

КЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ НЕКОТОРЫХ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.

Лекция для ФУВ.
Автор: Трошина Н.В.

- ◆ Иммунологические методы лабораторной диагностики можно условно разделить на следующие 2 группы:

- ◆ ***методы с использованием принципа взаимодействия «антиген-антитело» (исследование С-реактивного белка, ревматоидного фактора, определение групп крови);**
 - ◆ ***методы, применяемые для непосредственной оценки иммунных реакций организма и неспецифической резистентности.**

- ◆ Методы клинической иммунологии позволяют выявлять следующие нарушения:
- ◆ - дефектность того или иного звена иммунной системы (врожденные и приобретенные иммунодефициты);
- ◆ - аутоагрессия против нормальных компонентов организма (аутоиммунные заболевания) и избыточное скопление иммунных комплексов (болезни иммунных комплексов);
- ◆ - дисфункции, при которых в том или ином звене иммунитета развиваются признаки гипертрофии в ущерб функционированию других звеньев (гипергаммаглобулинемия, болезнь тяжелых цепей, миелома и др.).

- ◆ К первому уровню относится группа относительно простых, доступных любому лечебному учреждению методов.
- ◆ 1. Определение абсолютного и относительного количества лимфоцитов.
- ◆ 2. Тест розеткообразования (определение Т-, В- и О-лимфоцитов, а также розеткообразование нейтрофилов).
- ◆ 3. Определение чувствительности Т-лимфоцитов к теофиллину.
- ◆ 4. Определение иммуноглобулинов классов А, М, G.
- ◆ 5. Реакция торможения миграции лейкоцитов (РТМЛ) с различными митогенами и аллергенами.
- ◆ 6. Определение циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК).
- ◆ 7. Определение титра комплемента гемолитическим методом.
 - ◆ 8. Изучение фагоцитирующей способности нейтрофилов.

- ◆ Второй уровень, доступный только специально оснащенным лабораториям, включает следующие исследования.
 - ◆ 1. Определение субпопуляций лимфоцитов с использованием моноклональных антител.
 - ◆ 2. Реакция бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ).
 - ◆ 3. Определение поверхностных иммуноглобулинов, а также иммуноглобулина Е.
 - ◆ 4. Определение компонентов комплемента.
 - ◆ 5. Изучение стадий фагоцитоза.

- ◆ Существует также подразделение тестов на ориентировочные и аналитические.
- ◆ К **ориентировочным** относят те, результаты которых можно получить буквально в течение 1-2 сут.
- ◆ По ним можно судить об общей направленности сдвигов в иммунном статусе (абсолютное количество лимфоцитов, розеткообразование, иммуноглобулины А, М, G и фагоцитоз).
- ◆ К **аналитическим** тестам относят реакции, позволяющие определить механизмы функциональных нарушений определенных звеньев иммунитета (теофиллин-чувствительность и теофиллин-резистентность, РТМЛ, РБТЛ и др.).
- ◆ Назначают их обычно после первичного исследования иммунитета, а результаты определяются чаще всего на 3-7-е сутки.

◆ В наиболее общей форме показания к проведению исследования иммунного статуса можно представить следующим образом.

- ◆ 1. Подозрение на наличие генетически детерминированных дефектов иммунной системы (первичные иммунодефициты).
- ◆ 2. Аутоиммунные заболевания.
- ◆ 3. Аллергические заболевания.
- ◆ 4. Инфекционные заболевания с затяжным и хроническим течением.
- ◆ 5. Подозрение на наличие синдрома приобретенного иммунодефицита.
- ◆ 6. Злокачественные новообразования.
- ◆ 7. Проведение цитостатической, иммунодепрессивной и иммуномодулирующей терапии.
- ◆ 8. Подготовка к серьезным хирургическим вмешательствам и послеоперационный период.
- ◆ 9. Обследование реципиентов до и после аллотрансплантации.

◆ **Условно перечисленные показания можно сгруппировать с учетом диагностической значимости иммунологических исследований:**

- ◆ ** состояния, при которых данные методы имеют **решающее** диагностическое значение (первичные иммунодефициты, дисгаммаглобулинемии, болезнь тяжелых цепей, СПИД, трансплантации и гемотрансфузия);
- ◆ ** болезни, при которых оценка иммунного статуса и проведение специальных иммунологических проб позволяют провести **дифференциальную диагностику** внутри группы заболеваний (аутоиммунные заболевания, лейкозы, лимфомы, миеломатозы);
- ◆ ** заболевания при которых иммунологические исследования помогают оценить **степень их тяжести**, прогнозировать осложнения и исходы (инфекционные болезни с затяжным или хроническим течением, оценка степени риска при оперативных вмешательствах), осуществлять текущий контроль за лечением (антибиотикотерапия, применение цитостатиков и иммунодепрессантов, лучевая терапия.)

Исследование клеточного иммунитета.

- ◆ **Определение количества Т-лимфоцитов** основано на их свойстве образовывать комплекс (так называемую розетку) с эритроцитами (Е) барана, (Е-РОК).
 - ◆ Методика выделения Е-РОК предусматривает проведение инкубации. Если же лимфоциты без инкубации активно соединяются с эритроцитами барана, то их характеризуют как Т-«активные» клетки (Еа=РОК).

◆ **Помимо этих субпопуляций различают:**

- ◆ Теофиллинчувствительные - это лимфоциты, не взаимодействующие с эритроцитами барана в присутствии теофиллина.
- ◆ Теофиллинрезистентные лимфоциты - это явление связано с наличием на поверхности Т-супрессоров рецепторов, блокируемых теофиллином, поэтому комплексы с эритроцитами не образуются. Т-хелперы аналогичных рецепторов не имеют и обозначаются как теофиллинрезистентные лимфоциты.
- ◆ Для популяции В-лимфоцитов (ЕАС-РОК) характерно образование комплексов с эритроцитами мыши.

