

Корисна модель відноситься до медицини, конкретно до офтальмоонкології і може бути використаний для підвищення діагностики новоутворень слізної залози на ранньому етапі захворювання.

Епітеліальні пухлини слізної залози як доброякісні (плеоморфна аденома), так і злоякісні (рак у плеоморфній аденомі, аденокарцинома, аденокістозна карцинома) схильні до рецидивів та метастазів. За даними літератури рецидиви та метастази цих пухлин розвиваються от 26 до 61% випадків в перші три роки після лікування. Переродження цієї доброякісної пухлини у різні форми раку, аденокарциному, аденокістозний рак відбувається от 16,4 до 57,1% випадків [А.Ф.Бровкіна, 2002, 2008; С.И.Полякова, 1988; Chuo Ni et al., 1982; Rose Geoffrey E., Wright J.E., 1992]. У зв'язку з цим, дуже важливим є діагностика характеру пухлинного процесу на ранньому етапі обстеження, бо від цього залежить вибір найбільш правильної тактики лікування та кінцевий результат захворювання.

На цей час практично єдиними методами діагностики характеру пухлини слізної залози є цитологічне і гістоморфологічне дослідження, але й вони не завжди дозволяють отримати бажаний результат. Крім того, гістоморфологічне дослідження можливо використовувати тільки після хірургічного втручання, а цитологічне дослідження у вигляді тонкоігольної аспіраційної біопсії інформативне у 78,8 % випадків (Полякова С.І., 1988).

На теперішній час відомо, що специфічна імунна реакція організму на чужорідні антигени, у тому числі і пухлинні, відбувається імунокомпетентними клітинами - Т і В - лімфоцитами і макрофагами. Участь цих клітин та їх тісний функціональний зв'язок у відповідальній імунній реакції сумніву не викликає. Однак до теперішнього часу залишаються ще недостатньо вивченими конкретні механізми взаємовідносин між ними у процесі формування імунітету.

Антигени, які надходять в організм з зовні або які утворюються у ньому самому під впливом біологічних та фізично-хімічних факторів, підлягають особливій переробці макрофагами, після чого продукти цієї обробки поступають до Т і В-лімфоцитів. Взаємодія між Т- і В-лімфоцитами і макрофагами відбувається молекулами специфічних імуноглобулінів, які локалізуються на поверхні їх зовнішніх мембран, а також іншими продуцтованими ними медіаторами. Крім функції розпознавання антигенів, Т-лімфоцитам присутній і другий захисний механізм. Вони можуть руйнувати клітини з локалізованими на їх поверхні чужорідними антигенами.

Цитотоксичну функцію імунні Т-лімфоцити проявляють і відносно клітин пухлини, якщо на їх оболонках присутні чужорідні для організму антигени. Вважається загально признаним, що клітинні фактори імунітету і, насамперед Т-лімфоцити, натуральні кілери та макрофаги виконують основну функцію захисту організму від розвитку пухлинного процесу.

Антитіла, тобто специфічні продукти, які виробляються плазматичними клітинами під дією чужорідних антигенів, є одним з основних факторів придбаного імунітету. Специфічність антитіл - одне з важливіших їх якостей. Антитіла до одного з видів антигену з іншими видами не взаємодіють, якщо вони не мають загальних антигенних детермінант. Завдяки своїй специфічності антитіла знайшли широке використання для аналізу антигенної подібності пухлинних і нормальних тканин, а також виявлення антигенної подібності і різниці між ними.

Вивчення клітинних і гуморальних імунних реакцій у процесі розвитку злоякісних новоутворень людини внесло суттєвий теоретичний і практичний внесок у цю проблему [Д.Ф.Глузман, 1993].

У теперішній час існують як відспецифічні антигени до різних тканин, так і до антигенів лейкоцитів людини, яких на сьогодні відомо біля 300 [Косяков П.Н., Косякова Н.П., 1985]. Імунофенотипування їх виконується за допомогою моноклональних антитіл (МкАТ), які використовуються не тільки для диференціальної діагностики пухлин, але й для вибору оптимальних схем лікування [Глузман Д.Ф., Склярєнко Л.М., Надгорная В.А., 2003].

Роботи з приводу використання моноклональних антитіл в диференціальній діагностиці пухлин слізної залози практично відсутні або носять характер одиничних повідомлень про використання якогось конкретного CD [Hillman G.G., Puri R.K., Kukuruga M.A. et al., 1994; Hasegawa M., Hagiwara S., Sato T. et al., 2007].

Авторами не знайдено у доступних інформаційних джерелах описання пропонованого способу.

