

# Histopathologie: colon en colonicarcinoma

.....  
*Docenten* Dr. H. van Dekken, dr. A.T. Hoogeveen en dr. P.J.M. Leenen

## 1 Toelichting

### 1.1 Achtergrondinformatie

De term 'neoplasie' staat voor ongecontroleerde nieuwvorming van cellen (begin van tumor). In het darmepitheel van met name het colon (dikke darm) komen neoplastische veranderingen meer voor dan in enig ander weefsel van het lichaam. Tumoren van de dikke darm en het rectum zijn wereldwijd een belangrijke oorzaak van ziekte en overlijden. Tumoren van de dunne darm zijn daarentegen zeldzaam. Om het ontstaan van tumoren in de dikke darm te kunnen begrijpen, verschaft dit vaardigheidsonderwijs basisinformatie over bouw en functie van de dikke darm en over de processen van celvermeerdering ('proliferatie'), specialisatie ('differentiatie') en verplaatsing ('migratie') die zich in de darm afspelen. In dit vaardigheidsonderwijs worden de consequenties van de tumorvorming voor de functie van de darm kort aangestipt; in thema 2.2 komt dit in het kader van het spijsverteringskanaal, waar de dikke darm deel van uitmaakt, uitvoerig aan bod. Later in dit thema (1.3) wordt dieper ingegaan op de aard van darmtumoren, de verschillende stadia van hun ontwikkeling en komen de klinische aspecten breed aan de orde.

### 1.2 Leerdoelen

Deze opdracht hangt nauw samen met de inhoud van de begeleidende colleges over colon en colonicarcinoom.

Dit vaardigheidsonderwijs sluit aan bij de weekleerdoelen 1.3.1 /7, /8, /9, /10.

Meer specifiek kun je na afloop van dit vaardigheidsonderwijs:

- globaal de bouw en functie van het colon beschrijven op anatomisch, histologisch en microscopisch niveau;
- de processen proliferatie, differentiatie en migratie van cellen omschrijven en toepassen op de ontwikkeling van darmepitheel;
- globaal afwijkingen in bouw beschrijven tijdens tumorigenese in de dikke darm;
- globaal afwijkingen in functie tijdens tumorigenese relateren aan afwijkingen in bouw van het colon.

## 1.3 Literatuur

- Junqueira L.C. & Carneiro, J. (2005). *Basic Histology* (11th ed.). New York: McGraw-Hill. ▶ 68 – 70 (figures; the intestinal epithelial cell, text on cellular junctions), 282 (figure schematic structure of the digestive tract), 311 - 315 (text and figures concerning the large intestine)
- Kumar, V., Cotran, R.S. & Robbins, S.L. (2003), *Basic Pathology* (7th ed.). Philadelphia: W.B. Saunders. ▶ 579 – 585 (tumoren van dunne en dikke darm)

## 1.4 Overige informatie

Tijdens dit vaardigheidsonderwijs werk je met gedigitaliseerde microscopische preparaten op de computer.

### Studiebelasting

Dit vaardigheidsonderwijs neemt twee uur in beslag (exclusief voorbereidingstijd). De voorbereidingstijd is ongeveer één uur.

### Product

De uitwerking van de opdrachten en het antwoord op de vragen die in dit vaardigheidsonderwijs zijn opgenomen.

### Vorbereiding

Er wordt van je verwacht dat je de aangegeven pagina's literatuur goed hebt gelezen.

# 2 Handleiding

## 2.1 Werkvorm

Dit vaardigheidsonderwijs wordt gegeven voor een groep van 60 studenten (5 x 12) met 5 assistenten. De assistent geeft een korte inleiding en is tijdens de duur van het vaardigheidsonderwijs permanent aanwezig om te helpen bij het bestuderen van de stof en om eventuele vragen te beantwoorden. Tussendoor wordt aanvullende informatie verstrekt middels Power-Point presentaties.

## 2.2 Inleiding

Ter inleiding belicht de assistent in het kort de leerstof, in de vorm van een discussie met de studenten. Hierbij komen aan de orde: globale bouw en functie van de darm, bijzondere aspecten van darmepitheel en de begrippen proliferatie, migratie en differentiatie.

