

Annemari Kuusisto

# Immunohistokemian opetusmateriaali

Opinnäytetyö

Metropolia Ammattikorkeakoulu  
Bioanalytiikka  
Bioanalytiikan koulutusohjelma  
Opinnäytetyö  
10.4.2012

Tekijä Otsikko Sivumäärä Aika	Annemari Kuusisto Immunohistokemian opetusmateriaali 46 10.4.2012
Tutkinto	Sosiaali- ja terveysalan ammattikorkeakoulututkinto, Bioanalytiikka (AMK)
Koulutusohjelma	Bioanalytiikan koulutusohjelma
Suuntautumisvaihtoehto	
Ohjaajat	Yliopettaja Riitta Lumme Sairaalasolubiologi Mia Kero Kliininen asiantuntija Marjo Tolppanen
<p>Opinnäytetyöni tarkoituksena on ollut kehittää immunohistokemian opiskelijaohjausta. Opinnäytetyö on toteutettu työpaikallani HUSLABin patologian ja genetiikan vastuualueen Meilahden patologian laboratoriossa. Opinnäytetyönä olen laatinut opetusmateriaalin, jota käytetään histo- ja sytologian käytännön harjoittelujaksolla immunohistokemian laboratoriossa. Opinnäytetyön valmistuttua sitä käytetään myös uuden työntekijän perehdytyksen tukena.</p> <p>Opetusmateriaalin käytössä painotetaan käytäntöläheisyyttä, asiantuntijayhteyttä, pohdintaa ja aiemmin opitun tiedon liittämistä uusiin yhteyksiin. Vaikutteita on otettu tutkivasta oppimisesta. Käytäntöläheisyytensä vuoksi saadaan opetusmateriaalia käyttämällä aikaan luonteva opetustilanne. Opiskelija ja ohjaaja yhdistävät aiemmin oppimansa teorian ja immunohistokemian käytännön laboratoriotyön välisiä yhteyksiä.</p> <p>Toteutin opetusmateriaalin aidosta potilastapauksesta, käyttämällä hyväksi patologin aiemmin tekemiä diagnooseja. Potilaan tautihistoriasta löytyi kaksi eri maligniteettia, jotka sopivat hyvin opetustapauksiksi. Arkistoidun kudosmateriaalin riittävyys oli toinen tärkeä näytteen valinnan kriteeri. Antigeeniosoitusvärjäykset valittiin aiemman diagnosoinnin perusteella.</p> <p>Opetusmateriaali sisältää kudosblokin, immunohistokemian antigeeniosoitusvärjäyksiin värjätyt lasit ja kirjallisen opetusmateriaalin ohjaajan tueksi. Laboratoriotyön lisäksi opiskelija selvittää yhdessä opiskelijaohjaajan kanssa vainajan kuolinsyyn. He myös mikroskopioivat värjäykset, joilla osoitetaan melanooma ja rintasyöpä. Samalla he perehtyvät rintasyövän hoitojen valintaan, hoitojen vaikutustapoihin sekä immunohistokemian värjäysten laadunvarmistukseen.</p> <p>Olen testannut opetusmateriaalia käytännössä keväällä 2012. Opetusmateriaali on osoittautunut toimivaksi tavaksi reflektoida aiemmin opittua teoretietoa ja immunohistokemian käytäntöä.</p>	
Avainsanat	Immunohistokemia, tutkiva oppiminen, tapausoppiminen, opiskelija-ohjaus, osaamistavoitteet

Author Title	Annemari Kuusisto Educational Material in Immunohistochemistry
Number of Pages Date	46 pages 10 April 2012
Degree	Bachelor of Health Care
Degree Programme	Biomedical Laboratory Science
Specialisation option	
Instructors	Mia Kero, Medical Cellbiologist Marjo Tolppanen, Clinical Specialist Riitta Lumme, Principal Lecturer
<p>The purpose of my final project was to improve the tutorial for biomedical laboratory science students through educational material on the practical training period of immunohistochemistry. I performed my final project at my workplace, HUSLAB Laboratory of the Pathology and Genetics, Helsinki, Finland. Moreover, purpose was the educational material to be used for the training of new employees of the laboratory.</p> <p>My educational material is partly based on explorative learning principals. They are practical approach, co-working with an authority, reflecting the material and to adding previous knowledge. The usage of this kind of educational material enables the creating of realistic learning situations. The student and instructor reflect together on the relationship between theory and practice.</p> <p>I wrote the educational material based an authentic patient case and the original diagnoses of the pathologist of the case. The patient had two types of malignant cancers which fitted in the material needed. Another important criteria was the sufficient amount of archived tissue material. The immunohistochemistry staining chosen for this patient case was based on the previous knowledge of the cancer type.</p> <p>The educational material consists of tissue block, immunohistochemically stained slides and written theoretical instructions. In addition to the laboratory work, students and instructors will screen through the slides to determine the cause of the death of the patient. They will also screen through the immunohistochemistry of melanoma and breast cancer. They will explore how immunohistochemistry findings influence the selection of the treatments of the breast cancer patient. They get to know the theory of specific breast cancer treatments and how to assure the quality of immunohistochemistry staining.</p> <p>I tested my educational material during spring 2012. The biomedical laboratory students were able to use previous theoretical knowledge of immunohistochemistry and reflect that knowledge.</p>	
Keywords	immunohistochemistry, explorative learning, case learning, tutorial, learning outcomes

## Sisällys

1	Johdanto	1
2	Käytännön harjoittelun oppimisympäristö	2
2.1	Meilahden patologian laboratoriot	2
2.2	Histo- ja sytologian käytännönharjoittelu	2
3	Käytännön harjoittelun oppimisen tukeminen	3
3.1	Tutkivan oppimisen teoreettisia lähtökohtia	5
3.2	Tutkivan oppimisen periaatteita	6
3.3	Tutkivan oppimisen avulla saavutettuja oppimistuloksia	7
3.4	Tutkivan oppimisen sovellus immunohistokemian opetusmateriaaliin	8
3.5	Osaamistavoitteet	9
3.6	Osaamistavoitteiden laadinta	10
3.7	Osaamistavoitteet immunohistokemian käytännönharjoittelussa	10
4	Opinnäytetyön käytännön toteutus	11
4.1	Aineiston jäsentäminen	12
4.2	Tietolähteet	12
4.3	Opetusmateriaalin sisältö	13
5	Opetusmateriaalin käyttö immunohistokemian laboratoriossa	14
5.1	Perehdytys opetusmateriaalin käyttöön	15
5.2	Opetusmateriaalin käyttötapa	15
6	Kirjallinen opetusmateriaali	16
6.1	Immunohistokemian tutkimus	16
6.2	Ruumiinavaustapaus	17
6.2.1	Hematoksyliini-eosiini	18
6.2.2	CD45	19
6.2.3	Sytokeratiinit	20
6.2.4	Estrogeeni- ja progesteronireseptori	24
6.2.5	MART-1/ Melan-A	27
6.2.6	HMB-45	28
6.2.7	MIB-1	29

6.2.8	Johtopäätös ruumiinavausnäytteistä	31
6.3	Rintasyöpätapaus	31
6.3.1	Hematoksyliini-eosiini	32
6.3.2	Estrogeenireseptori	32
6.3.3	Progesteronireseptori	33
6.3.4	MIB-1	34
6.3.5	C-erbB-2 Immunohistokemiallinen värjäys	35
6.3.6	C-erbB-2 In situ-hybridisaatio	38
6.3.7	Rintasyövän hoito ja ennuste	39
7	Prosessin ja tuotoksen arviointi	41
8	Pohdinta	42
	Lähteet	44

## 1 Johdanto

Immunohistokemia on yksi patologian erikoisala, jonka teorian ja käytännön ymmärtäminen vaatii histologian perusteiden osaamisen. Immunohistokemialla tarkoitetaan histologisesta näytteestä tehtävää antigeenin osoitusta. Immunohistokemian värjäysten indikaationa on pääasiassa syövän diagnosointi ja luokittelu.

Opinnäytetyön tarkoituksena on ollut tuottaa opetusmateriaali HUSLABin Meilahden patologian laboratorioden immunohistokemialle bioanalyttikko-opiskelijoille käytännön harjoittelujaksoa varten. Opetusmateriaali on tarkoitettu käytännön työn rinnalle tukemaan immunohistokemian laboratorion kokonaisuuden hahmottamista. Yksittäisen potilastapauksen avulla pystytään tuomaan ilmi kyseisen erikoisalan tuottamien värjäysten merkitys potilaan diagnosoinnissa, ennusteessa ja hoidossa. Diagnoosin tekoa tarkastellaan patologin näkökulmasta. Laadunvarmistusta tarkastellaan lähinnä sairaalaselubiologin näkökulmasta. Opetusmateriaalia tullaan käyttämään myös immunohistokemian laboratorion uusien työntekijöiden perehdytyksen tukena.

Opetusmateriaali rakennetaan soveltaen tietyiltä osin tutkivan oppimisen menetelmää, jossa opiskelijan ja ohjaajan välinen vuorovaikutussuhde sekä mielekäs ongelman asetelu luovat käytännön jaksolle sopivan luonnollisen opetustilanteen. Menetelmän sovellus sopii erinomaisesti case-tyyppisen potilastapauksen purkuun ja analysointiin. Opetusmateriaalin analysointiin linkittyy useita bioanalyttikon opiskelussa keskeisiä oppiaineita, jotka avautuvat opiskelijalle eri näkökulmista. Tarkoitus on hyödyntää opiskelijan aiemmin oppimaa teoretietoa ja linkittää se näin uusiin asiayhteyksiin käytännön työssä.

Bioanalyttikko saa ammattikorkeakoulussa laajan teoriapohjan myös immunohistokemiasta. Siksi näen tärkeänä, että bioanalyttikko-opiskelija pääsee näkemään erikoisalan mahdollisimman kattavasti. Opetusmateriaalilla parannamme opiskelijaohjausta, syventämällä aiemmin käytännön laboratoriotyöhön painottunutta käytännönjaksoa, tuomalla rinnalle teoriayhteyden koulutuksen ja käytännöntyön välille.

## 2 Käytännön harjoittelun oppimisympäristö

### 2.1 Meilahden patologian laboratoriot

Meilahden patologian laboratoriot kuuluvat HUSLABin Patologian ja genetiikan vastuualueeseen. Patologian keskuslaboratoriossa on työssä 55 laboratoriohoitajaa, kymmenen muuhun tekniseen laboratoriohenkilökuntaan kuuluvaa (mm. laborantit ja bioanalyttikko-opiskelijat), kaksi osastonhoitajaa, 33 lääkäriä, kaksi sairaalasolubiologia, kliininen asiantuntija ja tuotantopäällikkö. (Jouhten 2012.) Näistä pelkästään immunohistokemian laboratoriossa työskentelee kuusi laboratoriohoitajaa ja kaksi sairaalasolubiologia.

Laboratoriossamme tehtiin vuonna 2011 noin viisikymmentätuhatta immunohistokemian antigeeninosoituvärjäystä. Vasta-ainevalikoimaan kuuluu lähes kolmesataa eri vasta-ainetta. Laboratoriohoitajan tehtäviin kuuluu puskureiden valmistus, näyteblokkien haku arkistosta pyyntöjen perusteella, lasien numerointi, leikkeiden leikkaus mikrotomilla, seuraavan päivän näyteprotokollan valmisteleminen, vasta-aineiden laimentaminen, esikäsittelyt, laitehuollot, immunohistokemian laitteiden käyttö eli näytteiden värjäys, lasien peitteily ja jako patologeille. Värjäysten laskutus, ulkopuolisten lähetteen kirjaus sekä muut läheteiden ja näytteiden selvittelytoimenpiteet kuuluvat myös laboratoriohoitajan työnkuvaan. Vasta-ainevarastoista, muiden reagenssien sekä tarvikkeiden riittävydestä, varastoinnista ja kelpoisuudesta huolehtiminen kuuluu kokeneen laboratoriohoitajan tehtäviin. Uuden työntekijän kokonaisperehdytysaika on aiemmasta työhistoriasta riippuen noin puolesta vuodesta yhteen vuoteen.

### 2.2 Histo- ja sytologian käytännönharjoittelu

Opiskelijaohjaus on koko HUSLABin henkilökunnan velvollisuus ja kuuluu osaksi työtätehtävien hoitoa. Tämä velvoite on kirjattu HUSLABin toimintakäsikirjan B-osaan (2011: 13) ja Patologian keskuslaboratorion immunohistokemian työpistekuvaukseen (2008). Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiirin henkilökuntakäsikirja muistuttaa, että opiskelijat ovat tulevia työyhteisön jäseniä. Onnistunutta opiskelijaohjausta pidetään hyvänä rekrytointitapana. Tähän tavoitteeseen voidaan päästä, kun henkilökunnalla on riittävä tiedollinen ja taidollinen osaaminen. (HUS Henkilökuntakäsikirja: 7.)

Lähes kaikki Meilahden patologian laboratorioden histo- ja sytologian harjoittelujaksolle tulevat bioanalyttikko-opiskelijat opiskelevat Metropolia AMK:ssa. Satunnaisesti laboratorioissa on ollut myös kansainvälisiä opiskelijoita Portugalista ja Italiasta. Opetussuunnitelmaan viitatessani tarkoitan Metropolian opetussuunnitelmaa. Kansainvälisillä opiskelijoilla on oman kokemukseni mukaan syvällisempi erikoisosaaminen valitsemaltaan erikoisalalta, joten opetusmateriaali on myös heille perusteltu lisä käytännön harjoittelujaksolle.

Immunohistokemian opiskelijaohjauksen suunnittelu lähtee ajatuksesta, että opiskelijalla on oltava perustiedot histologisesta prosessista ennen immunohistokemian laboratoriotyöhön tutustumista. Ammattikorkeakouluopiskelijalla on nykyisin mahdollisuus valita käytännönjakson pituus. Histo- ja sytologian harjoittelujakson maksimi pituus on kuusi viikkoa, lyhimmillään jakso on kahden viikon pituinen. Jakson suunnittelussa otetaan huomioon lyhyen harjoittelujakson tuomat rajoitteet. Pidemmällä harjoittelujaksolla valinnan mahdollisuudet ovat laajemmat. Kahden viikon histo- ja sytologian harjoittelujaksolla immunohistokemiaan tutustutaan maksimissaan kaksi päivää, kun taas kuuden viikon jaksolla opiskelija voi halutessaan valita viikon jakson immunohistokemian laboratorioissa. Opiskelijan toiveet harjoittelujakson painotuksille on myös helpompaa ottaa huomioon silloin, kun histologian harjoittelujakso on pitkä. Harjoittelujaksoon kuuluu myös muita lyhyitä patologian erikoislaboratorioihin tai liitännäistoimintoihin tehtäviä tutustumisia. Tällaisia ovat esimerkiksi neuropatologian, sytologian ja transplantaatiopatologian laboratorioihin tutustuminen sekä obduktioon ja gastroskopiatutkimukseen osallistuminen.

### **3 Käytännön harjoittelun oppimisen tukeminen**

Työpaikallani HUSLABin Patologian ja genetiikan vastualueella Meilahden patologian laboratorioissa immunohistokemiolla, halutaan kehittää opiskelijaohjausta. Opiskelija on osallistunut tähän asti näytteen kulun eri vaiheisiin laboratoriotyön käytännön määrittelymisen aikataulun mukaan. Laboratorion tiukka resurssointi johtaa toisinaan tilanteeseen, että opiskelija pääsee tutustumaan laboratoriotyön eri vaiheisiin vain ilman immunohistokemian perusteiden syvempää läpikäyntiä. Näitä mielenkiintoisia, käytännön ja teori-



an yhdistäviä perusteita pystytään tuomaan esiin valmiiksi tuotetulla opetusmateriaalilla. Tarkoitus on, että opetusmateriaali käydään läpi yhdessä ohjaajan kanssa. Kirjallinen opetusmateriaali toimii lähinnä ohjaajan tukena opetustilanteessa. Opetusmateriaalin käyttöönotolla voidaan haluttaessa korvata aiempi opiskelijan ja sairaalasolubiologin yhteinen päivittäinen kontrollikudosten mikroskopointi. Näin voidaan vapauttaa sairaalasolubiologi bioanalyytikko-opiskelijan ohjauksesta ja siirtää vastaava tehtävä bioanalytikolle.

Bioanalyytikon opinnoissa kliinisen histo- ja sytologian tutkimukset sisältävät immunohistokemian teorian kattavasti. Bioanalyytikko-opiskelija saa teoriaopetuksessa kattavan tietopaketin immunohistokemian teoriasta. Senkin vuoksi on mielekästä oppia harjoittelujaksolla uutta teorian ja laboratoriotyön yhdistävää tietoa. Immunohistokemian jakso on tähän mennessä sisältänyt paljon käytännön työtä ilman selkeää teoriakontekstia. Laboriatorietyöllä tarkoitan bioanalyytikon päivittäisiä työtehtäviä, kuten parafii-nin poisto, puskureiden valmistus, näytteiden ja reagenssien lataaminen laitteisiin, niiden purkaminen, laite huollot ja näytteiden jakaminen.

