuje promjene u morfologiji krvnih stanica periferne krvi. Gotovo trećina ispitanika imala je nepovoljan ishod liječenja, dok je u skupini preživjelih značajnije više onih s jednim ili više „covicita“ u razmazu periferne krvi, a prisutnost kojih se može povezati s boljim ishodom bolesti.

Ključne riječi: covicit, COVID-19, razmaz periferne krvi, reaktivne promjene limfocita, SARS-CoV-2.

e-mail: p.anamarija1002@gmail.com

PICROSIRIUS RED U VIZUALIZACIJI FIBROZE

Marieta Slugan¹, Željka Sedlar¹, Suzana Hančić^{1,2}, Anita Škrčić^{1,3}

¹Klinički zavod za patologiju i citologiju, Klinička bolnica „Merkur“, Zagreb

²Zdravstveno veleučilište, Zagreb

³Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Fibroza je patološki proces formiranja prekomjernog vezivnog tkiva. Rezultira strukturalnim oštećenjem i smanjenjem funkcije zahvaćenog tkiva. Mikroskopskim pregledom uočavamo pojavljivanje gustih tračaka fibroznog tkiva s pojavom uvećanog broja fibroblasta. U patološkoj se dijagnostici fibroze, uz standardna, koriste i specijalna histokemijska bojenja koja dodatno razlučuju pojedine dijelove tkiva. Za bolji prikaz kolagenskih vlakana i njihovu kvantitativnu analizu koristi se Picrosirius Red bojenje, s evaluacijom u polariziranom svjetlu (polarizirana svjetlosna mikroskopija).

U radu ćemo objasniti princip bojenja Picrosirius red na prerezima tkiva jetre. Kemijska formula Sirius red je $C_{45}H_{26}N_{10}Na_6O_{21}S_6$, dok se bojenje koristi na prerezima tkiva fiksiranog u formalinu i uklopljenog u parafinski blok. Radna otopina boje priprema se miješanjem zasićene pikrinske kiseline (trinitrofenol) i Sirius Red F3B pigmenta (Direct Red 80). Sirius red F3B anionska je boja koja sadrži azo ($-N=N-$) veze te više sulfonatnih skupina ($-SO_3$). Također pokazuje visoki afinitet prema pozitivno nabijenim molekulama, primjerice kolagena. Pri bojenju se koristi pikrinska kiselina jer povećava selektivnost i diferencijaciju kolagena. Pri niskom pH, za koji je zaslužna pikrinska kiselina, anionska boja, koja sadrži negativnu sulfonatnu skupinu, reagira s pozitivnim bazičnim amino skupinama u molekulama kolagena što rezultira obojenjem vlakana kolagena u preparatu.

Na tkivnim prerezima jetre, Picrosirius Red bojenje omogućuje razlikovanje tipova kolagena. U slučaju sumnje na umnoženo kolageno vezivno tkivo u parenhimu jetre, u njenim portalnim prostorima, periportalno, perisinusoidalno i oko centralnih vena, slijedi izrada preparata tkivnih prereza, koji se zatim boje Picrosirius red metodom. Pod svjetlosnim se mikroskopom uočavaju crveno obojena kolagena vlakna dok su preostale strukture u preparatu žućkaste boje zbog djelovanja pikrinske kiseline. Picrosirius Red bojenjem u polariziranom svjetlu jasno se razlikuju dva tipa kolagenskih vlakana. Razvijena, debela kolagenska vlakna (tip I) obojena su narančastom ili žutom bojom, dok su ona slabije razvijena, tanka (tip III), zelene boje. Ovo bojenje nije pogodno za identificiranje drugih tipova kolagenih vlakana. Ostatak se struktura u preparatu može blago obojiti, no ne iskazuju dovoljno pod polarizacijskim mikroskopom.

Osim kvalitativne analize, Picrosirius Red bojenje, u kombinaciji s polariziranom svjetlosnom mikroskopijom, omogućuje i kvantitativnu procjenu udjela i raspodjele kolagena u jetrenom tkivu, što se može dodatno objektivizirati digitalnom morfometrijom. Kvantifikacija fibroze ima važno prognostičko značenje jer stupanj i raspored kolagenih



vlakana koreliraju s progresijom bolesti, razvojem portalne hipertenzije i ukupnim preživljenjem bolesnika, dok u određenim entitetima može imati i prediktivnu vrijednost u odnosu na terapijski odgovor (npr. u virusnim hepatitisima i bolesti masne jetre povezane s metaboličkom disfunkcijom (MAFLD)). Zaključno, Picrosirius Red metoda, u kombinaciji s polariziranim svjetlom, predstavlja osjetljivu i specifičnu metodu za detekciju, organizaciju i diferencijaciju kolagenskih vlakana u jetrenom tkivu.

Ključne riječi: fibroza, bolesti jetre, kolagen, Picrosirius red, polarizirana svjetlosna mikroskopija

e-mail: marieta.slugan1@gmail.com

HITNA BIOPSIJA U DIJAGNOSTICI AKUTNOG ODBACIVANJA TRANSPLANTIRANOG ORGANA

Daniela Marić¹, Biserka Pleško¹, Suzana Hančić^{1,2}, Eva Lovrić^{1,3}

¹Klinički zavod za patologiju i citologiju, Klinička bolnica „Merkur“, Zagreb

²Zdravstveno veleučilište, Zagreb

³Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Hitna biopsija ima ključnu ulogu u dijagnostici akutnog odbacivanja transplantiranog organa jer omogućava brzu i pouzdanu morfološku potvrdu odbacivanja. Zlatni je standard kod pogoršanja funkcije presađenog organa jer nakon histološke analize omogućuje pravodobnu i učinkovitu terapiju kao i smanjenje rizika od gubitka grafta. Obrada hitne biopsije u histopatološkom laboratoriju traje 4 sata od trenutka prijama uzorka do predmetnog stakla s tkivom spremnim za mikroskopiranje.

Procesiranje tkiva se izvodi po posebnim protokolima za ubrzanu obradu biopsija (procesiranjem u histokinetu s prilagođenim protokolom ili manualnim vođenjem). U radu ćemo predstaviti protokol i rezultate obrade hitne biopsije jetre i hitne biopsije tankog crijeva.

Proces započinje fiksacijom u 10 % neutralno puferiranom formalinu, dehidracijom kroz rastuće koncentracije alkohola (55 %, 70 %, 85 %, 96 %, 100 %), nastavlja se prožimanjem u ksilolu te završava impregnacijom u parafinu. Fiksacija se odvija u trajanju od 30 minuta, svaki korak procesiranja traje 10 minuta, a ukupno trajanje do parafinom prožetog tkiva 145 minuta. Nakon izrade parafinske kocke, tkivo se reže u šest prereza debljine 2 mikrometra na dva predmetna stakla i boji hemalaun-eozinom. Ovakvim procesiranjem su sve komponente tkiva očuvane, kvalitetne i potpuno primjerene za dodatne histokemijske ili imunohistokemijske metode.

Izrada preparata hitne biopsije transplantiranog organa je vrlo važan korak u dijagnostici akutnog odbacivanja. Pravovremeno postavljena dijagnoza omogućuje brzu terapijsku intervenciju i značajno povećava šansu za očuvanje funkcije presađenih organa. Također omogućuje praćenje liječenja i sprječava nepotrebno povećavanje imunosupresije ako odbacivanje nije prisutno (smanjuje rizik infekcija i nuspojava). Zaključno, povećava dugoročno preživljenje grafta i kvalitetu života bolesnika.

Ključne riječi: procesiranje tkiva, hitna biopsija, jetra, tanko crijevo, transplantirani organ, akutno odbacivanje

e-mail: danielamaric87@gmail.com

VAŽNOST TIMSKOG RADA U MOLEKULARNOJ PATOLOGIJI

Zorana Lipšanski, Matea Kos, Anamaria Ferro, Kristina Štingl, Lucija Merkaš, Danijel Terzić, Josipa Ivić, Antonija Knežević, Tajana Štoos-Veić, Čedna Tomasović-Lončarić

Klinička bolnica Dubrava

UVOD:

Molekularna patologija je dio dijagnostike koja tumore analizira na nivou gena, na nukleinskim kiselinama (DNA i RNA) metodama PCR (Real time), hibridizacije (FISH i CISH) te sekvenciranjem nove generacije (NGS). Uvid u molekularni status (mutacije, delecije, amplifikacije i dr.) solidnih tumora (pluća, crijeva, dojke te melanoma) omogućuje primjenu ciljanih lijekova i praćenje efikasnosti terapije.