## 2.3 Microscopische preparaten

1 Thymidine incorporatie: [na 0,5 uur](#), [na 12 uur](#), [na 24 uur](#) en [na 48 uur](#)

2 Preparaat: # H01-7146 B (normale dikke darm gekleurd met HE)

3 Preparaat: #H01-7146 B-PAS normale dikke darm gekleurd met PAS

4 Preparaat: #H01-7146 B-MIB-1 normale dikke darm gekleurd met Ki-67

5 Preparaat: #H01-7146 H (colon met adenocarcinoom (gekleurd met HE)

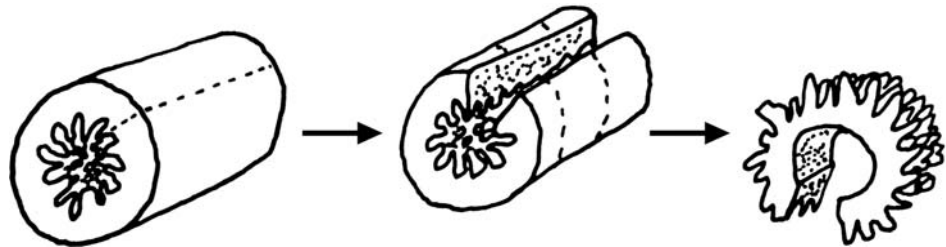
6 Preparaat: #H01-7146 H-MIB-1 dikke darm met adenocarcinoom (gekleurd met Ki-67)

Na deze inleiding bestudeer je de gedigitaliseerde microscopische preparaten aan de hand van onderstaande beschrijving. Ter toetsing van kennis zijn in de tekst vragen opgenomen die je na afloop van het vaardigheidsonderwijs moet kunnen beantwoorden.

De darm is een buis met een geplooide binnenwand. De plooien verlopen circulair tot spiraalvormig. Om de darm microscopisch te kunnen bestuderen, wordt deze gefixeerd en over de lengte open gesneden (zie figuur 1). Van een deel van de wand worden vervolgens coupes gemaakt en op verschillende wijzen bestudeerd al dan niet na 'kleuring'.

**Figuur 1**

Eigendom Erasmus MC, afdeling Celbiologie en Genetica.



Eén van de veel gebruikte kleurstoffen is een mengsel van hematoxyline en eosine (HE). Het hematoxyline hecht aan DNA en kleurt de kernen blauw, het eosine hecht aan eiwitten en kleurt het cytoplasma rood. Sommige kleurmiddelen hechten meer specifiek aan bepaalde eiwitten of andere macromoleculen. Zo wordt Periodic Acid Schiff reagens (PAS) gebruikt om glycoproteïnen aan te kleuren (roze/rood).

## 3 Het vaardigheidsonderwijs

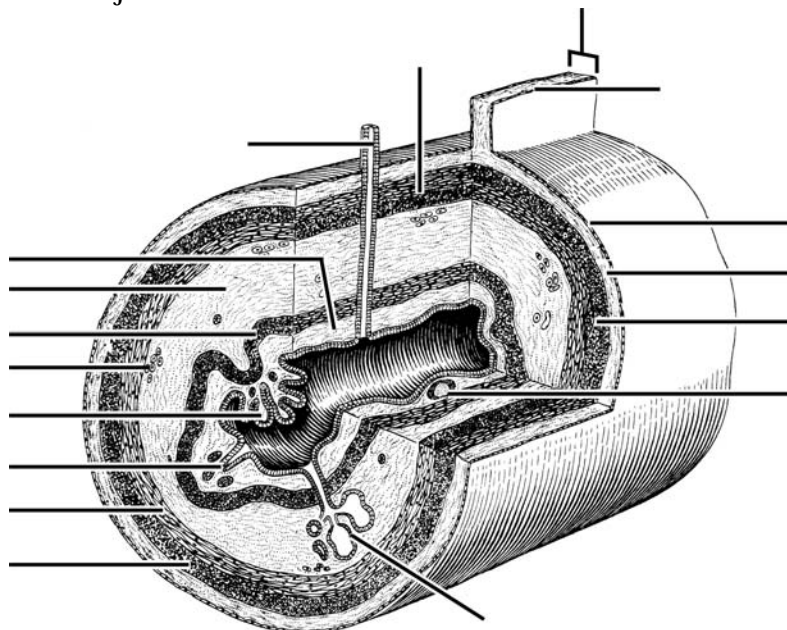
### 3.1 Bouw van de darm

Discussie aan de hand van dia's.

