



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 59554

(13) A

(51) 7 G01N33/574

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДВидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ДООПЕРАЦІЙНОЇ ДІАГНОСТИКИ ПАПІЛЯРНИХ КАРЦИНОМ ЩИТОВИДНОЇ ЗАЛОЗИ

1

2

(21) 2002076089

(22) 22 07 2002

(24) 15 09 2003

(46) 15 09 2003, Бюл. № 9, 2003 р.

(72) Божок Юрій Михайлович, Соколов Олег Олександрович

(73) Божок Юрій Михайлович, ІНСТИТУТ ЕНДОКРИНОЛОГІЇ ТА ОБМІНУ РЕЧОВИН ІМ. В.П. КОМІСАРЕНКА АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ

(57) Спосіб доопераційної діагностики папілярних карцином щитовидної залози, що включає отримання пункційного матеріалу, виготовлення цитологічних препаратів, дослідження клітин фолікулярного епітелію та визначення їх каріологічних характеристик, який відрізняється тим, що в клітинах фолікулярного епітелію визначають мікроядра та проводять підрахунок відсотка цих клітин, і при наявності клітин з мікроядрами більше 0,2% від загальної кількості клітин фолікулярного епітелію, встановлюють діагноз папілярної карциноми

Винахід стосується медицини, а саме ендокринології, і може застосовуватись для поопераційної діагностики папілярних карцином щитовидної залози

Існує ряд способів доопераційної діагностики папілярних карцином щитовидної залози

1) Метод "AgNOR", що полягає у комп'ютерному підрахунку кількості так званих "областей організаторів ядерець" (NOR), які виявляються у ядрах клітин фолікулярного епітелію за допомогою імпрегнації сріблом (Ag). За даними авторів методу, підрахунок кількості NOR в ядрах клітин фолікулярного епітелію дає статистичне достовірну різницю між фолікулярними карциномами та фолікулярними аденомами (Kannakar T, Dey P. Role of AgNOR in diagnosis of thyroid follicular neoplasms on fine-needle aspiration smears. Diagn. Cytopathol. 1995, 12(2) 148-9, discussion 149-51.)

Недоліком методу є те, що підрахунки гранул срібла в ядрах клітин після реакції AgNOR потребують спеціального комп'ютерного обладнання і ускладнені тим, що частина гранул зібрана в кластери, де їх не можна полічити. Крім того, ряд дослідників ставлять під сумнів діагностичне значення NOR для новоутворень щитовидної залози [Naim ER, Crocker J, McGovern J. Limited value of AgNOR enumeration in assessment of thyroid neoplasms. J Clin Pathol. 1988, 44, 509-514. Khan EM, Pandey R. Differential diagnosis of fine needle aspiration smears of thyroid nodules. Acta Cytol. 1996, 40, 959-962.]

2) Імуноцитохімічне (за допомогою антитіл Ki-

67) визначення відсотку клітин, що знаходяться в стані проліферації. Антитіла Ki-67 впізнають ДНК-зв'язаний ядерний протейн, який присутній в ядрах клітин, що знаходяться в стані проліферації. В злоякісних пухлинах щитовидної залози антитілами Ki-67 міпляться значно більше 20% клітин, а у доброякісних - менше 20% [Hori A, Yoshida J, Sakai M, Okamoto S, Honjo Y, Mitani K, Hatton K. Ki-67 positive fractions in benign and malignant thyroid tumours: application of flow cytometry. Acta Otolaryngol. 1999, 119(5) 617-20.]

Недоліком методу є недостатня точність діагностики (84%) та необхідність використання реактивів з високою собівартістю.

3) Відомий також імуноцитохімічний спосіб доопераційної діагностики злоякісних новоутворень щитовидної залози, в якому на висушених нефіксованих мазках пункційного матеріалу за допомогою моноклональних антитіл непрямим імунопероксидазним методом проводять виявлення йодпероксидази. Цей фермент міститься в нормальних клітинах фолікулярного епітелію, але зникає в значному відсотку епітеліальних клітин раку щитовидної залози [Jean-Francois Henry, M.D. Thyroperoxidase immunodetection for the diagnosis of malignancy on fine-needle aspiration of thyroid nodules. World J Surg. 1994, 18, 529-534.]