CILJ:

Cilj ovog rada je prikazati važnost svakog sudionika tima koji sudjeluje u procesu primitka uzorka, obrade, pripremu za rad u PCR uređaju te pružanja analize u obliku nalaza koji se upućuje kliničaru i/ili onkologu.

MATERIJALI I METODE:

Metode molekularne patologije koriste različite vrste uzoraka: citološke razmaze nakon bronhoskopije ili transtorakalne punkcije, sedimente pleuralnih izljeva, stanične blokove, bioptate te kirurške uzorke nakon operacije. Put uzorka od pacijenta do nalaza je različit za citološke i histološke uzorke. Za adenokarcinome pluća je zajedničko i citološkim i histološkim uzorcima refleksno testiranje nakon dijagnoze adenokarcinoma. Citološke razmaze upućuje inženjer laboratorijske dijagnostike nakon što je citolog odabrao adekvatan razmaz te na njemu označio tumorske stanice i postotak. Također, inž. med. dijag. sudjeluje u izradi staničnih blokova. Razmaz ili stanični blok preuzima inženjer na patologiji te u dogovoru s molekularnim biologom stavlja uzorak u rad u aparat Idylla Biocartis. Histološke uzorke patolozi preuzimaju, uz asistenciju inženjera te inženjeri procesuiraju uzorke po zadanim predanalitičkim koracima: nakon fiksacije s 10 % formaldehidom, min. 24 h slijedi obrada u histokinetu te uklapanje parafinskih blokova. Nakon postavljene dijagnoze adenokarcinoma, patolog bira reprezentativnu parafinsku kocku i na HE staklu zaokruži tumorske stanice i odredi postotak. Nakon toga inženjer uzorak stavlja u rad u uređaj Idylla (Biocartis). Idylla je u potpunosti automatiziran real-time PCR sustav koji može detektirati BRAF, KRAS, NRAS, EGFR, MET, RET, NTRK, IDH 1 i 2, PIK3 CA, MSI mutacije. Da bi rezultati mogli biti točni i precizni potrebno je poznavati postupnike rukovanja s uređajem, tj. koliko i kakvog uzorka se stavlja u rad. Npr. MGG citološki uzorci moraju prethodno proći odbojavanje i sušenje,

dok je za histološke uzorke potrebno staviti samo ciljano tkivo bez parafina. Kad je rad u Idylli gotov, molekularni biolog analizira krivulje, procjenjuje kriterije valjanosti rezultata (QC) te izdaje samostalan nalaz u bolnički sustav te se automatski šalje u CEZIH. Biolog, kao i liječnici, su u uskoj komunikaciji s onkolozima te se put uzorka tu završava. *Turnaround time* (TAT), tj vrijeme od primanja uzorka do dijagnoze je kratko, uglavnom se može doći do molekularnog nalaza u toku jednog dana. Molekularne analize se validiraju u sklopu programa vanjske kontrole kvalitete QUIP (ESP).

REZULTATI:

U KB Dubrava od 2025. do 2025. godine učinjeno je 2325 molekularnih testiranja na uređaju Idylla. Od toga je bilo EGFR testiranja 1050, ALK i ROS fuzija gena 300, KRAS testiranja 470, NRAS 200, mikrosatelitne nestabilnosti (MSI) 65, PIK3Ca 40, te BRAF testiranja 200. Od toga neadekvatnih rezultata je bilo 10, 5 je bilo zbog greške u samim cartridgeima, dok ih je 5 bilo zbog pogrešnog rukovanja s uzorcima.

ZAKLJUČAK:

Molekularne analize izvode educirani inženjeri laboratorijske dijagnostike. S uzorcima moraju baratati pažljivo, u uvjetima sa sterilnim pomagalicama, i slijediti, tj. poštovati zadane protokole za pojedine testove te je samo tako moguće pravilno očitati nalaze i proslijediti liječnicima točne i pouzdane nalaze s kojima pacijenti mogu od onkologa dobiti ciljanu terapiju.

Ključne riječi: molekularna patologija, EGFR, KRAS, NRAS, BRAF, ALK i ROS1 fuzija, timski rad, Idylla Biocartis, citologija, patologija, solidni tumori, inženjeri medicinsko-laboratorijske dijagnostike

e-mail: zorana@kdb.hr

DIJAGNOSTIKA KARCINOMA PLUĆA U KLINIČKOJ BOLNICI DUBRAVA U 2024. GODINI

Matea Kos, Kristina Štingl, Anamaria Ferro, Zorana Lipšanski, Čedna Tomasović-Lončarić

Klinička bolnica Dubrava

Uvod:

Karcinom pluća jedan je od najučestalijih i najsmrtonosnijih malignih tumora u svijetu, s visokom incidencijom i često kasnom dijagnozom. U Hrvatskoj se kod muškaraca nalazi na drugom, a kod žena na trećem mjestu po učestalosti. Pravodobno otkrivanje i precizna dijagnoza od ključnog su značaja za uspješnu terapiju, posebice uz sve veći značaj molekularnih i imunoloških biljega u personaliziranom pristupu liječenju.

Cilj:

Prikazati učestalost i raspodjelu karcinoma pluća dijagnosticiranih u Kliničkoj bolnici Dubrava tijekom 2024. godine, analizirati korištene dijagnostičke metode i uzorke te evaluirati primjenu molekularne dijagnostike i prediktivnih biomarkera (PD-L1, ALK, ROS1, EGFR, MET) u kontekstu odabira terapije.

Metode:

Provedena je retrospektivna analiza bolničkih podataka za 336 pacijenata. Prikupljeni su podaci iz laboratorijskog sustava ISSA o vrstama uzoraka: citološki (pleuralni izljev, bris bronha četkicom, EBUS, CT i UZV punktati) i histološki (bronhoskopija, iglene biopsije, režanj pluća), rezultatima bronhoskopija, citologije, patohistologije te molekularnih testova. Uzorci su analizirani na mutacije i fuzije relevantnih onkogenih biomarkera. Kod dijela pacijenata uspoređena je izraženost PD-L1 između različitih tipova uzoraka.

Rezultati:

Adenokarcinom je bio najčešće dijagnosticirani podtip (162 pacijenta, 48%). Najzastupljeniji citološki uzorak bio je bris bronha četkicom (90 slučajeva), dok je režanj pluća bio najčešći histološki materijal (87 slučajeva). Molekularna analiza rađena je na 226 uzoraka, s pozitivnim nalazima u 37 slučajeva. Najčešća mutacija bila je EGFR L858R. Biomarkeri PD- L1, ALK i ROS1 analizirani su kod 136 pacijenata. Zabilježen je značajan nesrazmjer u izraženosti PD-L1 između citološkog (2 %) i patohistološkog (60 %) uzorka kod istog pacijenta. U osam od devet slučajeva gdje bronhoskopski uzorci nisu pokazivali tumorske stanice, citološki su bili dijagnostički dostatni.

Zaključak:

Rezultati pokazuju važnost korištenja više dijagnostičkih pristupa u evaluaciji karcinoma

pluća. Citološki uzorci imaju visoku dijagnostičku vrijednost, osobito kada su kirurški zahvati ograničeni. Molekularna dijagnostika i analiza biomarkera ključne su za odabir ciljane terapije i primjenu imunoterapije. Podaci potvrđuju potrebu za integriranim i personaliziranim pristupom, koji osigurava kvalitetniju dijagnostiku i bolji terapijski ishod.

Ključne riječi: karcinom pluća, patohistološki uzorci, citološki uzorci, personalizirana terapija

e-mail: matea.kos25@gmail.com

IZAZOVI U RADU NAŠEG CITOLOŠKOG LABORATORIJA

Marina Relatić, Ivana Lazar, Danijela Jurič

Odjel za patologiju, citologiju i sudsku medicinu, Opća bolnica Varaždin

Kvaliteta rada laboratorija odraz je stručnosti i predanosti laboratorijskog osoblja koje radi na održavanju točnosti, učinkovitosti i sigurnosti. Naš tim uspješno održava te standarde usprkos svim (ne)uobičajenim izazovima s kojima se susrećemo, a odgovarajuće priznanje i podrška omogućili bi nam daljnje unaprjeđenje.