- ◆ В норме содержание в крови:
- ◆ Т-лимфоцитов $-(53,6 \pm 1,7)\%$ **(40-67%),**
- ◆ «активных» Т-лимфоцитов - 22-39%
(30,8 ± 1,1%),
- ◆ В-лимфоцитов - 16-36% **(25,0 ± 1,2%),**
а
- ◆ соотношение Т- супрессоров к Т-хелперам в норме **1:3.**

Исследование гуморального иммунитета.

- ◆ Наиболее распространенным методом является определение количества иммуноглобулинов 3 основных классов (А, М, G) методом радиальной иммунодиффузии в геле.
 - ◆ В норме содержание иммуноглобулинов
 - ◆ **класса А - $(1,9 \cdot 0,008)$ г/л (1,26-2,5);**
 - ◆ **класса М - $(1,15 \cdot 0,06)$ г/л (0,65— -1,65);**
 - ◆ **класса G - $(11,5 \cdot 0,5)$ г/л (7,50-15,46).**
- ◆ Иммуноглобулин класса D обычно не определяют из-за неясности до конца его биологической роли.
- ◆ Для определения иммуноглобулина Е (крайне важный тест при диагностике аллергии) требуется комплекс оборудования и реактивов радиоиммунного или иммуноферментного анализа.

Исследование неспецифической резистентности организма.

- ◆ Одним из ведущих факторов является способность к фагоцитозу нейтрофилов и макрофагов.
 - ◆ Это свойство фагоцитов оценивают *in vitro* по их активности связывания и поглощения стафилококка.
 - ◆ Определяют следующие параметры:
- ◆ 1/ фагоцитарный показатель (процент фагоцитов из числа сосчитанных нейтрофилов - у здоровых лиц равный **40-80%**),
 - ◆ 2/ фагоцитарное число (среднее число микробов, поглощенных одним нейтрофилом, - в норме у взрослых - **4-9**) и
- ◆ 3/ показатель завершенности фагоцитоза (отношение количества переваренных микробов к общему числу поглощенных).

Оценка результатов иммунологических исследований

- ◆ Никогда не следует рассматривать отдельно какие-либо параметры иммунитета.
- ◆ Необходимо комплексное изучение клеточного и гуморального звеньев иммунитета, а также факторов неспецифической защиты.

- ◆ Любое инфекционное заболевание бактериальной этиологии, сопровождается существенным ростом практически всех показателей иммунной и неспецифической защиты (особенно количества Т-клеток, их функциональной активности, увеличение содержания иммуноглобулинов, причем чаще всего класса G, усиление фагоцитирующей способности нейтрофилов).
- ◆ Рост показателей начинается в конце периода разгара и достигает, как правило, максимума в период поздней реконвалесценции. При помощи РТМЛ можно выявить сенсibilизацию к какому-либо бактериальному антигену и тем самым способствовать установлению этиологии инфекционного процесса, например пневмонии.

- ◆ При вирусных инфекциях определяется умеренное снижение иммунной защиты, постепенно восстанавливающейся в процессе выздоровления.
- ◆ Естественно, что данная закономерность характерна лишь для пациентов с нормальной реакцией на возбудитель, болезнь у которых протекает в обычном варианте с благоприятным, как правило, исходом.

- ◆ Повышение показателей иммунитета происходит при различных аллергиях, причем рост количественных параметров клеточного иммунитета может сопровождаться снижением функциональной активности или нарушением состава субпопуляций, что по сути скорее является иммунодефицитным состоянием.
- ◆ Увеличение количества ЦИК в крови не является положительным прогностическим показателем и встречается чаще всего при аутоиммунных заболеваниях.

- ◆ Избыточное увеличение содержания иммуноглобулинов, чаще всего классов М и G, встречается при парапротеинемиях (в частности, при миеломной болезни).
- ◆ Увеличение содержания какого-либо одного или нескольких иммуноглобулинов, а также изменения разнонаправленного характера наблюдаются при острых и хронических гепатитах, циррозах печени, диффузных заболеваниях соединительной ткани, инфаркте миокарда

- ◆ Вторичные иммунодефициты возникают под влиянием целого ряда факторов. К ним относятся хронические инфекции или инвазии (малярия, токсоплазмоз, лейшманиоз, туберкулез, сифилис, лепра, менингококковая и пневмококковая инфекции, вирусный гепатит В и т.д.). Отдельно рассматривается такой вторичный иммунодефицит, как ВИЧ-инфекция (СПИД).
- ◆ Нарушения иммунной системы могут быть вызваны пищевой недостаточностью белка или усиленной его потерей при заболеваниях кишечника и почек, усилением катаболизма белка при раке и миотонических дистрофиях.
- ◆ Иммунодефицитные состояния возникают также при радиационных поражениях, гиповитаминозах, терапии цитостатиками, антибиотиками, кортикостероидами, иммунодепрессантами

- ◆ Проведение исследования иммунного статуса, по ориентировочному перечню, необходимо при назначении иммуномодулирующей терапии, так как в настоящее время уже известно, что необоснованное применение иммуномодуляторов может привести к обратному эффекту.
- ◆ Показанием для данного вида лечения (чаще всего используются тималин или тактивин) является снижение абсолютного и относительного содержания Т-клеток, особенно числа «активных» Т-лимфоцитов, или снижение их функциональной активности (РТМЛ).
- ◆ Показанием для проведения иммунокоррекции может явиться также значительный дисбаланс (разнонаправленные изменения) между различными параметрами иммунитета, что часто наблюдается при аллергических и аутоиммунных заболеваниях.

