Ilmiy tadqiqotlar va ularning yechimlari jurnali
Aoka guvohnoma № 323759 ISSN: 3060-4818

GISTOLOGIK DIAGNOSTIKADA IMMUNOGISTOKIMYO VA AN'ANAVIY BO'YASH USULLARINING QIYOSIY TAHLILI

Jo'raqulova Shaxzoda Asrorvna
Chirchiq davlat pedagogika universiteti talabasi
E-mail: shaxzodajuraqulova008@gmail.com
https://doi.org/10.5281/zenodo.24015176

ANNOTATSIYA

Ushbu maqolada zamonaviy gistopatologik va patomorfologik diagnostikada an'anaviy (klassik) bo'yash usullari hamda immunogistokimyo (IGK) texnologiyalarining o'rni, afzalliklari va cheklovlari qiyosiy tahlil qilingan. Klasik H&E (gematoksilin-eozin) bo'yash usuli to'qimalarning umumiy morfologik va architektonik xususiyatlarini baholashda birlamchi va almashtirib bo'lmas "oltin standart" bo'lib qolayotgani ko'rsatib o'tilgan. Shu bilan birga, kam tabaqalangan o'smalar va noaniq genezli patologiyalarni differensial diagnostika qilishda an'anaviy usullarning yetarsizligi, bu o'rinda immunogistokimyo (antigen-antitanacha reaksiyasi) usulining molekulyar darajadagi yuqori aniqligi asoslab berilgan. Tadqiqotda IGK usulining onkologiyada nosologik tashxisni aniqlashtirish, nospecifik va kam differensiyalangan o'smalarning gistogenezini aniqlash hamda maqsadli (target) terapiyani belgilashdagi prognostik va terapevtik ahamiyati yoritilgan. Xulosada klassik va immunogistokimyoviy usullarning bosqichma-bosqich integratsiyasi aniq va shaxsiylashtirilgan tibbiy tashxisning asosi ekanligi isbotlangan.

Kalit so'zlar: Gistologik diagnostika, patomorfologiya, gematoksilin-eozin (H&E), immunogistokimyo (IGK), differensial diagnostika, biomarkerlar, o'sma gistogenezi, target terapiya.

АННОТАЦИЯ

В данной статье проведен сравнительный анализ роли, преимуществ и ограничений традиционных (классических) методов окрашивания и иммуногистохимических (ИГХ) технологий в современной гистопатологической и патоморфологической диагностике. Показано, что классическое окрашивание гематоксилином и эозином (H&E) остается первичным и незаменимым «золотым стандартом» для оценки общих морфологических и архитектурных особенностей тканей. В то же время обоснована недостаточность традиционных методов при дифференциальной диагностике низкодифференцированных опухолей и патологий неясного генеза, а также продемонстрирована высокая молекулярная точность метода иммуногистохимии (реакция антиген-антитело). В исследовании освещена прогностическая и терапевтическая значимость метода ИГХ в онкологии для уточнения нозологического диагноза, определения гистогенеза опухолей и назначения таргетированной терапии. В заключении доказано, что поэтапная интеграция классических и иммуногистохимических методов является основой точной и персонализированной медицинской диагностики.

Ключевые слова: Гистологическая диагностика, патоморфология, гематоксилин-эозин (H&E), иммуногистохимия (ИГХ), дифференциальная диагностика, биомаркеры, гистогенез опухолей, таргетированная терапия.

ABSTRACT

This article presents a comparative analysis of the role, advantages, and limitations of traditional (classical) staining methods and immunohistochemical (IHC) technologies in modern histopathological and pathomorphological diagnostics. It is shown that classical Hematoxylin and Eosin (H&E) staining remains the primary and indispensable "gold standard" for assessing the general morphological and architectural features of tissues. At the same time, the insufficiency of traditional methods in the differential diagnosis of poorly differentiated tumors and pathologies of unknown origin is substantiated, highlighting the high molecular specificity of immunohistochemistry based on antigen-antibody interactions. The study emphasizes the prognostic and therapeutic significance of the IHC method in oncology for refining nosological diagnoses, determining tumor histogenesis, and guiding targeted therapy. In conclusion, it is proved that the step-by-step integration of classical and immunohistochemical techniques forms the cornerstone of accurate and personalized medical diagnostics.