Citološki laboratorij nalazi se u sklopu Odjela za patologiju, citologiju i sudsku medicinu Opće bolnice Varaždin. Naš multidisciplinarni tim sastoji se od šest osoba: dvije magistre medicinsko-laboratorijske dijagnostike, dvije prvostupnice medicinsko-laboratorijske dijagnostike, dvije laboratorijske tehničarke-citoskrinerice i jedne prvostupnice sestrinstva.

Jedna od magistra je i citotehnolog s položenim QUATE ispitom za skrining PAPAtestova, a druga će ove godine polagati QUATE. Jedna od dvije prvostupnice također se priprema za polaganje QUATE ispita, a druga radi na pola radnog vremena uz prvostupnicu sestrinstva koja radi u ambulanti i asistira prilikom punktiranja na odjelima. Dvije tehničarke- citoskrinerice koje su završile edukaciju imaju zadovoljene uvjete za mirovinu. Jedna skrini pape, a druga je na dugotrajnom bolovanju. Uz uobičajene probleme nepostojanja standardizirane edukacije na državnoj razini i nedostatka osoblja s kojima se svaki laboratorij susreće tijekom svog rada, mi unazad sedam godina nemamo ni stalnog liječnika citologa na odjelu. Zahvaljujući čak četvero vanjskih suradnika dobrobit naših pacijenata nije ugrožena.

Citološki je laboratorij organiziran svakodnevnim radom ambulate gdje se zaprimaju vanjski pacijenti s pretragama bris nosa i/ili iskašljaj na eozinofile, citološka analiza urina, razmaz periferne krvi, sputum citološki, eksprimat dojke, bris bukalne sluznice i dr. Osim ambulantnih, obrađuju se i uzorci hospitaliziranih pacijenata (likvor, aspirati, izljevi, brisevi, ispirci), rade se i punkcije palpabilnih tvorbi u ambulanti te punkcije pod kontrolom ultrazvuka na određenim odjelima (punkcija koštane srži, jetre, pluća, štitnjače, dojki, čvorova). Uslijed nedostatnog osoblja, bronhoskopski uzorci iz Službe za plućne bolesti i TBC Klenovnik obrađuju se u suradnoj ustanovi, Županijskoj bolnici Čakovec. Većina se uzoraka boji standardnim bojenjem po Pappenheimu (May-Grünwald i Giemsa), brisevi nosa i iskašljaji se boje modificiranom metodom po Giemsi s fosfatnim puferom po Weissu dok se VCE razmazi boje u automatskom bojaču standardnim bojenjem po Papanicolaou. Prema potrebi, uzorci se dodatno obrađuju imunocitokemijski, a od ove godine uveli smo i metodu staničnih blokova. Jedan od najvećih problema s kojim se trenutno susrećemo je to što osobna primanja nisu u skladu sa stupnjem obrazovanja i visinom odgovornosti. Magistre medicinsko-

laboratorijske dijagnostike rade kao prvostupnice, a priznavanje njihovih diplomi otvorilo bi prilike za preraspodjelu određenih odgovornosti i unaprjeđenje kvalitete rada laboratorija.

Najnovijom promjenom koeficijenata za obračun plaća u potpunosti su zanemarene dodatne edukacije i vještine koje citoskrinieri i citotehnolozi moraju savladati, ali i posebnosti dugotrajnog cjelodnevnog rada na mikroskopu.

Ključne riječi: citološki laboratorij, citotehnolozi, citoskrinieri, citologija, magistri medicinsko-laboratorijske dijagnostike

e-mail: marina.relatic1@gmail.com

PRIMJENA STANIČNOG MEDIJA, METANOLA I POLIETILEN GLIKOLA (PEG) U IMUNOCITOKEMIJSKOJ OBRADI CITOLOŠKIH UZORAKA

Sonja Gaćina Tomičić

Opća bolnica Pula

Imunocitokemija (ICC) predstavlja ključnu metodu u dijagnostici brojnih bolesti unutar područja citopatologije jer omogućuje identifikaciju i klasifikaciju stanica na temelju ekspresije određenih proteinskih markera, odnosno antigena. U usporedbi s imunohistokemijom, koja se primjenjuje na uzorcima tkiva, ICC omogućuje analizu pojedinačnih stanica iz razmaza, citospinova i drugih oblika citoloških preparata. Iako metoda pruža visoku dijagnostičku preciznost, njena primjena u praksi često je otežana zbog ograničene količine biološkog materijala, osobito kod aspirata dobivenih tankoiglenom punkcijom (FNA), kao i zbog nedostatka standardiziranih protokola za fiksaciju i obradu stanica.

U ovom radu prikazane su prednosti korištenja staničnog medija koji omogućuje dodatno prikupljanje staničnog materijala ispiranjem igle odmah nakon punkcije. Ova strategija značajno povećava količinu dostupnih stanica za ICC analizu i često otklanja potrebu za ponavljanjem invazivnog zahvata. Uz to, detaljno je opisan način pripreme i uporabe staničnog medija koji sadrži HYMANS PBS, EDTA, BSA, penicilin i gentamicin, uz preciznu regulaciju pH, čime se osigurava optimalno očuvanje staničnih struktura i antigena.

Dodatno, naglašena je važnost pravilne fiksacije metanolom, koji omogućuje istodobnu dehidraciju stanica i očuvanje morfoloških te imunoloških svojstava. Metanol učinkovito stabilizira stanične membrane i ne kompromitira epitopske strukture ključne za vezanje protutijela. U cilju dugotrajnog očuvanja kvalitete preparata koristi se 10% otopina polietilen glikola (PEG) koja formira zaštitni sloj na staklima te štiti stanice od sušenja, propadanja i kontaminacije.

Rezultati vanjske kontrole kvalitete ICC analize (UK NEQAS) dodatno potvrđuju učinkovitost primijenjenih metoda, pri čemu su uzorci fiksirani metanolom i pohranjeni u PEG-u dobili znatno bolje ocjene u odnosu na konvencionalne postupke.

Zaključno, sustavna primjena staničnog medija, metanola i PEG-a u obradi citoloških uzoraka doprinosi poboljšanju kvalitete preparata, povećava osjetljivost i specifičnost ICC metode te time podiže razinu dijagnostičke točnosti u citopatološkoj praksi.

Ključne riječi: imunocitokemija (ICC), citološki uzorci, fiksacija metanolom, stanični medij, polietilen glikol (PEG), citopatologija, citospin, antigenska ekspresija, citološka dijagnostika

e-mail: sonja.gacina.sg@gmail.com



SAŽECI / SUMMARIES

Hrvatske udruge citotehnologa



USMENE PREZENTACIJE

MODIFIKACIJA I PRILAGODBA RUTINSKE METODE BOJANJA PO PAPANICOLAU ZAMJENSKIM SUPSTITUTOM ZA KSILOL (NEOCLEAR) – PRIKAZ SLUČAJA

Domagoj Knebl-Buklijaš^{1,2}, Filip Petrik¹, Ivan Švagelj^{1,2}

¹Opća županijska bolnica Vinkovci, Odjel za patologiju i citologiju, Vinkovci, Hrvatska

²Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, Hrvatska

Uvod: Ksilol (dimetilbenzen) se dugo godina koristi u rutinskoj laboratorijskoj praksi citoloških laboratorija unatoč dokazanoj kancerogenosti i djelovanju na koštanu srž. Ova modifikacija i prilagodba dugo godina nezamjenjive kemikalije u standardnoj citološkoj metodi bojanja po Papanicolau je rezultat dugogodišnjeg iskustva u citološkom laboratoriju, jer standardna literatura ili nuputak proizvođača ne postoji. Konačan rezultat je adekvatno obojan preparat koji je pogodan za dijagnostičku citološku mikroskopsku analizu.

Cilj: Potaknuti iskustvima iz citoloških laboratorija Republike Hrvatske, koja su većinom nažalost do sada bila negativna u vezi korištenja zamjenskog supstituta Neoclear-a, odlučili smo se ustanoviti razlog neadekvatnih rezultata bojanja po Papanicolau i doći do rješenja problema kako bi upotrebu ksilola sveli na minimum ili ga potpuno ukinuli u rutinskoj laboratorijskoj praksi.

