

Nevropatologilaboratoriet
Haukeland
universitetssykehus
Helse Bergen

Tatiana Hogstad, Fagbioingeniør

Bergen 2025

Hva jobber vi med på nevropatologi

- Frysesnitt fra hjernevev
- Formalinfikserte hjerner
- Prosjekter
- Muskelbiopsier

Frysesnitt

Nevrokirurgen

Hjernesvulster:

Bekrefter/avkrefter malignitet.

Vev går til diagnostikk eller til prosjekt Nanopore

Ved mistanke om lymfom – hurtig IHC test:

CD3, CD20 – påviser lymfom

CD45, GFAP – påviser annen type kreft i hjernen

Medulloblastoma – imprint og frossent vev sendes til RH,
Oslo

Formalinfiksert hjerne

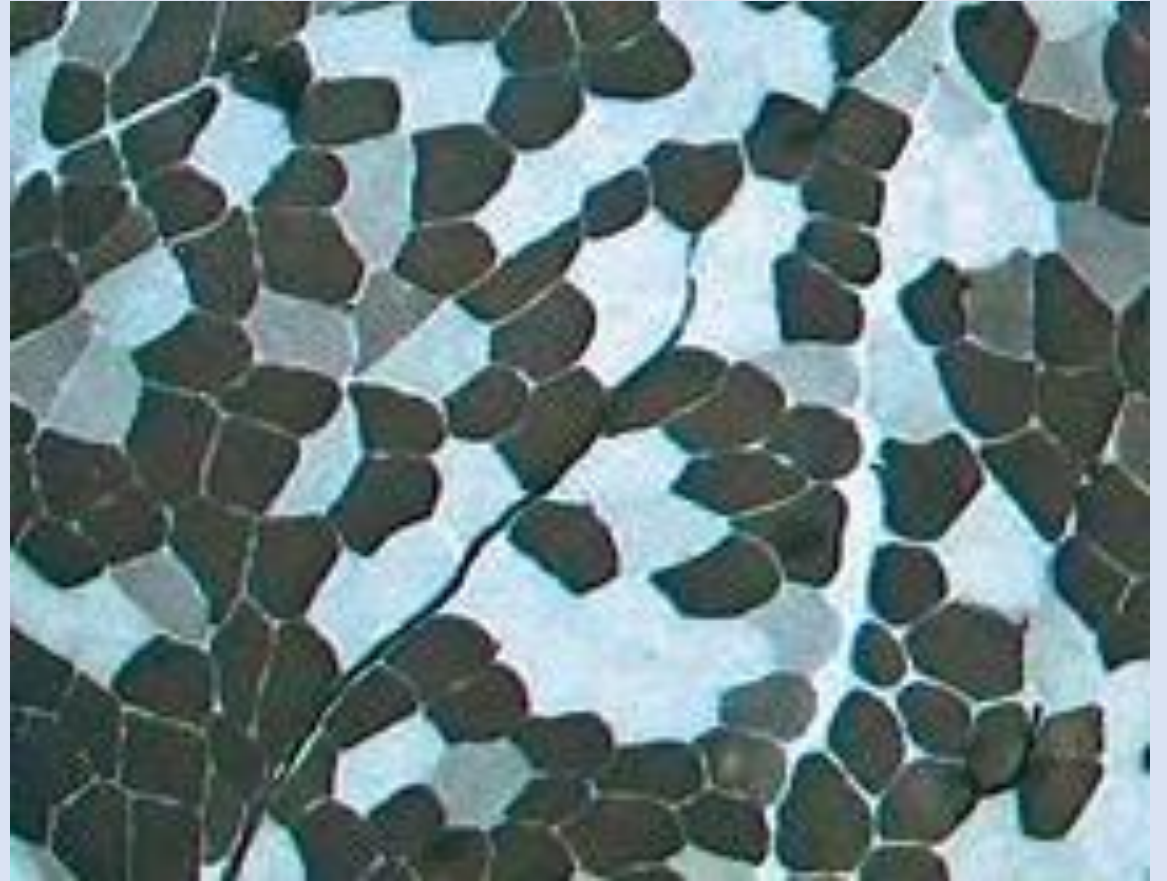
- Obduksjoner
- Tilsendes fra Haugesund, Stavanger, Førde
- Fersk hjerne til ParkVest prosjekt

Prosjekter

- Nanopore – sekvensering for diagnostikk av primære hjernesvulster
 - snitter ferskt vev (etter frysesnitt) til DNA ekstraksjon, beholder frosset vev i – 80C
- DemVest – demensstudie, hjerner fra Vestland region.
 - studiet foregår i Stavanger, vi videresender hjerner.
- ParkVest – Parkinsonsstudie, utføres av Neuro-SysMed forskning og Nevrologisk avdeling.
 - tar imot, registrerer, assisterer ved beskjæring av ferskt vev, fikserer i formalin, hjelper ved beskjæring etterpå.

