



Diagnostika ložiskových lézí kostí: možnosti zpracování, vliv dekalcifikace

IVA ZAMBO

I. ÚP FN u sv. Anny v Brně a LF MU

Dekalcifikace

- odstranění Ca^{2+} solí mikrotomem

- je ovlivněna:

- množstvím mineralizovaného materiálu
 - *množstvím materiálu (pečlivé přikrojení)*
 - *kortikální / sklerotická kost X spongióza / kost s osteolýzou*
- zvolenou metodou dekal. a časem expozice dekal. činidlu
- teplotou
- pH
- UZV...



Problémy dekalifikace

- **RYCHLOST** – diagnostické účely
- **ŠETRNOST**
 - zachování morfologie tkáně a cytologických detailů
 - zachování Ag míst (IHC)
 - **kvalitní DNA** (molekulárně-genetické metody X autofluorescence kostních trabekul!!)

Metody dekalifikace

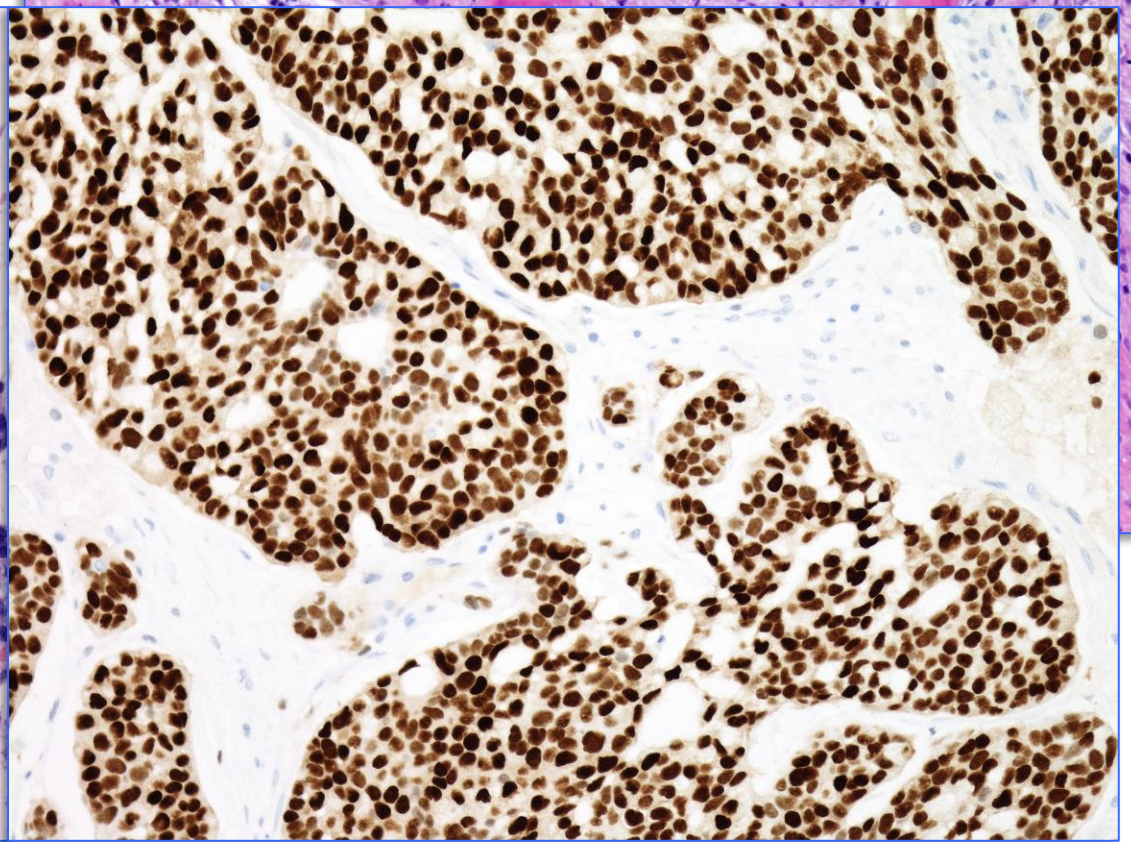
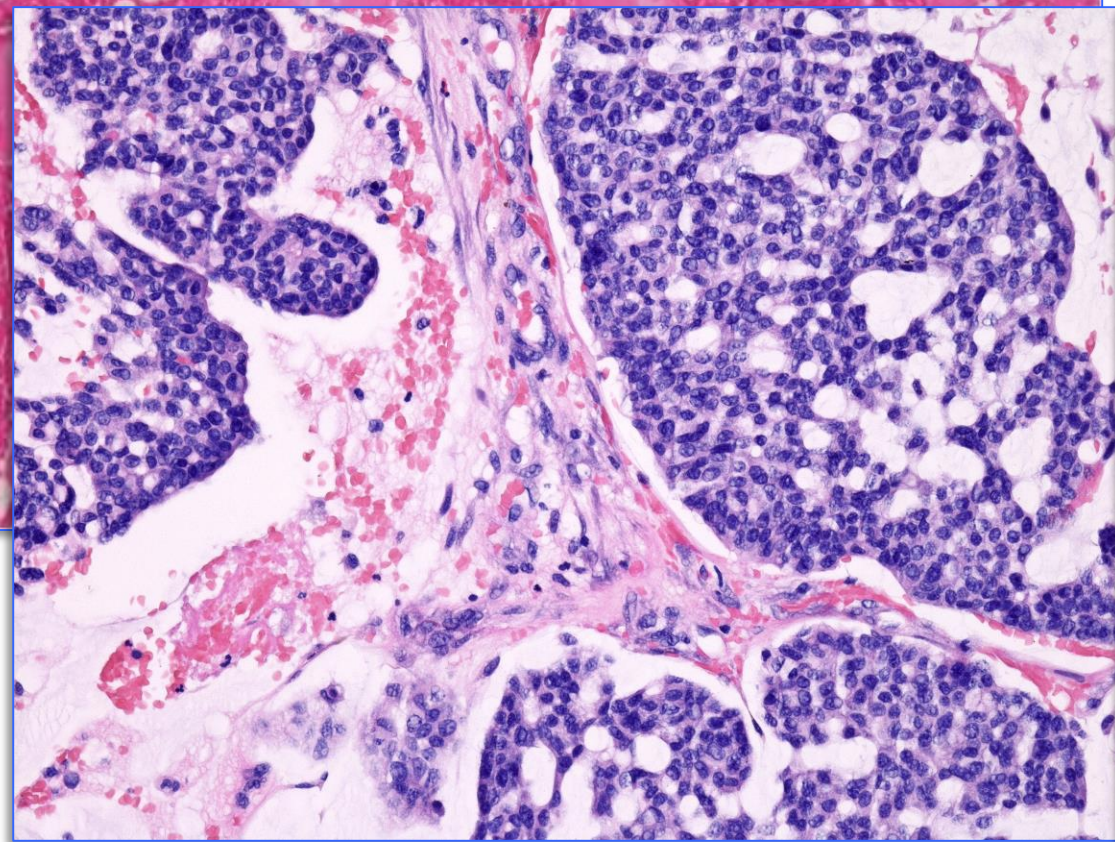
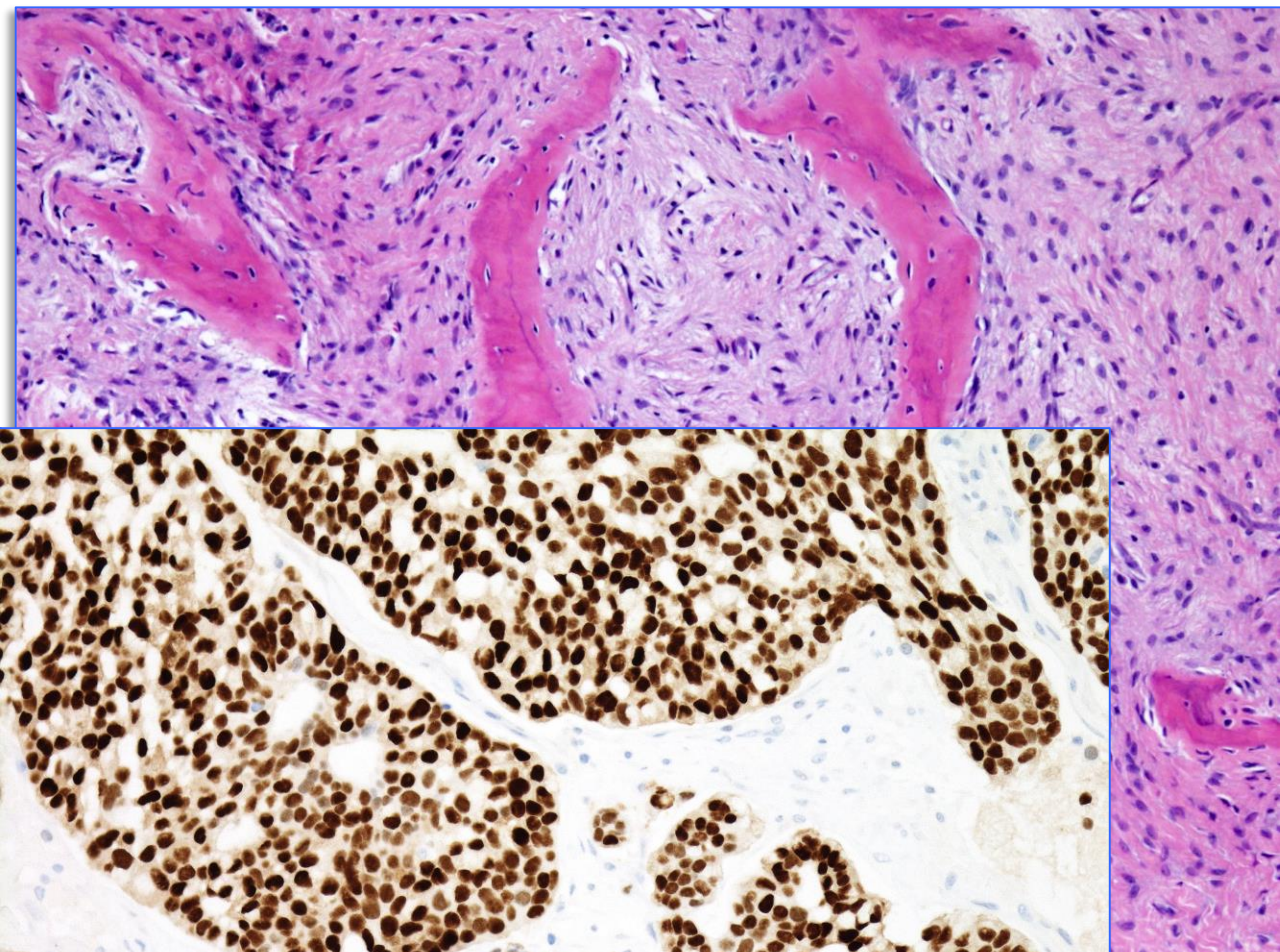