Rasprava: Zbog različite kemijske strukture ksilola (aromatski ugljikovodik) i Neoclear-a (alifatski ugljikovodik), različita je i tolerancija na prisutnost vode u preparatima. Kod ksilola, maksimalno je dozvoljeno do 7% vode, a kod Neoclear-a do 3% vode. Najbolji rezultati se postižu ako je voda potpuno eliminirana iz preparata koji se bojaju ovom metodom. Najčešće greške nastaju iz razloga jer apsolutni alkohol nije apsolutni, već sadrži vodu u tragovima zbog čuvanja i prelijevanja iz originalnih boca u kojima se inače čuva do upotrebe. Neoclear pokazuje još jedno karakteristično svojstvo: prilikom miješanja s apsolutnim alkoholom nakon 4 sata pokazuje tendenciju hlapljenja u različitim fazama, ovisno o temperaturi u laboratoriju i tada je u preparatima vidljiva „napuhnutosť“ stanica, koji nisu posljedica patoloških promjena u materijalu već su rezultat isključivo tehničke greške u bojanju.

Zaključak: S obzirom na navedeno, zaključuje se da je ispravna dehidracija ključ rješenja. Kako bi se uklonio razlog zbog kojega dolazi do neispravne dehidracije preparata u procesu bojanja, potrebno je reducirati korake u bojanju i modificirati standardnu metodu.



Ključne riječi: ksilol, neoclear, dehidracija, apsolutni etanol

e-mail: domagoj.knebl.buklijas@gmail.com

IMPLEMENTACIJA MOLEKULARNIH TEHNIKA NA ODJELU ZA CITOLOGIJU KBC SPLIT

Miran Židić

KBC Split

Uvođenje molekularnih tehnika u citološku dijagnostiku Odjela za citologiju KBC Split pomaklo je do sada poznate granice liječenja i otvorilo je nove mogućnosti personalizacije liječenja onkoloških pacijenata. Unutar Zavoda za patologiju, sudsku medicinu i citologiju već duže vrijeme postoji molekularna dijagnostika u dijelu molekularne patologije, na Odjelu za citologiju smo implementacijom sustava Idylla tvrtke Biocartis proširili panel dijagnostike primjenjiv na citološke uzorke. Paralelno s tim, u sklopu sustava BD SurePath (LBC – tekućinska citologija) uspješno smo implementirali PCR HPV test kao proširenje tehnika tekućinske citologije.

Molekularne tehnike u citološkoj dijagnostici su značajno unaprijedile preciznost i brzinu detekcije tumorskih promjena. Sustav Idylla je automatizirano rješenje koje pojednostavlja kompleksne laboratorijske procese i daje rezultat u roku nekoliko sati. Gledano sa tehničke strane, poštivajući zlatne standarde rada sa molekularnim tehnikama u kratkom vremenskom roku možemo dobiti klinički relevantnu i pouzdanu informaciju.

Sustav Idylla tvrtke Biocartis na Odjelu za citologiju koristimo pri detekciji mutacija kao što su EGFR, GeneFusion, BRAF i ThyroidPrint. Rezultati navedenih pretraga su ključni za odabir ciljane terapije.

Prednost sustava Idylla je jednostavnost u korištenju, brzina rada i mogućnost analize hipocelularnih uzoraka i uzoraka slabije kvalitete.

Ključne riječi: molekularna citologija, sustav Idylla, personalizacija liječenja

e-mail: miran.zidic@gmail.com

PREDANALITIČKA OBRADA CITOLOŠKIH MATERIJALA LBC METODOM U KBC-U SPLIT

Josip Ćosić

KBC Split

Predanalitička obrada citoloških materijala ključan je korak u procesu dijagnostike citoloških uzoraka, koji može značajno utjecati na kvalitetu i točnost finalnih rezultata. U Kliničko-bolničkom centru Split, metoda tekućinske citologije (engl. LBC – Liquid-Based Cytology) predstavlja moderni pristup analizi citoloških uzoraka, koja nudi brojne prednosti u odnosu na klasične metode pripreme uzoraka. LBC metoda omogućuje bolju očuvanost stanica, manji broj artefakata, te jednostavniju procjenu morfologije stanica. Također smanjuje rizik od kontaminacije ili neadekvatne pripreme uzoraka. Predanalitička obrada uključuje nekoliko ključnih koraka, poput pravilnog uzorkovanja, transporta uzoraka, te obrade u laboratoriju, koji su od presudne važnosti za osiguranje kvalitete analize. U okviru KBC Split, LBC metoda koristi se za obradu različitih vrsta citoloških uzoraka, uključujući Papa testove, urine, razne punkcije (npr. aspirati iz limfnih čvorova, štitnjače, dojke) te druge bolničke materijale. Svaka od ovih vrsta uzoraka zahtijeva specifičan pristup u predanalitičkom procesu, a pravilna obrada ključna je za postizanje točnih i pouzdanih dijagnostičkih rezultata. Rad se fokusira na izazove i specifičnosti predanalitičke obrade ovih različitih uzoraka u primjeni LBC metode u KBC Split, s naglaskom na standardizaciju postupaka, edukaciju zdravstvenih radnika i kontinuitet kvalitete obrade uzoraka. Cilj rada je pokazati značaj predanalitičke obrade u postizanju optimalnih dijagnostičkih rezultata, te uvođenje smjernica za daljnje unaprijeđenje kvalitete citoloških analiza u KBC Split.

Ključne riječi: LBC, papa test, predanalitika

e-mail: josip.cosic17@gmail.com

DETEKCIJA HPV INFEKCIJE VISOKOG RIZIKA U SUREPATH GINEKOLOŠKIM UZORCIMA

Petra Injac, Dinka Šundov

Odjel za kliničku citologiju, Zavod za patologiju, sudsku medicinu i citologiju, Klinički bolnički centar Split, Split, Republika Hrvatska

HPV je glavni uzrok karcinoma cerviksa i vodeći uzrok smrtnosti žena od ginekoloških karcinoma. Rani probir ključan je za sprječavanje bolesti.

U suvremenoj citološkoj i molekularnoj dijagnostici infekcije humanim papiloma virusom (HPV), poglavito u probiru i ranom otkrivanju premalignih i malignih lezija cerviksa, sve više se koriste uzorci dobiveni metodom tekućinske citologije (LBC- Liquid Based Cytology). Jedan od najraširenijih sustava u tu svrhu je SurePath tvrtke Becton Dickinson (BD).

Tijekom proteklog desetljeća, tekućinska citologija zamijenila je konvencionalnu citologiju u svrhu probira karcinoma cerviksa. Koncept tekućinske citologije (LBC) počeo se razvijati 1970-ih godina kao pokušaj automatizacije cervikalne citologije. Iako je pokušaj automatizacije bio neuspješan, ponajprije zbog tadašnje nedovoljno razvijene tehnologije i ograničenih mogućnosti računala, ideja o tekućinskoj citologiji nastavila se razvijati. LBC ima mogućnost proizvesti uzorak koji je potpuno reprezentativan te potencijalno lakši za analiziranje. Zamjena konvencionalnog PAPAtest LBC metodom predstavlja značajan korak prema modernizaciji citologije jer osim što povećava dijagnostičku točnost, također omogućava molekularno testiranje na HPV iz preostalog materijala. Od svog prvog uvođenja krajem 1990-ih, LBC metoda je brzo prihvaćena u mnogim laboratorijima kao značajno unapređenje u ginekološkoj citologiji. Danas postoji sve veća potražnja za LBC-om u dijagnostičkoj citologiji, osobito u praćenju endometralnih abnormalnosti te za dodatna testiranja poput imunocitokemije i molekularne dijagnostike.

Tekućinska citologija (LBC) predstavlja tehnologiju izrade preparata kojom se dobiva jednoslojni razmaz, a pokazala se boljom od konvencionalnog PAPArasmaza zahvaljujući boljem uzorkovanju, poboljšanoj fiksaciji, pročišćenom uzorku te standardiziranom prijenosu stanica na stakalce. LBC omogućuje čišći razmaz jer posebno razvijene metodologije uklanjaju najveći dio krvi, upalnih stanica i sluzi, što onemogućava adekvatnu analizu konvencionalnih razmaza. Bolje uzorkovanje posebno dizajniranim četkicama te „čišćenje“ uzorka smatra se jednim od glavnih razloga niže stope nezadovoljavajućih uzoraka u odnosu na konvencionalnu citologiju.