- 1 Benoem de verschillende lagen en structuren waarnaar de pijlen in figuur 2 verwijzen.

**Figuur 2**

Bron: Bevelander, G.  
Outline of Histology, 1971,  
Mosby, St. Louis, USA



- 3 Waar vindt proliferatie plaats en waar differentiatie?
- 4 Kun je darmspecifieke differentiatie processen noemen?
- 5 Welk gebied is krypt en welk villus?

### 3.2 Darmepitheel: migratie

Darmepitheel wordt continu vernieuwd door 'stamcel' proliferatie.

Het vernieuwingsproces, dat vanuit het proliferatie compartiment plaatsvindt, wordt getoond aan de hand van opnamen van een viertal autoradiografie preparaten van de dunne darm.

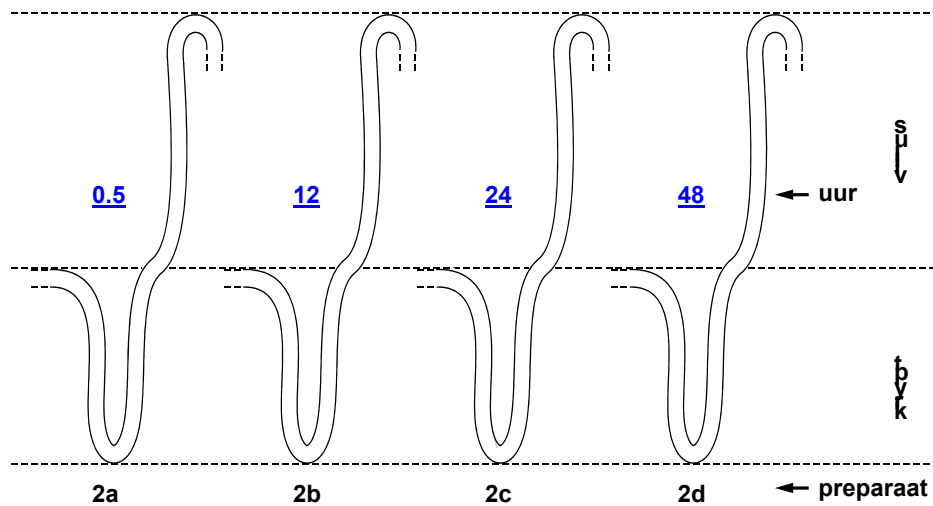
#### Procedure:

Ratten werden op tijdstip 0 ingespoten met radioactief  $^3\text{H}$ -Thymidine (eenmalige dosis van 500 micro Ci / kg lichaamsgewicht, een zogenaamde pulse-label). Onmiddellijk na toediening (0,5 uur) en vervolgens respectievelijk 12, 24 en 48 uur later werd telkens een rat geofferd en werd de darm uitgenomen en gefixeerd. Vervolgens werden van deze darm microscopische preparaten gemaakt. Over de coupes werd een fotografische emulsie aangebracht die door radioactieve straling locale zwarting geeft (zwarte korrels). Bestudeer de opnamen van deze preparaten in een groep en bediscussieer je waarnemingen en conclusies.

- 6 Bestudeer de opnamen van de vier opeenvolgende preparaten, gemaakt na 0,5 uur, na 12 uur, na 24 uur en na 48 uur. Bepaal op welke plaatsen de zwarte korreling zichtbaar is. Geef de locatie aan in figuur 3.

**Figuur 3**

Eigendom Erasmus MC, afdeling Celbiologie en Genetica.



- 7 Wat is de gemiddelde tijd dat een cel tijdens zijn leven op de villus doorbrengt?
- 8 Waar vindt proliferatie plaats?
- 9 Hoe verklaar je het radioactieve 'label patroon'?

### 3.3 De dikke darm: het colon

#### **Preparaat: # H01-7146 B (normale dikke darm gekleurd met HE)**

Er zijn vier preparaten om de bouw van het colon en structurele/functionele aspecten van colon-epitheel te bestuderen.

Het preparaat werd gemaakt zoals aangegeven in figuur 1. De binnenwand van de dikke darm is sterk geplooid, zodat het niet altijd onmiddellijk duidelijk is waar het lumen van de darm zich bevindt en waar de buitenkant.