а
Вирус

Тх Lyt 1,2,3

Лизосома

АГ

Ант

Пл



- ◆ **Опухолевые маркеры представляют собой макромолекулы, в основном белки с углеводным или липидным компонентом, наличие и концентрация которых в периферической крови и/или другой биологической жидкости коррелируют в определенной степени с наличием и ростом злокачественной опухоли в каждом конкретном случае.**
 - ◆ **Они формируются внутри или на поверхности опухолевых клеток, или же происходит индукция их образования в других клетках.**

- ◆ Термин “опухолевые маркеры” охватывает спектр молекул с совершенно разными характеристиками.
- ◆ **Общим для них является связь с малигнизацией,**
- ◆ которая обуславливает их использование в клинической
 - ◆ детекции (диагноз, скрининг) и
 - ◆ наблюдении (мониторинг, прогноз) пациентов с раком.

- ◆ Опухолевые маркеры, как правило, не являются диагностическими, хотя они и могут давать информацию, которая при определенных условиях оказывается полезной для диагностики, особенно у тех пациентов, которые обращаются за помощью к соответствующим специалистам.
 - ◆ Ни один опухолевый маркер не является специфичным для того или иного злокачественного новообразования и что “нормальное” значение маркера не исключает полностью наличие опухоли или рецидив.

Определение концентрации, а также изменений концентрации опухолевых маркеров требует знания *in vivo* и *in vitro* факторов, влияющих на получаемые результаты и искажающих их. Это имеет отношение не только к врачам - лаборантам, но и к врачам, непосредственно отвечающим за лечение и наблюдение больного. Концентрация опухолевых маркеров зависит не только от степени его экспрессии, синтеза, высвобождения, экскреции, массы и

Так, факторами, влияющими на результаты анализа *in vitro*, являются:

- условия хранения,**
- время между забором крови и центрифугированием ,**
- гемолиз и желтуха,**
- контакт емкостей для забора образцов с кожей,**
- загрязнение образца слюной,**
- влияние лекарственных препаратов.**

◆ Человеческие антитела к мышинным иммуноглобулинам образуются у пациентов, получавших мышинные иммуноглобулины при диагностической иммуносцинтиграфии или иммунотерапии,

◆ конкретный метод тестирования, т.к. принципиально схожие наборы различных производителей могут давать совершенно разные результаты для одной и той же сыворотки, что в некоторых случаях может симулировать ремиссию или прогрессию, что, в свою очередь, может привести к неправильным терапевтическим заключениям.

- ◆ Из-за низкой диагностической чувствительности и специфичности, а также из-за ограниченности прогностических показателей, большинство циркулирующих опухолевых маркеров **непригодны** для скринингового обследования бессимптомных пациентов.
 - ◆ Иная ситуация складывается в группах высокого риска и группах пациентов с определенной симптоматикой, т.е. в группах с более высокой ожидаемой частотой данного заболевания (например, АФП при циррозах печени, АФП и ХГЧ при герминомах, PSA у мужчин старше 50 лет с аденомой простаты).

- ◆ Основным применением опухолевых маркеров является мониторинг течения заболевания и эффективность хирургического лечения и/или радио-, химио- и гормонотерапии.
 - ◆ **Именно динамика уровня опухолевого маркера представляется критичной в данном случае, нежели единичное значение уровня, взятое само по себе.**
- ◆ Определение динамики опухолевого маркера иногда позволяет к тому же проводить дифференциацию между доброкачественными и злокачественными заболеваниями по характеру повышения уровня маркера, которое при доброкачественных заболеваниях имеет тенденцию быть преходящим или оставаться в нижних пределах диапазона патологических значений.

- ◆ В ряде случаев (до 50%) корректно определенный профиль концентраций опухолевых маркеров позволяет выявлять изменения в развитии опухолевого процесса на 1 - 6 месяцев раньше, чем прочие, в некоторых случаях инвазивные, диагностические методы.
- ◆ Следующее за хирургическим удалением опухоли тестирование уровней опухолевого маркера, таким образом, представляет собой важный неинвазивный метод мониторинга течения заболевания. Так, в зависимости от скорости, вторичный подъем уровня опухолевого маркера, последовавший за постоперативной нормализацией с большой вероятностью предполагает либо местный рецидив, либо отдаленные метастазы.

◆ Таким образом, суммируя вышесказанное, можно констатировать, что тестирование опухолевых маркеров, при условии корректной интерпретации результатов, показано в следующих случаях:

- ◆ Проверка эффективности терапии.
- ◆ Мониторинг течения заболевания.
- ◆ Идентификация резидуальных опухолей.
 - ◆ Неадекватное слабое снижение уровня опухолевого маркера или отсутствие такового вообще говорит либо о неполном удалении опухоли, либо о наличии множественных опухолей.

◆ 1. Раковый эмбриональный антиген (РЭА)

- ◆ представляет собой гликопротеин с молекулярным весом 180000 дальтон. Исследованиями с моноклональными антителами в молекуле РЭА идентифицировано 6 различных антигенных детерминант.
- ◆ Также как альфа-фетопротейн, РЭА является опухолевоэмбриональным антигеном, продуцируемым в период жизни эмбриона и плода.