S metodom SurePath omogućeno je standardizirano i kvalitetno uzorkovanje pri čemu se uzorci prikupljaju potpunim uranjanjem četkice za uzorkovanje u bočicu (vial) s fiksativom i samim time se osigurava očuvanje morfologije stanica, smanjenje artefakata te stvaranje reprezentativnog preparata za citološku analizu. U koliko se koristi ova

metoda papa test i HPV test izrađuju se iz iste bočice tj. uzorka. Stoga prednost ove metode je i mogućnost primjene različitih testova iz istog uzorka, uključujući HPV testiranje.

Za HPV dijagnostiku iz SurePath uzoraka koriste se validirane molekularne metode, najčešće PCR testovi i hibridizacijske tehnike. Jedan od tih sustava je i sustav BD Viper LT koji provodi potpuno automatizirano molekularno testiranje na HPV pri čemu koristi uzroke dobivene SurePath metodom. Ove metode omogućuju pouzdanu detekciju i tipizaciju visoko rizičnih HPV genotipova, koji su izravno povezani s nastankom karcinoma cerviksa.

Prednosti SurePath sustava uključuju:

visoku kvalitetu citoloških preparata, smanjenje broja neadekvatnih uzoraka, mogućnost istodobne promjene citologije i HPV testiranja te dugotrajnu stabilnost uzoraka za daljnje analize.

Sa uvođenjem SurePath metode i HPV testiranja u rutinsku praksu postiže se integrirani pristup probiru cervikalnih lezija, što uvelike doprinosi ranom otkrivanju i smanjenju učestalosti karcinoma cerviksa.

Ključne riječi: SurePath metoda Tekućinska dijagnostika HPV dijagnostika

e-mail: pinjac@kbsplit.hr

MORFOLOŠKE OSOBITOSTI RAZMAZA PERIFERNE KRVI U BOLESNIKA S DENG GROZNICOM

Mirjana Stupnišek^{1,2}

¹Klinika za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“, Mirogojska 8, Zagreb, Hrvatska

²Fakultet za dentalnu medicinu i zdravstvo, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Crkvena 21, Osijek, Hrvatska

Cilj: Denga groznica (denga, engl. Dengue) je najrasprostranjenija virusna bolest koju prenose uglavnom komarci iz roda *Aedes aegypti* i *Aedes albopictus* te je važan uzročnik morbiditeta i mortaliteta diljem svijeta. Uzrokovana je virusom dengue (DENV), RNA virusom iz porodice Flaviviridae. Kao posljedica globalnog zatopljenja, pojačane migracije stanovništva, ali i migracije vektorskih komaraca, denga se iz zemalja tropskog podneblja, proširila na veliki dio Kine, zemlje Pacifika, Ameriku, ali i na južne dijelove Europe pa tako i na Hrvatsku.

Iako su humoralni imunološki odgovori tijekom primarnih i sekundarnih DENV-infekcija dobro istraženi, utjecaj DENV- infekcije na podskupove B stanica nedovoljno je opisan, stoga se malo zna o poliklonalnoj plazmacitozi periferne krvi u bolesnika zaraženih DENV-om. Plazmacitoza u perifernoj krvi bolesnika rijedak je nalaz. Najčešće je povezana s leukemijom plazma stanica, a rijetko sa zaraznim bolestima i virusnim infekcijama. Cilj ovog istraživanja je prikazati laboratorijske nalaze, posebice morfološke osobitosti razmaza periferne krvi, tijekom DENV-infekcije te utvrditi pojavnosti plazmacitoze u istima.

Ispitanici i metode: U istraživanje su uključeni odrasli bolesnici oba spola, s potvrđenom dijagnozom denge, liječeni u Klinici za infektivne bolesti “Dr. Fran Mihaljević” u Zagrebu. Podaci o bolesnicima su, uz odobrenje Etičkog povjerenstva Klinike, prikupljeni iz njihovih povijesti bolesti. Vrijednosti hematoloških parametara analizirane su na automatskom hematološkom analizatoru UniCel DxH 800 Beckman Coulter, a morfološka analiza razmaza periferne krvi obojenih metodom May-Grünwald-Giemsa, učinjena na svjetlosnom mikroskopu Olympus BX51TF, pod povećanjem od 1000x. Dobiveni rezultati statistički su obrađeni, korištenjem programskog paketa Microsoft Excel 2019 MSO (16.0.10364.20059).

Rezultati: Ukupno su analizirane 53 krvne slike, u razdoblju od drugog do 23. dana bolesti, od kojih je mikroskopska analiza krvnog razmaza učinjena 14 puta. Trombocitopenija je prisutna u krvnoj slici od trećeg do devetog dana bolesti, a najniža prosječna vrijednost broja trombocita zabilježena je osmog dana bolesti. Leukocitopenija je prisutna od trećeg do šestog dana bolesti, a najniža je u prosjeku šestog dana. Limfocitopeniju nalazimo drugog dana bolesti. Reaktivne limfocite nalazimo u većini analiziranih razmaza, a najviše prosječne vrijednosti zabilježene su devetog dana bolesti. Plazma stanice su pronađene u bolesnika kojima je mikroskopska krvna slika rađena



između šestog i desetog dana bolesti. Plazmacitoza je najizraženija krajem prvog tjedna bolesti i potpuno nestaje u roku 14 dana od pojave simptoma. Provedenim je istraživanjem utvrđeno da uz trombocitopeniju, leukocitopeniju i limfocitopeniju te manifestirane kliničke simptome, plazmacitoza je jedan od ključnih pokazatelja DENV-infekcije.

Zaključak: Plazmacitoza tijekom DENV-infekcije je prolazna i moguće ju je utvrditi samo pažljivim mikroskopskim pregledom razmaza periferne krvi te je od iznimne važnosti pratiti njezinu pojavnost kod potvrđivanja dijagnoze denga. Poznavanje kliničkih i laboratorijskih osobitosti denga groznice važno je kako bismo dengue razlikovali od drugih bolesti i (ili) izbjegli nepotrebnu obradu hematološke neoplazme.

Ključne riječi: denga groznica, morfološke osobitosti, plazmacitoza, razmaz periferne krvi, virus dengue, DENV

e-mail: mstupnisek@bfm.hr

POSTER PREZENTACIJE

UPOTREBA STANIČNOG BLOKA (CELL BLOCK DISC-a) U CITOLOŠKOJ ANALIZI ASCITESA

Viktorija Švenčbir Popovski, Ines Krivak

KB Merkur

U ovom prikazu slučaja cilj nam je predočiti značaj i dijagnostičku vrijednost korištenja metode staničnog bloka u obradi i dijagnostici tekućih uzoraka na primjeru citološke analize ascitesa. Kod sumnje na maligni ascites, citološka analiza predstavlja važni dijagnostički alat zbog brzine i točnosti u detektiranju malignih stanica u uzorku. Uključivanjem dodatnih metoda, poput staničnog bloka, još više se poboljšava točnost dijagnoze osobito u slučajevima gdje su standardni razmazi nedostatni za dijagnozu zbog malog broja raspoloživih stanica. Predstavljamo slučaj pacijentice (1957.g) sa kliničkom sumnjom na zloćudnu novotvorinu, čiji smo uzorak ascitesa dobili za analizu. Po primitku uzorka u laboratorij isti je obrađen u centrifugi Hermle na 1500 okretaja / 10 min te se od dobivenog sedimenta napravilo više citoloških razmaza. Razmazi su obojani standardnim metodama po Papi i MGG-u. Rezervni razmazi su iskorišteni za imunocitokemijsko bojenje sa CK-7, CK-20 i VIM protutijelima, a rezidualni sediment se upotrijebio za izradu staničnog bloka. Sediment smo ukapali u Cell block disk promjera 12 mm i nakon što se disk natopio sadržajem, stavili ga u kazetu pripremljenu za fiksaciju. Nakon četverosatne fiksacije u 4 % formalinu, uslijedila daljnja obrada u patohistološkom laboratoriju po protokolu obrade biopsata. Iz parafinske kocke izradilo se više histoloških rezova koji su korišteni za dodatna imunohistokemijska bojanja. Uz sugestiju patologa, dodatno bojenje je obuhvaćalo bojanje s BerEP4 i CK5 protutijelima za potvrdu epitelnog podrijetla tumora, a calretinin i D2-40 za mezotelno podrijetlo procesa, uz dodatno bojanje na p53. Uzorci su nakon bojenja dostavljeni na analizu. U razmazima sedimenta ascitesa obojenim standardnim bojanjem po Papi i MGG nađene su uglavnom pojedinačne maligne stanice koje tek mjestimično formiraju manje papilarne nakupine. Rezultati imunocitokemijskog bojenja na CK7 je pokazalo pozitivnu reakciju, a CK20 bojanje je bilo negativno. Bojanje vimentinom je dalo pozitivnu reakciju, ali u postavljanju konačne dijagnoze nije dalo specifičan doprinos. Imunohistokemijska bojanja na BerEP4, CK 5 su pokazale pozitivne reakcije bojanja, a reakcija bojanja na D2 -40 i calretinin su bile negativne čime je isključeno mezotelno podrijetlo neoplastičnog procesa. Bojanje na p53 je pokazalo negativnu reakciju i gubitak supresije onkogenog p53. Konačno mišljenje je bilo da se, s obzirom na morfologiju stanica i rezultate imunocitokemijskog i imunohistokemijskog bojenja, radi o malignom procesu najvjerojatnije epitelnog podrijetla, što je bilo važno zbog daljnjeg određivanja tipa i vrste terapije. Zaključujemo da metoda staničnog bloka predstavlja korisnu dopunu standardnim citološkim metodama jer pruža mogućnost dobivanja većeg broja razmaza