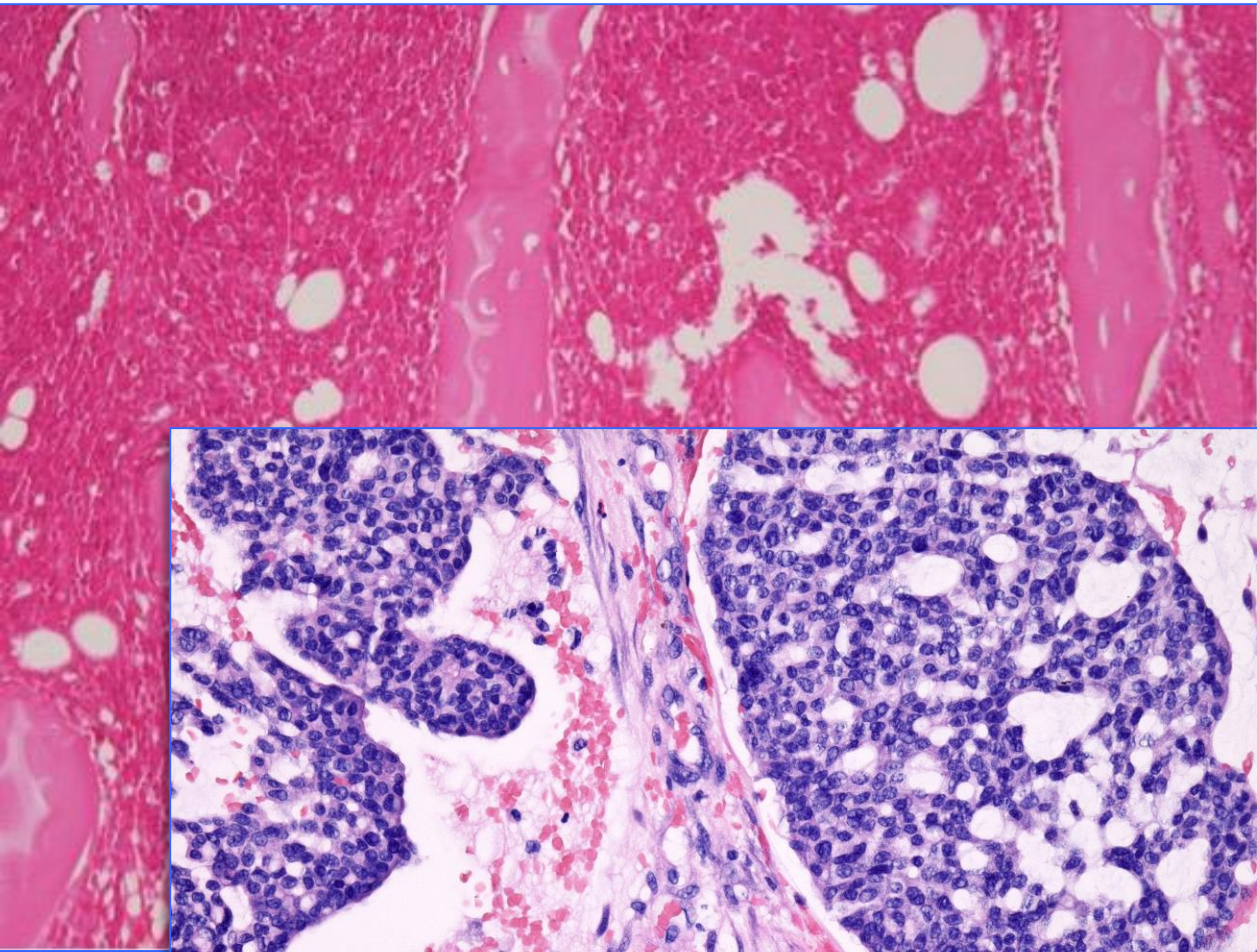
- **imerze chemických látek do tkáně**
 - silné anorganické kys., slabé organické kys.
- **chelace**
- elektrolýza
- zalitím do pryskyřice
- **urychlení imerze či chelace:**
 - častá výměna činidla
 - UZV (*imerze*) – zkracuje dekal s HCl o $>1/5$ času
 - mikrovlnná trouba (*imerze*) -zkracuje dekal s HCl o $>1/3$ času
 - zvýšení pH (*chelace*)