- ◆ **2. Углеводный антиген 19-9 (СА 19-9),**
гликолипид, соответствует гаптену
детерминанты группы крови Льюис (а).
Пациенты с редкой групповой
принадлежностью Le (a-b-) (3-7% населения),
таким образом, неспособны экспрессировать
СА 19-9. Это должно учитываться при
интерпретации результатов. Компонент
сыворотки, соответствующий СА 19-9,
представляет собой муцин с молекулярным
весом около 10000 дальтон.
- ◆ **СА 19-9 является маркером выбора при
карциноме поджелудочной железы.**

- ◆ **3. Раковый антиген 72-4 (СА 72-4).** Тест на СА 72-4 выявляет в сыворотке опухолеассоциированный муциноподобный гликопротеин TAG 72 (молекулярный вес 400000 дальтон) с помощью 2 моноклональных антител, а именно: мышиных СС49, направленных против высокоочищенного TAG 72, и меченых антител 72-3, полученных против метастатических клеток карциномы молочной железы.
- ◆ **СА 72-4 является опухолевым маркером, полезным для мониторинга течения заболевания и эффективности терапии при карциноме желудка.**

◆ **4. Раковый антиген 15-3 (СА 15-3)**

является третьим маркером, охарактеризованным благодаря использованию гибридомной технологии. СА 15-3 представляет собой сывороточный муцингликопротеин (молекулярный вес 300000 дальтон), обладающий высокой чувствительностью в отношении карциномы молочной железы.

◆ **СА 15-3 является опухолевым маркером выбора при карциноме молочной железы.**

- ◆ **5. Раковый антиген 125 (СА 125) является вторым (после СА 19-9) маркером, обнаруженным в результате использования гибридомной технологии. Его молекулярный вес 200000 дальтон. Данный маркер представляет собой дифференцировочный антиген, который происходит из дериватов целомического эпителия тканей плода. Он присутствует в клетках линий серозных карцином яичника, а также в участках ткани серозных аденокарцином, но не в слизеобразующих карциномах яичника. Верхняя граница нормы - 35 Ед/мл.**

◆ 6. Нейрон-специфическая енолаза (НСЕ)

была обнаружена в нейронах мозга и периферической нервной системы и представляет собой фермент, расщепляющий глюкозу. Она состоит из двух практически идентичных полипептидных цепей, молекулярный вес каждой - 39000 дальтон. НСЕ выявляется также в нейроэндокринной ткани, особенно в клетках APUD-системы, имеющих нейроэктодермальное происхождение и представленных в нейроэндокринной ткани. Верхняя граница нормы здоровых индивидов контрольной группы - 12,5 нг/мл.


- ◆ **7. Альфа-фетопротеин (АФП)** также представляет собой гликопротеин (молекулярный вес 70000 дальтон). АФП является физиологическим продуктом желточного мешка, печени и желудочно-кишечного тракта плода. С помощью моноклональных антител на молекуле АФП идентифицируется от 3 до 7 различных эпитопов. АФП может обнаруживаться в сыворотке плода, начиная с 4-й недели беременности. Его концентрация достигает пика между 12 и 16 неделями и затем постепенно снижается вплоть до рождения. В возрасте 1 года нормальный уровень АФП в сыворотке такой же, как у взрослых, т. е. менее 15 нг/мл.
- ◆ **АФП имеет два основных клинических применения:**
 - ◆ во-первых, выявление и мониторинг первичной гепатоцеллюлярной карциномы, которая возникает, как правило, в цирротической печени;
 - ◆ во-вторых, мониторинг эффективности терапии и, в некоторой степени, диагностика гермином.

- ◆ **8. Хорионический гонадотропин (ХГЧ)** представляет собой гликопротеиновый гормон (молекулярный вес 46000 дальтон). Он состоит из двух нековалентно связанных субъединиц. ХГЧ-специфичная антисыворотка взаимодействует с участком бета-цепи. ХГЧ образуется физиологически в синцитиотрофобластах плаценты. В герминомах он образуется трофобластическими структурами или синцитио-трофобластическими гигантскими клетками (клетками семиномы).
- ◆ Верхняя граница нормы у мужчин и небеременных женщин: 5 МЕд/мл. У мужчин и небеременных женщин патологическое повышение уровня ХГЧ является **верным признаком наличия злокачественной опухоли.**
 - ◆ Тестирование ХГЧ проводится, в основном:
 - ◆ во-первых, для обнаружения и мониторинга беременности;
 - ◆ во-вторых, для мониторинга гермином яичка и яичника.

- ◆ **9. Простата-специфический антиген (PSA)** является гликопротеином (молекулярный вес 34000 дальтон) и обнаруживается в экскреторных протоках простаты.
- ◆ Это физиологический экскреторный продукт простаты, относящийся к каллекреинам.
- ◆ Он функционирует как сериновая протеаза для уменьшения вязкости спермы. Таким образом, органоспецифический PSA не является опухолеспецифическим.
- ◆ В сперме он существует как мономер, тогда как в плазме он обнаруживается как в форме мономера, так и в виде комплекса с альфа-1-антихимотрипсином (молекулярный вес приблизительно 100000).

- ◆ **Тестирование PSA имеет два основных применения в клинической практике:**
 - ◆ во-первых, для мониторинга течения и эффективности терапии карциномы простаты;
 - ◆ во-вторых, для мониторинга состояния пациентов с гипертрофией простаты в целях как можно более раннего обнаружения карциномы простаты.
- ◆ В кровяное русло PSA попадает в весьма ограниченном количестве:
 - ◆ - не более 2,5 нг/ мл у мужчин до 50 лет;
 - ◆ - не более 4,0 нг/ мл у мужчин 50 - 70 лет;
 - ◆ - не более 6,5 нг/мл у мужчин 70- 79 лет.