za dopunske dijagnostičke testove. Priprema preparata staničnog bloka je jednostavna, koristi se standardna oprema histološkog i citološkog laboratorija što ne poskupljuje cijeli postupak obradu uzorka a stanične strukture ostaju sačuvane i u dostatnom su broju za pouzdanost analize čime je povećana točnost i pouzdanost dijagnoze.

Ključne riječi: ascites, stanični blok, imunocitokemijsko i imunohistokemijsko bojenje

e-mail: vspopovski@gmail.com

ABNORMALNI NALAZI PAPA TESTA KOD POSTMENOPAUZALNIH ŽENA

Marijana Baburić, Sanja Rakek Novak, Ines Krivak Bolanča, Karmela Šentija, Suzana Katalenić Simon

KB Merkur

Cilj rada: je odrediti i usporediti učestalost abnormalnih nalaza Papa testa kod žena od 55 te iznad 65 god života. Materijali i metode: U istraživanje je uključen ukupan broj citoloških razmaza posmenopauzalnih žena dobivenih iz suradnih ginekoloških ambulanti tijekom godine dana. Primljeni uzorci su obrađeni i obojani standardiziranom metodom po Papanicolaou. Analizirani su i klasificirani od strane citotehnologa i liječnika po „Bethesda“ klasifikaciji iz 2014.g.

Izdvojeni su svi abnormalni nalazi, klasificirani po pojedinim stupnjevima abnormalnosti, te posebno u obje grupe. Rezultati: Od ukupnog broja Papa razmaza (23744) tijekom godine dana izdvojeno je 32,45% (7706/23744) razmaza postmenopauzalnih žena, od kojih je 52,4% (4040/7706) starije od 65 godina. Ukupno je 4,36% (336/7706) pacijentica imalo prisutne abnormalnosti epitela. Od toga je 94,9% pacijentica imalo promjene na pločastom epitelu i to: blažu atipiju (ASCUS) 33,54% (107/319) a displaziju nižeg stupnja (LSIL) njih 45,76% (146/319). Među promjenama težeg stupnja kod 5,33% (17/319) su opisane promjene za CIN II te u 2,82% (9/319) slučaja za CIN III. Dijagnoza ASCUS-H je postavljena kod 0,94% (3/319) pacijentica. Ostale atipije pločastog epitela su obuhvaćale atipične postradijacijske promjene i promjene atipične reparacije te atipičnu hiperplaziju stanica rezerve a nađene su kod 11,59% (37/319) pacijentica. Ukupno 5,05% (17/336) pacijentica je imalo promjene na cilindričnom epitelu. Među njima je kod 52,94% (9/17) dijagnosticiran AGC-NOS. Kod jednakog broja pacijentica 23,5% (4/17) postavljena je dijagnoza AGC-NEO i dijagnoza adenocarcinoma, od toga je u tri slučaja adenokarcinom bio endometralnog te u jednom slučaju ekstrasuterinog podrijetla.

Kod pacijentica starijih od 65god. nađene abnormalnosti epitela zabilježene su češće na cilindričnom 58,8% (10/17) u odnosu na pločasti epitel 30,7% (9/319).

Kod žena do 65 g, su češće blaže promjene na pločastim stanicama 51,09% (163/319). Visoki broj ASCUS-a se može objasniti nedostatkom jednoznačnih morfoloških karakteristika za ASCUS i citološkoj slici hormonalnog disbalansa. U narednim citološkim kontrolama više od polovice 52,33% (56/107) nalaza ASCUS-a se negativiziralo, 25,23% (27/107) pacijentica smo izgubili iz kontrole, a kod 12,14% (13/107) je nalaz perzistirao tijekom naredne godine. Do progresije nalaza došlo je kod 10,28% (11/107) pacijentica. Zaključak: Od ukupnog broja abnormalnih nalaza kod žena u postmenopauzi učestalije su promjene na pločastom epitelu. Kod žena ispod 65-te god. su učestalije promjene

blažeg stupnja dok kod pacijentica starijih od 65.g. su učestalije teže abnormalnosti (HSIL i karcinomi) i to i na pločastom i cilindričnom epitelu. Takvi nalazi ukazuju na potrebu redovitih citoloških kontrola i nakon 65. godine života. Degenerativne promjene u postmenopauzi se ponekad teško mogu odvojiti od morfoloških promjena kod displazija. To uključuje promjene u veličini i obliku stanica, a ponekad i u distribuciji kromatina. Stoga je važno pravilno interpretirati promjene u Papa testu u kontekstu starosti pacijentice, anamnestičkih podataka kao i drugih kliničkih faktora te nastaviti s redovitim citološkim kontrolama i nakon menopauze.

Ključne riječi: Postmenopauza, Papa test, abnormalnost

e-mail: marijana.baburic@inet.hr

CITOLOŠKA OBRADA LIKVORA U OPĆOJ BOLNICI "DR. J. BENČEVIĆ" U SLAVONSKOM BRODU

Diana Tadić-Mendelski

Opća bolnica "Dr. Josip Benčević" Slavonski Brod

Uvod

Cerebrospinalna tekućina (likvor) bistra je tekućina koja okružuje mozak i kralježničnu moždinu, štiti ih od mehaničkih oštećenja te prenosi hranjive i imunološke tvari. Kod odraslih volumen iznosi oko 140 mL, a kod djece 60-100 mL, a u potpunosti se obnavlja svakih 4-7 sati. Za dijagnostiku se najčešće uzima lumbalnom punkcijom. Citološka analiza likvora omogućuje otkrivanje i praćenje upalnih, infektivnih i malignih bolesti središnjeg živčanog sustava.

Materijali i metode

Analiza obuhvaća:

- brojanje stanica u Fuchs-Rosenthalovoj komorici
- pripremu preparata centrifugiranjem
- bojenje po MGG metodi (May-Grünwald i Giemsa)
- diferenciranje stanica na povećanju 1000×

Uzorak se mora obraditi unutar jednog sata nakon punkcije zbog brze promjene pH i propadanja stanica. Za obradu je potrebno minimalno 2 mL likvora.

Patološki nalazi

Povišen broj stanica (pleocitoza) ukazuje na bolest:

- Bakterijski meningitis – porast neutrofila
- Virusni meningitis – porast limfocita
- Paraziti ili alergije – eozinofili
- Malignitet – prisutnost tumorskih stanica

Zaključak

Citološka analiza likvora brza je, jednostavna i pouzdana metoda za otkrivanje infekcija, krvarenja i malignih bolesti CNS-a. Pravodobna obrada i pravilna interpretacija rezultata ključne su za točnu dijagnozu i odabir terapije.

Ključne riječi: Likvor, Fuchs-Rosenthalova komorica, meningitis

e-mail: dianamendelski@gmail.com

USPOREDBA POSTUPKA I REZULTATA IMUNOCITOKEMIJSKOG BOJENJA NA NEOBOJENIM I UZORCIMA PRETHODNO OBOJENIM PO PAPANICOLAOU

Danijela Baždarić, Gordana Naglić, Danijela Vrdoljak-Mozetič

Klinički bolnički centar Rijeka

Cilj: prikazati tehničku pripremu i postupak imunocitokemijskog (ICK) bojenja na neobojenim citološkim preparatima i na preparatima prethodno obojenim po Papanicolaou. Također, prikazat će se primjeri obojenih uzoraka pomoću obje metode. Materijal i metode: analizirani su rutinski citološki uzorci punktata i tjelesnih tekućina. Korištena je ICK metoda ENVISION FLEX DAB + Substrat Chromogen System (DAKO OMNIS). Bojenje je izvršeno ručno. Neobojeni uzorci su fiksirani sušenjem na zraku, a potom u hladnom acetonu.