Завданням винаходу є можливість використання набору моноклональних антитіл CD 7, CD 16, CD 25, CD 38, CD 45, CD 95, CD 150 для поліпшення ранньої диференційної діагностики характеру новоутворення слізної залози.

Запропонований спосіб укладається в заборі венозної крові і виявленні значення рівня абсолютного і відносного вмісту у периферичній крові хворих на новоутворення слізної залози субпопуляції лімфоцитів, які експресують CD 7, CD 25, CD 38, CD 45, CD 95 та натуральних кілерів (CD 16), що дозволяє діагностувати доброякісний або злоякісний характер пухлини слізної залози епітеліального генезу.

Технічний результат, який може бути отриманий при реалізації винаходу складається з того, що визначені порогові значення рівня абсолютного вмісту в периферичній крові хворих на новоутворення слізної залози CD 16, CD 25 і CD 95 \leq 100 кл/мкл та відносні значення порогового рівня CD 7 \geq 12%, CD 38 \geq 16%, CD 45 \geq 14%, CD 150 \geq 14% при сумарному оцінюванні дозволяють з вірогідністю 85,7 % діагностувати злоякісну пухлину слізної залози епітеліального генезу (ROC = 0,84, p = 0,0035).

Практична реалізація цього способу можлива в умовах як стаціонара, так і амбулаторно.

Причинно-наслідкові зв'язки:

Причина	Наслідок
Визначення абсолютного рівня вмісту CD 16, CD 25, CD 95 \leq 100 кл/мкл і відносних значень порогового рівня вмісту CD 7 \geq 12%, CD 38 \geq 16%, CD 45 \geq 14%, CD150 \geq 14% у периферичній крові хворих на новоутворення слізної залози	дозволяє при дослідженні CD у периферичній крові з вірогідністю 85,7 % визначити злоякісну пухлину слізної залози епітеліального генезу на ранньому етапі захворювання і провести своєчасно адекватне лікування

Переваги розробленого способу диференціальної діагностики характеру пухлинного процесу у хворих на новоутворення слізної залози складаються з того, що досягається можливість диференціальної діагностики характеру пухлинного процесу на ранньому етапі доопераційного обстеження, що дозволяє підвищити ефективність лікування хворих на епітеліальні пухлини слізної залози і вплинути на кінцевий результат пухлинного процесу завдяки вибору найбільш правильної тактики лікування.

Таким чином, як видно із проведеного аналізу, кінцева мета винаходу забезпечується сукупністю істотних відмінних ознак.

Клінічні випробування проводилися у відділенні мікрохірургічного лікування новоутворень органу зору ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П.Філатова АМН України». Усього під спостереженням перебувало 28 пацієнтів з пухлинами слізної залози.

Таким чином, проведене дослідження дозволило поліпшити диференційну діагностику характеру пухлинного процесу слізної залози на ранньому етапі доопераційного обстеження..

У хворого надщесерця з кубертальної вени за допомогою стерильного одноразового шприцу беруть 5 мл крові у стерильну пробірку з 1 мл розчину гепарину активністю 100 од.

Із венозної крові отримують суспензію клітин, які виділяються в градієнті щільності фікол - верографіну ($d = 1,076 - 1,078$) методом центрифугування. На предметне скло наносять по 25 - 30 мкм суспензії клітин у концентрації 2-4 млн/мл і готують сім мазків крові відповідно кількості використаних моноклональних антитіл. Далі отримані мазки крові фіксуються у камері для фіксації парами 10 % розчину формаліну. Після цього на мазки крові наносять моноспецифічні сироватки моноклональних антитіл і інкубують їх у вологій камері один час при кімнатній температурі. Після цього струшують антитіла першого шару і промивають скло. Далі наносять антитіла другого шару - специфічні антитіла проти імуноглобулінів миші і інкубують 30 хвилин у вологій камері при кімнатній температурі. Далі струшують антитіла другого шару, промивають мазок та фільтровальним папіром видаляють зайву вологу. Після цього для візуалізації клітин наносять ПАП - комплекс і інкубують у вологій камері при кімнатній температурі. Ядра клітин дофарбовують метиловим зеленим або гематоксиліном Майера, висушують на повітрі. Під імерсійним світлооптичним мікроскопом проводять рахунок кількості клітин лімфоцитів з червоним обідком (клітини, які експресирують моноклональні антитіла) на 100 звичайних лімфоцитів, отримавши таким чином відносну кількість вмісту клітин у %. Помножуючи отримане число на загальну кількість лімфоцитів, отримують абсолютну кількість клітин в кл/мкл.