◆ **ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ОПУХОЛЕВЫХ МАРКЕРОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ**

<p>Опухолевый маркер</p> 	<p>Наибольшая диагностическая значимость при злокачественных новообразованиях (чувствительность)</p>	<p>Повышенные значения при прочих заболеваниях (специфичность)</p>
<p>Альфа - фетопrotein (АФП)</p>	<p>первичная гепатоцеллюлярная карцинома (40 - 68%);- метастазы любой опухоли в печень (9%);- несименные герминогенные опухоли (57%);- метастазирование (80%);- недифференцированная злокачественная тератома (70-72%);- опухоли - производные желточного мешка или комбинированные (64%);- опухоли яичников;</p>	<p>цирроз печени;- гепатиты;- беременность</p>
<p>β - субъединица Хорионического гонадотропина (β - HCG)</p>	<p>- хорионэпителиома (97%);- пузырный занос (100%);- карцинома яичника;- карцинома яичка (100%);- герминомы яичек (48-86%);- семинома (7-14%);</p>	<p>эндокринные нарушения;- менопауза;- беременность;- аденокарцинома поджелудочной железы и островковоклеточные опухоли;- опухоли толстой и тонкой кишок;- опухоли печени;- опухоли желудка;- опухоли легких;- опухоли молочной железы;- опухоли почек;</p>

<p>Раковоэмбриональный антиген (РЭА)</p>	<p>рак прямой кишки (50%);- рак печени (33%); рак желудка (27%);- рак легких (22%);- рак молочной железы (28%);</p>	<p>доброкачественные заболевания кишечника, поджелудочной железы, печени, легких (20 - 50%);- курение;- алкоголизм; - хронические заболевания легких;- аутоиммунные заболевания;- цирроз печени;- хронические гепатиты;- панкреатиты;- язвенные колиты;- болезнь Крона;- муковисцидоз</p>
<p>Углеводный антиген СА 19-9</p>	<p>карцинома поджелудочной железы (82%);</p>	<p>рак печени (76%); - рак желудка (29%);- доброкачественные и воспалительные заболевания желудочно-кишечного тракта и печени; - муковисцидоз;</p>
<p>Раковый антиген СА - 125</p>	<p>серозная карцинома яичников (92 %);- слизеобразующая карцинома яичника (64%);- карцинома эндометрия (89%);- ремиссия и рецидив (80-90%)</p>	<p>карцинома бронхов;- карцинома молочной железы;- опухоли желудочно-кишечного тракта;- доброкачественные гинекологические опухоли;- аднексит;- беременность;- аутоиммунные заболевания;- гепатит;- хронический панкреатит;- цирроз печени;</p>

<p>Раковый антигенСА - 15-3</p> <p>Простат - специфический антиген (ПСАобщая, свободная фракции)</p>	<p>карцинома молочной железы (95%);- рецидив (30%);- отдаленные метастазы (60-90%);</p> <p>рак предстательной железы (68%);</p>	<p>цирроз печени;- мастопатии (20 - 30%)</p> <p>доброкачественная гиперплазия предстательной железы;</p>
<p>Раковый антиген СА 72-4</p>	<p>карцинома желудка (48%); - при метастазировании (69%);</p>	<p>немелкоклеточная карцинома легких;- карцинома толстого кишечника;- слизеобразующая карцинома яичника;</p>
<p>Нейронспецифическая енолаза (НСЕ)</p>	<p>мелкоклеточный рак легких;- нейробластома (85%);</p>	<p>доброкачественные заболевания легких;- опухоли нейроэктодермального или нейроэндокринного происхождения;- апудомы</p>

Прикладное значение морфологического исследования



Трошина Н.В.

- ◆ В онкологии биопсия является наиболее достоверным методом исследования.
- ◆ Особенно на ранних стадиях развития, от точности такого исследования зависит последующее лечение и даже жизнь больного.
- ◆ На основании гистологической характеристики новообразований, их распространенности и индивидуальной чувствительности к химиопрепаратам, устанавливаемой с помощью биопсии, избираются хирургические, лучевые, медикаментозные и комбинированные методы воздействия на опухоль, а также
- ◆ **определяется эффективность проведенных лечебных мероприятий, появление метастазов и рецидивов и выносится суждение о прогнозе.**

- ◆ Однако до сих пор не изжиты недостатки в оформлении документации, допускаются ошибки в технике забора, обработки материала и его транспортировке в лабораторию, что обуславливает неудачи в установлении правильного диагноза. Нередко эти ошибки дискредитируют сам метод биопсийного исследования.

◆ В настоящее время существуют следующие виды биопсий:

а) эксцизионные- хирургическое удаление всего патологического очага, (кожа, молочная железа, увеличенные лимфоузлы);

б) инцизионная- иссечение одного или нескольких кусочков, в случае большого распространения процесса;

в)пункционная-изъятие материала обычной инъекционной иглой (лимфоузлы, щитовидная железа, мягкотканые и костные опухоли);

г)трепан-биопсия-получение столбика тканей с помощью особых игл(кости, предстательная железа, костный мозг);

д) щипцовая- получение материала с помощью щипцов различной конструкции (бронхоскопия, эзофагоскопия, гастроскопия);
е) кюретаж - выскабливание полостей (матка, гайморова пазуха);
ж) направленная катетеризационная биопсия - эндоскопические методы;

з) аспирационная-удаление жидкости, скопившейся в результате патологического процесса в полостях.

и) мазки-отпечатки-цитологический способ.

к)соскоб-удаление клеток с поверхности опухоли скальпелем или шпателем;

л) биопсия путём промывания полых органов-бронхи, желудок;

м)случайная биопсия- кусочки самовыделяющиеся из больного при откашливании , выделения из влагалища, прямой кишки.