Keywords: Histological diagnostics, pathomorphology, hematoxylin and eosin (H&E), immunohistochemistry (IHC), differential diagnosis, biomarkers, tumor histogenesis, targeted therapy.

KIRISH. Zamonaviy tibbiyot va patomorfologiyada to‘g‘ri hamda o‘z vaqtida qo‘yilgan gistologik tashxis samarali davolash taktikasini belgilab beruvchi eng muhim bosqich hisoblanadi. Xususan, onkologik, autoimmun va strukturaviy to‘qima kasalliklarining ortib borishi diagnostika usullarining aniqligi va spetsifikligiga bo‘lgan talabni yanada oshirmoqda. O‘n yillar davomida gistopatologik amaliyotda to‘qima va hujayra strukturasi hamda uning morfologik o‘zgarishlarini baholashda gematoksilin-eozin (H&E) va boshqa klassik bo‘yash usullari "oltin standart" bo‘lib kelgan.

Biroq, zamonaviy klinik amaliyotda, ayniqsa kam differensiyalangan (poorly differentiated) o‘smalar, fenotipik o‘xshash patologiyalar va manbasi noma’lum birinchi darajali o‘sma ochoqlarini (Cancer of Unknown Primary) diagnostika qilishda faqatgina an’anaviy morfologik usullarga tayanib aniq xulosa chiqarish murakkablik tug‘dirmoqda. Shuningdek, zamonaviy onkologiyada faqatgina o‘smaning tipini aniqlash yetarli bo‘lmay, balki uning molekulyar-biologik xususiyatlari, oqsil va retseptorlar ekspressiyasi, proliferativ faolligi hamda target (maqsadli) terapiyaga sezgirligini baholash talab etiladi.

Shu munosabat bilan, antigen-antitanacha o‘zaro ta’siriga asoslangan **immunogistokimyo (IGK / IHC)** texnologiyasining klinik amaliyotga keng kirib kelishi gistopatologiyada yangi bosqichni ochib berdi. IGK usuli to‘qimaning nafaqat morfologik strukturasi, balki uning molekulyar va immunophenotipik xususiyatlarini yuqori aniqlikda baholash imkonini yaratdi.

ADABIYOTLAR TAHLILI VA METODOLOGIYA Gistopatologik diagnostika va patomorfologiyaning rivojlanish tarixi to‘qima hamda hujayra tuzilmalarini vizualizatsiya qilish usullarining takomillashuvi bilan uzviy bog‘liqdir. Ilmiy adabiyotlarda to‘qima namuna va biopsiyalarini tahlil qilish asosan ikki yirik davrga — klassik (an’anaviy) gistokimyo va molekulyar immunogistokimyo bosqichlariga bo‘lib o‘rganiladi. Xalqaro patomorfologiya jamiyatlari va yetakchi tadqiqotchilar[1] (Zhao et al., Buza et al.) ta’kidlashicha, Gematoksilin va Eozin (H&E) bo‘yoq kompleksi o‘n yillardan beri diagnostik patologiyada "oltin standart" (Gold Standard) vazifasini bajarib kelmoqda. H&E usuli kislotali va asosli tuzilmalarning kimyoviy affinligiga asoslangan: ishqoriy gematoksilin hujayra yadrosidagi DNK va RNK kislotalarini to‘q-ko‘k/binafsha rangga, kislotali eozin esa sitoplazma va biriktiruvchi to‘qima oqsillarini pushti-qizil rangga bo‘yaydi.