Dekalcifikační činidla

KYSELINY	anorganické	<ul style="list-style-type: none">• HCl• HCl + FeCl₃.6H₂O• HNO₃
	organické	<ul style="list-style-type: none">• kys. mravenčí• kys. octová• kys. pikrová
	Σ anorganické + organické	<ul style="list-style-type: none">• HCl + kys.mravenčí
CHELAČNÍ ČINIDLA	čistá chelační činidla	<ul style="list-style-type: none">• EDTA
	chelát + kyselina	<ul style="list-style-type: none">• EDTA + HCl• EDTA + HNO₃

Dekalcifikační činidla: rychlost - šetrnost

KYSELINY	anorganické	<ul style="list-style-type: none">• rychlost• poškození tkáně• častá kontrola stádia dekal
	organické	<ul style="list-style-type: none">• relativně šetrné• středně rychlá-pomalá dekal• kontrola stádia dekal
	Σ anorganické + organické	<ul style="list-style-type: none">• rychlost• relativně šetrné• častá kontrola stádia dekal
CHELAČNÍ ČINIDLA	čistá chelační činidla	<ul style="list-style-type: none">• velmi šetrné• velmi pomalá dekal
	chelát + kyselina	<ul style="list-style-type: none">• relativně šetrné• středně rychlá-pomalá dekal



Úskalí dekalcefikace

- **KONTROLA STAVU DEKALCEFIKACE**

- výměna činidla v pravidelných intervalech
- ukončení dekal. po vyplavení/vyvázení Ca^{2+} (!!!po ukončení dekalcefikace začíná devastace tkáně)

- šetrným pohmatem (pružnost, „spikula“)

- jehlou

- chemicky (hydroxid a oxalát amonný)