Биопсии бывают срочными или плановыми.

Срочные изготавливаются в течение 20 минут.

Плановые приготавливаются через 48 часов и более, в зависимости от метода специального исследования.

Материал необходимо присылать в лабораторию полностью, а если это невозможно вырезать кусочки размером 1,0 x 1,0 см, которые фиксируются 10% формалином, 96% спиртом или смесью спирт-формалин в равных количествах.

Количество фиксатора должно превышать объем материала в 20 раз.

Флакон должен быть из светлого стекла с широким отверстием, плотно закрытым.

На флаконе должна быть этикетка с фамилией больного, диагнозом, названием материала.

Направление к присылаемому материалу должно быть заполнено согласно пунктам.

Биопсии проводят также при клинически установленном диагнозе со следующими целями:

1.-для гистологического подтверждения диагноза, так как клинические данные могут оказаться ошибочными и привести к калечащим операциям.

2.-для получения точной морфологической характеристики опухоли, гистологической характеристики и степени дифференцировки,

3.-для определения распространенности опухолевого процесса как в поражённом органе, так и за его пределами, что определяет выбор лечения,

4.-для выявления индивидуальной чувствительности злокачественной опухоли к химиопрепаратам.

5.-для выяснения половой принадлежности гормонально зависимых опухолей

6.- для определения радикальности и абластичности предпринимаемого хирургического вмешательства

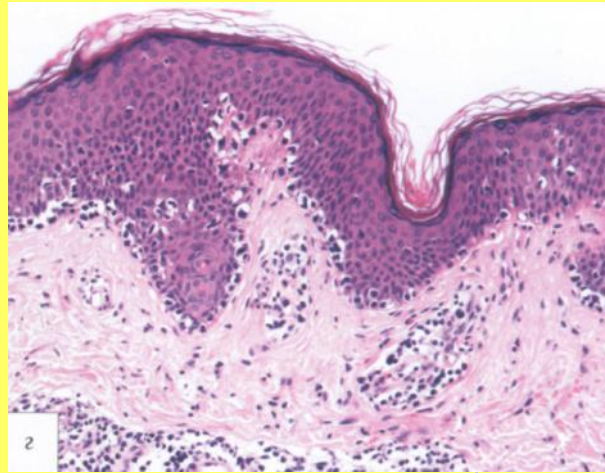
7.-для выявления или исключения рецидива опухоли.

- ◆ Ещё раз о фиксации.
- ◆ Фиксация обеспечивает стабилизацию тканевых структур и их уплотнение. Выбор фиксирующей среды зависит от задач исследования (например, при необходимости выявления гликогена объекты следует фиксировать не в формалине, а в этаноле).
- ◆ Объем фиксирующей жидкости должен превышать объем кусочков не менее, чем в 10 раз. При этом следят, чтобы кусочки в растворе не слипались и не прилегали ко дну банки. Охлаждение фиксируемых в формалине объектов нежелательно, т.к. при этом замедляется проникновение фиксатора в ткани.

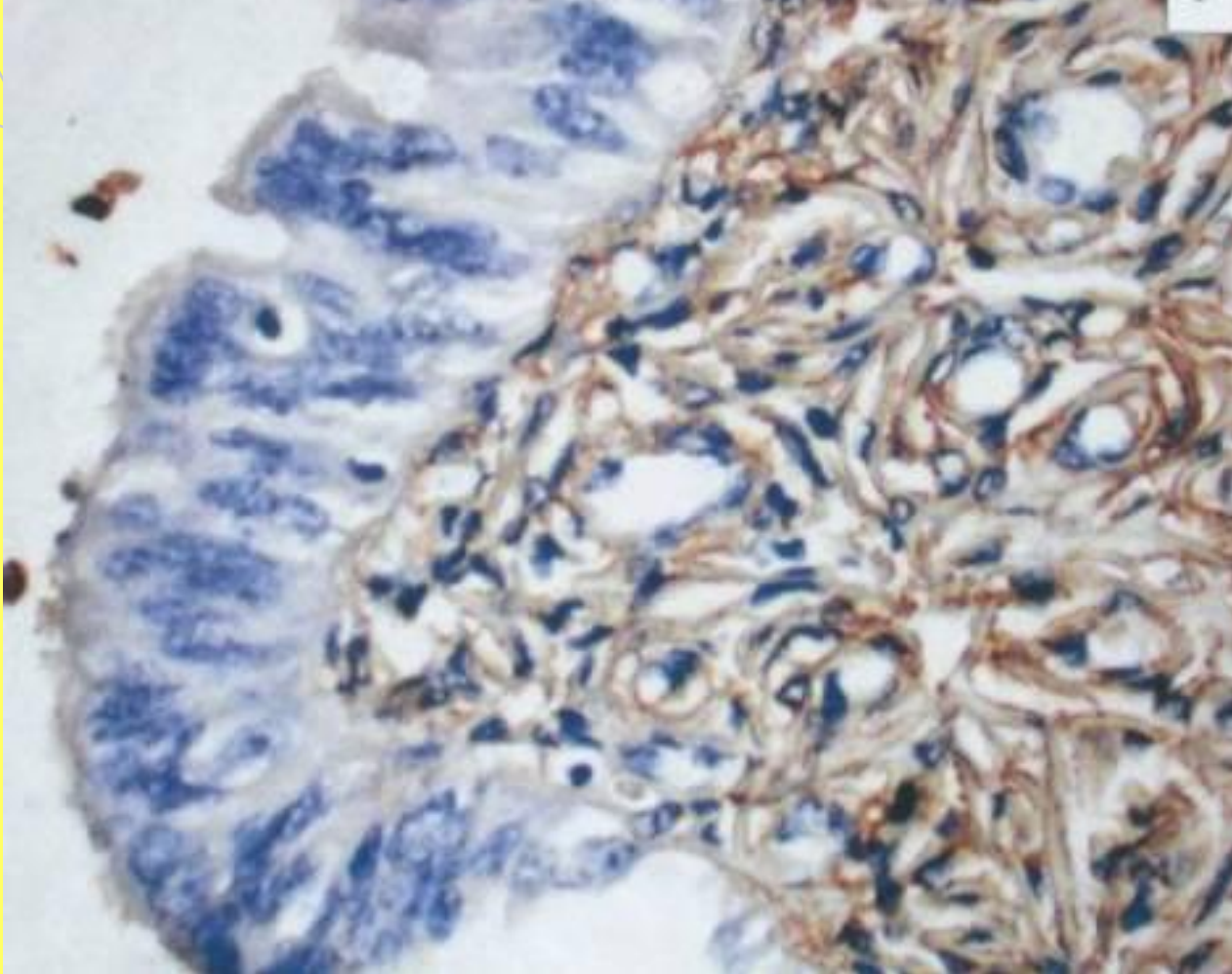
- ◆ **Формалин** - наиболее распространенная и универсальная фиксирующая жидкость. Формалин хорошо проникает в ткани и потому может применяться для фиксации довольно крупных объектов.
- ◆ После фиксации в формалине объекты могут быть залиты в парафин, целлоидин или порезаны на замораживающем микротоме.
- ◆ Большим достоинством формалина как фиксатора является возможность сохранения в нем кусочков в течение длительного времени после завершения фиксации.
- ◆ Недостатком формалина является ухудшение окраски тканей при продолжительной фиксации и хранении влажного архива.