Muskel

- Ferske muskelbiopsier
- Fra Ortopedisk avd. Haukeland sykehus, Haugesund sykehus, Stavanger sykehus, Førde sykehus
- Fryses, beskjæres, undersøkes og oppbevares på nevrolab.



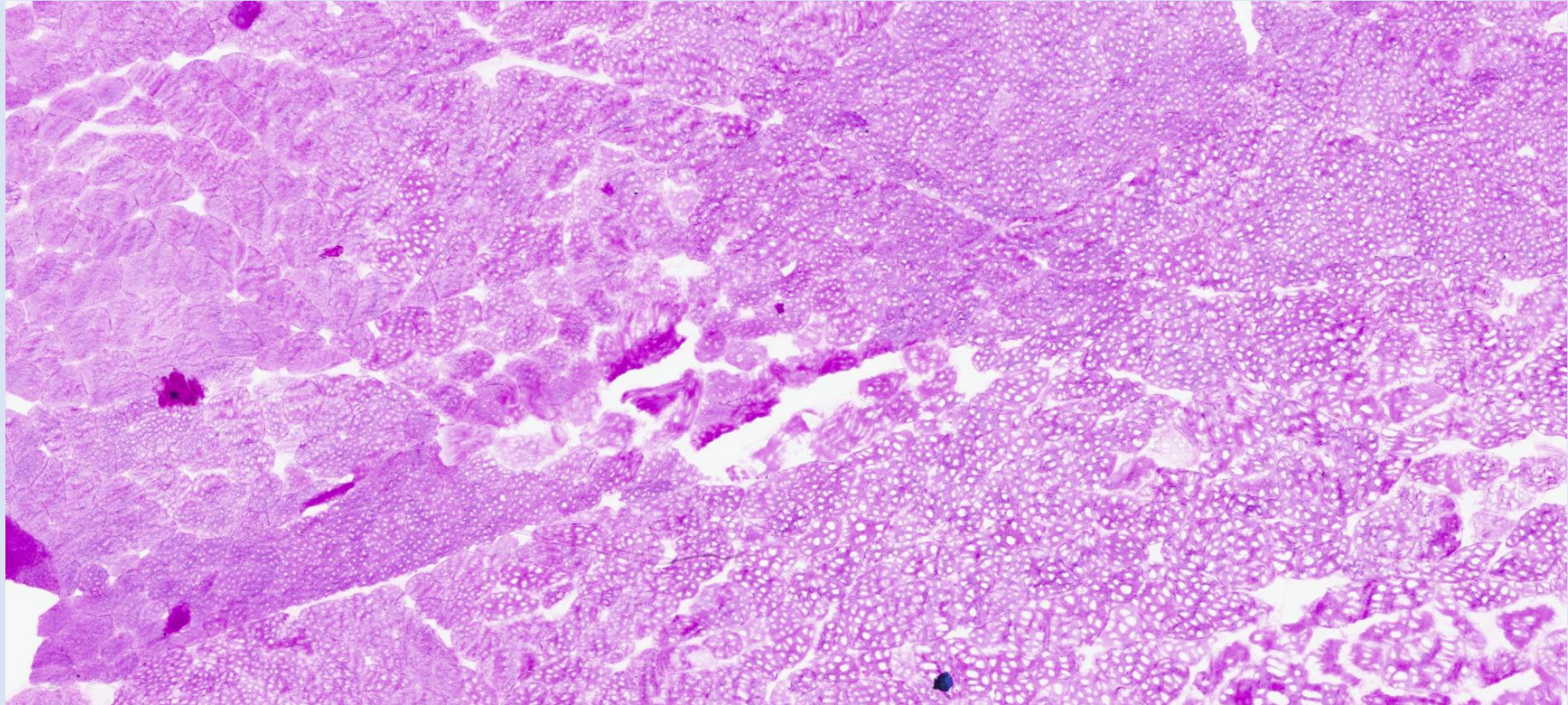
Behandling av muskelbiopsi

- Innfrysning
 - Muskel orienteres slik at muskelfibrene skal være vertikale
 - Fryse med Isopentan og flytende Nitrogen
- Snitting av muskel
 - Snittes i Cryostat, 8 μm
 - 21 snitt til vanlig muskel enzymhistokjemi panel
 - 10 ekstra snitt til evt. IHC undersøkelser