N. Buza va hammualliflarining ta'kidlashicha, H&E usuli to'qimaning umumiy architektonikasi, yallig'lanish darajasi, nekroz ochoqlari va hujayraviy atipiyani baholashda yetakchi usul hisoblanadi. Biroq, so'nggi yillardagi tadqiqotlar shuni ko'rsatadiki, kam tabaqalangan o'smalar (poorly differentiated tumors) va noma'lum birlamchi o'sma ochoqlarida (Cancer of Unknown Primary - CUP) faqatgina H&E morfologiyasiga tayanib[2] to'g'ri nosologik tashxis qo'yish holatlarining 15–25 foizida xatoliklarga olib kelishi mumkin.Gematoksilin tabiiy ravishda hosil bo'ladigan asosiy bo'yoq bo'lib, odatda gistologiyada yadrolarni ko'k rangga bo'yash uchun ishlatiladi. Eozin esa kislotali bo'yoq bo'lib, asosan oqsillar bilan bog'lanadi va sitoplazmani pushti rangga bo'yaydi.

Gematoksilin gematingacha oksidlanmaguncha bo'yalmaydi. Oksidlanish gematoksilinni atmosfera kislorodiga ta'sir ettirish orqali sekin va o'z-o'zidan sodir bo'lishi yoki oksidlovchi moddalar, masalan, natriy yodat (Gill) yoki simob oksidi (Harris) qo'shilishi bilan tez amalga oshishi mumkin.H&E (Gematoksilin va Eozin) — gistologiyada eng keng tarqalgan bo'yash usulidir. [3]U to'qimalarning umumiy tuzilishini ko'rsatadi, bu esa normal, degeneratsiyalangan yoki yallig'langan hujayralarni aniqlash uchun tuzilmalarni o'zaro farqlash imkonini beradi. H&E parafin va muzlatilgan kesmalarni, shuningdek, siydik, vaginal surtma hamda balg'am kabi klinik va sitologik namunalarni bo'yashda qo'llanilishi mumkin.H&E bo'yoqlari to'qimalarning umumiy tuzilishini aniq ko'rsatib bergani sababli, mikroskopik anatomiyani o'rgatishda va tadqiqot maqsadlarida eng keng foydalaniladigan usul hisoblanadi.To'qimalar H&E bilan bo'yalganda-Yadrolar va xromatin to'q ko'k rangga,sitoplazma Eozin Y bilan qizil-to'q sariq, Eozin B hamda Eritrozin B bilan qizil rangga.Kollagen, elastin va eritrotsitlar Eozin Y bilan sariq-to'q sariq, Eozin B va Eritrozin B bilan qizil-to'q sariq rangga bo'yaladi. [4]Gimza bo'yog'i hematopoetik to'qimalarda mavjud bo'lgan hujayralarni farqlash, shuningdek, parazitlar va qo'ziqorinlarni aniqlash imkonini beradi. Uni 1904-yilda nemis bakteriologi Gustav Giemsa kashf etgan. Gimza bo'yog'i qon surtmalarida bezgak parazitlarini aniqlashning "oltin standarti" hisoblanadi. Bo'yoq klinik mikrobiologiyada juda keng qo'llaniladi, chunki u infektsiyalangan eritrotsitlardagi Plasmodium turlarining morfologik farqlarini aniqlashga qodir.Gimza bo'yog'i sitomegalovirus infektsiyasida inklyuziya jismlarini ("boyqush ko'zi" ko'rinishi) ajratib ko'rsatish va Parvovirus B19 infektsiyasini diagnostika qilish uchun ulkan proeritroblastlarni namoyon etishda ishlatilishi mumkin. Bundan tashqari, Filaria, Pneumocystis, Trypanosoma, Histoplasma va Leishmania kabi mikroorganizmlarni bo'yash uchun ham qo'llaniladi. Ushbu bo'yoq mikroorganizmlarni [5]aniqlashda qo'llanilishi sababli turli yuqumli agentlarni tashxislashda, shuningdek, mikrobiologiya, parazitologiya, virusologiya va ilmiy tadqiqotlarda keng foydalaniladi.Qon surtmalarida Plasmodium turlari bilan zararlangan eritrotsitlar qizil rangga bo'yaladi. To'qima kesmalarida yadrolar ko'k, sitoplazma och ko'k, eritrotsitlar esa sarg'ish-pushti rangda namoyon bo'ladi.

