

Н. Василев, К. Даиев, А. Начева, Ст. Ковачев, Ст. Стоев, К. Аначков
(ВМА)

МОРФОЛОГИЧНА ДИАГНОСТИКА В ГИНЕКОЛОГИЯТА: СЪВМЕСТНА ДЕЙНОСТ НА КЛИНИЦИСТИ И ПАТОЛОЗИ

Клинична (хирургична) патология се прави от морфолози и клиницисти, работещи в екип. Основните принципи на тяхната съвместна дейност могат да се сведат до два:

1. Необходимо е *екипно мислене*, т.е. клиницистът трябва да мисли за патолога и обратно.
2. Необходима е *екипна комуникация*, т.е. клиницистът трябва да общува с патолога и обратно.

ЕКИПНО МИСЛЕНЕ

Боравейки с тъканите на пациентката, клиницистът трябва да си представя и работата на патолога, а патологът – и работата на клинициста. Ето някои общи правила при боравене с тъкани:

- всяка тъкан, отстранена по медицински показания от живо същество, подлежи на хистологично изследване¹;
- всяка отстранена аднексиална формация подлежи на експресно хистологично изследване;
- клиницистът изпраща на патолога *всички* отстранени тъкани;
- изрязването на тъкани за изследване трябва да става внимателно (важи и за клиницисти, и за патолози);
- тъканни късчета с размери под 2x2 cm (включително всички материали от кюретаж) се изпращат за рутинно хистологично изследване поставени във фиксираща течност, която надвишава обема им десетократно;
- тъканни късове и органи с размери над 2x2 cm *и всички лимфни възли – независимо от размера им* – се изпращат за изследване нефиксирани, веднага след екстирпацията им;
- тъканен материал за специални изследвания (замразени срези, електронна микроскопия, цитогенетика, тъканни култури, някои имуноморфологични методи и др.) се получават в операционната зала, където патологът незабавно пристъпва към обработката им;
- ексцизионните ръбове на материали, отстранени с електронож, са с неясен хистологичен строеж.

¹ В ежедневната гинекологична практика това правило търпи изключение единствено по отношение на остатъчната ливавица, отстранена при пластика на влагалището.

Следват съвети за боравене с материал, произхождащ от основните гинекологични локализации.

Външни полови органи

Материал за биопсично изследване се взима посредством пробна ексцизия или голямокалибрена биопсична щипка (тип конхотом). Две трети от тъканното късче трябва да са заети от изследваната лезия, а една трета – от съседна здрава тъкан. Ако ориентацията на късчето не е очевидна, следва да бъде маркирана.

Влагалище

Изрязването (“щипването”) на материал за хистологично изследване не бива да е много дълбоко, за да не се наранят подлежащите съдови плексуси или кухи органи. Не е уместно от страна на патолога да иска “повторно изследване с повече тъкан”.

Маточна шийка

Най-практичен метод за взимане на материал от *portio vaginalis colli uteri* е прицелната щипкова биопсия. Пробната ексцизия има място при колпоскопски неясна картина. Т.нар. *exochleatio* (остъргване на лезията с остра лъжичеста кюрета) днес е изоставено.

Кюретажът на цервикалния канал се прави без предварителна дилатация.

Най-пълно изследване (често – и саниране) на изменените тъкани се постига чрез *conisatio*. Ние се въздържаеме от кюретаж на цервикалния канал преди конизация. Основата на конуса трябва изцяло да включва видимата граница на лезията. Върхът на конуса трябва да се пада дистално от *orificium internum canalis cervicalis*. След отстраняване на конуса, клиницистът маркира мястото на “12 ч.” с лигатура или срез.

Обработката на цервикалния конус започва с “ампутация” на апикалната му част. Полученото миниконусче се включва в парафин с основата му към срезната равнина на микротомата.

Остатъкът от конуса (представляващ по-голямата му част) се разрязва на “12 ч.” (ако това вече не е извършено от оператора) и се разстила. Полученият трапецовиден тъканен къс се реже в посока, съвпадаща с оста на цервикалния канал, на няколко къса. Всеки от тях се оформя в отделно блокче, с епител “гледащ” встрани.

Ендометриум

В онкогинекологичната практика има два вида кюретаж: *abrasio canalis cervicalis* (вкл. аспирационен кюретаж) и *abrasio probatoria separata (fractionata)*¹.

¹ Изключение – преди конизация на маточната шийка (вж. по-нататък).

Лентовидният кюретаж (Strichabrasio) намира приложение в гинекологичната ендокринология (вкл. диагностика на стерилитета). Той няма място в онкогинекологията.

Трябва да се избягва както повърхностното, така и прекалено дълбокото кюретиране на маточната кухина. Първото дава материал, който може да подлъже морфолога (поява на псевдопапиларни картини). Второто е вредно.