Uzorci obojeni po Papanicolaou obojeni su standardnim protokolom u automatskom bojaču. Prije imunocitokemijskog bojenja provjereva se stanični sastav i kvaliteta fiksacije. Uklanja se pokrovnica, a slijede inkubacija u xylenu, rehidracija provođenjem kroz alkohole padajućih koncentracija, od apsolutnog do 25%-tnog etanola, zaključno s destiliranom vodom.

Kod prikaza nuklearnih antigena, vrši se termička obrada razmaza u odgovarajućem puferu na 100 celzijevih stupnjeva za obje metode. Svi reagensi uključujući i protutijela temperiraju se na sobnu temperaturu prije upotrebe.

Protokol imunocitokemijskog bojenja: 1. Blokiranje endogene peroksidaze, 2. Primarno protutijelo, 3. Sekundarno protutijelo obilježeno peroksidazom, 4. DAB kromogen. Nakon svakog od ovih koraka razmazi se ispiru TRIS puferom za ispiranje. Slijedi kontrastno bojenje hematoksilinom, ispiranje vodovodnom i destiliranom vodom te uklapanje medijem na bazi vode.

Rezultati: dobiven je jasno pozitivan nalaz testiranih staničnih antigena u obje metode. Bojenje i jasnoća intenzivniji su kod uzoraka obojenih po Papanicolaou.

Uočili smo da ICK bojanje iz obojenih uzoraka uspijeva isključivo ako je preparat prethodno dobro fiksiran u alkoholu.

Zaključak: oba bojenja pogodna su za interpretaciju. Intenzivniji prikaz je u prethodno obojenim uzorcima. Prednost imunocitokemije na prethodno obojenim uzorcima je mogućnost vizualizacije ciljnih stanica za odabir najkvalitetnijeg uzoraka za testiranje.

Ključne riječi: imunocitokemija

e-mail: d.bazdaric@yahoo.com

HPV TESTIRANJE U LABORATORIJSKOJ PRAKSI: USPOREDBA SUSTAVA COBAS 4800 I BD ONCLARITY

Tina Markanjević, Matea Cvitan, Damjana Verša Ostojić

Klinički zavod za patologiju i citologiju, Klinički bolnički centar Rijeka, Rijeka

Humani papiloma virus (HPV) smatra se glavnim uzročnikom nastanka raka vrata maternice, a molekularno testiranje na visokorizične tipove HPV-a važan je alat u probiru i praćenju uspjeha liječenja. Cilj rada je usporediti primjenu sustava Cobas 4800 i BD Onclarity u citološkom laboratoriju KBC Rijeka. Oba sustava su validirana za kliničku upotrebu i potpuno automatizirana. Koriste real-time PCR metodu na principu izolacije, amplifikacije i detekcije ciljane DNK upotrebom odgovarajućih početnica i sonde označene fluorescentnim indikatorom. Fluorescentni signal generiran tijekom amplifikacije omogućuje preciznu identifikaciju prisutnih visokorizičnih genotipova u stvarnom vremenu.

Cobas 4800 parcijalnom genotipizacijom detektira 14 visokorizičnih HPV tipova i to pojedinačno tip 16 i 18 te grupno 12 ostalih visokorizičnih tipova uključujući tipove 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 i 68. Prag pozitivnosti se određuje na temelju vrijednosti cikusa (CT – cycle threshold). Rezultat testa se prikazuje kao “pozitivan” ili “negativan” bez navođenja konkretnih CT vrijednosti koje su definirane internim algoritmom. U istom PCR ciklusu simultano se amplificira i gen β -globin, kako bi se provjerila kvaliteta uzorka i pouzdanost testa. Uzorci se uzimaju u ThinPrep bočice. Bočice se moraju ručno odčepiti prije stavljanja u aparat Cobas 480x koji vrši automatsku izolaciju DNK. Nakon toga se mikrotitarska ploča s DNK uzorcima, reagensi i kontrole stavljaju u Cobas Z480 (PCR) u kojem se odvija amplifikacija i detekcija ciljane DNA. Sustav u jednom ciklusu analizira 94 uzorka za što je potrebno oko 4 sata. Uzorci u ThinPrep mediju su stabilni 6 tjedana na sobnoj temperaturi.

BD Onclarity proširenom genotipizacijom detektira 14 visokorizičnih HPV tipova i to pojedinačno tipove 16, 18, 31, 45, 51, 52 dok je preostalih osam tipova podijeljeno u tri genotipske grupe: P1 (33/58), P2 (56/59/66) i P3 (35/39/68). Rezultat testa se prikazuje kao „pozitivan” ili „negativan” uz nalaz CT vrijednosti u izvještaju za svaki testirani tip. β -globin gen koristi se za provjeru kvalitete uzorka. Uzorci za testiranje uzimaju se u SurePath bočice. Uzorci se zagrijevaju u BD Pre-warm grijaču koji služi za otapanje sluzi, homogenizaciju uzorka te za liziranje stanica i otpuštanje DNK. Začepljeni uzorci se zatim stavljaju u potpuno automatizirani, zatvoreni sustav Viper LT gdje se prenose u epruvete za ekstrakciju DNK koje sadrže željezov-oksidi u topivom filmu. Postupak uključuje dodavanje kiseline koja smanjuje pH i stvara se pozitivan naboj na željezo-oksidu kako bi se vezao za negativne čestice DNK. Čestice i DNK se magnetima vežu za stijenke epruveta dok se nevezani (otpadni) materijal aspirira. Pomoću pufera za eluciju izolira se pročišćena DNK, a pufer za neutralizaciju omogućava optimalnu amplifikaciju. Uzorci se zagrijevaju pri čemu se omogućuje specifična hibridizacija

početnica.

Reakcija se prenosi u PCR gdje se vrši amplifikacija i detekcija DNK. Sustav Viper LT u jednom ciklusu analizira 30 uzoraka za što je potrebno oko oko 4 sata. Uzorci u Sure Path čašicama su stabilni 30 dana na sobnoj temperaturi te još 6 mjeseci u hladnjaku. Zaključno, sustav Cobas 4800 karakterizira visok kapacitet po testiranju, što omogućuje obradu velikog broja uzoraka ali se odvija u dva odvojena koraka, izolacija i PCR. BD Onclarity, iako nešto manjeg kapaciteta, nudi potpuno kontinuiran radni tijek s minimalnim ručnim postupcima. Prednost Onclarity metode je proširena genotipizacija visokorizičnih HPV tipova, koja omogućuje precizniju stratifikaciju rizika za razvoj ili postojanje HSIL i težih lezija.

Ključne riječi: hpv, cobas, onclarity

e-mail: tina.markanjevic@gmail.com

LIŠMANIOZA U KOŠTANOJ SRŽI KOD BOLESNIKA S HIV INFEKCIJOM - PRIKAZ SLUČAJA S RECIDIVOM

Martina Firić¹, Katarina Pajtak¹, Anamarija Vitko Havliček¹, Martina Kramar¹, Anamarija Pernjek², Valerija Miličić^{1,2}

¹Klinika za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević", Zagreb, Hrvatska

²Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet, Osijek, Hrvatska

Lišmanioza je zoonoza uzrokovana protozomom roda *Leishmania*, a prenosi se ubodom pješčanih mušica iz roda *Phlebotominae*. Razlikujemo tri klinička oblika: kožni, mukokutani i visceralni. Najteži oblik, s pojavom parazita u koštanoj srži, slezeni i jetri, naziva se visceralna lišmanioza (kala-azar). Ona je ujedno i jedna od oportunističkih infekcija u HIV- pozitivnih bolesnika, dodatno komplicirajući njihovu kliničku sliku. U našim je krajevima lišmanioza rijetka, a zbog nespecifičnih simptoma – poput febrilnosti, hepatosplenomegalije, gubitka tjelesne težine i pancitopenije – dijagnoza se često ne postavlja pravovremeno.