Opetusmateriaali sisältää kudoksen, immunohistokemian antigeeninosoitusvärjäyksillä värjätyt lasit ja kirjallisen opetusmateriaalin. Blokista opiskelija leikkaa kudostenleikkeet, jotka värjätään tapauskohtaisesti valituilla immunohistokemian antigeeninosoitusvärjäyksillä. Kahden hematoksyliini-eosiini lasin lisäksi valmiita antigeeninosoitusvärjäyksiä on 14 kappaletta. Ne on tarkoitettu opetustilannetta varten, jossa opiskelija ja ohjaaja yhdessä mikroskoipoivat löydöksiä. Kirjallinen opetusmateriaali on lähinnä ohjaajan tueksi laadittu opas opetustilannetta varten.

Valmiilla opetusmateriaalilla pyrin tekemään immunohistokemian kenttäjaksosta mielenkiintoisen kokonaisuuden, joka etenee immunohistokemian käytännön laboratoriotyön mukaisesti, päättyen mielekkääseen loppupäätelmään. Opinnäytetyön peruslähtökohtana on tuottaa opetusmateriaali, jonka avulla ohjaajalla on mahdollisuus opettaa opiskelijalle immunohistokemiallisen prosessin merkitys ja mahdollisuudet osana patologian laboratorion prosessia sekä potilaan hoitoprosessia. Opetusmateriaalin avulla opiskelija voi saavuttaa immunohistokemian käytännön harjoittelujaksolle asetetut osaamistavoitteet, jotka olen myös laatinut tässä opinnäytetyössä.

Työn toisena tärkeänä tarkoituksena on ollut oma ammatillinen kehittyminen. Bioanalyytikon työnkuvaan kuuluu vain harvoin värjäamiensä lasien mikroskopointi. Yleiset periaatteet ja värjäyksiin vaikuttavat tekijät ovat hyvin tunnettuja ammattitaitoisen henkilökunnan keskuudessa. Kontrollien tarkasteleminen voi kuulua joidenkin kokoneiden bioanalyttikkojen työnkuvaan satunnaisesti. Etenkin opiskelijaohjaustilanteessa koen mielekkääksi sen, että pystyn kertomaan työn tuloksen syvällisemmin näyttämällä lopullisen aikaansaannoksemme. Myös jatko-opintojen ja aiemman immunologian työkokemuksen myötä olen huomannut, kuinka paljon eri oppiaineiden sisällöt risteävät immunohistokemian kanssa. Koen laboratoriohoitajana ja immunohistokemian ammattilaisena velvollisuudekseni jakaa tätä tietotaitoa sekä nykyisten että tulevien kollegoitteni kanssa. Tuottamalla opetusmateriaalin olen pystynyt sekä syventämään edelleen omaa oppimaani että jakamaan sitä tarkoituksenmukaisesti.

Opinnäytetyössä tuotettavan bioanalyttikko-opiskelijan immunohistokemian käytännön jaksoa tukevan opetusmateriaalin opetusstrategiana olen soveltanut joitakin tutkivan oppimisen menetelmän periaatteita. Olen valinnut nämä periaatteet sen mukaan, että ne ovat hyödynnettävissä opetusmateriaalin käytössä. Opetusmateriaalin käytössä hyödynnetään tutkivan oppimisen ongelmanratkaisun ja kysymyksenasettelun tuottamaa aiemmin opitun tiedon sekä uuden tiedon kumuloitumista. Koska opinnäytetyön tarve on lähtenyt omasta käytännön kokemuksestani ja on näin ollen ollut oma ideani, olen ottanut vapauden soveltaa joitakin opetusmalleja, jotka on luettu kuuluvaksi tutkivan oppimisen periaatteisiin. Opetusmallit, joista olen ottanut vaikutteita oppimismateriaalin rakentamiseen ja jotka luetaan kuuluvaksi tutkivan oppimisen periaatteisiin, ovat case- eli tapausmenetelmä, oppipoika-mestarioppimisen malli ja ongelmalähtöinen oppiminen.

### 3.1 Tutkivan oppimisen teoreettisia lähtökohtia

Tutkivan oppimisen mallin ja teorian ovat esittäneet Hakkarainen, Lonka ja Lipponen (1999) kirjassaan Tutkiva oppiminen, älykkään toiminnan rajat ja niiden ylittäminen. Tutkivan oppimisen teoria on kehitetty kognitiivisen tutkimuksen pohjalta. Tarve tutkivan oppimisen menetelmälle on syntynyt tiedon vallankumouksen myötä. Viimeisten kolmenkymmenen vuoden kuluessa oppimiskäsitykset, käsitykset älykkyydestä ja tiedosta ovat muuttuneet. Aiemmin älykkyyttä pidettiin yksilön ominaisuutena, mutta ny-

kyisin korostetaan vuorovaikutuksen, fyysisen ja sosiaalisen toimintaympäristön vaikutusta älykkääseen toimintaan. (Hakkarainen – Lonka – Lipponen 2000: 11–13.) Kyseiseen teos on kerännyt lukuisia elementtejä aiemmasta kansainvälisestä kirjallisuudesta, joissa asiat on käyty läpi yksittäisinä teoriakokonaisuuksina.

Yhteiskunta ja koulujärjestelmä joutuvat tietoyhteiskunnan myötä muuttamaan ajatteluaan yksilökeskeisestä tavasta käsitellä älykkyyttä, oppimista ja ajattelua. On haluttu kehittää toisenlaisia lähtökohtia oppimiselle. (Hakkarainen ym. 2000: 12.) Esimerkkinä aktivoivan opetusmenetelmän käytöstä on Helsingin yliopiston lääketieteellisessä tiedekunnassa vuonna 1998 käyttöön otettu ongelmalähtöiseen opetukseen painottunut Helsinki 2000-opinto-ohjelma. Opetuksessa on käytetty tapauksia eli virikemateriaaleja, joita käydään läpi pienryhmissä. Tapauksina on käytetty esimerkiksi videoita, sanomalehden artikkeleita, sairauskertomuksia tai ruumiinavausselostuksia. Yksittäisen ongelman selvittäminen ei ole tapauksen selvittämisen kannalta olennaisinta, vaan se että opitaan soveltamaan ja omaksumaan lääketieteellistä tietoa monipuolisesti. Sekä laboratoriotöissä että patologian harjoitustöissä on käytetty ongelmalähtöisen oppimisen piirteitä omaavaa mentoriopetusta, jota luonnehditaan case-opetuksen kaltaiseksi. Siinä ohjaaja toimii vahvemmassa roolissa kuin perinteisessä ongelmalähtöisessä oppimisessä, jossa ohjaaja on lähinnä ryhmän tuutori. (Lindblom-Ylänne – Nieminen – Iivanainen – Nevgi 2009: 269–270.) Käytännön jaksolla on mielekästä käyttää opetustapaa, jossa ohjaaja ja oppilas ovat läheisessä vuorovaikutussuhteessa toistensa kanssa. Puhdasoppinen ongelmalähtöinen oppiminen painottaa käytännön jaksolle vierasta itseohjautuvaa itsenäistä tai opiskelijoiden yhteistä ongelmanratkaisua ilman ohjaajan välitöntä läsnäoloa. Perusteena opetussovellukselle, jota käytän, on lyhyt käytännön jakso. Tämä aika on syytä käyttää opiskelijan kanssa yhdessä työskennellen, opiskellen ja pohtien immunohistokemian tarjoamia asioita.

### 3.2 Tutkivan oppimisen periaatteita

Lähtökohtana tutkivalle oppimiselle on luoda mielekäs konteksti eli merkityksellinen ja moniulotteinen aihepiiri. Opiskelija etenee jäljittelemällä valmiiden asiantuntijayhteisöiden toimintatapoja. Tietoa ymmärretään ratkaisemalla tutkittavaan asiaan liittyviä ongelmia, käsitteitä ja niiden suhteita toisiinsa. Näin ollen tieto syvenee. Lähestymistavassa on keskeistä oppijan aktiivisuus ja yhteistyötaidot. On myös huomioitava miele-

käs kysymyksenasettelu ja muu ohjaukseen liittyvä tuki. (Hakkarainen – Bolltröm – Huttunen – Pyysalo – Lonka 2005: 29–30.) Opettajan roolina on olla ohjaajana oppimisprosessissa ei niinkään tiedon jakajana (Perkkilä 2008: 122).

Ominaista tutkivalle oppimiselle ovat tutkimusprosessin aikana heräävät aidot kysymykset. Niiden tarkoituksena on ongelman ratkaisu tai uuden asian ymmärtäminen. Selittävät kysymykset kuten miksi ja kuinka ovat keskeisiä. Silloin tavoitteena on ymmärtäminen ja ymmärtämisen saavuttaminen. Kysymyksen tarkoitus ei ole kuitenkaan rajata oppimisen sisältöä vaan herättää uusia kysymyksiä, joihin opettajallakaan ei ole aina valmiita vastauksia. Näin myös opettaja joutuu omalta osaltansa oppimisprosessiin. Tutkimusprosessin alussa esitetty kysymyksenasettelu on vain lähtökohta. Näin saadaan aikaan luonnollisesti asteittain syvenevä tutkimus, joka edelleen syvenee. (Hakkarainen ym. 2004: 284–287.)

Asteittain syvenevälle oppimiselle on ominaista myös älykkään toiminnan tilannesidonaisuus. Hakkarainen ym. ovat kirjassaan sitä mieltä, että asiantuntijuuden kehittyminen on mahdollista vain osallistumalla aitoihin asiantuntijan käytännön tilanteisiin. Tällaisten käytännönläheisten sosiaalisten rakenteiden olemassaolo nähdään tärkeäksi mahdollisimman varhaisessa vaiheessa opintoja. (Hakkarainen ym. 2004: 129.) Opiskelijan käytännön harjoittelujaksoa voidaan pitää juuri tällaisena käytännönläheisenä sosiaalisena asiantuntijakontaktina.

### 3.3 Tutkivan oppimisen avulla saavutettuja oppimistuloksia

Seuraavat tutkimukset olen valinnut siksi, että niissä esiintyy samanlaisia elementtejä kuin opinnäytetyönä rakentamassani opetusmateriaalissa. Näitä ovat esimerkiksi historia, case-tapaus, asiantuntijayhteys ja kontekstioppiminen.

Tutkimuksessansa Li ja Chen (2011) jakoivat satunnaistaen eläinlääketieteen opiskelijat histologian kurssilla kahteen ryhmään. Toinen ryhmä osallistui perinteiseen luento-opetukseen ja toinen osa ryhmästä monimuotoiseen case-tyyppiseen, opiskelijakeskeiseen pienryhmäopetukseen, joka tutkimuksessa luokiteltiin ongelmakeskeiseksi opetustyyliksi. Tutkittavan ryhmän oppimistulokset olivat tilastollisella menetelmällä mitattuna huomattavasti paremmat, kuin perinteisellä tavalla opetetulla vertailuryhmällä. Opiske-

lijat hyötyivät monimuotoisesta oppimistavasta ja se myös aktivoi opiskelijoita etsimään ja käsittelemään tietoa. (Li – Chen 2011: 414–416.)

Kanadassa suoritetussa tutkimuksessa haastateltiin sairaanhoitajia, jotka olivat opiskelleet kontekstisidonnaisella ongelmakeskeisellä opetusmenetelmällä. Tutkimus suoritettiin induktiivisella lähtökohdalla suoritetulla laadullisella tutkimusmenetelmällä. Tutkimustulokset kertoivat jo valmistuneiden sairaanhoitajien kokemuksista siitä, miten opetusmenetelmä on heidän kokemuksensa mukaan vaikuttanut heidän ammattitaitoonsa. Hoitajat kokivat olevansa positiivisia ja avoimia uusille asioille. He kokivat olevansa kriittisempiä kuin kollegansa, jotka ovat perinteisellä tavalla koulutettuja. He osaavat mielestään kyseenalaistaa tietoa ja tiedostavat myös etteivät tiedä kaikkea. He osaavat hakea tietoa luotettavista lähteistä ja arvioivat tietoa kriittisesti. He kokivat olevansa elinikäisiä oppijoita ja heillä oli halu kehittyä työssään. Opetusmenetelmä vaikutti positiivisesti myös sosiaalisten tilanteiden oppimiseen ja työyhteisössä toimimiseen. Vastaajat kokivat oppineensa yhteistyötaitoja ja näin ollen vuorovaikutuksen moniammatillisissa työyhteisöissä, johtajuuden ottamisen ja ristiriitatilanteissa toimimisen luontevaksi. Myös kollegojen kunnioitus mainittiin keskeisenä asiana. Palautteen antaminen ja palautteen vastaanottaminen koettiin helpoksi. (Williams ym. 2011: 1–3.)

#### 3.4 Tutkivan oppimisen sovellus immunohistokemian opetusmateriaaliin

Käytännön harjoittelujakso on luonteva paikka käyttää aitoa case-tapausta oppimisen lähtökohdaksi. Moniammatillisen asiantuntijayhteisön läsnäolo ja ammattitaito mahdollistavat syvällisen ja aidon oppimistilanteen luomisen. Aiemmin opitun teorian yhdistäminen todelliseen asiayhteyteen on innostava ja mielekäs tapa tuoda ilmi aiemmin opinnoissa opitun asian tarkoitus työelämässä ja asiantuntijuudessa. Parhaimmillaan oppimistilanne tuottaa lisätietoa ja opettaa yhdistämään eri oppiainekokonaisuuksia toisiinsa.

Ensimmäisenä case-tapauksena on ruumiinavauskertomus, jonka tarkoituksena on herättää kysymys ensisijaisesti potilaan kuolinsyystä. Ruumiinavauskertomuksesta opiskelija löytää anatomian ja fysiologian sekä histologian kurssilla oppimiaan tieteellisiä termejä sekä näkee patologin pohdintaa ja arviointia fyysisen järjestelmän toiminnasta potilaan kuolemaan johtaneessa tilanteessa. Tässä kohtaa oppimisprosessia opiskelija

pääsee kertaamaan aiemmin oppimaansa ja pohtimaan, miten fysiologisen järjestelmän muutokset vaikuttavat ihmiseen. Opiskelijalle herää kysymys, mikä on potilaan kuolinsyy ja miten se voidaan selvittää.

Toisena case-tapauksena on saman potilaan aiemmin sairastama rintasyöpä. Tapauksessa opiskelija pääsee tekemään rintasyövän diagnoosia, jonka immunohistokemian antigenin osoitusvärjäysten tulokset vaikuttavat potilaan hoidon valintaan ja ennusteseen. Tapauksen yhteydessä opiskelija pääsee tutustumaan myös kyseisen potilaan rintasyövän hoidon valinnan periaatteisiin ja hoidon teorian periaatteisiin.

Mikroskopointiosuudessa opiskelijalle tarjoutuu tilaisuus käyttää hyväksensä aiempaa oppimaansa solubiologiasta ja perimästä sekä perimän tutkimuksista, histo- ja sytologiasta ja kyseisen kurssin immunohistokemian osuudesta. Myös toksikologia ja farmakologia sekä lääketieteelliset aineet tulevat hyödynnettäväksi potilaan rintasyöpähoito-osuudessa.

Huomioimalla usean eri oppiaineen sisällöt ja luomalla niille yhtymäkohtia case-tapauksen muodossa aidossa asiantuntijayhteisössä, toteutuu useita tutkivan oppimisen kriteerejä. Kuten alussa kerroin, tässä käytännön harjoittelun opetustilanteessa toteutuu vain osa tutkivan oppimisen kriteereistä. Kyseessä ei siis ole tutkivan oppimisen malliesimerkki. Pyrkimyksenä on ensisijaisesti luoda mielekäs opetustilanne immunohistokemian käytännönjaksolle.

### 3.5 Osaamistavoitteet

Osana Bolognan prosessia, koulutuksen tavoitteet kuvataan osaamiseen perustuvilla lausekkeilla. Sen johdosta opetussuunnitelmiin kuuluvat opintojaksojen ja mielellään myös opintokokonaisuuksien tavoitteet tulee nykyisin laatia ns. osaamistavoitteina (learning outcomes). (W5W<sup>2</sup>-hankkeen laatima opas 2009: 4.)

Opinnäytetyön puitteissa olen laatinut osaamistavoitteet immunohistokemian käytännönjakson osuuteen, joka on osa histo- ja sytologian käytännönjakson kokonaisuudesta. Mainittakoon vielä että immunohistokemian käytännönjakso on ajallisesti lyhyt kokonaisuus, minkä vuoksi osaamistavoitteet on laadittu hyvin yleiselle tasolle.

Seuraavaksi käyn läpi asioita osaamistavoitteiden laadinnasta, joita olen ottanut huomioon osaamistavoitteiden laadinnassa immunohistokemian käytännönjaksolle.

### 3.6 Osaamistavoitteiden laadinta

Osaamistavoitteilla kuvataan lyhyesti, mitä opiskelijan tulee hyväksytyin arvosanan saavuttaakseen tietää, ymmärtää tai pystyä tekemään opintojakson suoritettuaan. Osaamistavoitteet täytyy ilmaista selkeästi ja yksinkertaisesti esimerkiksi tietoina, taitoina tai asenteina. Osaamistavoitteiden on oltava sellaisia, että opiskelija voi ne saavuttaa ja ne pitää voida myös arvioida. (W5W<sup>2</sup>-hankkeen laatima opas 2009: 4.)

Osaamistavoitteet laaditaan opintojakson minimitasolle eli sille tasolle, mikä opiskelijan on saavutettava suorittaakseen jakson hyväksytysti. Tällä turvataan se, että opiskelija saavuttaa vähintään seuraavalle opintojaksolle vaadittavat tiedot. Jokaisella opintojaksolla näin asetetut tavoitteet saavat aikaan sen, että tieto pääsee kumuloitumaan ja kokonaisuudet hahmottumaan. (W5W<sup>2</sup>-hankkeen laatima opas 2009: 5.)