Trixromli bo'yoq yadrolar, sitoplazma va kollagenni turlicha bo'yashga mo'ljallangan uchta bo'yoq kombinatsiyasidan iborat. Keng tarqalgan trixromli bo'yoqlarga Masson trixromi, Van Gizon bo'yog'i va Gomori trixromi kiradi.Masson trixromi- Yadrolarni qora, sitoplazma va miotsitlarni qizil hamda kollagenni mos ravishda ko'k yoki yashil rangga bo'yash uchun temir gematoksilin, Biebrich qizil va anilin ko'ki yoki och yashil bo'yoqlar bilan ketma-ket bo'yashdan iborat. Matritsa va osteoid chegarasi qizil, biriktiruvchi to'qima pushti, sintetik suyak o'rnini bosuvchi moddalar esa yorqin yashil ko'rinadi.

Gomori trixromi- Barcha bo'yoqlar muzli sirka va fosfotungstik kislotalar bilan birga bitta eritmada bo'ladi. Bu yerda qizil rang 2R xromotopi tomonidan beriladi. Ushbu usulda kerosinli va muzlatilgan bo'laklardagi to'qima tarkibiy qismlarining ko'rinishi farqlanadi. Kerosin singdirilgan to'qimalarda

kollagen va mitsin yashil rangda, mushak tolalari, sitoplazma va keratin qizil, yadrolar esa ko‘k yoki qora rangda ko‘rinadi. Muzlatilgan bo‘limlarda mushak tolalari yashil, oraliq biriktiruvchi to‘qima och yashil, mitoxondriyalar va miyelinli nerv tolalari qizil, yadrolar esa ko‘k rangda bo‘yaladi.Van Gizon bo‘yog‘i-Mexanizmi to‘liq aniqlanmagan bo‘lsa-da, u to‘qima komponentlarini turlicha bo‘yaydi. Bu yerda kollagen qizil, yadro esa qora rangda ko‘rinadi.[6]

Trixromli bo‘yoqlar to‘qimalarda fibrozni baholash uchun ishlatiladi. U kollagenlar hamda atrofdagi biriktiruvchi to‘qima va hujayralar o‘rtasida aniq kontrastni ta’minlash orqali kasallik bosqichi haqida muhim ma’lumot beradi. U dori va terapevtik vositalarning ta’sirini o‘rganish, shuningdek, kollagen tolalari hamda oshqozon osti bezi β-hujayralarini bo‘yash orqali eksperimental hayvonlarda qandli diabet turlarini farqlash uchun ham qo‘llaniladi. Shunday qilib, u hujayra patologiyasi, endokrinologiya va eksperimental toksikologiya sohalarida keng foydalaniladi.

Shiff davriy kislotasi (PAS) bo‘yog‘i McManus, Hotchkiss va Lillie tomonidan kashf qilingan. PAS reaksiyasining kimyoviy asosi davriy kislotaning glikollarni aldegidning ikki molekulasiga oksidlash qobiliyatiga bog‘liqdir. Shiff reaktivi bilan reaksiyaga kirishgandan so‘ng ajralib chiqadigan pararosanilin qo‘shimchasi barcha glikol o‘z ichiga olgan hujayra komponentlarini bo‘yaydi.

PAS bo‘yog‘i to‘qima bo‘limlarida mukopolisaxaridlar va zamburug‘larni ko‘rsatish uchun ishlatiladi. Diastaza (α-amilaza) hazm qilish jarayoni bilan birgalikda glikogenni saqlash kasalligini tashxislash uchun qo‘llaniladi.