Feilkilder ved behandling av muskelbiopsi

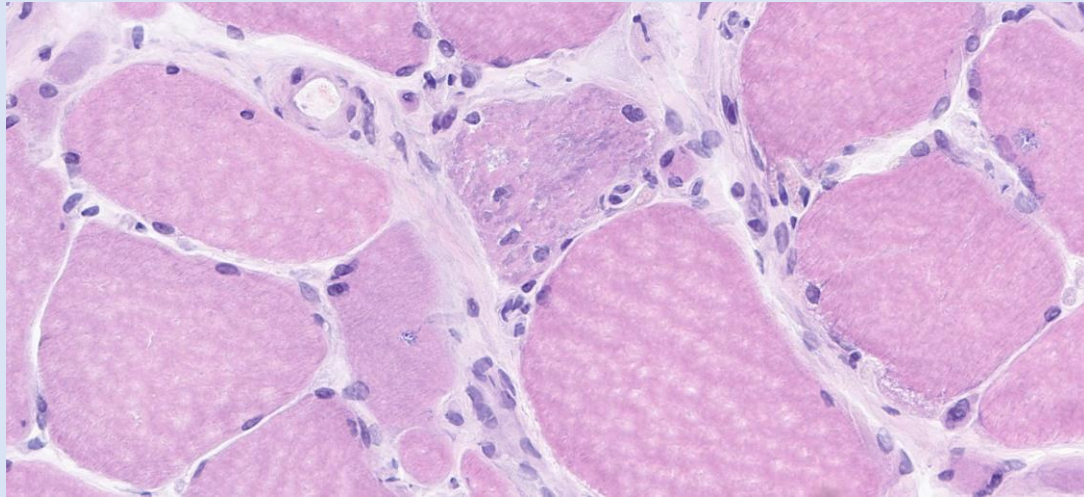
- Lang tid før nedfrysning – autolyseprosesser er i gang
- Ikke nok fuktighet – muskel uttørkes
- Mye fuktighet – fryseartefakter ved nedfrysing
- Lang tid i flytende nitrogen – frostskafer på celler
- Kort tid i flytende nitrogen - ikke gjennomfrosset
- Feil orientering – fibre ne ligger ikke på «tvers»