Целият изваден материал се поставя във фиксираща течност. Ако тъканните частици са примесени с изобилие от коагулуми, отстраняването на последните трябва да стане с пинсета. Не се практикува промиване с вода, защото липсата на изотоничност води до изменения в тъканите.

Ако разполагаме със спонтанно отпаднали тъкани, донесени от болната, това се отбелязва изрично в придружаващия фиш (съдебномедицинско значение).

Маточно тяло и аднекси

Операторът разрязва екстирпираната матка, за да може да включи описанието ѝ в оперативния протокол. Това става с минимален брой срезове:

- или по предната маточна стена – един сагитален срез от ОЕСС до фундуса и един хоризонтален от рог до рог,
- или два среза по маточните кантове – ляв и десен, след което матката се разтваря като папка.

Яйчниците се разрязват екваториално по *margo liber ovarii*.

Маточните тръби се обработват като *appendix vermiformis*.

При необходимост от експресно изследване екстирпираният материал се изпраща цял.

Овариални (аднексиални) формации

В диагностичната практика на морфолога няма по-коварен материал от яйчниковите тумори.

Приема се, че за прецизна диагноза на солидните яйчникови тумори е необходим 1 хистологичен срез на всеки 2 cm от туморния диаметър.

Прогнозата на смесените герминативно-клетъчни тумори се определя от най-малигнената им компонента.

Диагнозата “тумор с гранична злокачественост” никога не е окончателна на експресен препарат (гефрир).

Лимфни възли

Пресният (нефиксиран) лимфен възел е идеален източник за получаване на “отпечатъчни” цитологични препарати. Те се изготвят много бързо и нерядко са по-информативни от хистологичните препарати, получени при експресно изследване (гефрир).

Материал за цитологично изследване

Ексфолиативен материал за ендокринологична цитонамазка се взима от горната трета на задната влагалищна стена.

Ексфолиативен материал за онкоцитонамазка се взима от две места: PVCU (от зоната на трансформация) и *canalis cervicalis*. Ако току-що е правена колпоскопия, достатъчен е един препарат – от *canalis cervicalis*.

Материалът от *canalis cervicalis*, взет с четчица, многократно превъзхожда материала, взет с тупфер.

Намазки върху предметно стъкло се изпращат за рутинно цитологично изследване фиксирани (в кювета с фиксираща течност, чрез напръскване с фиксиционен спрей или изсушени на стайна температура). Изсушените препарати не са подходящи за оцветяване по Papanicolaou, но се оцветяват добре с хемалаун-еозин или по Giemza.

Тъканни течности (пунктати, аспирати, смивове) се изпращат за цитологично изследване нефиксирани и веднага след получаването им.

При отбременяваща пункция на серозна кухина (парацентеза, торакоцентеза), течност за цитологично изследване се взима от последните порции – те са по-богати на клетки.

За изследване на серозни изливи камерата на Seik-Стоянов превъзхожда центрофугирания материал.

ЕКИПНА КОМУНИКАЦИЯ

Общи правила

- *verba volant, scripta manent*: изисквай писмени данни;
- отрицателната информация може да бъде толкова важна, колкото положителната;
- диагноза или отговор на патологоанатомично изследване, съставени от единствен термин (название на състояние или нозологична единица, например “бременност”) дава самочувствие на автора си, но не е от полза нито за екипа, нито за пациентката.

Изчерпателност

А. От страна на клинициста

Фишът, с който се иска морфологично изследване, трябва да включва следните данни (които често се пропускат):

- телефон за контакт с пациентката;
- образование – като индикатор за социална стратификация;
- професия – ако тя може да бъде източник на вредности и ако пациентката я упражнява;
- етнос – понякога е от значение ;
- паритет;

- последна редовна менструация (ако пациентката е в аменорея или менопауза – от колко месеца или години);
- предхождащо лечение – особено хормонално или противотуморно;
- предхождащо морфологично изследване – цитат (ако изследването е извършено в същото здравно заведение – непременно №/година);
- резултати от други важни изследвания – напр. микробиологични;
- за биопсии от маточна шийка или вулва – колпоскопска (епизиоскопска) схема.

Ако клиницистът се интересува от конкретен въпрос, той трябва да го зададе писмено във фиша за изпращане на материал. Например: “Има ли данни за тазов тромбофлебит?” или “Моля материалът да се интерпретира и като прогестеронов тест”.

Б. От страна на патолога

Макроскопското описание често се прави преди фиксация. Някои подробности, обаче, проличават по-ясно след фиксация (например: разпространение на тумор в съседни тъкани). Ако препаратът е описан преди фиксация и след това се проявят такива подробности, те следва да се добавят в описанието.