PAS bo‘yog‘i glikolipidlar, glikogen, kollagen tolalari, neytral shilliq moddalar, fosfolipidlar va bazal membranalarni pushti, qizil yoki binafsha rangda, yadrolarni esa ko‘k rangda bo‘yaydi. Agar α-amilaza yoki diastaza salbiy nazorat sifatida ishlatilsa, glikogen chiqariladi va plazma membranasi pushti rangga kiradi. Immunogistokimyo (IGK / IHC) — bu to‘qima kesmalaridagi ma’lum bir oqsillar (antigenlar) va unga spetsifik bo‘lgan antitanachalar (antibody) o‘rtasidagi immunologik reaksiyaga hamda hosil bo‘lgan kompleksni fermentativ va xromogen kimyoviy vizualizatsiyasiga asoslangan zamonaviy diagnostika usulidir. Antigenni ochish (Antigen Retrieval / HIER): Formalin bilan fiksasiya qilingan to‘qimalarda oqsil strukturasi o‘zgarib, antigen determinantlari (epitoplar) yopilib qoladi. Ularni qayta tiklash uchun buferli eritmalar (pH 6.0 sitrat yoki pH 9.0 EDTA) yordamida[7] issiqlik (HIER) yoki fermentativ (PIER) ishlov beriladi. Birlamchi Antitanacha -Nishondagi spetsifik oqsilga (masalan, Sitositokeratin, Ki-67) birikadi.

Vizualizatsiya tizimi -Antitanacha bilan birikkan kompleksni ko‘rish uchun xromogen moddalar qo‘llaniladi. Eng keng tarqalgan xromogen 3,3'-Diaminobenzidine (DAB) bo‘lib, u Peroksidaza (HRP) fermenti ta’sirida oksidlanib, immun reaksiyasi sodir bo‘lgan joyda suvsiz va erimaydigan to‘q jigarrang cho‘kma hosil qiladi. Muqobil ravishda AEC ishlatilganda reaksiya sohasi yorqin qizil rangda namoyon bo‘ladi. Gistopatologiyada kam tabaqalangan (poorly differentiated) va anaplastik o‘smalarning nosologik tegishliligini aniqlashda quyidagi spetsifik diagnostik va prognostik markerlar paneli qo‘llaniladi:Epiteliya va Karsinomalar diagnostikasi-Sitositokeratinlar (CK7, CK20, Pan-CK) Epitelial hujayralarning oraliq filamentlari bo‘lib, karsinomalar diferensial diagnostikasida ishlatiladi. [8]Masalan, $CK7^{+}/CK20^{-}$ fenotipi o‘pka, ko‘krak va tuxumdon karsinomalariga, $CK7^{-}/CK20^{+}$ fenotipi esa yo‘g‘on ichak (kolorektal) adenokarsinomasiga xosdir.Mezenximal o‘smalar diagnostikasi-Vimentin Biriktiruvchi to‘qima, tomir va silliq mushak manbali o‘smalarni (Sarkomalar) aniqlashda asosiy paneldan o‘rin oladi.Limfoproliferativ va Hematopoetik kasalliklar-CD45 (LCA - Leucocyte Common

Antigen) B va T-limfotsitlarga spetsifik bo‘lib, limfomalarni anaplastik saratonlardan ajratadi.CD20 (B-hujayralar) va CD3 (T-hujayralar) Limfoma subtiplarini fenotipik tasniflaydi.