W5W<sup>2</sup>-hankkeen laatiman oppaan (2009: 7) mukaan hyvin kirjoitettu osaamistavoite sisältää seuraavat asiat:

- Verbin, joka kertoo, mitä oppijan odotetaan pystyvän tekemään oppimisjakson lopussa.
- Sanan tai sanoja, jotka ilmaisevat, minkä asian kanssa oppija on tekemisissä.
- Sanan tai sanoja, joita käytetään osoituksena siitä, että oppimista on saavutettu.

### 3.7 Osaamistavoitteet immunohistokemian käytännönharjoittelussa

Tavoitteet on laadittu yleisluontoisiksi, koska opiskelijan immunohistokemian laboratoriossa viettämä aika on tavallisesti kaksi tai kolme työpäivää. Osaamistavoitteita voi laatia opiskelijakohtaisesti silloin, kun opiskelijan käytännön jakso immunohistokemian laboratoriossa on pidempi. Käytännön jakson jälkeen

- opiskelija osaa kuvailla immunohistokemian osuuden syöpäpotilaan hoitokokonaisuudessa.
- opiskelija osaa selittää immunohistokemian värjäyksen peruseriaatteen.
- opiskelija osaa kertoa immunohistokemian antigeeniosoitusvärjäysten laadunvarmistustoiminnan yleisperiaatteen.

Osaamistavoitteiden saavuttaminen varmistetaan käytännön laboratoriotyön sekä opetusmateriaalin läpikäynnin ohessa.

#### **4 Opinnäytetyön käytännön toteutus**

Oppimismateriaalin aineistoksi valikoitiin yksittäinen aito potilastapaus. Potilastapaus valittiin tekemällä vakiopaiminta HUSLABin Patologian keskuslaboratorion tietojärjestelmästä tietyin ehdoin. Lähtökohtana oli löytää potilas, jonka tautihistoriassa on ollut useita eri tautitiloja, joista ainakin osa olisi vain immunohistokemian antigeeniosoitusvärjäyksin diagnosoitavissa. Opetusmateriaalin valmistuksessa on käytetty potilaan ruumiinavausnäytteen yhtä maksakudosblokkia ja yhtä rinnan paksuneulanäytettä.

Patologian laboratoriossa on 1950-luvulta ylläpidetty potilasnäytearkisto, joka sisältää alkuperäiset näytelasit ja kudokset. Suurin osa laboratorioon saapuvista kudokseteistä valetaan parafiiniin, ja ne ovat siksi arkistoitavissa vuosikymmeniä. Kudokseteiden säilytys on säädelty potilasasiakirjojen laatimisesta sekä niiden ja muun hoitoon liittyvän materiaalin säilyttämisestä Sosiaali- ja terveysministeriön asetuksella 99/2001.

HUSLAB vaatii lähes poikkeuksetta kaikille ammattikorkeakoulussa suoritettaville opinnäytetöilleen tutkimusluvan. Tälle opinnäytetyölle on haettu tutkimuslupa Helsingin- ja Uudenmaan sairaanhoitopiirin konsernihallinnon johtajaylilääkäriin 1/2010 ohjeen mukaan.

Opinnäytetyön laadinnassa on otettu huomioon potilaan tietosuoja hyvin tarkasti. Opetusmateriaali muodostuu aidosta potilastapauksesta, mutta se muokataan niin, ettei kyseistä potilasta voi tunnistaa. Käytännössä opinnäytetyössä kerrotaan vain yleinen luonnostelma ruumiinavauskertomuksesta ja potilaan tautihistoriasta. Käytännönjaksol-



la opiskelija saa luettavakseen koko ruumiinavauskertomuksen ilman henkilötietoja. Tämän mahdollistaa kenttäjaksolla opiskelijaa velvoittava vaitiolovelvollisuus.

Kudosnäyte, jota käytetään opetusmateriaalin valmistuksessa, on valittu niin, että sitä on riittävästi. Tämä oli yksi kriteeri kyseisen potilastapauksen valinnalle. Tällä voidaan turvata se, että näytemateriaalia jää edelleen arkistoitavaksi mahdollista myöhempää tarvetta varten.

Immunohistokemian värjäysten tulkinta ei kuulu bioanalyytikon työnkuvaan lukuun ottamatta satunnaista kontrollien tarkastelua. Sen vuoksi värjäysten analysointi on ollut opinnäytetyöni haasteellisin ja ammatillisesti opettavaisin osuus.

#### 4.1 Aineiston jäsentäminen

Aloitimme toteamalla aineiston soveltuvuuden opetusmateriaaliksi tarkastelemalla potilaan alkuperäiset näytelasit sairaalasolubiologi Mia Keron kanssa. Värjättyjen lasien, vanhojen diagnoosien ja hoitavan lääkärin kysymyksenasettelun perusteella päätimme, mitä värjäyksiä kudosnäytteestä olisi järkevää tehdä opetusmateriaalia varten. Case-tapaus suunniteltiin niin, että se analysoidaan samalla tavoin, kuin patologin etsiessä lopullista diagnoosia potilaan kudosnäytteestä. Tässä vaiheessa sain yleiskuvan siitä, miksi juuri näitä kyseisiä värjäyksiä tehdään patologin hakiessa diagnoosia kyseiselle potilaalle, mitä solun rakenteita kyseiset värjäykset värjäävät ja miten tulokset voivat vaikuttaa potilaan hoitoon.

#### 4.2 Tietolähteet

Perusorientaation jälkeen tutustuin kirjallisuuden avulla opetusmateriaalissa käytettäviin värjäyksiin kyseisissä tautitiloissa. Opetusmateriaalin tietoperustaan olen käyttänyt työpaikaltani löytyvää immunohistokemian kirjallisuutta, Metropolian ja Terkon kirjoista löytynyttä immunologian, solubiologian, endokrinologian ja syöpätautien kirjallisuutta. Olen myös saanut sairaalasolubiologi Mia Kerolta luotettavan, sairaalasolubiologien käytössä olevan internet lähteen NordiQC:n sivustolle. Palasin usein myös bioanalyytikon ammattikorkeakouluopintojen solubiologian, perimän, perimän tutkimusten ja biokemian luentomuistiinpanoihin lähinnä oman orientaation vuoksi.

Osaamistavoitteiden laadintaan ja opinnäytetyön teoreettiseen viitekehykseen olen saanut tukea ja ohjausta kliiniseltä asiantuntujalta Marjo Tolppaselta. Opetusmateriaalin analysointivaiheessa olen tarvinnut sairaalasolubiologi Mia Keron opastusta. Ruumiinavaustapauksen potilaan kuolinsyystä olen joiltain osin keskustellut patologi Ari Ristimäen kanssa. Potilaan aiemman rintasyövän hoito-osuudesta kävin keskustelemassa Syöpätautien klinikan jonohoitajan sairaanhoitaja Kirsi Lintulan kanssa. Syöpätautien klinikan jonohoitaja suorittaa käytännön järjestelyt kutsuttaessa potilas lääkehoidon aloitukseen noin neljä viikkoa rintasyövän kirurgisen hoidon jälkeen. Keskustelun lisäksi sain sairaanhoitaja Kirsi Lintulalta mukaani rintasyöpäpotilaan kirjalliset ohjeet lääkehoidon aloitukseen, rintasyövän liittämislääkehoito-ohjeet, SYVO-lääkärin perehdytysohjeet ja Trastuzumabi-hoito-ohjeet. Nämä ohjeet on opiskelijan luettavissa immunohistokemian käytännön jaksolla.

#### 4.3 Opetusmateriaalin sisältö

Opetusmateriaali koostuu ruumiinavausnäytteestä tehdystä kudoseblokista, näytelaseista ja kirjallisesta osuudesta. Pääpaino on kirjallisella osuudella.

Väräykset valittiin syöpätyyppien mukaan, kuten patologi oli ne diagnoosin tekoa varten valinnut. Leikkasin kudoseleikkeit objektilasille vesiliukumikrotomilla. Väräykset suoritin Ventana- ja Labvision- värjäysautomaateilla näytesarjojen mukana. Näiltä lauseilta tein varsinaisen opetusmateriaalin eli kirjallisen tuotoksen.

Kuvat, jotka ovat runkona kirjalliselle opetusmateriaalille, olen kuvannut mikroskooppiin liitettyllä kameralla. Kuvattavaksi valitsimme fokukset, joissa näkyy syöpäkudosta. Kuvattavat alueet on valittu kyseisissä syövässä esiintyvien solumuutosten mukaan. Myös bioanalyytikon oppimisen kannalta muita mielekkäitä kohtia on kommentoitu kirjallisessa opetusmateriaalissa. Tällaisia ovat esimerkiksi värjäyksen laadun arviointiin vaikuttavat tekijät tai omissa bioanalyytikon teoriaopinnoissa esille tulleet solun tai kudoksen rakenteet, jotka liittyvät värjäyksen periaatteisiin. Kontrollikudoksista ja mahdollisista sisäisistä kontroleista kuvasin ne kohdat, joilla värjäys voidaan todeta laadultaan onnistuneeksi.

Kuvattavat löydökset on raportoitu värjäyksittäin selittäen, mitkä solut värjäytyvät, miten ne värjäytyvät, mitä löydös tarkoittaa suhteessa potilastapaukseen ja muita kyseiseen värjäykseen liittyviä erityishuomioita. Samassa yhteydessä on tarkasteltu jokaisella lasilla oleva positiivisen kontrollin värjäytyvyys ja siinä olennaiset asiat. Opetusmateriaalissa on kuvattuna ne löydökset jotka johtavat diagnoosin tekoon.

Kummankin tapauksen loppuyhteenvedon olen selittänyt, mitkä tekijät johtavat meidät lopullisiin diagnooseihin, mikä on värjäystulosten vastausten ja rintasyövän hoitojen välinen yhteys. Olen myös käynyt läpi rintasyövän hoitojen teoreettisia periaatteita kyseisen case-tapauksen potilaan kohdalla. Teoreettisia periaatteita olen kuvaillut niiden solubiologisten ja biokemiallisten periaatteiden vuoksi. Yleisesti kerron pohdinnasta patologin kanssa, miksi syöpä aiheutti potilaan kuoleman.

## **5 Opetusmateriaalin käyttö immunohistokemian laboratoriossa**

Päädyin painottamaan opetusmateriaalia kirjalliseksi materiaaliksi, jotta sen käyttö olisi jatkossa mahdollista myös kollegojen keskuudessa ja heidän toimesta. Opetusmateriaalin teoria-asiat ovat suurimmalta osin ennestään tuntemattomia minulle, kuten myös muille laboratoriomme laboratoriohoitajille. Kirjallisessa muodossa olevan materiaalin käytön perehdyttäminen on mahdollista. Se mahdollistaa myös pidemmät tauot materiaalin käytön välillä.

Kudosblokin otin mukaan opetusmateriaaliin, jotta pidemmän jakson opiskelija pystyisi käytännössä suorittamaan immunohistokemian prosessin mahdollisimman kokonaisvaltaisesti, jopa itsenäisesti. Samalla kyseinen näyte yhdistyy luontevasti opetusmateriaaliin. Opiskelija voi leikata hänelle tarkoitetusta blokista leikkeet ilman pelkoa potilasnäytteen vahingoittamisesta sekä laimentaa niiden analysointiin tarkoitetut vastaaineet. Opiskelija voi myös käsitellä omat näytteensä ilman kiirettä, välittämättä laboratorion normaalin päivittäisen toiminnan aikatauluista. Suurin osa normaalista päivittäisessä toiminnassa on tiukasti aikataulutettua. Useat laboratorion toiminnot tapahtuvat käytännössä samaan aikaan eri työntekijän toimesta.

## 5.1 Perehdytys opetusmateriaalin käyttöön

Julkaisen opinnäytetyöni käymällä läpi opetusmateriaalin kollegojeni kanssa, kuten normaalissa opetustilanteessa. Tilaisuudessa voimme käyttää runsaasti aikaa myös vapaaseen keskusteluun ja pohdintaan. Samalla voimme suunnitella mahdollista jatko-perehdytystä. Tarkoituksenmukaista olisi perehdyttää opiskelijavastaavan lisäksi vähintään kaksi laboratoriohoitajaa tulkitsemaan oppimismateriaalia kattavasti. Näin toimimalla, opetusmateriaalin käyttö ei ole riippuvainen vain minun läsnäolostani immunohistokemian laboratoriossa. Perehdytys tapahtuu samalla tavoin kuin opetusmateriaalin käyttö opetustilanteessa. Perehdytettävät opiskelijaohjaajat voivat osallistua aitoihin opetustilanteisiin, joissa opiskelija ja ohjaaja mikroskoipoivat opetusmateriaalin laseja. Tällä tavoin opetusmateriaalin sisältö ja käyttö tulee kertaamalla tutuksi.

## 5.2 Opetusmateriaalin käyttötapa

Opetusmateriaalin tarkoituksena on, että opiskelija ymmärtää immunohistokemian prosessin merkityksen ja mahdollisuudet patologian laboratoriossa sekä sen, miten immu-noistokemian antigeeninosoitusräjät saavat vastaukset voivat vaikuttaa potilaan hoitoon.

Opiskelija leikkaa kudosplokkista leikkeet, jotka hän käsittelee normaalin immunohistokemian prosessin mukaisesti yhdessä ohjaajan kanssa. Värjättäväksi valitaan osa opetusmateriaaliin kuuluvista antigeeninosoitusräjät. Tässä vaiheessa opiskelija suorittaa käytännössä valtaosan laboratorion käytännön työvaiheista. Värjäysten valmistuttua opiskelija saa luettavakseen ruumiinavauskertomuksen. Sen jälkeen opiskelija ja ohjaaja pohtivat siitä mahdollisesti nousseita kysymyksiä. Opiskelija ja ohjaaja mikroskoipoivat opetusmateriaalin sisältämät lasit ja opiskelijan värjäämät lasit. Ohjaajalla on niiden tulkinnessa tukena opinnäytetyönä tehty kirjallinen opetusmateriaali. Opetusmateriaalia voi halutessa täydentää mikroskopointitilanteessa nousseiden uusien kysymysten ja pohdintojen johdosta syntyvällä uudella tiedolla. Opetustilanteessa syntyviin uusiin kysymyksiin voidaan saada vastauksia keskustelemalla sairaalasolubiologin tai patologin kanssa. On myös mahdollista tehdä tiedonhakua HUSLABin laajasta, työntekijöille avoimesta Terkon tietokannasta tai kirjallisuudesta. Opetusmateriaalia voi käyttää myös ilman käytännön työsuutta, jolloin mikroskopoidaan valmiiksi värjättyjä

laseja kirjallisen opetusmateriaalin kanssa. Yleiset kysymykset joihin opetusmateriaali vastaa ovat:

- Mikä on potilaan pääasiallinen kuolinsyy ja diagnoosi?
- Mikä värjäys on positiivinen/ negatiivinen?
- Miten on diagnosoitu potilaan sairastama rintasyöpä?
- Miten immunohistokemian värjäysten tulos on johtanut kyseisen rintasyövän hoidon valintaan?
- Miten kyseistä rintasyöpää hoidetaan?
- Miten rintasyövän ja melanooman aggressiivisuus saadaan selville?
- Millainen on immunohistokemian värjäyksen laadunvarmistus?

## 6 Kirjallinen opetusmateriaali

Olen kerrannut opetusmateriaalin alussa immunohistokemian menetelmien periaatteen. Sen jälkeen olen kertonut jokaisen värjäyksen osalta ensin yleistä kyseisestä värjäyksestä. Kuvan jälkeen olen kertonut tummennetulla taustalla, mitkä ovat kyseisen värjäyksen löydökset. Löydösten jälkeen esitän kuvan ulkoisesta kontrollikudoksesta, jonka positiivisuuden kriteereistä kerron kuvan alla. Sisäisellä kontrollilla tarkoitetaan kontrollia, joka on potilaan näytekudoksessa. Sisäiset kontrollit olen maininnut potilasnäytteen löydösten yhteydessä. Opetusmateriaalin loppuksi kerron rintasyövän hoidoista, jotka kyseisen rintasyöpäpotilaan tapauksessa tulevat kysymykseen.

Mikroskopointi aloitetaan positiivisen kontrollikudoksen tarkastelulla. Laadun varmistamisen lisäksi kontrolli toimii myös opiskelijalle viitteenä siihen, minkälaisia löydöksiä etsimme varsinaisesta syöpäkudoksesta. Kontrollikudoksen osalta on hyödyllistä käydä läpi kyseisen kudoksen erityispiirteitä, jolloin teoretietoa tulee esille myös muista kuin rinta- ja maksakudoksesta. Näitä kontrollikudoksia ovat tonsilla, suoli, iho ja cervix.