- RTG, mikroCT

doba dekal. – kvalita tkáně – IHC/mol.gen

naše
zkušenosti

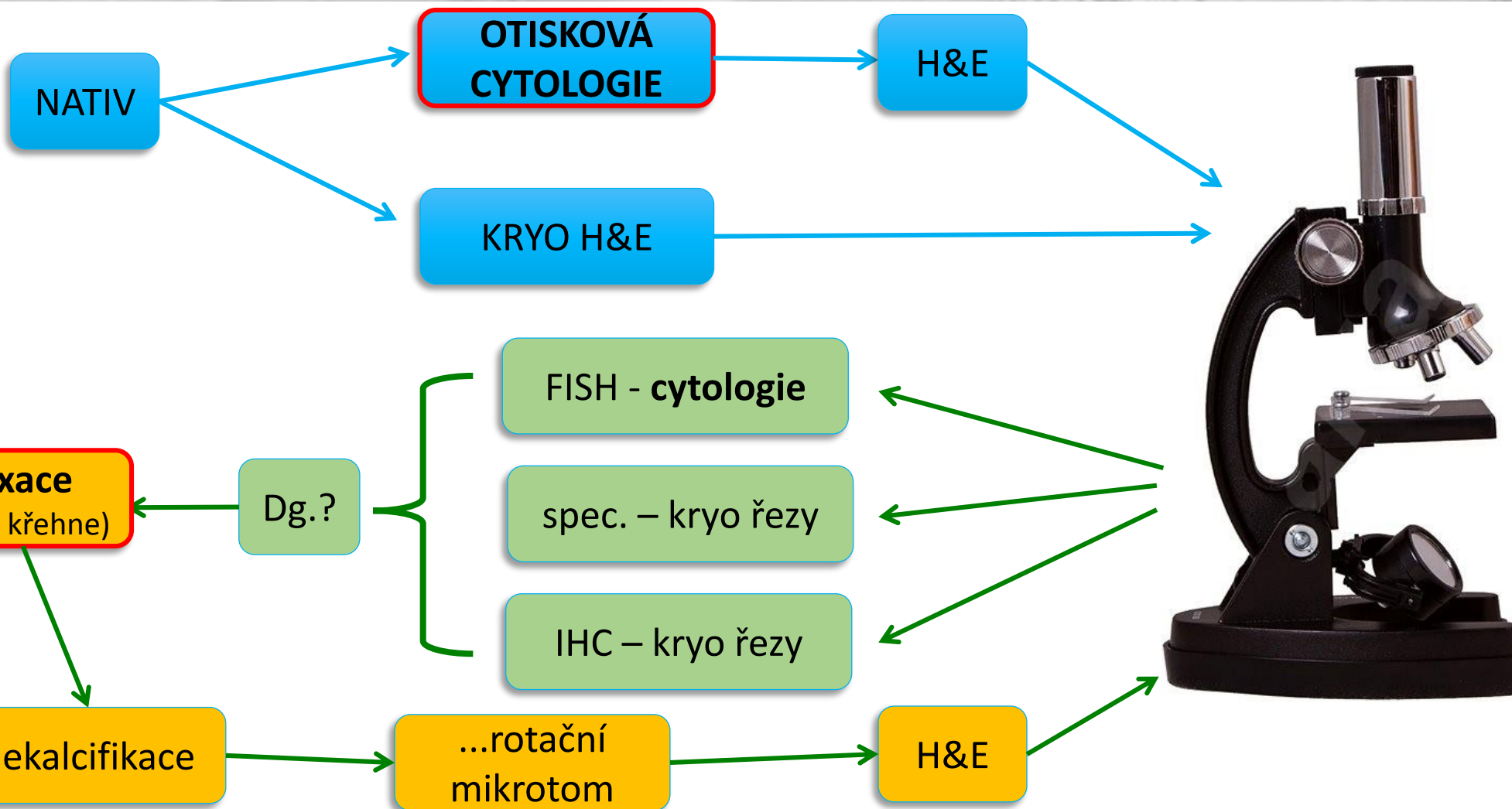
- částečně sklerotická „subkortikální“ kost 27 x 18 x 12 mm

činidlo	trvání dekalifikace	kvalita H&E	IHC
HCl+FeCl ₃	6 dní	+	-
kys.mravenčí	9 dní	++	+
EDTA	70 dní	++	+