- ◆ **Этанол** - для фиксации тканей применяют как 95°, так и абсолютный этиловый спирт, а также различные смеси этанола и формалина.
- ◆ В практической работе следует применять этанол при фиксации нервной ткани для окраски по Нисслю и при планировании выявления гликогена. Лучшие результаты дает спиртовая фиксация в сравнении с формалиновой и при выявлении железа, бактерий, амилоида.
- ◆ По сравнению с формалином спирт обладает меньшей проникающей способностью, поэтому кусочки для фиксации берут не толще 0,5 см.
- ◆ **Продолжительность фиксации от нескольких часов до суток.**

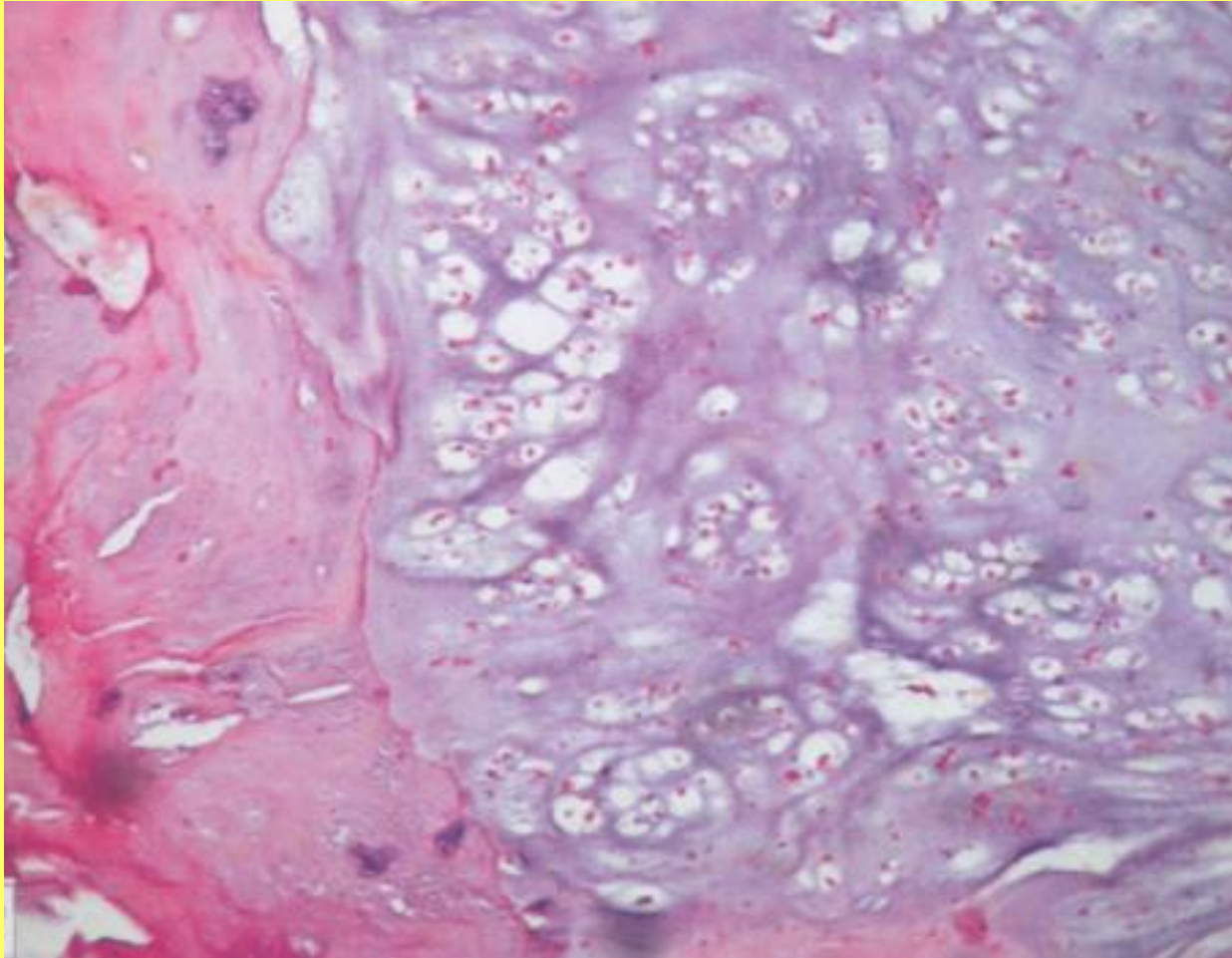
Препарат кожи: хорошо виден многослойный плоский эпителий, с чётко выраженным базальным слоем. На поверхности эпителия полупрозрачные массы рогового вещества. Увеличение x **140**.