### 6.1 Immunohistokemian tutkimus

Parafiiniblokista leikataan mikrotomilla 3 µm:n paksuinen leike objektilasille. Lasi lämpökäsitellään + 37°C:ssa yli yön tai + 56°C:ssa tunnin ajan kudosleikkeen kiinnittämi-

seksi. Näytelasilla oleva kudokset käy läpi parafiinin poiston, jonka tarkoituksena on poistaa veteen liukenematon parafiini, koska myöhemmin tehtävät immunohistokemian reaktiot tapahtuvat vesifaasissa. Sen jälkeen näytelasille tehdään esikäsittely sille optimoidulla esikäsittelymenetelmällä. Esikäsittelyn tarkoituksena on purkaa formaliinifikaation aikaansaamia ristisilloja ja poistaa proteiineja, jotka ovat saostuneet antigeenin läheisyyteen. Ristisillat voivat aiheuttaa väärän negatiivisen tai heikon positiivisen värjäystuloksen. (HUSLAB Patologian keskuslaboratorio Immunohistokemia työohjeet 2011: 2-13). Värjäys tapahtuu värjäysautomaateilla, käyttäen kaupallista tai laboratorion itse optimoimaa vasta-ainelaimennosta. (HUSLAB Patologian keskuslaboratorio Immunohistokemia tutkimuskuvaukset 2011: 3). Jokainen yksittäinen immunohistokemian laboratorion vasta-ainetutkimus on optimoitu ennen käyttöönottoa sairaalaselubiologin ja patologin toimesta.

Kudosnäytteessä oleva antigeeni tunnistetaan spesifillä primaarivasta-aineella, joka on tuotettu hiiressä tai kanissa. Primaarivasta-aine tunnistetaan sekundaarivasta-aineella, johon on kiinnitetty polymeerirunko. Polymeerirungossa olevat HRP-molekyylit reagoivat viimeiseksi lisättävän DAB-kromogeenin kanssa, jolloin spesifi sitoutuminen tulee näkyväksi. Tummat värjätään hematoksyliinilla. (HUSLAB Patologian keskuslaboratorio Immunohistokemia tutkimuskuvaukset 2011: 2–3.) UltraVIEV-Red-kitissä Fast Red/Naphtol-kromogeeni saa alkaalisen fosfataasin avulla vasta-ainekompleksin näkyväksi (HUSLAB Patologian laboratorio 1 Immunohistokemia työohjeet 2011: 39). Kudoksissa, joissa esiintyy solujen endogeenista pigmentoitumista, käytetään hyväksi Red-kitin punaista kromogeenia visualisoinnin helpottamiseksi (Kero 2012).

## 6.2 Ruumiinavaustapaus

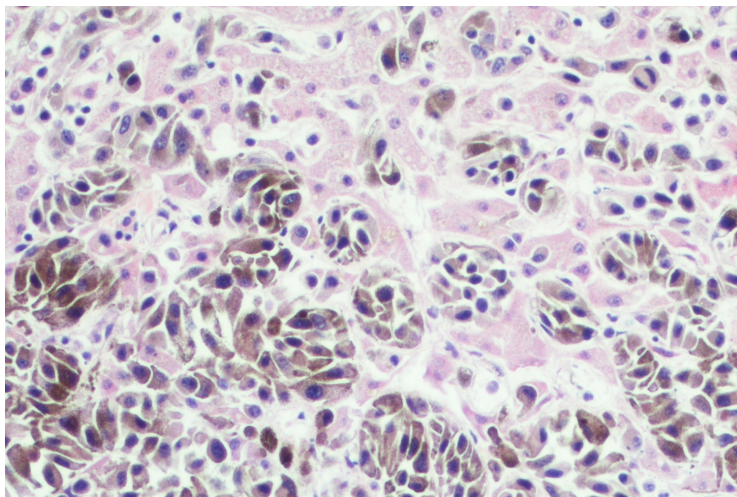
Potilas on iäkäs, noin viisitoista vuotta sitten rintasyövän sairastanut nainen. Noin vuosi sitten todettu taudin uusiutuneen kinalon imusolmukkeissa. Potilaalla on ollut iän tuomaa sydänvaivaa. Hän sairastaa verenpainetauti, diabetesta ja astmaa. Potilasta on tutkittu nyt myös peräsuoliverenvuodon vuoksi ja kolonoskopiassa on nähty hyvänlaatuisiksi tulkittuja muutoksia. Muutama päivä toimenpiteen jälkeen potilaan vointi on huonontunut. Potilas on löytnyt huoneestaan kuolleena.

Ruumiinavauksessa maksa on selvästi suurentunut ja kirjava. Maksakudoksesta tehdään poikkeuksellisesti jääleike, josta löytyy malignia solukkoa. Perna on myös normaalia kookkaampi ja rakenteeltaan epänormaali. Sydämessä nähdään infarktimuutoksia ja systeemiverenkierron valtimoissa on runsaasti ateroskleroosia. Munuaiset ovat epäsymmetriset ja niissä on kortikaalisia kystia. Myös haimassa on kystia. Sekä colonissa että rectumissa on adenoomasuspekteja alueita. Imusolmuke suurentumia ei havaita.

Maksakudoksesta pyydetään seuraavat värjäykset: Hematoksyliini-eosiini värjäys ja immunohistokemian CD45-, CK7-, CK20-, CKPAN-, estrogeenireseptori-, MART-1-, HMB-45- ja MIB-1-antigeeninosoituvärjäykset. Värjäykset edustavat tyypillistä paneelia, joilla tuntematonta alkuperää oleva metastaatinen syöpä pyritään tyypittämään.

#### 6.2.1 Hematoksyliini-eosiini

Hematoksyliini-eosiini on histologinen yleisvärjäys. Sillä voidaan erottaa solujen tumat ja sytoplasma toisistaan. Hematoksyliini värjää happamat kudosten osat neutraalissa tai happamassa liuoksessa. Eosiini puolestaan värjää emäksisiä kudosten osia neutraalissa tai emäksisessä liuoksessa. Hematoksyliini on regressiivinen värjäys eli perustuu tietyn värikylläisyyden saavuttamiseen tietyssä ajassa. Eosiini on progressiivinen värjäys eli näyte ylivärjätään, jonka jälkeen ylivärjäytymä pestään pois. (HUSLAB Patologian keskuslaboratorio Histologia, työohjeet 2011: 17.)



Kuvio 1. Hematoksyliini-eosiini 10x.

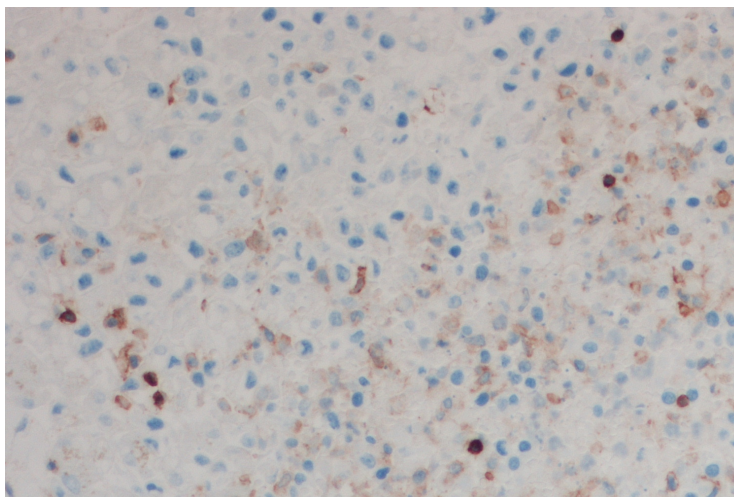
Laseilla (kuvio 1) nähdään kasvainsolukkoa normaalien hepatosyyttien joukossa. Osa kasvainsolukkoa on pigmentoitunutta. Laattamaiset solut ovat hepatosyytteja. Koska mitoosikuvioita on vähän, kasvainsolukko hitaasti jakautuvaa. (Kero 2011.)

Hematoksyliini-eosiinivärjäyksen laadunvarmistus tehdään joka päivä värjäyssarjan ensimmäisistä ja myöhemmän iltapäivän värjäyksistä. Mikroskopoinnissa tarkastellaan tumen värjäytymistä tummalla lilalla (20x objektiivi) ja tumen kromatiinin intensiteettieroja (40 x objektiivi). Sytoplasma värjäytyy eosiinilla punaisen eri sävyillä. Sidekudos värjäytyy lohenpunaisella. (Kaunisto 2012.)

### 6.2.2 CD45

CD45 on PTP-perheeseen (proteiin tyrosine phosphatase) kuuluva glykosyloitu proteiini. CD45 antigeeni ilmenee kaikissa ihmisen hematopoeettisissa soluissa, lukuun ottamatta punasoluja. (NordiQC 2005.)

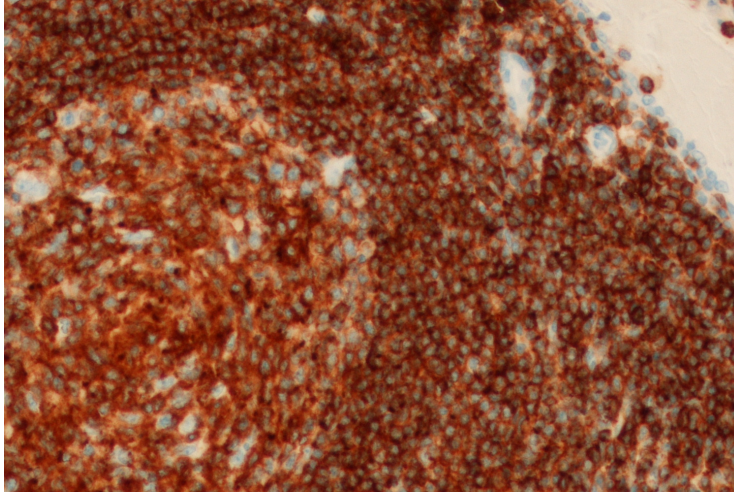
CD45 on tärkeä markkeri tuumorien erotusdiagnostiikassa. Se on positiivinen suuressa osassa hematolymfaattisissa sairauksissa, kuten leukemioissa ja maligneissa lymfoomissa. (NordiQC 2005.)



Kuvio 2. CD45 20x.

CD45 värjäyksen solukko (kuvio 2) on negatiivisesti värjäytynyt. Paikoittain nähdään joitakin reaktiivisia lymfosyytteja, jotka ovat tulehdussoluja. Voidaan sulkea pois, että kasvainsolukko olisi lymfaattista alkuperää. (Kero 2011.)





Kuvio 3. CD45 positiivinen kontrolli 20x.

Positiivinen kontrolli (kuvio 3) on normaali tonsillakudos, joka on imukudosta. CD45 värjää B-solut itukeskuksesta ja manttelisoluvyöhykkeestä sekä T-solut manttelisoluvyöhykkeestä. Kuvassa näkyy myös poikkileikkaus verisuonesta. (Kero 2011.)

### 6.2.3 Sytokeratiinit

Sytokeratiinit (CK) ovat välimuotoisia säikeitä solun tukirangassa. Sytokeratiinit ovat monigeeninen, monimutkainen geeniperhe, joka koodaa useita eri polypeptideja. Erilaisia sytokeratiineja tunnetaan 20 kappaletta. Sytokeratiinit jaetaan kahteen alaluokkaan. Tyyppi A:han (luokka I) eli happamaan luokkaan kuuluu sytokeratiinit CK9-CK20. Tyyppi B:hen (luokka II) kuuluu neutraalit (neutral-basic) sytokeratiinit CK1-CK8. Tyyppin A sytokeratiinit muodostavat komplekseja tyyppin B sytokeratiinien kanssa. Yhdessä ne muodostavat heterodimeereja. (NordiQC 2011.)

Sytokeratiinit ovat olennainen markkeri erotettaessa epiteelisolualkuperää olevat karsinomat muista tuumoreista. Suurin osa CK-tyypeistä voidaan yhdistää tiettyyn epiteelisolukloon. Mikäli kasvainsolukko ei ilmennä CK-antigeenia, voidaan olettaa että kasvainsolukko ei ole epiteelisoluperäinen. (NordiQC 2011.)

CK-Pan vasta-aine, kuten AE1/AE3 sisältää useimpia eri sytokeratiinivasta-aineita. Se on hyödyllinen kun erotetaan karsinoomaa ei epiteliallisesta malignista tuumorista. CK-Pan vasta-aineen onkin kuuluttava ensisijaiseen vasta-ainepaneeliin. CK-Pan vasta-

aine on myös erityisesti käyttökelpoinen diagnosoitaessa metastaseja. (NordiQC 2011.)

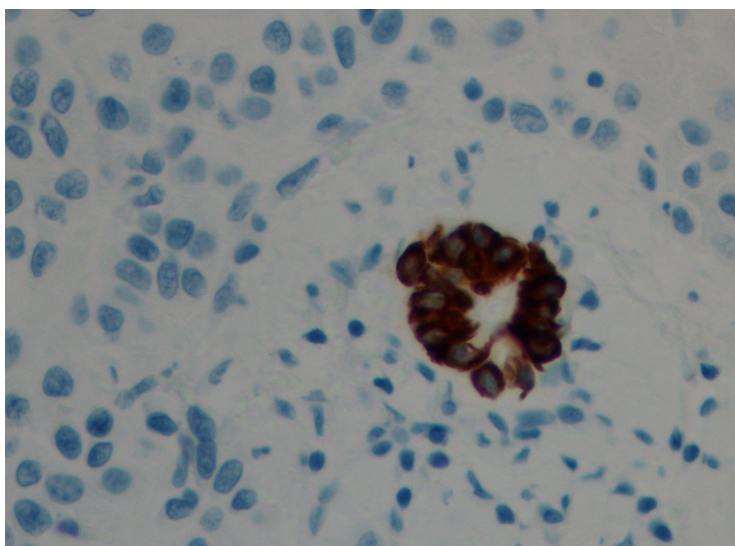
CK7 ja CK20 vasta-aineita käytetään selvittämään epiteliaalisen karsinooman tyyppiä ja alkuperää (Kero 2012).

Positiivinen CK7 ilman CK20 positiivisuutta on tyypillinen löydös keuhko-, rinta-, endometrium- ja kilpirauhasperäisissä adenokarsinooissa sekä ei musinoottisessa ovario adenokarsinoomassa ja malignissa mesoteliomassa. (NordiQC 2011.)

CK20 ilmentymistä ilman CK7 positiivisuutta esiintyy 80% kolorektaali adenokarsinoomassa. Yli puolet soluista on CK20 värjäytyneitä. (NordiQC 2011.)

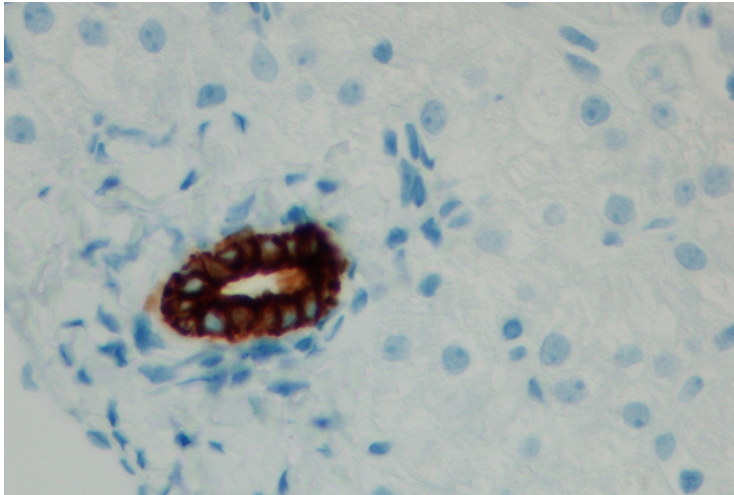
Sekä CK 7 että CK20 ilmentyminen on tyypillistä välimuotoisessa epiteelisoluperäisessä karsinoomassa, musinoottisessa ovario karsinoomassa, maha- ja sappitiekarsinoomassa sekä haima-adenokarsinoomassa. (NordiQC 2011.)

Hepatosellulaarinen karsinooma, prostatan adenokarsinooma, lisämunuaisen kuoren karsinooma, munuaissolukarsinooma, keuhkojen pienisolukarsinooma ja levyepiteeli karsinooma eivät ekspressoi CK7 eikä CK20. Poikkeuksia löytyy vain satunnaisesti. (NordiQC 2011.)



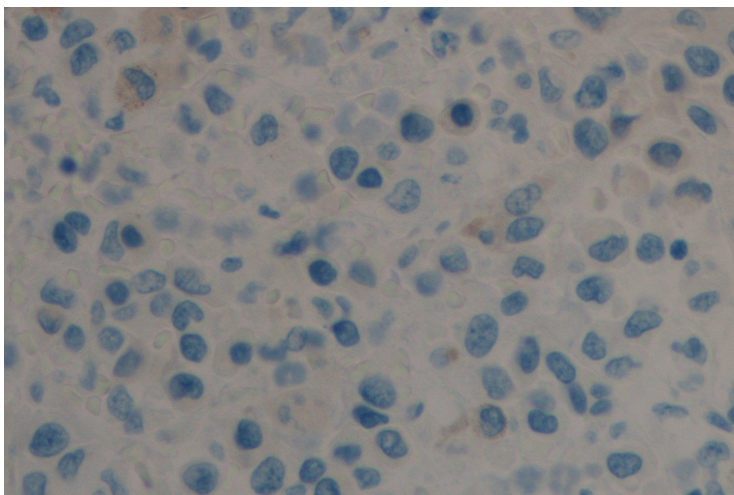
Kuvio 4. CK 7 20x.

CK 7 ei ole värjännyt syöpäsolukkoa (kuvio 4), kuten ei myöskään hepatosyyttejä. Sappitiehyeet näkyvät hyvin positiiviseksi värjäytyneenä. Sappitiehyeen värjäytyminen positiivisesti maksakudoksessa toimii samalla sisäisenä kontrollina. Negatiiviseksi jäävä syöpäsolukko ei luultavammin ole epiteelisoluperäistä karsinoomaa. (Kero 2011.)