Fryseartefakter PAS farging

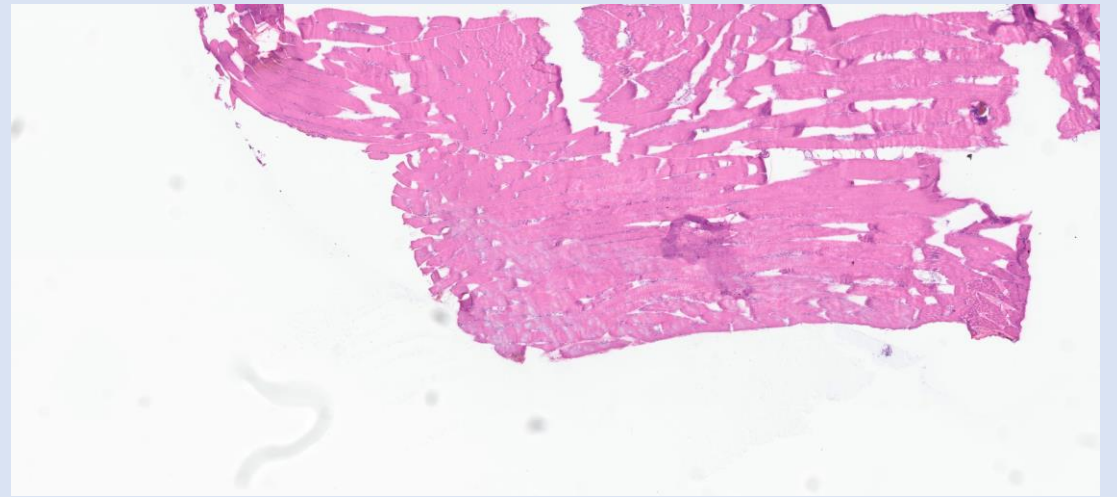


HE farging muskel -orientering

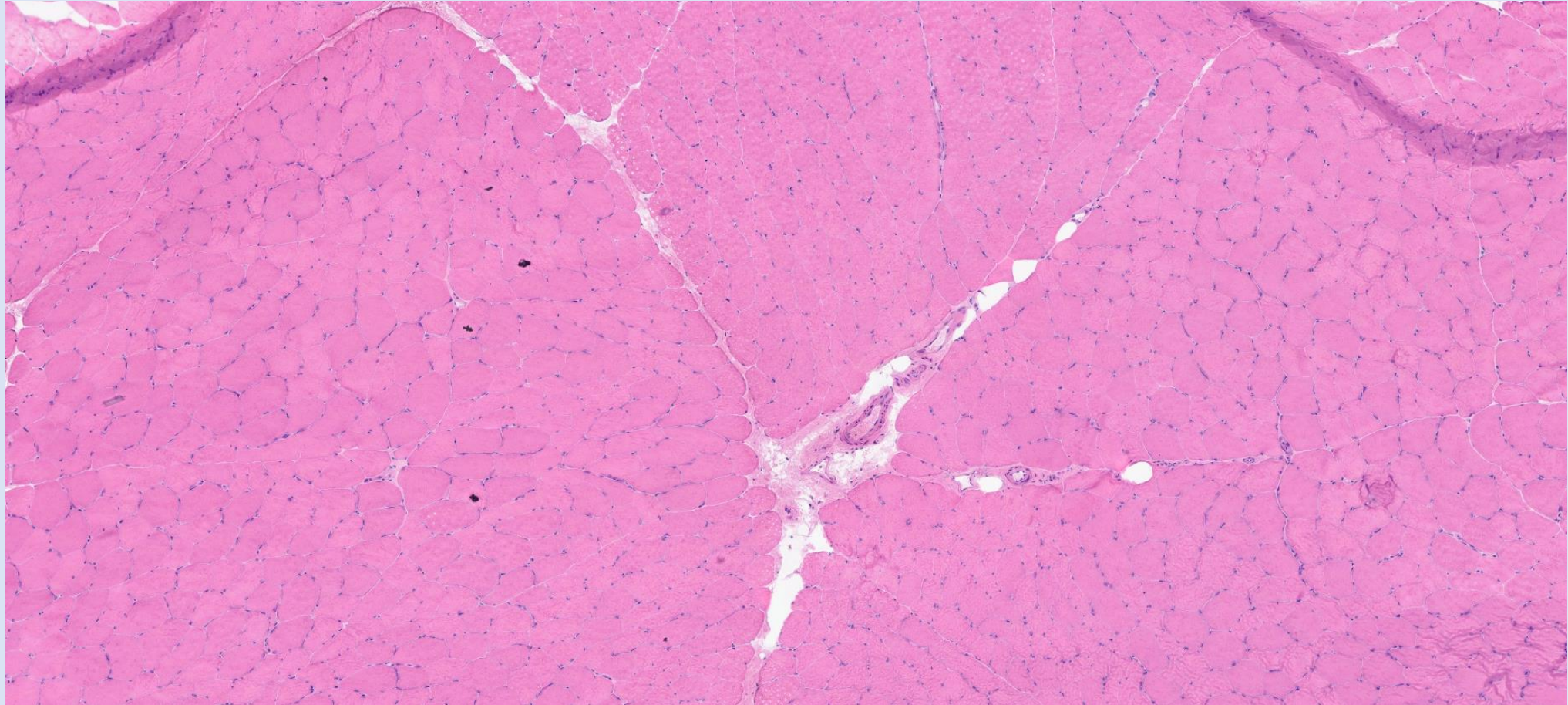
Riktig orientert



Feil orientert



Normal muskel HE



Muskel fargepanel

- Enzymhistokjemi
- Immunhistokjemi
- Spesialfarger

ATPase

- Viser forholdet mellom type 1 og type 2 fibre i fersk frossen muskel.
- Finnes forskjellige typer ATPaser (myosin, cellemembran, mitokondrie), har ulike pH optima.

COX - Cytokrom oksydase

SDH – Succinat dehydrogenase

- Fargen demonstrerer aktivitet i type 1 og type 2 fibre.
- Viktig for mitokondriemyopati og inklusjonslegememyositt.

Fosforylase

- Skiller mellom type 1 og type 2 muskelfibre
- Brukes i diagnostikk for McArdles glykogenose – feil med enzym myofosforylase, som gjør at glykogen blir ikke brutt som den skal og det rammer musklene.

NADH

- Differensierer type 1 og type 2 fibrer i muskler.
- Normale type 1 fibre har høy enzymaktivitet (farges sterkere, dyp blå)
- Normale type 2 fibre har lav enzymaktivitet (farges svakere, lys blå)
- Viser strukturelle forandringene i muskelbiopsier
- Viktig for å påvise kongenitale myopatiser, dystrofier og nevrogene forandringer

Sur Fosfatase

- Indikerer og påviser degenerasjon og nekrose i muskelfibrene.
- Viser inflammasjon og evt. forandringer i muskelfibre som er nyttig for en rekke diagnoser.