Prikazujemo slučaj muškarca rođenog 1939. godine, kod kojega su simptomi do postavljanja dijagnoze HIV bolesti i viscerarne lišmanioze trajali godinu dana s gubitkom više od 20 kilograma, povremenim febrilitetima i pancitopenijom. U tom je razdoblju više puta hospitaliziran u različitim ustanovama zbog urtikarije, eksudativnog pleuritisa (suspektan TBC), analne fisure, aftoznog stomatitisa te sumnje na eozinofilni granulom pluća i angioedem. Nakon suspektnog anti-HIV testa 1996. godine premješten je u Kliniku za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević". Tijekom petomjesečne hospitalizacije bolest je bila obilježena atakama febriliteta, a povremeno se javljala i orofaringealna kandidijaza, uz epizodu CMV-viremije. Anemija i leukopenija su se postupno pogoršavale te je nakon ultrazvučno dijagnosticirane hepatosplenomegalije učinjena punkcija koštane srži, u kojoj su mikroskopski uočeni brojni amastigotni oblici *Leishmania* spp. Primjenom pentostama kroz pet tjedana postignuta je remisija, ali dolazi do recidiva dvije godine kasnije. Pacijent je hospitaliziran zbog moguće infekcije kavalnog katetera. Pri prijemu se učini punkcija koštane srži te se nađe hipocelularna koštana srž bez prisustva parazita. Također, kultura na lišmanije prispijeva negativna. Tijekom četiri tjedna hospitalizacije bolesnik postaje ponovo febrilan u nepravilnim razmacima. Registrira se recidiv CMV retinitisa na lijevom oku. Ponovi se punkcija koštane srži te se mikroskopski vizualiziraju paraziti lišmanije, što je naknadno potvrđeno i kulturom. Punkcija koštane srži, osim što omogućuje procjenu hematopoeze, ostaje jedan od prvih alata u dijagnostici rijetkih, ali potencijalno ozbiljnih parazitarnih infekcija poput visceralne lišmanioze. Ovaj slučaj naglašava važnost razmatranja lišmanioze u diferencijalnoj dijagnozi kod imunokompromitiranih bolesnika.

Ključne riječi: koštana srž, lišmanioza, HIV, recidiv

e-mail: martina.firic@gmail.com

PRIKAZ SLUČAJA: MIKROFILARIJAZA KOD ŽENE NAKON BORAVKA U TROPSKIM PODRUČJIMA

Katarina Pajtak¹, Martina Firić¹, Anamarija Vitko Havliček¹, Martina Kramar¹, Valerija Miličić^{1,2}, Anamarija Pernjak²

¹Klinika za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević", Zagreb, Hrvatska

²Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet, Osijek, Hrvatska

Mikrofilarija predstavlja larvni oblik filarijidnih nematoda iz porodice Filariidae, tankih, okruglastih parazitskih crva. Primarni domaćini su domaći mesojedi (psi i mačke), dok su vektori prijenosa na čovjeka hematofagni insekti, najčešće ženke komaraca koje su prethodno bile u kontaktu s inficiranim životinjama. Budući da je riječ o zoonози, ljudi se smatraju slučajnim domaćinima. Parazit najčešće parazitira u limfnom sustavu, krvožilnom sustavu ili potkožnom tkivu. Klinička slika može uključivati nespecifične simptome poput umora, blagog kašlja, bolova u plućima te pojavu potkožnih čvorića, osobito na licu, vjedaма, trupu i ekstremitetima. Povijesno, bolest je najčešće registrirana na mediteranskom području, no s obzirom na globalna kretanja, sve se češće dijagnosticira i nakon putovanja u tropske i subtropske krajeve. Liječenje uključuje kirurško odstranjenje čvorića te primjenu antiparazitarne terapije.

Prikazujemo slučaj ženske osobe rođene 1970. godine. Tijekom 1996. godine boravila je u Dominikanskoj Republici, Kuala Lumpuru i Australiji. U Kliniku za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“ javlja se u lipnju 2024. godine zbog izraženog umora i bolova u aksilarnoj regiji te navodi da joj se češće na različitim lokacijama javlja Herpes zoster koji povezuje s bolnim crvenim „flekama“ koje ostaju nakon istog. Kliničkim pregledom uočena je nespecifična ružičasta makula, nepravilnog ovalnog oblika veličine 1 x 1,5 cm, na desnoj nadlaktici. U anamnezi navodi da je siječnju 2024. u KBC-u Rijeka podvrgnuta operativnom zahvatu zbog kvržice smještene u masnom tkivu lijeve nadlaktice. Histološkom analizom operativnog uzorka utvrđen je reaktivni limfni čvor s prisutnošću parazita i izraženom eozinofilnom infiltracijom. U istom razdoblju je zabilježena relativna te često i apsolutna eozinofilija u perifernoj krvi. Nakon ekscizije limfnog čvora i terapije albendazolom apsolutna eozinofilija je regredirala. Nalaz u veljači ultrazvučno otkrivene ciste jetre potvrđen je kompjutoriziranom tomografijom u travnju, kada je cista bila promjera 26 mm bez jasnih parazitarних morfoloških karakteristika. Ponovi se serologija na Echinococcus, Toxocara spp, Strongyloides, cisticerc i Trichinella spiralis koja je negativna, dok serologija na filarije ostaje stagnantno pozitivna. Budući da u opisu patohistološkog nalaza nije navedena približna veličina uočenih parazita nije bilo moguće precizno zaključiti o kojem se parazitu radi te se zbog pozitivne serologije i pada eozinofilije nakon zahvata i terapije zaključuje da se vjerojatno radilo o dirofilariozi, pri čemu se totalna kirurška ekscizija smatra izlječenjem. Zbog toga nije indicirana antiparazitna terapija. Očekivao se postupan



pad eozinofilije nakon tri mjeseca te negativizacija serologije kroz više godina. No, za nepuna dva mjeseca pacijentica se javlja u Kliniku zbog nalaza periferne eozinofilije (u diferencijalnoj krvnoj slici 20 %, dok je apsolutni broj iznosio $1670 \cdot 10^9 / L$) uz blažu neutropeniju. Navodi epizodičnu pojavu migrirajućih, bolnih makularnih promjena (fleka) na desnoj ruci koje spontano nestaju unutar 2–3 dana. Pacijentica se naručuje između 23 i 24 sata na vadenje krvi. Mikroskopskom analizom uzorka guste kapi krvi uočene su tri larve koje morfološki odgovaraju mikrofilarijama. Radi se o slučaju mikrofilarijaze s mogućom reaktivacijom latentne infekcije, stečene tijekom ranijeg boravka u tropskim krajevima. Prisutnost eozinofilije, migrirajućih kožnih manifestacija, histološki potvrđen parazit u limfnom čvoru te mikroskopski potvrđene mikrofilarije u krvi potvrđuju dijagnozu. Kod sumnje na istu potrebno je učiniti više pregleda krvi i voditi računa o vremenu uzimanja uzorka.

Ključne riječi: Mikrofilarija, eozinofilija

e-mail: katarina.pajtak@gmail.com

STANIČNI BLOK - DISK METODA

Renata Peša, Sandra Šlegl, Monika Ulamec

Klinika za tumore Zagreb, Ilica 197, KBC Sestre milosrdnice, Vinogradska cesta 29

Stanični blok je metoda obrade sedimenta tekućeg uzorka ili uzorka koji je dobiven punkcijom tankom iglom. Dobiveni materijal se nakon obrade uklapa u parafinski blok, te se boja metodom bojanja po hemalaun-eozinu. Iako je prva metoda i analiza staničnog bloka izvedena prije više od jednog stoljeća, šira primjena je počela sredinom prošlog stoljeća. Prednost metode je očuvanje arhitekture i strukture tkiva, te mogućnost dodatnog bojanja i imunocitokemijske analize.

Za analizu su pogodne različite vrste citoloških uzoraka: eksfolijativni (urini, izljevi...), uzorci dobiveni četkicom ili struganjem (plućni, gastro...), uzorci aspiracijske citologije (punktati limfnog čvora...).

Za stanične blokove koristimo diskove od 6 i 12 mm. Donešene uzorke centrifugiramo, uklonimo tekućinu, te u sediment ubacimo disk, koji se nakon 10 minuta stavlja u kazeticu i u posudu s formalinom.

Ključne riječi: Stanični blok, disk metoda, citološki uzorci

e-mail: renata.pesa@kbcsbm.hr