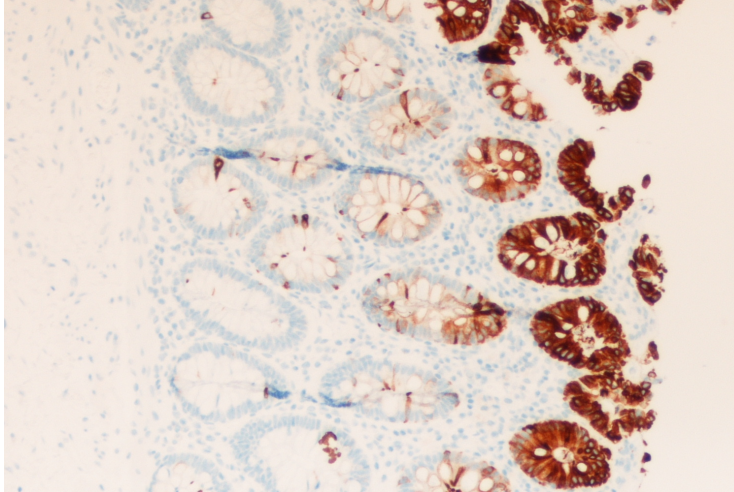
Kuvio 5. CK 7 positiivinen kontrolli 40x.

CK 7 positiivinen kontrolli on maksakudosta (kuvio 5). Siinä sappitiehiden positiivinen värjäytyvyys toimii kontrollina. Hepatosyytit ovat negatiivisesti värjäytyneitä. Kuvassa näkyy hyvin värjäytyneenä nukleolit eli tumajyväset. (Kero 2011.)



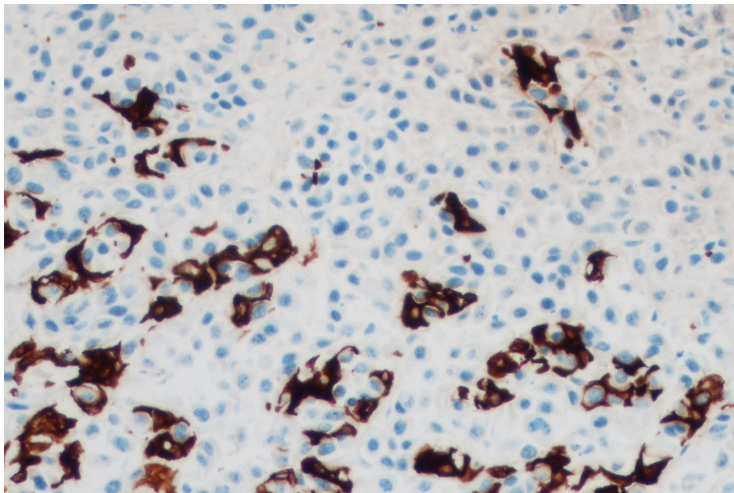
Kuvio 6. CK 20 20x.

CK 20 värjäys (kuvio 6) on kokonaan negatiivinen, eli kyseessä ei todennäköisesti ole adenokarsinooma. (Kero 2011.)



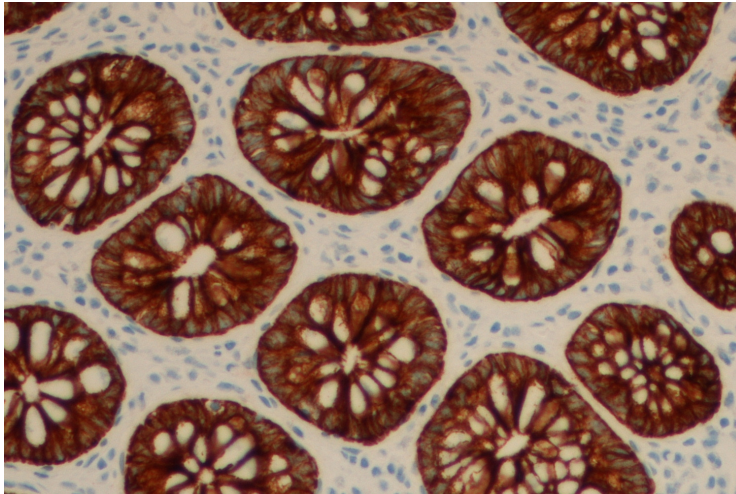
Kuvio 7. CK 20 10x positiivinen kontrolli.

CK 20 positiivisena kontrollina toimii suoli (kuvio 7), jonka pinnan kryptan epiteelisolut värjäytyvät positiivisesti. Syvemmillä kryptissa on yksittäisiä neuroendokriinisia soluja. Neuroendokriinisten solujen tehtävänä on erittää hormoneja. (Kero 2011.)



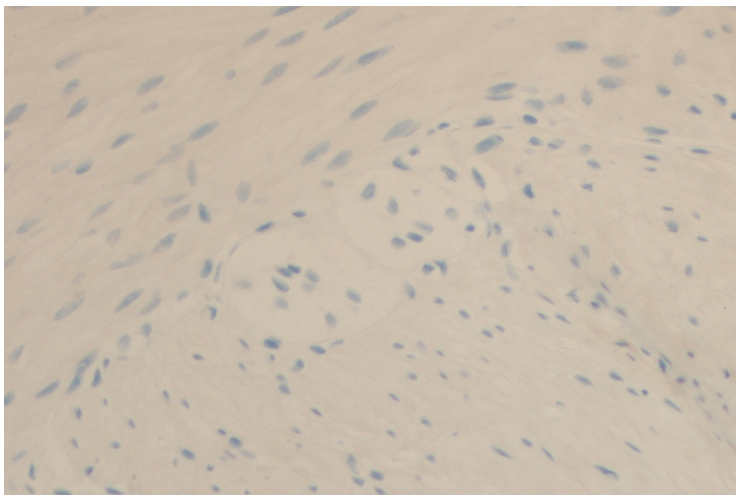
Kuvio 8. CKPAN 20x.

Kasvainsolukko CKPAN negatiivinen (kuvio 8). Kasvain ei todennäköisesti ole epiteelisoluperäinen. Hepatosyyttien sytoplasma värjäytyy vasta-aineessa olevalla CK8:lla positiivisesti, kuten normaalissakin maksakudoksessa. Myös sappitiet värjäytyvät hyvin. (Kero 2011.)



Kuvio 9. CKPAN positiivinen kontrolli 20x.

CKPAN vasta-aineen positiivisena kontrollina toimii suoli (kuvio 9). Suolen kryptien epiteelisolut värjäytyvät positiivisesti. Kryptan keskellä on lumen, joissa värjäytymätön alue on limaa. (Kero 2011.)



Kuvio 10. Suolen lihaskerrokset 20x.

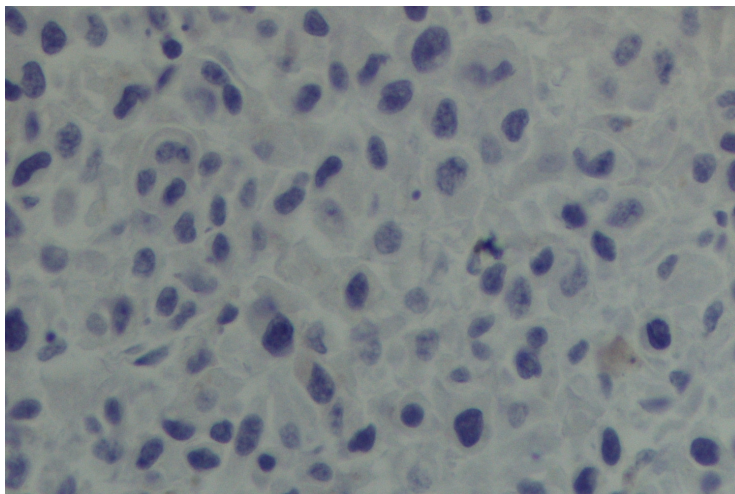
Kryptien lomassa on sidekudosta ja sen alla (kuvio 10) pitkittäinen lihaskerros, jonka alla taas poikittainen lihaskerros (Kero 2011).

#### 6.2.4 Estrogeeni- ja progesteronireseptori

Estrogeeni- (ER) ja progesteronireseptorit (PR) kuuluvat tumareseptoreiden suureen geeniperheeseen. Vapaana tumareseptorit ovat sytoplasmassa, mutta hormonin tartut-

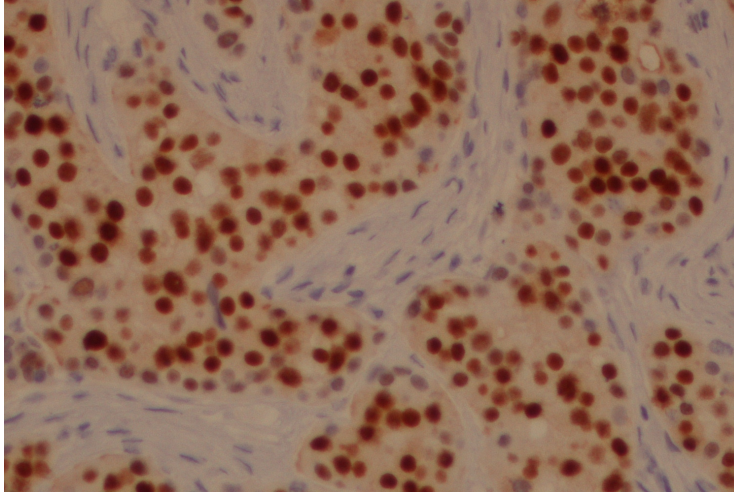
tua niihin, ne siirtyvät tumaan ja kiinnittyvät säätelemänsä geenin promoottorialueelle aloittaen transkription. Tumareseptoreissa on tyypillisesti kolme domeenia. C-pää joka sitoo hormonin, DNA:han kiinnittyvä keskiosan domeeni ja N-pää joka kiinnittyy transkriptiota aktivoivaan domeeniin. (Heino – Vuento 2009: 269.)

ER- ja PR-reseptoreita löytyy normaalista rintarauhaskudoksesta ja niiden tehtävänä on sitoa niille spesifejä hormoneja, estrogeenia ja progesteronia. Normaalisissa rintarauhaskudoksessa värjäys on homogeeninen ja vaihtelee kuukautiskierron mukaan. Estrogeenituotanto saa aikaan myös progesteronituotannon, joten tuumorisoluisissa ER-reseptoripositiivinen solu voi olla joko PR-reseptoripositiivinen tai -negatiivinen. Hormonireseptoripositiivinen rintasyöpä on ennusteeltaan parempi, kuin hormonireseptorinegatiivinen rintasyöpä. (Bhargava – Esposito – Dabbs 2009: 800.)



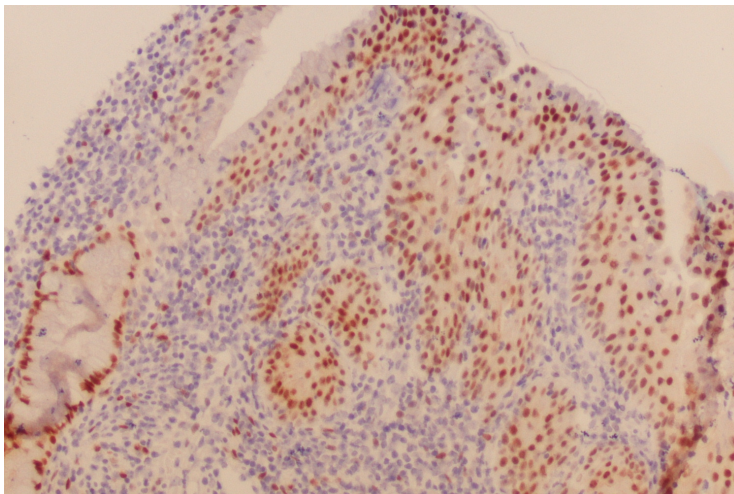
Kuvio 11. Estrogeenireseptori 40x.

Estrogeenireseptorivärjäys (kuvio 11) on negatiivinen. Kyseisen potilaan kohdalla voidaan todennäköisesti pois sulkea että maksasta löydetty syöpä ole ei rintasyöpäkudosta, koska potilaan aiempi rintasyöpä on ollut estrogeenireseptoripositiivinen. (Kero 2011.)



Kuvio 12. Estrogeenireseptori positiivinen kontrolli 20x.

Estrogeenireseptorin positiivisena kontrollina toimivat duktaalinen karsinooma ja cervix-kudos. Duktaaliossa karsinoomassa (kuvio 12) nähdään tumavärijäyksestä intensiteetti eroja. Väri diffuntoituu jonkin verran sytoplasmaan. Syöpäsolujen välissä oleva strooma eli sidekudos on negatiivisesti värjätynyt. (Kero 2011.)



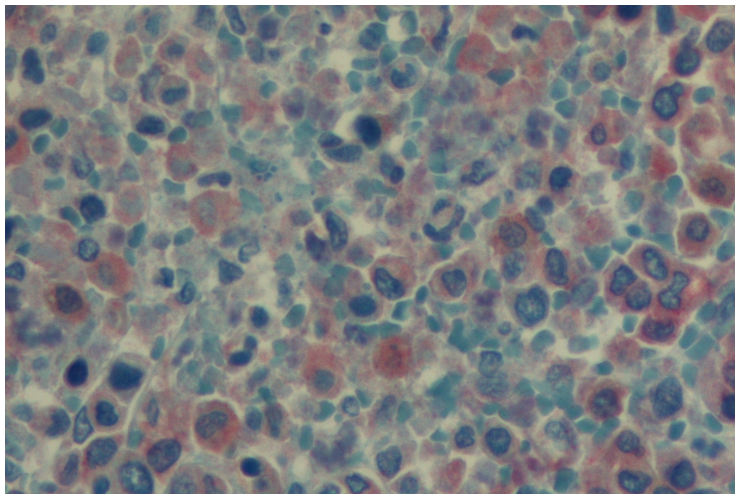
Kuvio 13. Estrogeenireseptori positiivinen kontrolli 10x.

Kohdunkaulassa (cervix) päällimmäinen solukko on levyepiteelisolukkoa (kuvio 13). Levyepiteelisolut värjäytyvät pohjasta pinnalle. Myös strooman solut ovat positiivisesti värjätynyt. Reunalla nähdään cervixrauhanen, jonka tehtävä on tuottaa limaa. (Kero 2012.)

### 6.2.5 MART-1/ Melan-A

Melan-A on melanosyyttien erillaistumiseen liittyvä antigeeni. Melan-A tunnetaan myös nimellä MART-1 (melanoma antigen recognized by T cells). Melan-A geeni koodittaa proteiinia, jolla on yhteys endoplasmiseen retikulumiin ja melanosomeihin. Proteiinin tehtävä on tuntematon. Se ilmentyy kaikissa normaaleissa melanosyyteissa ja melanosyytti solulinjoissa. (NordiQC 2011.)

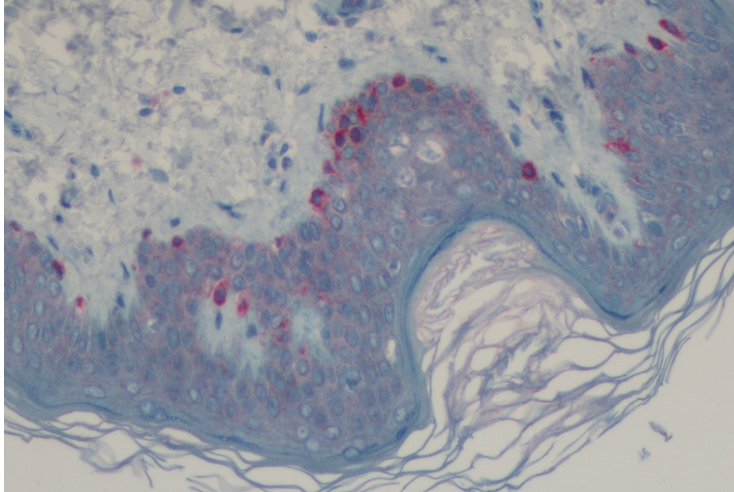
Melan-A ilmentyy 80-100%:ssa maligneissa melanoomissa. Metastaaseissa värjäys voi olla epätasainen ja harvemmin positiivinen kuin vastaavassa primääri tuumorissa. Melan-A on osoittautunut tärkeimmäksi melanooma markkeriksi. Se on melanoomassa spesifimpi kuin S-100 proteiini. (NordiQC 2011.)



Kuvio 14. MART-1 40x.

Solut, joiden sytoplasma on punaiseksi värjäytynyttä, ovat malignia solukkoa (Kuvio 14). MART-1 antigeeni kärsii helposti autolyysista, joka voi vaikuttaa värjäyksen intensiteettiin. Autolyysi on tyypillistä ruumiinavausnäytteessä. (Kero 2011.)