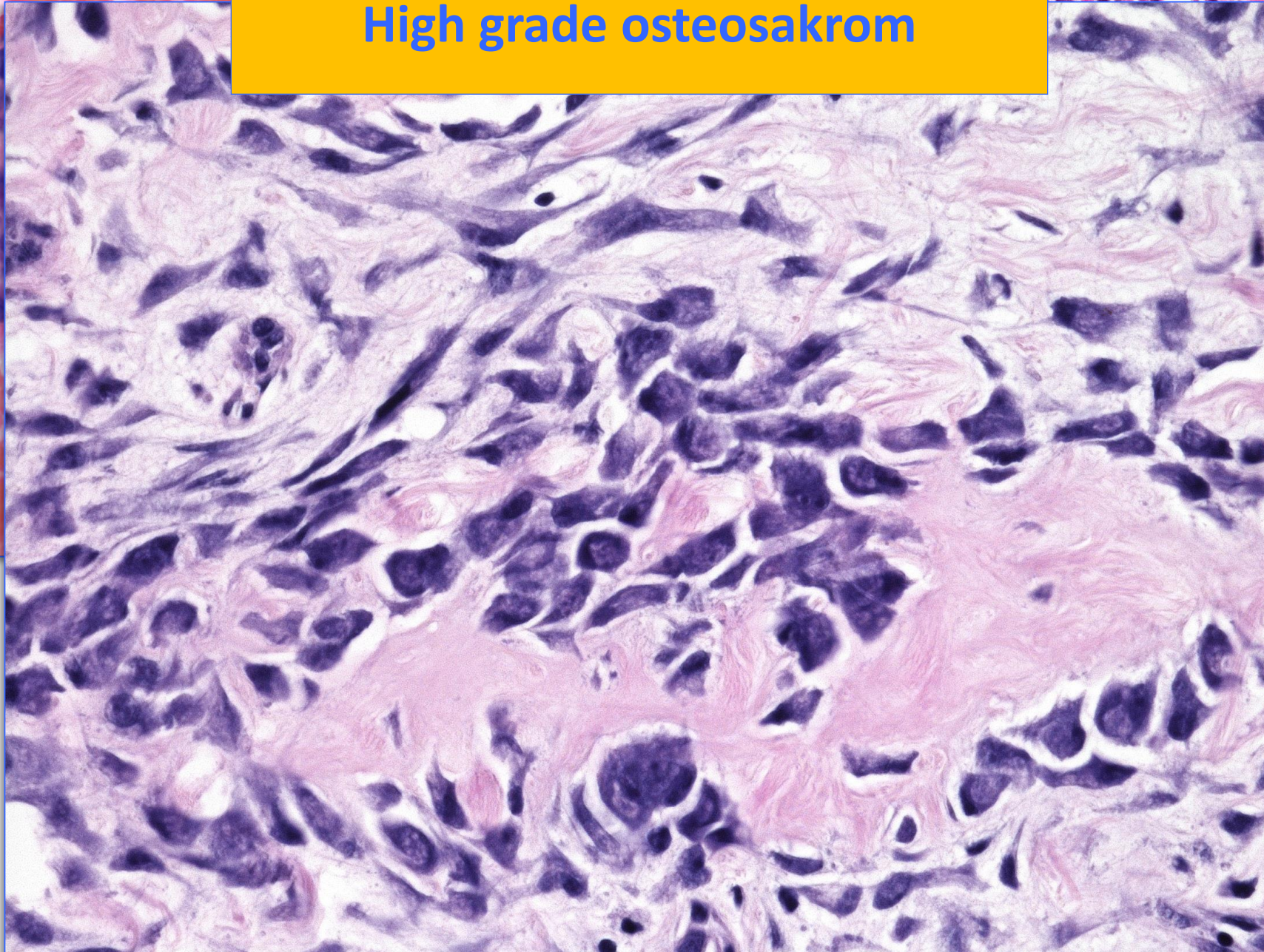
- Průměrná doba dekalifikace (v intervalu 03-05/19), počet případů 69:
 - HCl: 4 dny
 - kys. mravenčí: 7 dní
 - EDTA: 19 dní

zpracování kostních biopsií s tumorem na I. ÚP

naše
zkušenosti



High grade osteosakrom



Ewingův sakrom



Závěrem...

✓ NATIVNÍ TKÁŇ

✓ VOLBA ZPŮSOBU DEKALCIFIKACE (kortikální či sklerotická kost X spongiózní či oslabená kost)

✓ KONTROLA STAVU DEKALCIFIKACE !!!



DĚKUJI ZA POZORNOST.