Препарат эндометрия с четко видимым призматическим эпителием, под которым определяется скопление «онкобелка» в виде коричневатых масс, инфильтрирующих строму. Увеличение x **400**.



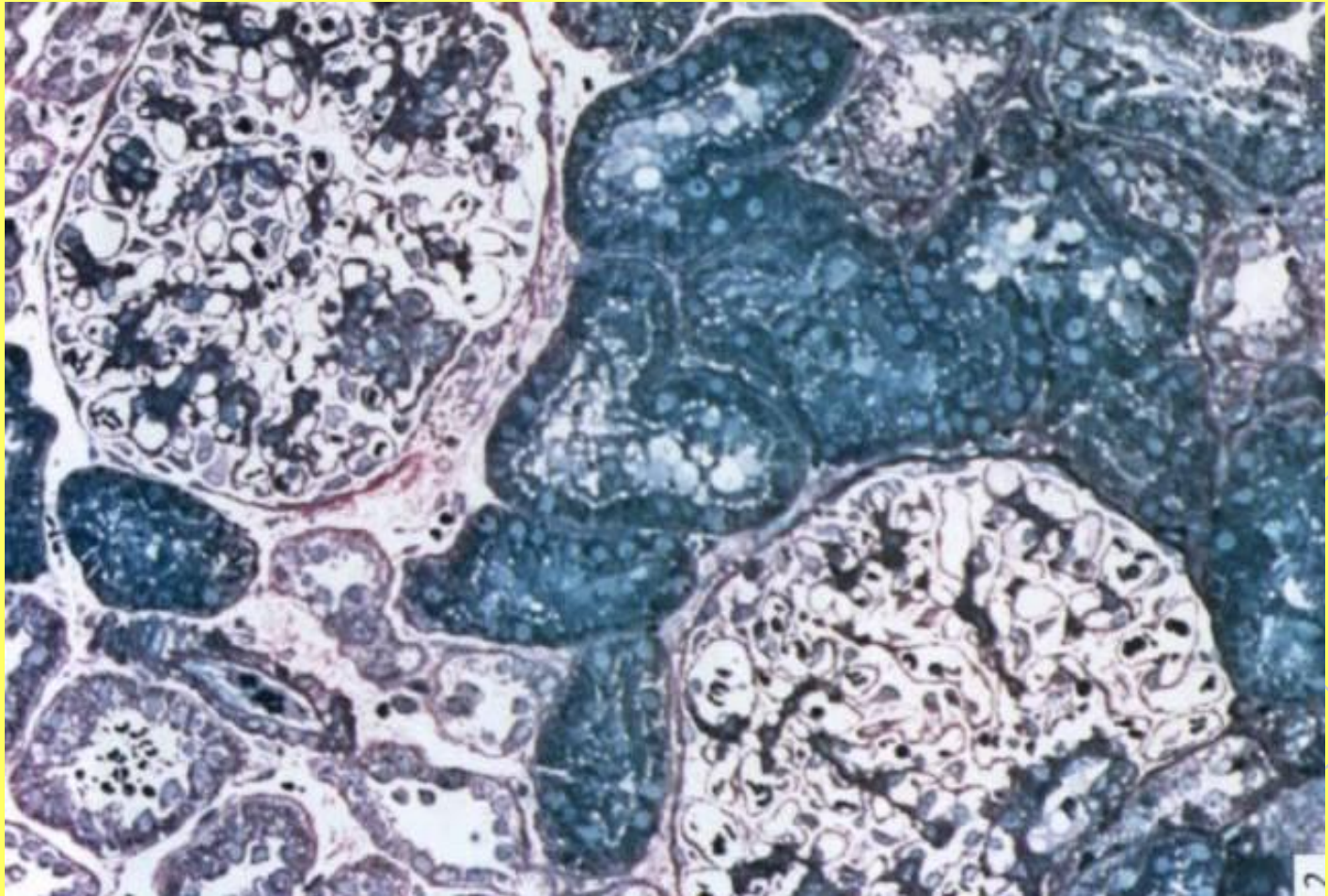
Препарат хрящевой ткани с участками распада основного вещества, которые дают резкую эозинофилию. Увеличение x **140**.



Препарат почки, в поле зрения клубочек, светящийся зеленоватым цветом на темном поле. Увеличение x **200**.



■ Препарат почки видны клубочки слабо окрашенные фиолетовой краской и поперечные срезы извитых канальцев, эпителий которых интенсивно окрашен синезелёным цветом. Увеличение x **200**.



Ядра опухолевых клеток в поле зрения, светятся синеватым цветом, внутри зеленовато-розовые фрагменты - помеченные онкогены в составе ДНК. Увеличение x **150000**.