Однак цей метод також має недоліки

а) в якості критерію малігнізації використовується зникнення антигена (йодпероксидази), а не поява нового антигену. В той же час всі неепітеліальні клітини, та нефолікулярний епітелій не міс-

(13) A

(11) 59554

(19) UA

тять йодпероксидази, хоча вони не злоякісні

б) реакцію з антитілами проти йодпероксидази проводять на нефіксованих і непофарбованих препаратах, що виключає можливість встановлення співвідношення епітеліальних та не епітеліальних клітин в пунктатах, а відтак - неможливо точно встановити діагноз раку щитовидної залози

За прототип взятий цитоморфологічний спосіб, що включає отримання пункційного матеріалу, виготовлення цитологічних препаратів, дослідження клітин фолікулярного епітелію та визначення їх каріологічних характеристик - специфічних для папілярних карцином псевдовключень цитоплазми у ядро [SR Kini Guides to Clinical Aspiration Biopsy Thyroid, IGA KU-SHOI, NY - To-kyo 1987]

Недоліком цього методу є те, що він базується на визначенні псевдовключень, які в певному відсотку папілярних карцином не проявляються, що не дає можливості встановити точний діагноз

В основу винаходу поставлена задача розробити спосіб доопераційної діагностики папілярних карцином щитовидної залози, який би дозволив виявляти їх в тих випадках, коли встановити діагноз за допомогою псевдовключень неможливо через відсутність останніх

Поставлена задача досягається тим, що в спосіб доопераційної діагностики папілярних карцином щитовидної залози, що включає отримання пункційного матеріалу, виготовлення цитологічних препаратів, дослідження клітин фолікулярного епітелію та визначення їх каріологічних характеристик, відповідно винаходу, в клітинах фолікулярного епітелію визначають мікроядра та проводять підрахунок відсотку цих клітин, і при наявності клітин з мікроядрами більше 0,2% від загальної кількості клітин фолікулярного епітелію, встановлюють діагноз папілярної карциноми

Основною відмінністю вказаного способу доопераційної діагностики папілярних карцином щитовидної залози від прототипу є те, на відміну від визначення псевдовключень цитоплазми у ядро, які не завжди дозволяють встановити діагноз через їх відсутність в певній частині пухлин, автори

пропонують з метою діагностики використовувати виявлення клітин, що містять мікроядра Авторами встановлено, що відсоток клітин фолікулярного епітелію з мікроядрами в доброякісних пухлинах, на відміну від папілярних карцином, не перевищує 0,2% Тому при наявності в пухлині більше 0,2% клітин з мікроядрами, новоутворення вважають злоякісним, що дозволяє встановити точний діагноз

Спосіб здійснюється таким чином матеріал, отриманий за допомогою тонкогільчатої аспіраційної пункційної біопсії, фіксують та фарбують за стандартним методом Май-Грюнвальда-Гімза (MGG), після чого досліджують клітини фолікулярного епітелію на наявність мікроядер Мікроядра являють собою утворення круглої форми розміром 1-3мкм, розташовані в цитоплазмі поблизу основного ядра клітини Вони, як і основні ядра, мають ядерну оболонку та заповнені хроматином Підраховують кількість клітин з мікроядрами на 1000 клітин фолікулярного епітелію Вираховують відсоток клітин з мікроядрами Якщо кількість останніх перевищує 0,2% - встановлюють діагноз папілярної карциноми

Приклад 1

У хворой Вдовиченко Ю О, 1982р н, за допомогою ультразвукового дослідження в щитовидній залозі знайдено вузол розміром 25мм Проведена тонкогільчата пункційна біопсія утворення і на отриманих цитологічних препаратах знайдено атипові клітини фолікулярного епітелію, які не мали псевдовключень цитоплазми у ядро, що не дозволяло встановити правильний діагноз Підрахунок клітин з мікроядрами показав, що кількість останніх більше 0,2% (0,3%) На цій підставі поставлено цитологічний діагноз папілярної карциноми Після проведення операції патогістологічне дослідження підтвердило діагноз папілярної карциноми

Таким чином, даний спосіб дозволяє встановити точний діагноз папілярної карциноми Спосіб може широко використовуватись в ендокринологічній практиці