Количествен израз на макроскопското описание следва да се дава с общоприетите мерни единици (mm, cm, g, l), а не с метафорични изрази (детска глава, лимон и пр.)

По-важните детайли на макроскопското описание се включват в отговора, изпратен на клинициста. Специално в онкогинекологията обикновено разполагаме с предоперативна хистологична диагноза и макроскопското описание на оперативния препарат има значението на аутопсионния протокол в некропсичната диагностика.

Подаването на информация за някои особено важни или особено сложни детайли може да се улесни посредством рисунка или фотография.

Окончателната хистологична диагноза на туморите включва:

- клетъчен тип (хисто- и морфогенеза);
- степен на диференциация¹;
- изразеност на стромната реакция (ако заслужава отбелязване);
- локализация;

¹ Желателно е степените на диференциация да се ограничат до три:

- високодиференциран;
- умерено диференциран;
- недиференциран.

- степен на инвазия¹ в съседни тъкани (органи), вкл. в лумени на кръвоносни и/или лимфни съдове;
- състояние на резекционните линии;
- брой и състояние на лимфните възли (ако в препаратата има такива).

Окончателната хистологична диагноза на материалите от ранна бременност включва:

- обозначаване на разпознатите компоненти на концептуса;
- патологични изменения във всяка една от тях;
- нозологична единица с посочване на най-вероятния гестационен срок.

Разнообразие

Епистоларният жанр не бива да остане единствена форма на комуникация между клиницист и патолог. Двете групи специалисти трябва да поддържат разнообразни (организирани и неорганизирани) контакти. Организирани контакти са клиничко-анатомичните конференции и консилиумите. Под “неорганизирани контакти” разбираме всички поводи за срещи и разговори – любопитството на патолога, надникнал в операционната зала, любопитството на клинициста, надникнал в секционната зала или в окулярите на микроскопа, аргументираните спорове по текущи въпроси, съвместните обеда и т.н.

¹ За рак на маточната шийка в Ia стадий степента на инвазия се обозначава в mm. За рак на маточното тяло инвазията се обозначава като “проникване в под 50 % от дебелината на миометриума” или “проникване в над 50 % от дебелината на миометриума”.

Някои съвременни методи за диагностика, която е повече или по-малко морфологична

1. Имунохистохимия

Чрез имунохистохимични техники в тъканите и клетките се установява присъствие на определени антигени. Методът не е нов, но напоследък към него се добавиха две съществени постижения:

- Използването на моноклонални антитела практически сведе до нула “кръстосаните” реакции антиген-антитяло. Така специфичността на метода клони към 100 %;
- Разработиха се техники за имунохистохимично изследване на материал, преминал през предварителна обработка (до парафиново блокче). Така патологът е в състояние да поиска имунохистохимично изследване *post factum*, т.е. след като е придобил първоначални впечатления от хистологичния препарат. Докато материалът е пресен, той невинаги знае какво точно го интересува.

Имунохистохимичният метод има следните приложения в гинекологичната диагностична морфология:

1.1. Идентификация на тъкани по техните компоненти

- доказване на цитокератин = епителна тъкан;
- доказване на виментин = мезенхимна тъкан;
- доказване на дезмин = гладка мускулна тъкан;
- полови стероиди = овариална строма и “полови върви”.

1.2. Откриване на туморни маркери

Най-известните туморни маркери са три: човешкият хориален гонадотропин (ЧХГ), онкофеталните протеини и α -фетопротеин. Те могат да се доказват имунохистохимично.

Напоследък се създадоха моноклонални антитела, които реагират с различни овариални туморни антигени. Ето някои от тях:

Моноклонално антитяло	Антиген	Яйчников тумор	Реакция с други генитални тумори
OC 125	CA 125 (гликопротеин)	серозен*, ендометриоиден	мат.шийка, ендомет-риум, мат.тръба
OC 133	80 kD (гликопротеин)	серозен	ендоцервикс, ендометриум
MOV 2	муцин с високо молек. тегло (гликопротеин)	муцинозен*, серозен, ендометриоиден	
OVTL 3		серозен*, ендометриоиден	ендометриум (светлоклетъчен и муцинозен рак)
B 72.3	TAG 72 (tumor-associated glycoprotein)	ендометриоиден, серозен, муцинозен	мат.шийка, ендометриум
NB / 70 K	гликопротеидна субфракция OCA	серозен, муцинозен, ендометриоиден	мат.шийка, ендометриум
ID 3	муцин с високо молек. тегло (гликопротеин)	муцинозен	
4 C 7		муцинозен, ендометриоиден, светлоклетъчен	
3 C 2		серозен, ендометриоиден	
NS 19-9	CA 19-9	муцинозен, серозен, ендометриоиден	

* Най-силна реактивност

Част от тези антигени имат свойства на туморни маркери (установяват се и в серума), а други – не.