Objectief 4x:

Bekijk het preparaat en bepaal waar het lumen van het colon gelegen is en waar de buitenkant. Volg de dikke darm wand, van epitheel naar buitenste laag.

**10** Benoem alle lagen (en/of weefsels) van de colon-wand.

**11** Ben je alle lagen tegengekomen die je in figuur 2 hebt aangeduid?

**12** Hoeveel spierlagen zitten er in de wand? In hoeveel richtingen lopen deze spierlagen?

Objectief 10x en 40x:

Bestudeer het colon-epitheel.

**13** Is er sprake van krypten en villi?

**14** Welke celtypen tref je aan in colon-epitheel?

**15** Komen deze celtypen in vergelijkbare mate voor in het dunne darm epitheel?

**16** Wat voor weefsel zit er tussen de krypten en welke celtypen tref je daar aan?

Gebruik het 4x, 10x en 40x objectief naar eigen keuze en zoek naar andere structuren in de wand van het colon zoals: bloedvaten (arteriën en venen), lymfeklieren en lymfevaten, ganglioncellen (zenuwweefsel).

#### **Preparaat: #H01-7146 B-PAS normale dikke darm gekleurd met PAS**

Dit preparaat is vrijwel gelijk aan het voorgaande preparaat maar het werd gekleurd met Periodic Acid Schiff reagens (PAS). Met de PAS kleuring worden glycoproteïnen en glycogeen sterk roze/rood gekleurd.

Objectief 4x, 10x, 40x naar keuze:

Bekijk het preparaat en bepaal weer waar het lumen van het colon zich bevindt. Identificeer de verschillende lagen en weefsels van de dikke darm wand.

**17** Welke cellen en structuren zijn in dit preparaat sterk gekleurd met PAS? Waarom juist deze cellen en structuren?

Colon epitheelcellen migreren langs de basaalmembraan.

**18** Is de basaalmembraan PAS positief? Hoe verklaar je dit?

**Preparaat: #H01-7146 B-MIB-1 normale dikke darm gekleurd met Ki-67**

Dit preparaat is vrijwel gelijk aan het voorgaande preparaat maar het werd gekleurd met antilichamen gericht tegen Ki-67. Ki-67 is een antigeen dat tot expressie komt in delende cellen (proliferatie fase).

Objectief 4x, 10x, 40x naar keuze:

- 19 Welke cellen zijn met Ki-67 aangekleurd?
- 20 Waar is de proliferatie-activiteit het hoogst?
- 21 Vergelijk het proliferatie-patroon van het dikke darmepitheel met dat van het dunne darmepitheel in een van de vorige opdrachten. Wat is de overeenkomst?

### 3.4 Colon en adenocarcinoom

Een beginstadium van colon carcinoma wordt bestudeerd aan de hand van twee microscopische preparaten.

**Preparaat: #H01-7146 H (colon met adenocarcinoom (gekleurd met HE)**

Het preparaat toont slijmvlies van een stuk dikke darm waarin adenocarcinoom aanwezig is. Tevens wordt normaal slijmvlies gezien en een tussenfase tussen normale mucosa en adenocarcinoom, het zogenaamde adenoom. Dit preparaat illustreert het pre-maligne karakter van een adenoom.

Objectief 4x en 10x:

Inspecteer het preparaat en identificeer gebieden met normaal slijmvlies en met adenoom.

- 22 Lokaliseer het adenocarcinoom. Wat is het verschil tussen normale mucosa, en het adenocarcinoom?
- 23 Lokaliseer het adenoom, vergelijk deze met normaal slijmvlies en carcinoom. Wat zijn de verschillen?

**Preparaat: #H01-7146 H-MIB-1 dikke darm met adenocarcinoom (gekleurd met Ki-67)**

Het preparaat is vrijwel gelijk aan het vorige preparaat maar gekleurd met Ki-67 om cel proliferatie zichtbaar te maken.

Objectief 4x en 10x:

- 24 Vergelijk het aankleurings-patroon van de Ki-67 kleuring in normale mucosa, adenoom en adenocarcinoom. Wat zijn de verschillen en overeenkomsten?
- 25 Waar is de proliferatie-activiteit het hoogst?