XULOSA VA AMALIY TAVSIYALAR. Tadqiqot va ilmiy adabiyotlar tahlili shuni ko‘rsatadiki, zamonaviy gistopatologik hamda patomorfologik diagnostikada an’anaviy bo‘yash usullari va zamonaviy immunogistokimyoviy (IGK) texnologiyalar bir-birini inkor etmaydigan, aksincha bir-birini to‘ldiruvchi (complementary) bosqichli metodologiyani tashkil etadi.Gematoksilin-Eozin (H&E), Gimza, Trixrom (Masson, Van-Gizon) va PAS bo‘yoqlari to‘qimaning umumiy architektonikasi, yallig‘lanish darajasi, infektsion agentlar, fibroz va mukopolisaxaridlarni baholashda birlamchi hamda tejamkor "oltin standart" bo‘lib qolmoqda. Ular keyingi murakkab diagnostika bosqichlarini to‘g‘ri yo‘naltirishda muhim poydevor vazifasini o‘taydi.An’anaviy usullarning kam tabaqalangan (poorly differentiated) va noma’lum manbali (CUP) o‘smalar diagnostikasidagi cheklovlari (15–25% xatolik ehtimoli) IGK texnologiyasi orqali bartaraf etiladi. Spetsifik biomarkerlar (CK, Vimentin, CD45 va h.k.) va xromogenlar (DAB, AEC) yordamida o‘smasining aniq gistogenetik kelib chiqishini 95–98% aniqlikda belgilash imkoni yaratiladi.IGK usuli nafaqat nosologik tashxis qo‘yadi, balki Ki-67 (proliferativ indeks), ER/PR (gormon retseptorlari) va HER2/neu kabi markerlar orqali onkologik kasalliklarda shaxsiylashtirilgan (precision medicine) hamda target (maqsadli) terapiya taktikalarini belgilab beradi. Barcha to‘qima va biopsiya namunalarini majburiy ravishda standart H&E usulida va zarur hollarda maxsus gistokimyoviy (PAS, Gimza, Van-Gizon) bo‘yoqlarda birlamchi tahlil qilish.Morfologik jihatdan nospecifik, anaplastik yoki diffuz o‘sishga ega to‘qimalarda maqsadli ravishda IGK panelini (birlamchi differensiyalash uchun CK, Vimentin, CD45, S100) qo‘llash.Onkologik tashxis tasdiqlangach, target va gormonal terapiyaga sezgirlikni baholovchi prognostik markerlarni (ER, PR, HER2/neu, Ki-67, PD-L1) aniqlash.IGK va maxsus bo‘yash natijalarining aniqligini ta’minlash uchun to‘qimalarni fiksatsiya qilish sharoitlariga (10% neutral buferlangan formalin, fiksatsiya vaqti 12–24 soat) qat’iy rioya qilish.IGK reaksiyasida antigenni tiklash (HIER) bosqichida harorat va pH ko‘rsatkichlarini (pH 6.0 yoki pH 9.0) marker turiga qarab to‘g‘ri tanlash.Qimmatbaho IGK reaktivlaridan samarali foydalanish uchun o‘sma turiga mos keluvchi tor doiradagi "maqsadli markerlar paneli"ni (targeted antibody panel) shakllantirish, asossiz keng panellar qo‘llanishining oldini olish.

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR (REFERENCES)

1. Zhao L, Zhou Y, Li X, Zhang M. Diagnostic accuracy and clinical utility of immunohistochemistry versus conventional H&E staining in poorly differentiated tumors: A systematic review. Mod Pathol. 2022;35(8):1045–1054. doi:10.1038/s41379-022-01089-w
2. Buza, N., Ziai, J., & Hui, P. (2021). The evolving role of immunohistochemistry in diagnostic surgical pathology and molecular diagnostics. Archives of Pathology & Laboratory Medicine, 145(9), 1120–1132. https://doi.org/10.5858/arpa.2020-0512-RA
3. Amin, M. B., Edge, S., Greene, F., Byrd, D. R., Brookland, R. K., Washington, M. K., ... & Winchester, D. P. (Eds.). (2017). AJCC cancer staging manual (8th ed.). Springer.
4. Sobirova DR, Omonov ShR. Gistologik va patomorfologik diagnostika usullari: O‘quv-uslubiy qo‘llanma. Toshkent: Toshkent tibbiyot akademiyasi; 2023. 124 b.
5. Barcia, J. J. (2007). The history of the Giemsa stain: The man and the stain. Biotechnology & Histochemistry, 82(1), 23–25. https://doi.org/10.1080/10520290701333530

6. Buza, N., Ziai, J., & Hui, P. (2021). The evolving role of immunohistochemistry in diagnostic surgical pathology and molecular diagnostics. Archives of Pathology & Laboratory Medicine, 145(9), 1120–1132. https://doi.org/10.5858/arpa.2020-0512-RA
7. Dabbs, D. J. (Ed.). (2022). Diagnostic immunohistochemistry: Theranostic and genomic applications (6th ed.). Elsevier.
8. Sobirova DR. Patomorfologik diagnostikada zamonaviy texnologiyalarning o‘rni: Monografiya. Toshkent: Fan va texnologiya; 2022. 180 b.