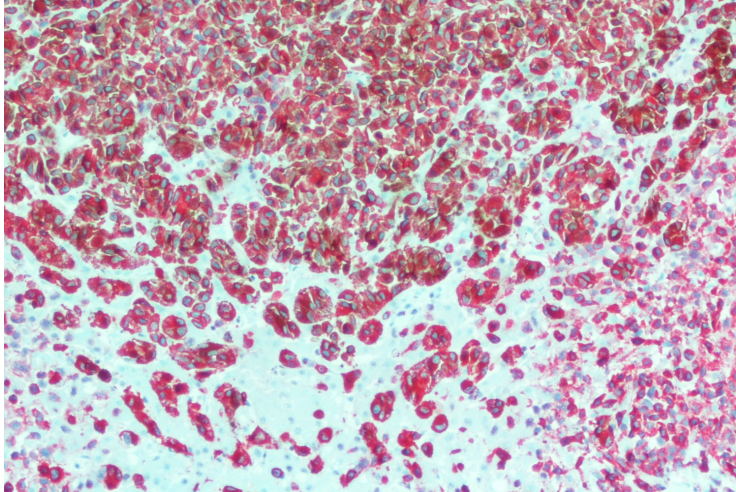
Kuvio 15. MART-1 positiivinen kontrolli 20x.

MART-1 positiivinen kontrolli on normaali ihonäyte (kuvio 15). Ihon ylimmässä kerroksessa eli epidermiksessä nähdään basaalisesti melanosyyttejä. (Kero 2011.)

#### 6.2.6 HMB-45

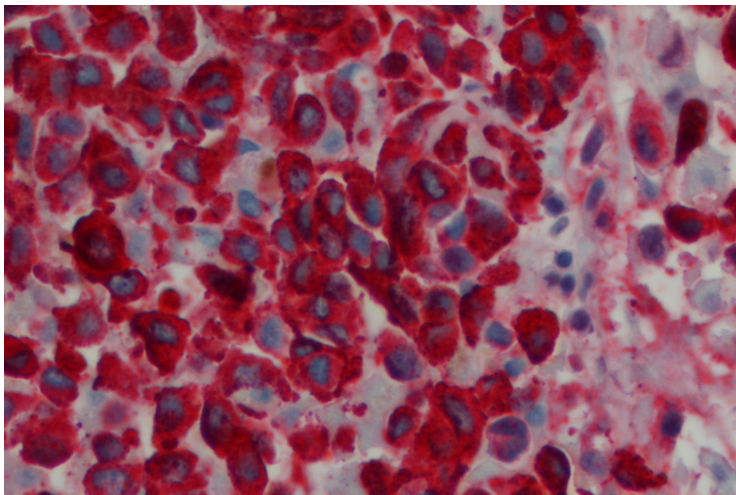
HMB-45 (Human Melanoma, Black) eli MSA (Melanosoma antigen) on osittain tuntematon oligosakkaridin sivuketju, joka voidaan tunnistaa HMB-45 vasta-aineella. Proteiinia koodittaa gp100-cl geeni. HMB-45 esiintyy vain epäkypsissä ja aktivoituneissa melanosyyteissa. (NordicQC 2007.)

HMB-45 on positiivinen 60-90%:ssa maligneissa melanoomissa. Koska HMB-45 on hyvin spesifi markkeri, sitä käytetään yleisesti melanooman erotusdiagnostiikassa. Se on kuitenkin vähemmän spesifi kuin Melan-A. HMB-45 on vaihtelevassa määrin positiivinen myös muissa benigneissä melanosyyttisissä tuumoreissa, kuten luomityypeissä junction naevus tai compound naevus. Myös muissa tuumoreissa on esitetty HMB-45 positiivisuutta. Tällaisia ovat mm. pehmytosa melanooma, hepatoblastooma, feokromosytooma ja schwannoma. (NordicQC 2007.)



Kuvio 16. HMB-45 10x.

Melanoomasolujen sytoplasma värjäytyy voimakkaasti punaiseksi HMB-45 vasta-aineella (kuvio 16). Hepatosyytit jäävät kokonaan värjäytymättä. Värjäyksellä on helppo erottaa myös pigmentoituneet kasvainsolut. (Kero 2011.)



Kuvio 17. HMB-45 positiivinen kontrolli 40x.

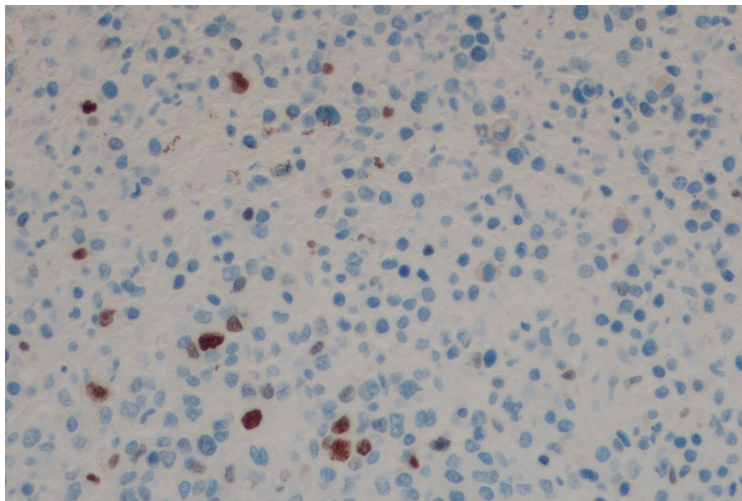
HMB-45 positiivisena kontrollina toimii melanoomakudos (kuvio 17), jossa malignien solujen sytoplasmat värjäytyvät punaisella.

### 6.2.7 MIB-1

MIB-1 eli Ki-67 proteiini sijaitsee tumassa. MIB-1 proteiinilla on keskeinen rooli soluproliфераatiossa. Kyseinen proteiini esiintyy jokaisessa solusyklin vaiheessa, lukuun otta-

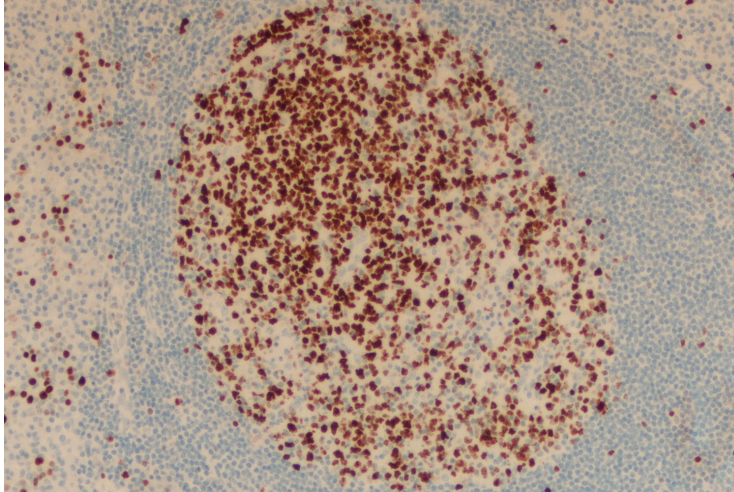
matta G0- eli lepovaihetta. G1- eli proteiinisynteesivaiheen jälkeen taso nousee edelleen S- eli DNA-synteesivaiheeseen, saavuttaen huippunsa mitoosivaiheessa. Mitoosin (M) loppuvaiheessa proteiini pilkotaan nopeasti. (NordicQC 2009.)

MIB-1 vasta-aineella voidaan selvittää tuumorisolujen proliferaatioaste (MIB-indeksi). Se on yksi peruste, jonka avulla arvioidaan tuumorin aggressiivisuutta ja syövän ennustetta. (Kero 2011.)



Kuvio 18. MIB-1 20x.

Joitakin positiivisia soluja eli kasvainsoluja on nähtävissä harvakseltaan (kuvio 18). Määritellään MIB-indeksi eli proliferaatioindeksi laskemalla tietyistä määrystä fokuksia positiivisten solujen suhde kokonaissolumäärään. Kyseinen syöpä on näkymän mukaan hitaasti jakautuva eli ei aggressiivisesti käyttäytyvä syöpätyyppi. Obduktionäytteessä proliferaatioindeksi ei ole täysin luotettava, vaan voi vaihdella hieman mahdollisen autolyysin vuoksi. (Kero 2011.)



Kuvio 19. MIB-1 positiivinen kontrolli 10x.

MIB-1 positiivinen kontrolli on tonsillakudos (kuvio 19). Itukeskuksessa jakautuvat B-lymfosyytit ovat positiivisia. Itukeskuksissa jakautumisaktiivisuus on korkea. Lymfosyytit kypsyvät itukeskuksesta sisältä ulospäin ja manttelisoluvyöhykkeellä nähdään yksittäisiä positiivisia soluja. (Kero 2011.)

#### 6.2.8 Johtopäätös ruumiinavausnäytteistä

Potilaan välittömäksi ja peruskuolinsyyksi patologi ehdottaa malignia metastasoinutta melanooma. Melanooma on metastasoinut maksan lisäksi ainakin pernaan. Malignin melanoomakudoksen lisääntyminen maksassa on todennäköisesti johtanut maksan toiminnan hiipumiseen. Se on voinut aiheuttaa potilaalle plasman proteiinisynteesin häiriintymisen, kuten hyytymistekijöiden toimintahäiriötä. Samoin maksan muu normaali metabolia, kuten energiavarastojen sekä rasva-aineenvaihdunnan väheneminen ovat voineet aiheuttaa elimistön toiminnan heikentymisen. (Ristimäki 2012.)

#### 6.3 Rintasyöpätapaus

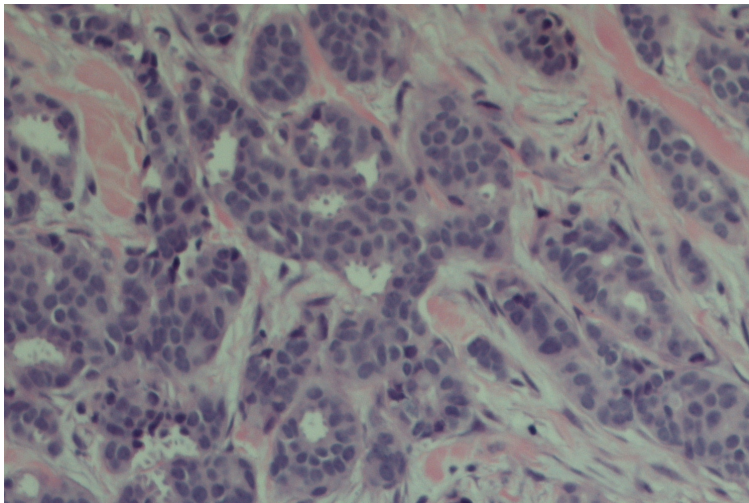
Jokaisesta leikatusta rintasyöpäkudoksesta tehdään HUSLABin patologian keskuslaboratoriossa rutiinisti hematoksyliini-eosiini värjäys sekä reseptorivärjäykset, jotka ovat MIB-1-, estrogeeni- ja progesteronireseptori- sekä cerbB-2-antigeeninosoitusvärjäykset. Näillä immunohistokemian antigeeninosoitusvärjäyksillä päätetään jatkovärjäysten tarve sekä tyypitetään rintasyöpä. Värjäysten tuloksella on myös suuri painoarvo potilaan hoitojen valinnan suhteen.

Paksuneulanäyte on otettu kainalon imusolmukkeesta. Varsinainen rintasyöpä on leikkattu ja diagnosoitu 11 vuotta aiemmin eli kyseessä on uusiutunut rintasyöpä. Nyt tyy-pitetään kainalosta löytynyt rintasyövän metastaasi, joka on yksi vahvimmista perusteista sille, miten potilaan rintasyöpää aletaan hoitaa.

Hematoksyliini-eosiinivärjäyksen, estrogeenireseptori- ja MIB-1-antigeeninosoituvärjäysten taustatiedot sekä positiivisten kontrollien laatuksiteerit löytyvät aiemmin ope-tusmateriaalissa esiteltyjen ruumiinavaustapauksen värjäysten yhteydestä.

### 6.3.1 Hematoksyliini-eosiini

Hematoksyliini-eosiini taustatiedot ja laadunvarmistus sivulla 18.

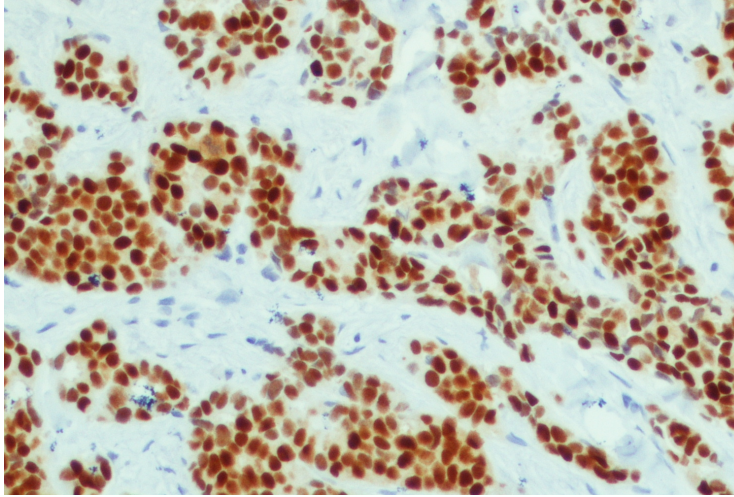


Kuvio 20. Hematoksyliini-eosiini 20x.

Kuvassa (kuvio 20) nähdään duktaalinen karsinooma. Syöpäsolujen nähdään muodostavan edelleen tiehyitä, kuten rintarauhasen solut normaalisti tekevät. Sen vuoksi ky-seinen syöpä luokitellaan kuuluvaksi gradus 2 luokkaan. Luokassa kolme tiehyet olisivat muuttuneet mattomaiseksi muodostelmaksi. Syöpäsolujen välissä nähdään sidekudosta. (Kero 2011.)

### 6.3.2 Estrogeenireseptori

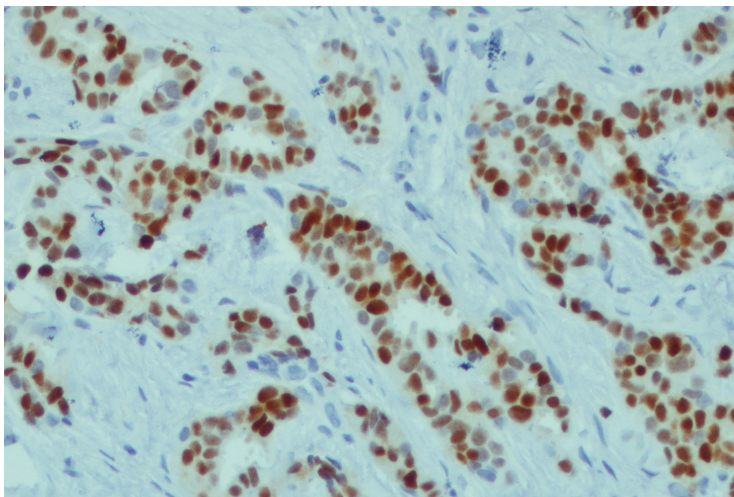
Estrogeeniresrptorivärjäyksen taustatiedot ja kontrollivärjäys sivulla 24.



Kuvio 21. Estrogeenireseptori 20x.

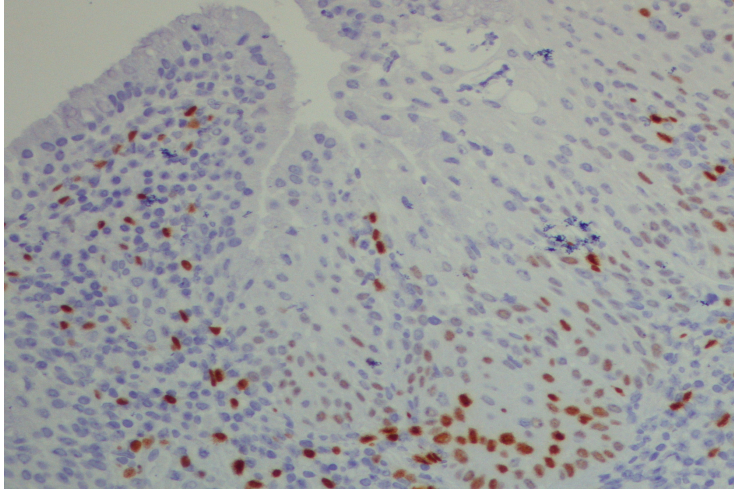
Kasvainsolut ovat estrogeenireseptorin osalta lähes 100% positiivisesti värjättyneet (kuvio 21). Tässä tuma-antigeenivärjyksessä nähdään eri solujen välillä selviä intensiteettieroja ja intensiivisen värjäyksen vuoksi värin diffuntoitumista sytoplasmaan. Välissä negatiivisesti värjätynyttä sidekudosta. (Kero 2011.)

### 6.3.3 Progesteronireseptori



Kuvio 22. Progesteronireseptori 20x.

Progesteronireseptori on myös tuma-antigeenivärjäys. Noin 80% kasvainsoluista on positiivisesti värjätynyttä (kuvio 22). Myös tässä värjyksessä nähdään eri solujen välillä selviä intensiteettieroja ja värin diffuntoituminen tumasta sytoplasmaan. (Kero 2011.)

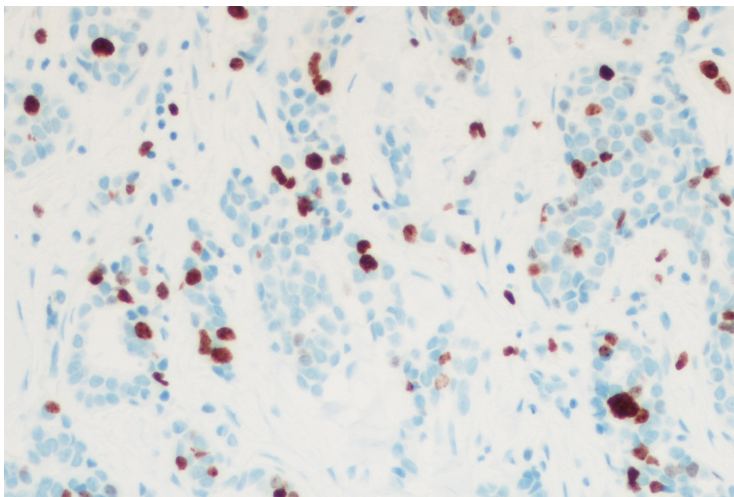


Kuvio 23. Progesteronireseptori positiivinen kontrolli 20x.