NSE – Non Specific Esterase

- Metoden brukes for å oppdage makrofager, myofagocytose, påviser inflammatorisk myositt.
- Metoden detekterer atrofiske muskelfibre, spesielt i nevrogene tilstander, hvor atrofiske fibre er angulære og ligger i grupper.

IHC på muskelbiopsier

Myositt panel

- CD4
- CD8
- CD45
- CD68
- C5b-9
- MHC I, MHC II, MHC fast, MHC slow
- p62

Dystrofi panel

- Dystrophine 1, 2 og 3
- $\alpha, \beta, \delta, \gamma$ Sarcoglycane
- α, β Dystroglycane
- Dysferlin HAM
- Emerin, Myotilin, Spectrin
- nNOS
- Utrophin DPR2
- Merosin 80 og Merosin 300

Spesialfarger på muskelbiopsier

- Gomori Trikrom

Identifiserer økt mengde bindevev i muskelbiopsier. Påviser mitokondrielle sykdommer. Viktig for mitokondriemyopater og for å framstille inklusjonslegemer i flere tilstander.

- Oil Red O

Metoden påviser fettinnhold i vevet. Viktig for metabolske muskelsykdommer relatert til fettstoffsiftet.

- PAS

Påviser glykogen (polysakkarid) i vevet. Viktig for å påvise glykogenose.

NEQUAS QC

- Alle muskelanalysene våre er akkreditert og vi deltar i QC program.
- Snitt sendes til UK, fire ganger i året.
- HE, NADH, Gomori T, COX sendes hver gang.
- SDH, ATPase, PAS, Oil Red, Sur Fosfatase sendes etter forespørsel.

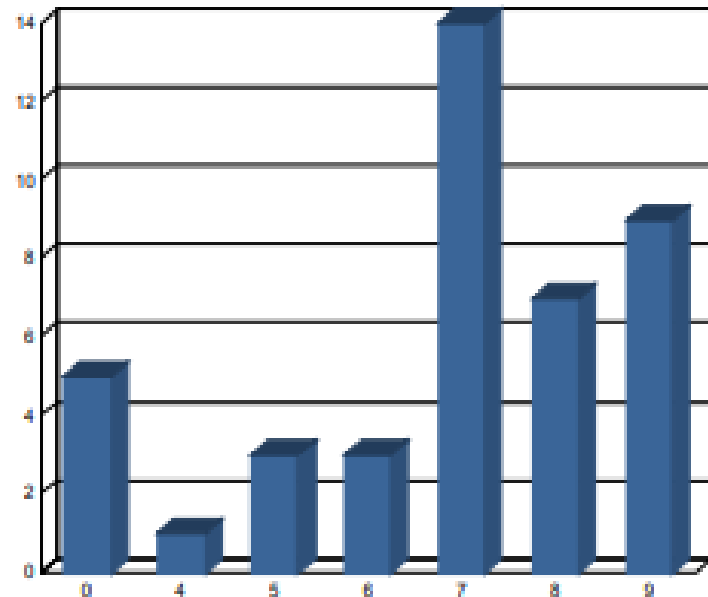
Resultatene for QC

Method : Gomori's Trichrome

Slide Number 2: B2421305

Score : 9

Mean Participant Score: 7.35



Method Muscle Biopsy Methods - Frequency of Scores

Summary of scores from Last 5 Runs:

Run No.	Gomori's Trichrome	Haematoxylin and Eosin (muscle)	NADH	COx	Lipid (Muscle)
151	9	6	7	6	6
150	7	6	6	5	6
149	5	6	6	4	7
148	8	6	6	8	0
147	7	9	7	7	6

Score <5 - a score of less than 5 / 10 is given for poor staining, where the participant has failed to clearly demonstrate the expected staining results.

Score 5/6 - a score of 5 or 6 / 10 is a pass. Whilst the staining appropriately demonstrates the expected staining results, staining is suboptimal and improvements are still required.

Score 7/8 - a score of 7 or 8 / 10 shows good appropriate demonstration of the expected staining results, and an acceptable level of quality.

Score 9/10 - a score of 9 or 10 / 10 shows excellent appropriate demonstration of the expected staining results, and a high level of quality.

Resultatene for QC

Gjennomgang av resultatene med fagansvarlig lege

QC rapport i EK system

Presentasjon av rapport på Seksjonsmøte

Spørsmål



Takk for oppmerksomhet!