1.3. Откриване на стероидни рецептори

Най-добре е доказването на стероидни рецептри да става както имунохистохимично, така и биохимично в тъканен хомогенат (цитозол). Възможно е и използване на само един от двата метода.

За прогнозата на ендометриалния карцином от основно значение са *прогестероновите* рецептори. На основание тяхното присъствие назначаваме хормонотерапия. Такива рецептори се откриват и в т.нар. “нискостепенни” (low-grade) стромални саркоми на матката.

Присъствието на стероидни рецептори в овариални карциноми не е с така изчистено прогностично значение. Естрогенни рецептори се откриват по-често в серозните карциноми. Прогестероновите рецептори се откриват по-често при карциноми в ранен клиничен стадий и постепенно изчезват с напредване на заболяването. Наличието и на двата вида рецептори е добър прогностичен белег, въпреки че липсват доказателства за повлияване на тези тумори от хормонотерапия.

При рак на маточната шийка присъствието (съответно – липсата) на стероидни рецептори не е от съществено прогностично значение.

2. Поточна цитометрия (flow cytometry)

Чрез поточна цитометрия се изследва количеството на избрано от нас вещество (ДНК, РНК и др.) във всяка отделна клетка от дадена клетъчна популация.

За целите на туморната диагностика се използва най-вече определяне количеството на ДНК. Говорим за ДНК-поточна цитометрия (DNA flow cytometry). На изследване подлежи както хомогенат от прясна тъкан, така и ядрена суспензия от архивни (включени в парафиново блокче) тъкани.

ДНК-поточната цитометрия ни дава количествен израз на:

- количеството на ДНК във всяка клетка от даден тумор;
- разпределение на клетките според тяхната
 - пloidност (съществуват ли триплоидни, анеуплоидни и пр. субпопулации),
 - фазовост (каква част от клетките се намират в определена фаза – G_0/G_1 , S, G_2/M – на клетъчния цикъл).

Пloidността е съществен прогностичен белег при овариалните карциноми. Клетъчните популации на доброкачествените “епителни” тумори и на тези с гранична злокачественост са преобладаващо диплоидни. Установяване на анеуплоидност в тумор, който хистологично е бил диагностициран като доброкачествен или граничен, оправдава възприемането на по-агресивно терапевтично поведение.

ДНК-поточната цитометрия може да послужи за диференциална диагноза между комплетна и парциална mola hydatidosa. Комплетната мола е диплоидна, а парциалната – триплоидна.

3. Хибридизация in situ на нуклеинови киселини (in situ-хибридизация)

Методът доказва наличието “на място” (in situ) - т.е. в определена клетка – на точно определена последователност от нуклеинови бази, формираща точно определена нуклеинова киселина (РНК или ДНК).

За целта към нуклеиновите киселини в клетката се подава изкуствено получен сегмент от РНК или ДНК. Изкуственият сегмент е маркиран с вещество, което го прави видим на микроскопски препарат. Това вещество е или радиоизотоп, или флуорохром¹, или ензим (който реагира с някакъв видим субстрат). Ако нуклеиновата киселина в клетката съдържа поредица от нуклеинови бази, които са комплементарни на базите в сегмента,

¹ Когато внесена откъм НК е маркирана с флуорохром, методът се назовава “FISH” – fluorescent in situ hybridization.

двете молекули се свързват – настъпва хибридизация между тях. Маркиращото вещество се натрупва в дадената клетка и ние я виждаме на предметното стъкло.

Методът се използва за доказване на ДНК на различните типове човешки папилома-вируси (HPV) в цервикални лезии с характеристика на CIN. Освен това, намира приложение в антенаталната диагностика за откриване на определени последователности в ДНК на плода, които са маркери на вродени заболявания.

4. Интерфазна цитогенетика

Класическата кариограма се прави, докато клетката е в метафаза и хромозомите са ясно оформени.

По начин, подобен на описания по-горе (in situ-хибридизация) хромозомите могат да се маркират не само в метафаза, но и извън клетъчното деление (в интерфаза). Чрез интерфазна цитогенетика се прави диференциална диагноза между комплетни и парциални моли. Методът намира приложение и в антенаталната диагностика.

5. Полимеразна реакция (polymerase chain reaction, PCR)

Касае за метод, при който чувствителността на in situ-хибридизацията е допълнително повишена чрез ензима ДНК-полимераза. Намира приложение във вирусологията. В гинекологичната диагностика се използва при доказване на различните типове HPV.

Материалът е публикуван в сайта www.koog-vma.com на 9 август 2007 година.