Progesteronireseptorivärjäyksen positiivisena kontrollina toimii kohdunkaulan kudokse (kuvio 23), jonka pääasiallinen solukko on levyepiteelisolukko. Levyepiteelisolut värjäytyvät positiivisesti pohjasta pinnalle. Myös strooman solut ovat positiivisesti värjäytyneet. (Kero 2012.)

#### 6.3.4 MIB-1

MIB-1-värjäyksen taustatiedot ja kontrollin värjäytyvyys sivulla 29.



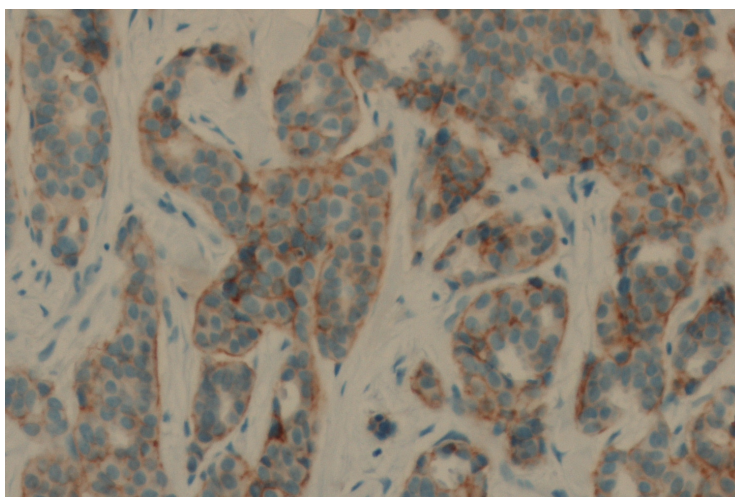
Kuvio 24. MIB-1 20x.

Määritellään MIB-indeksi eli proliferaatio-indeksi laskemalla 5-6 fokuksesta positiivisten ja negatiivisten solujen lukumäärä. Kyseisessä syöpäkudoksessa (kuvio 24) nähdään 25-30% eli keskivahvasti positiivista värjäytyvyyttä. (Kero 2011.)

### 6.3.5 C-erbB-2 Immunohistokemiallinen värjäys

C-erbB-2 on tyrosiinikinaasireseptori, jota HER-2/neu-geeni koodittaa (human epidermal growth factor). Se sijaitsee solukalvolla ja sen tehtävänä on aktivoida sytoplasman tosiolähteitä fosforyloimalla niitä. Ne puolestaan aktivoivat kasvutekijöitä, joilla on keskeinen merkitys solun kasvun ja monistumisen säätelyssä. HER-2/neu-geeni yliekspressoituu monissa syöpäkasvaimissa, kuten rintasyövässä. Se johtuu kromosomissa 17 sijaitsevan HER-2neu geenin monistumasta. Kyseistä geenimonistumaa tavataan noin 15-30%:ssa rintasyövistä. (HUSLAB Patologian keskuslaboratorio Immunohistokemia, työohjeet 2011: 18.) Reseptori sitoutuu aktivoituessaan itsensä tai muiden HER2-perheeseen kuuluvien kuuluvien jäsenten kanssa ja aktivoi näin solunsisäisen signalointireittinsä. Se ei siis tarvitse aktivoituaan spesifin kasvutekijän kiinnittymistä reseptoriin. (Joensuu ym 2007: 497.)

C-erbB-2 on vasta-aine, joka tunnistaa kyseisen tyrosiinikinaasireseptorin solukalvolta. Värjäys perustuu immunohistokemian värjäykseen ja on seulontatyyppinen värjäys ennen in situ-hybridisaatiolla suoritettavaa geenimonistumatestiä.



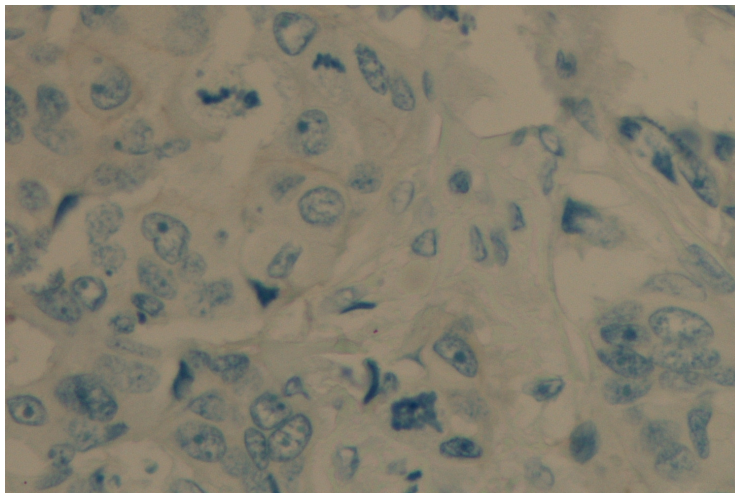
Kuvio 25. C-erbB-2 20x.



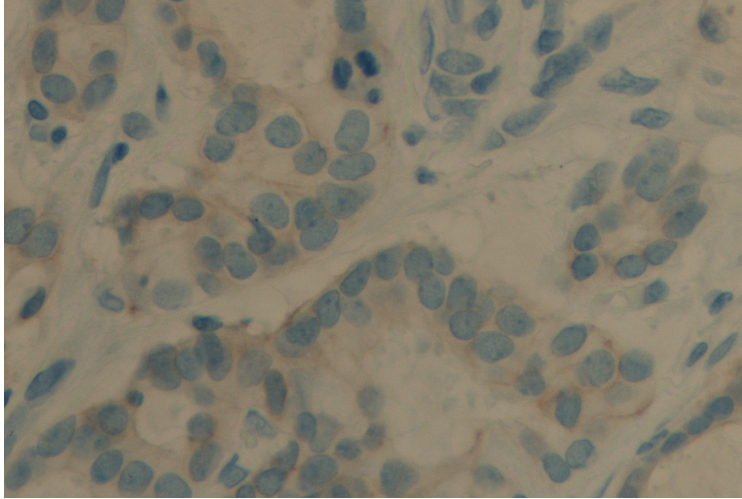
Syttoplasmassa nähdään positiivista värjäytymistä, joka hieman verkottuu (kuvio 25). Syöpäkudos on siis 2+ positiivinen. Tuloksen perusteella suoritetaan in situ-hybridisaatio, jolla tutkitaan onko kyseessä Her2-geenin monistuma. (Kero 2011.)

Taulukko 1. C-erbB-2 värjäyksen arvioinnin kriteerit (Roche Diagnostic 2011a: 6).

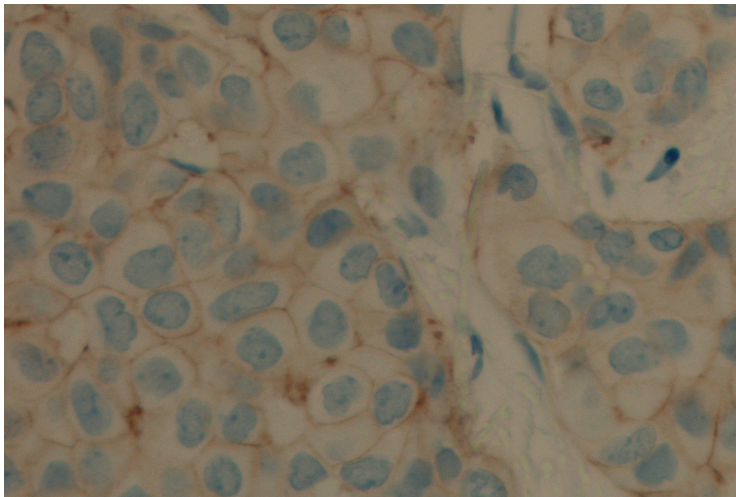
Värjäyksen kuviointi	Tulos	Luokitus	In situ
Ei värjäytyvyyttä (kuvio 26).	0	Negatiivinen	Ei tehdä
Heikkoa värjäytyvyyttä osassa syöpäsoluja (kuvio 27).	1+	Negatiivinen	Ei tehdä
Heikkoa ja kohtalaista värjäytyvyyttä $\geq 10$ % syöpäsoluissa (kuvio 28).	2+	Raja-arvo	Tehdään
Vahvaa värjäytyvyyttä $\geq 10$ % syöpäsoluissa (kuvio 29).	3+	Positiivinen	Tehdään



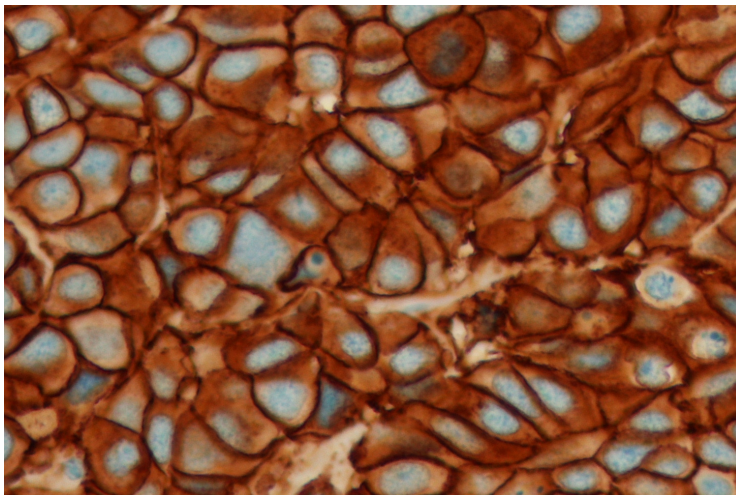
Kuvio 26. C-erbB-2 negatiivinen kontrolli 40x.



Kuvio 27. C-erbB-2 1+ kontrolli 40x.



Kuvio 28. C-erbB-2 2+ positiivinen kontrolli 40x.

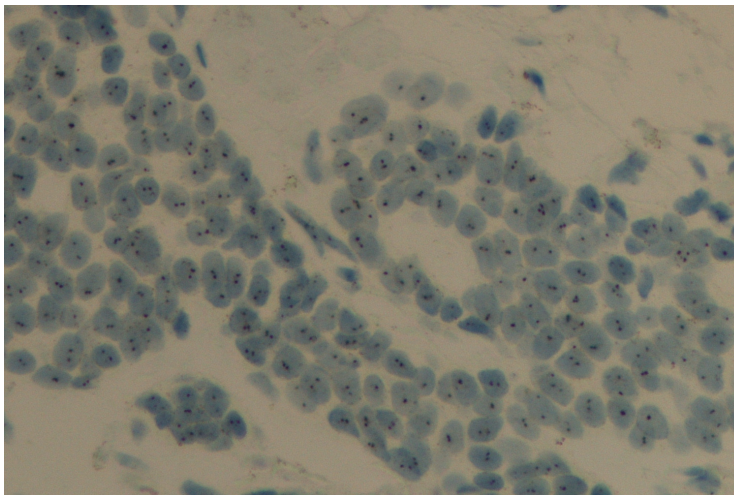


Kuvio 29. C-erbB-2 3+ positiivinen kontrolli 40x.

### 6.3.6 C-erbB-2 In situ-hybridisaatio

In situ-hybridisaation tarkoituksena on osoittaa tietty spesifi nukleinihappojakso. Kyseinen, kromosomissa 17 sijaitsevan HER2-geenin tunnistukseen käytettävä koetin (probe) on noin 200 000 bp mittainen (Roche Diagnostics 2011b: 186). Näytteestä määritettävä DNA:n nukleinihapposekvenssi saadaan näkyväksi komplementaarisella nukleinihappokoettimella. Koetin on leimattu DNP:lla (dinitrofenoli), joka sitoutuu HER2-geenin komplementaariseen osaan. DNP:iin sitoutuu kanissa tuotettu anti-DNP. UltraWiev-polymeerikitissä oleva vuohessa tuotettu HRP-molekyyleilla konjugoitu antikani vasta-aine kiinnittyy kompleksiin. Näytteeseen lisätään hopea-asetatti, hydrokinoni ja vetyperoksidi. Hydrokinoni pelkistää hopea-ionit hopeaksi ja reaktiota katalysoi HRP:n substraatti vetyperoksidi. Mikroskoopissa hopeasakka voidaan nähdä pieninä mustina pisteinä tumissa. (HUSLAB Patologian keskuslaboratorio Immunohistokemia, työohjeet 2011: 37.)

Jokaisessa solussa on normaalisti kaksi kromosomia, joiden kummankin alleelin sama geeni värjäytyy pisteeksi. Her2-geenin monistuman kannalta negatiivisena pidetään solua, jossa yhdessä solussa nähdään alle kuusi geenikopiota (pistettä)/ kasvainsolun tuma. (Kero 2012.)



Kuvio 30. HER-2neu in situ-hybridisaatio 40x.

Kyseisen syöpäkudoksen soluissa nähdään yksi tai kaksi pistettä/ tuma (kuvio 30), jolloin solukko todetaan Her-2 geenimonistuman osalta normaaliksi (Kero 2011).

Kontrollina toimii näytteen sisäinen kontrolli, potilasnäytteessä olevat sidekudossolut ja verisuonen seinämän endoteelisolut. Näissä soluissa tulee nähdä normaalit 1-2 signaalia. (Kero 2011.)

Signaalimäärän ollessa  $>10$  tai mikäli lasilla nähdään klustereita, Her2-geeni on monistunut (Kero 2012).

Mikäli havaitaan matala-asteista Her2-geenin monistumaa (6-10 signaalia/ kasvainsolun tuma), tehdään varmistus kromosomi 17 sentromeerikoettimella. Tällä halutaan selvittää onko kyseessä kromosomin 17 polyploidia vai onko kyseessä Her2-geenin todellinen matala-asteinen monistuma. Käytännössä HER2neu in situ-hybridisaation signaalimäärä jaetaan kromosomi 17 sentromeerikoettimen in situ-hybridisaation signaalimäärällä. Mikäli suhdeluku on  $> 2$ , Her2-geenin monistuma on totta. Mikäli suhdeluku on  $<2$ , kyseessä on kromosomin 17 polyploidia, jolloin Her2-geenin matala-asteinen monistuma ei ole totta. (Kero 2012.)

### 6.3.7 Rintasyövän hoito ja ennuste

Tämä osuus on kirjoitettu Syöpätautien klinikan jonohoitajan sairaanhoitaja Kirsi Lintulan kanssa käymäni keskustelun ja häneltä saamani materiaalin sekä kirjallisuuden pohjalta. Hoito-osuus on laadittu opinnäytetyön tarpeita varten, jotka on perusteltu opinnäytetyön viitekehysosuudessa. Potilaan hoidosta päättää onkologi, huomioiden mahdollisesti myös muita potilaan hoidossa olennaisia asioita.

Koska kyseinen rinnan paksuneulanäyte on otettu kainalon metastaasista, potilaalla on todettu metastasoinut rintasyöpä. Metastasoinutta rintasyöpää hoidetaan solunsalpaajahoidolla. Ensisijainen solunsalpaaja on Docketakseli. (Mattson 2011.) Docketakseli on mitosin estäjä, joka stabiloi mikrotubuluksia ja estää siten solun jakautumisen. Se myös häiritsee solun toimintaa. Docketakseli kuuluu taksaaneihin, joka on marjakuusesta eristetty inaktiivisen taksaanin puolisynteettinen johdannainen. (Joensuu 2007: 181-182.)

Koska kyseessä on yli 65-vuotias potilas, harkitaan myös Pegfilgrastiimi (Neulasta), joka on neutropenian estoon tarkoitettu lääke (Mattson 2011). Sytostaattihoito aiheut-

taa neutropeniaa, hiusten lähtöä, lihas-, nivel- ja luustosärkyjä. Osalla potilaista se aiheuttaa limakalvo-oireita, kuten ripulia, suun limakalvojen arkuutta, makuaistin heikentymistä ja limakalvohaavaumia. Myös kynsimuutoksia, puutumisia ja pistelyjä käsissä ja jaloissa saattaa esiintyä. Kolmen vuorokauden mittaisella kortisonikuurilla pyritään ennaltaehkäisemään Docketaxelin aiheuttamia yliherkkyysoireita. Muita sivuvaikutuksia hoidetaan oireenmukaisella hoidolla. (Liitännäishoitoa saavan rintasyöpäpotilaan ohje 2012: 1.)

Vahvasti positiiviset estrogeeni- ja progesteronireseptorit ovat merkki paremman ennusteen omaavasta rintasyövästä. Ne antavat aiheen hormonihoidolle, jonka tyyppi on riippuvainen siitä, onko potilas jo pre- vai postmenopausaalinen. Tapauksemme iäkäs potilas, joka on postmenopausaalinen, hoidetaan aromataasinessäjäillä. Hoito jatkuu kolmen vuoden ajan, jonka jälkeen voidaan jatkaa tamoksifeenilla (kuten premenopausaaliset). (Mattson 2011.)

Menopausissa estrogeeneja muodostuu perifeeristen kudosten androgeeneista. Aromataasinessäjäien toiminta perustuu steroidisynteesin entsyymien inhibitioon tai inaktivaatioon, jolloin steroidin tuotanto estyy. Inaktivaattorit sitoutuvat pysyvästi entsyymiin aktiiviseen osaan "substraattitaskuun", jolloin entsyymien toiminta estyy pysyvästi. Inhibiittorit kilpailevat sitoutumalla aromataasikompleksiin niin, että lääkevaikutuksen loputtua entsyymien toiminta palautuu ennalleen. (Kataja – Johansson 2007: 199-200.)

Trastuzumabi liitännäishoidosta potilas ei hyödy, koska kasvaimessa ei ole HER2neugeenin monistumaa. Trastuzumabi on vasta-ainehoito HER2-(tyrosiinikinaasireseptori) antigeenia vastaan. Se on monoklonaalinen vasta-aine, joka aiheuttaa soluvälitteisen solutuhon ja kasvutekijäreseptorin signaalin estymisen. Sitä käytetään liitännäishoitona potilailla, joiden rintasyövässä on todettu HER2neugeenin monistuma in situhybridisaatiolla. (Meri – Leppä 2011: 414.)

Tarkemman ennusteen tekee potilasta hoitava lääkäri mahdollisten kuvantamislöydösten ja patologin tekemien löydösten perusteella. Ennuste tehdään TNM-luokituksen perusteella. (Ristimäki 2012.)

## 7 Prosessin ja tuotoksen arviointi

Olen tehnyt opinnäytetyöni itseäni kiinnostavasta aiheesta, itse kokemastani tarpeesta opiskelijavastaavana sekä kehittyäkseni omalla erikoisalallani. Olen saanut asiantuntija-apua ja kannustusta monelta alansa ammattilaiselta. Olen pyrkinyt tekstissäni kertomaan asiat bioanalyytikon kielellä ja siinä laajuudessa kuin koulutus antaa meille valmiudet asioita ymmärtää.

Diagnostiikka on tehty rutiininäytteiden tapaan, käyttäen samoja laadunvarmistusmetodeja kuin tavalliselle potilasnäytteelle käytämme. Näin ollen, akkreditoituna laboratoriona, värjäysten tulos on luotettava.

Taustatietämykseni ei luonnollisesti kata diagnoosin tekijän eli patologin tietämystä tautien diagnosoinnista, kuten ei myöskään sairaalasolubiologin asiantuntemusta. Sen vuoksi tekemiäni tulkintoja ei saa pitää yleispätevinä. Työni sisällön värjäysten tulkinnan osalta on tarkastanut opinnäytetyöohjaajani sairaalasolubiologi Mia Kero.

Opetusmateriaalin viitekehysosuuden on tarkastanut ja oikolukenu HUSLABin Patologian ja genetiikan vastuualueen Patologian laboratorioden kliininen asiantuntija Marjo Tolppanen. Hän on ottanut kantaa myös osaamistavoitteiden laadintaan.

Olen testannut opetusmateriaalia kevään 2012 opiskelijoiden kanssa, jotka ovat suorittaneet histo- ja sytologian käytännön jakson työpaikallani. Opetusmateriaali on palvelut käytännönjaksoa tarkoituksenmukaisesti. Olemme käyneet läpi immunohistokemian teoreettisia periaatteita opiskelijoiden kanssa käytännön työn lomassa. Opetusmateriaalia läpikäydessämme opiskelijat ovat tuoneet esiin omaa teoriaosaamistaan, esittäneet kysymyksiä, pohtineet, kyseenalaistaneet, havainnoineet sekä esittäneet omia oletuksia ja johtopäätöksiä. Opetustilanteet ovat olleet vapaamuotoisia ja rentoja. Keskustelut ovat rönsyilleet aiheesta toiseen. Opetustilanteet ovat myös olleet hyvin erityyppisiä, riippuen opiskelijasta ja siitä kuinka suurella kokoonpanolla olemme olleet mikroskopoimassa. Opiskelijat ovat kertoneet materiaalin sisällön olleen mielenkiintoinen, havainnollinen ja innostava.

Olen oppinut tähänastisissa opetustilanteissa sisäistämään opetusmateriaalin teoriatiedot. Olen myös huomannut puutteita ja korjannut niitä sitä mukaa kun ne ovat tulleet

esille. Käytännön opetustilanteista on ollut hyötyä myös opetusmateriaaliosuuden jäsentämisessä, eli siinä, missä järjestyksessä on käytännöllistä esittää asiat kirjallisessa osuudessa. Näin tieto on mikroskopoidessa helpompi löytää. Oppiessani jatkuvasti paremmin sisäistämään opetusmateriaalia, pystyn ohjaajana luomaan tilanteen, jossa voin johdatella opiskelijaa toimimaan tietyin tutkivan oppimisen keinoin. Toisin sanoen, auttaa opiskelijaa entistä paremmin refleктоimaan opetusmateriaalin sisältämiä asioita ja tuomaan esiin aiemmin oppimaansa, kertomatta liian helposti valmiita vastauksia ja tulkintoja.

Olen laatinut opinnäytetyössäni osaamistavoitteet immunohistokemian käytännön harjoittelujaksolle. Jatkossa tulemme keskittymään aiempaa enemmän opiskelijoiden harjoittelujakson osaamisen arviointiin. Osaamisen arviointi tapahtuu käytännön työvaiheiden lomassa ja on painottunut käytännön harjoittelujaksolla lähinnä aktiivisuuteen ja käytännön laboratoriotyön suorittamiseen. Jatkossa varmistetaan myös että opiskelija on sisäistänyt osaamistavoitteiksi laaditut asiakokonaisuudet.

Kollegojen perehdyttäminen alkaa mahdollisimman pian opinnäytetyön valmistuttua. Perehdytyksen olen suunnitellut tapahtuvan ensin pienryhmissä, myöhemmin yhdessä opiskelijoiden kanssa käytännön jakson opetustilanteessa. Opetusmateriaalin sisällön lisäksi kerron tutkivan oppimisen teoriayhteydestä ja niistä elementeistä, joita olen suunnitellut käytettävän opetustilanteissa.

## **8 Pohdinta**

Opinnäytetyöni yksi haasteellisimmista osuuksista antigeeninosoituvärjäysten mikroskopoinnin lisäksi oli tutkivan oppimisen teorian osien soveltaminen opetusmateriaaliin. Olen kuitenkin onnistunut tavoitteessa hyvin. Opinnäytetyön loppuvaiheessa huomasin yllättäen tehneeni itse opinnäytetyöni käyttäen juuri kyseistä tutkivan oppimisen menetelmää. Alussa oli idea, jota rakentaessa etsin ja löysin tietoa joka kumuloitui aina aiempaan oppimaani. Sen johdosta syntyi uusia kysymyksiä, joihin aktiivisesti etsin vastauksia. Opinnäytetyön rajaus ja aikataulu pitivät mielenkiintoni kohteet aisoissa. Tosin tiedän oppineeni paljon sellaistaikin, jota en ole opinnäytetyöhöni kirjoittanut.

Opinnäytetyötäni, etenkin opetusmateriaali osuutta varten olen tarvinnut useiden asiantuntijoiden apua. Rohkeasti kysymällä olen saanut apua ja tukea aina kun sitä olen pyytänyt. Se on ollut mahdollista, koska olen työni kautta ymmärtänyt asiantuntija yhteyksien tärkeyden ja mahdollisuudet. Tämän asian tiedostaminen olikin yksi opinnäytetyön aiheen valinnan innoittaja. Opinnäytetyö ei olisi ollut mahdollinen ilman näitä asiantuntijakontakteja.

Oma oppiminen ja kehittyminen immunohistokemian ymmärryksen osalta on ollut vieläkin suurempi ilon ja innostuksen aihe kuin ennalta osasin odottaa. Löysin uutta tietoa ja vahvistin aiempia oletuksiani niistä asioista, joita olen opinnäytetyössäni selvittänyt. Solubiologian, perimän ja perimän tutkimusten luentokokonaisuudet tuottivat myös näitä yllätyksiä suorilla yhteyksillään immunohistokemiaan.

Opetusmateriaalia on mahdollista tuottaa lisää paljon kevyemmin keinoin. Sitä voidaan jatkossa tuottaa esimerkiksi havaitessa rutiinistyössä mielenkiintoinen potilastapaus. Käytännössä muutamalla värjäyksellä ja luonnehtimalla potilastapaus lyhyesti, voidaan hakea opinnäytetyön tekemisen myötä tutuiksi tulleista lähteistä tarvittavat taustatiedot case-tyyppistä tapausta varten. Opiskelijoille voisi antaa käytännön jaksolla tällaisia pienimuotoisia tehtäviä selvittää jonkin tietyn värjäyksen teoriaosuus.

Olen tutustunut kirjallisuuteen rakentaessani opinnäytetyötäni. Osaa tästä kirjallisuudesta olen ehdottanut hankittavaksi laboratorioomme opiskelijoiden ohjauksen tueksi. Sama kirjallisuus palvelee myös henkilökuntaa silloin, kun asioiden taustoista halutaan tai on terve tietää enemmän. Myös omat tiedonhakuaidot ovat kehittyneet. Niitä tietoa ja voin hyödyntää sekä opiskelijoiden ohjauksessa, työssäni ja mahdollisissa jatko-opinnoissa.

Olen kokenut erityisen palkitsevana opiskelijoiden ja myös työtovereideni innostuksen opinnäytetyötäni kohtaan. Vaikka alussa materiaalin läpikäyminen onkin ollut vielä harjoitteluvaiheessa, olemme silti saaneet aikaan hyviä vuorovaikutustilanteita, joissa myös opiskelijat ovat uskaltaneet heittäytyä mukaan pohdintaan. Opetusmateriaali on siis lähtenyt toimimaan juuri niin kuin olen toivonutkin.



## Lähteet

- Bhargava, Rohit – Esposito, Nicole N. – Dabbs, David J. 2009. Immunohistology of the Breast. Teoksessa Dabbs, David J. (toim.): Diagnostic Immunohistochemistry. Theranostic and genomic applications. Paikka?: Saunders Elsevier. 763-819.
- Hakkarainen, Kai – Bollström-Huttunen, Marianne – Pyysalo, Riikka – Lonka, Kirsti 2005. Tutkiva oppiminen käytännössä: Matkaopas opettajille. Helsinki: WSOY.
- Hakkarainen, Kai – Lonka, Kirsti – Lipponen, Lasse 2000. Tutkiva oppiminen: Älykkään toiminnan rajat ja niiden ylittäminen. Porvoo: WSOY.
- Hakkarainen, Kai – Lonka, Kirsti – Lipponen, Lasse 2004. Tutkiva oppiminen: Järki, tunteet ja kulttuuri oppimisen sytyttäjinä. Porvoo: WSOY.
- Heino, Jyrki – Vuento, Matti 2009. Biokemian ja solubiologian perusteet. Helsinki: WSOYPro Oy.
- Helsingin- ja Uudenmaan sairaanhoitopiiri. Henkilökuntakäsikirja 2011.
- HUSLAB Meilahden patologian laboratorio 1, Immunohistokemia. Työohjeet. 2011.
- HUSLAB Patologian keskuslaboratorio, Histologia. Työohjeet. 2011.
- HUSLAB Patologian keskuslaboratorio, Immunohistokemia. Tutkimuskuvaukset. 2011.
- HUSLAB Patologian keskuslaboratorio, Immunohistokemia. Työohjeet. 2011.
- HUSLAB Patologian keskuslaboratorio, Immunohistokemia. Työpistekuvaus 2008.
- HUSLAB toimintakäsikirja osa B, hallintopalvelut. 10.3.2011.
- Joensuu, Heikki – Leidenius, Marjut – Huovinen, Riikka – von Smitten, Karl – Blomqvist, Carl 2007. Rintasyöpä. Teoksessa Joensuu, Heikki – Roberts, Peter J. – Lyly, Teppo – Tenhunen, Mikko (toim.). Syöpätaudit. Helsinki: Duodecim. 484–508.
- Joensuu, Heikki 2007. Hoidon yleiset periaatteet. Teoksessa Joensuu, Heikki – Roberts, Peter J. – Lyly, Teppo – Tenhunen, Mikko (toim.). Syöpätaudit. Helsinki: Duodecim. 122–206.
- Jouhten, Karoliina. Henkilöstösuunnittelija. HUS-kuntayhtymä, yhtymähallinto. Organisaatiopöytäkirja 9.2.2012.
- Kataja, Vesa – Johansson, Risto. Hormonihoidon perusteet. Teoksessa Joensuu, Heikki – Roberts, Peter J. – Lyly, Teppo – Tenhunen, Mikko (toim.). Syöpätaudit. Helsinki: Duodecim. 191–226.
- Kaunisto, Mirja. Laboratoriohvitaja. HUSLAB, Patologian ja genetiikan vastuualue, Meilahden patologian laboratoriot, meipa 1. Helsinki. Keskustelu 7.3.2012.
- Kero, Mia. Sairaalasolubiologi. HUSLAB, Patologian ja genetiikan vastuualue, Meilahden patologian laboratoriot 1, immunohistokemia. Helsinki. Keskustelu 2.11.2011.
- Kero, Mia. Sairaalasolubiologi. HUSLAB, Patologian ja genetiikan vastuualue, Meilahden patologian laboratoriot 1, immunohistokemia. Helsinki. Keskustelu 28.3.2012.

- Li, Enzhong – Chen, Yanfang 2011. An Experimental Teaching-Learning Program in Histology. Journal of veterinary medical education. Winter; 38(4): 414–416.
- Liitännäishoitoa saavan rintasyöpäpotilaan ohje. Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiiri, Syöpätautien klinikka. 5.3.2012.
- Lindblom-Yläne, Sari – Nieminen, Juha – Iivanainen, Antti – Nevgi, Anne 2009. Ongelmalähtöinen oppiminen ja case-menetelmä. Teoksessa Lindblom-Yläne, Sari – Nevgi, Anne (toim.): Yliopisto-opettajan käsikirja. Helsinki: WSOYpro. 262–279.
- Mattson, Johanna 2011. HYKS Syöpätautien klinikka. Rintasyöpäpotilaan liitännäislääkehoito-ohje. 2011.
- Meri, Seppo – Leppä, Sirpa 2011. Syövän immunologia ja immunoterapia. Teoksessa Hedman, Klaus – Heikkinen, Terho – Huovinen, Pentti – Järvinen, Asko – Meri, Seppo – Vaara, Martti (toim.): Immunologia. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet, kirja 2. Helsinki: Duodecim. 401–416.
- NordiQC 2005. CD45. Nordic immunohistochemical Quality Control. Verkkodokumentti. <<http://www.nordiqc.org/Epitopes/CD45/CD45.htm>>. Päivitetty 28.11.2005. Luettu 22.2.2012.
- NordiQC 2007. HMB-45. Nordic immunohistochemical Quality Control. Verkkodokumentti. <<http://www.nordiqc.org/Epitopes/msa/msa.htm>>. Päivitetty 2.7.2007. Luettu 22.2.2012.
- NordiQC 2009. Ki-67. Nordic immunohistochemical Quality Control. Verkkodokumentti. <<http://www.nordiqc.org/Epitopes/ki67/ki67.htm>>. Päivitetty 2.7.2009. Luettu 22.2.2012.
- NordiQC 2011. Cytokeratins. Nordic immunohistochemical Quality Control. Verkkodokumentti. <<http://www.nordiqc.org/Epitopes/Cytokeratins/Cytokeratins.htm>>. Päivitetty 30.6.2011. Luettu 22.2.2012.
- NordiQC 2011. Mart-1. Nordic immunohistochemical Quality Control. Verkkodokumentti. <<http://www.nordiqc.org/Epitopes/melan-a/melan-a.htm>>. Päivitetty 30.3.2011. Luettu 22.2.2012.
- Ojanen, Sinikka 2006. Ohjauksesta oivallukseen: Ohjausteorian käsittelyä. Helsinki: Yliopistopaino.
- Perkkilä, Päivi 2008. Tutkiva oppiminen projektiharjoittelun menetelmänä. Teoksessa Valli, Raine – Isosomppi, Leena (toim.): Opetusharjoittelun uudet mahdollisuudet. Juva: WS Bookwell Oy. 117–139.
- Ristimäki, Ari. Osastonylilääkäri. HUSLAB, Patologian ja genetiikan vastuualue, Meilahden patologian laboratoriot. Helsinki. Keskustelu 20.3.2012.
- Roche Diagnostics. Interpretation Guide for VENTANA anti-HER/neu (4B5). 2011a.
- Roche Diagnostics. Ventana product portfolio. Third edition October 2011b.

Sosiaali- ja terveysministeriön asetus potilasasiakirjojen laatimisesta ja muun hoitoon liittyvän materiaalin säilyttämisestä 99/2001. Annettu Helsingissä 19.1.2001.

W5W2-hankkeen laatima opas 7.1.2009. Walmiiksi Wiidessä Wuodessa: Näin asetat osaamistavoitteet opetussuunnitelmaasi. Laaja oppimäärä.

Williams, Bev – Spiers, Jude – Fisk, Ann – Richards, Liz – Gibson, Barb – Kabotoff, Willy – McIlwraith, Debra – Sculley, Aziza 2011. The Influence of an undergraduate problem/ context based learning program on evolving professional nursing graduate practice. Nurse Education Today. Mar 30