



УКРАЇНА

(19) UA (11) 65261 (13) U
(51) МПК (2011.01)
A61B 6/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ТИРЕОЇДНОЇ МІКРОКАРЦИНОМИ

1

(21) u201107690

(22) 20.06.2011

(24) 25.11.2011

(46) 25.11.2011, Бюл.№ 22, 2011 р.

(72) МУЖИЧУК ОЛЕКСІЙ ВОЛОДИМИРОВИЧ,
АФАНАСЬЄВА НАТАЛІЯ ІВАНІВНА(73) ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ(57) Спосіб діагностики тиреоїдної мікрокарциноми,
який включає імуноцитохімічне визначення

2

рівнів маркерів проліферації та метастазування в зразку біологічного матеріалу, який **відрізняється** тим, що виконують тонкогolkову аспіраційну біопсію вузлового утворення щитоподібної залози з наступним визначенням в біоптаті вмісту білків р21^{Cipl/WAF1} та р63 і при значенні рівня індексу мітки для білка р21^{Cipl/WAF1} 0,88 та більше, а для р63 - 0,53 та більше діагностують тиреоїдну мікрокарциному.

Корисна модель належить до медицини, а саме - до онкології, і може бути використаною для ранньої діагностики тиреоїдної мікрокарциноми в доброякісних утвореннях щитоподібної залози (ЩЗ).

Відомо, що тиреоїдна мікрокарцинома розвивається у 60-80 % випадків переважно на фоні доброякісних вузлових утворень ЩЗ, які її маскують та заважають виявленню злоякісної трансформації тиреоцитів, що знижує ефективність своєчасної діагностики тиреоїдної мікрокарциноми.

Діагностику тиреоїдної мікрокарциноми на сьогодні здійснюють інтраопераційно та на доопераційному етапі.

Так, наприклад, відомий спосіб діагностики мікрокарциноми, що включає експрес-гістологічне дослідження вузлів, що візуалізуються при ехоскопії ЩЗ, який здійснюють інтраопераційно [Roti E. Clinical and histological characteristics of papillary thyroid microcarcinoma: results of a retrospective study in 243 patients /E.Roti, R.Rossi, G.Trasforini et al. // J. of Clin. Endocrine Society.-2006. - Vol. 91, №6. - P. 2171-2178.]. Основним недоліком даного способу є його низька точність - експрес-дослідження криозрізів дозволяє встановити діагноз лише в 56,8 % випадків.

Відомий спосіб діагностики тиреоїдного раку за допомогою тонкогolkової аспіраційної біопсії вузла у щитоподібній залозі з подальшим цитологічним аналізом отриманого матеріалу [Levine T.S., Hore I, Steacns M., Drown C. Cytological findings in a mucin-secreting follicular carcinoma of the thyroid //Cytopathology.-2000. - Vol.711, №3. - P.185-90.].

Основним недоліком даного способу є його обмежена точність, що становить лише 43,2 %.

Відомий спосіб імуногістохімічної діагностики тиреоїдної мікрокарциноми, що включає визначення рівня маркерів проліферації та метастазування (Ki67, p21, Bcl 2). Підвищення експресії Ki67 та гіперекспресії р21 свідчать про наявність раннього метастазування папілярної карциноми [Brzezinski J. Patterns of Cyclin E, retinoblastoma protein, and p21^{Cipl/WAF1} immunostaining in the oncogenesis of papillary thyroid carcinoma / J.Brzezinski, A.Migodzinski, A.Toczek et al. // J. Biol. Chem.-2004. - Vol. 279. - P. 5387-5396.].

Даний спосіб діагностики тиреоїдної мікрокарциноми є найбільш близьким до того, що заявляється, за технічною суттю та результатом, який може бути досягнутим, тому його вибрано за прототип.

Але це діагностичне дослідження можна виконувати лише після хірургічного видалення пухлини ЩЗ, що знижує його ефективність.

В основу корисної моделі поставлено задачу підвищення ефективності діагностики тиреоїдної мікрокарциноми шляхом встановлення діагнозу на доопераційному етапі.

Задачу, яку покладено в основу корисної моделі, вирішують тим, що у відомому способі діагностики тиреоїдної мікрокарциноми, який включає імуноцитохімічне визначення рівнів маркерів проліферації та метастазування в зразку біологічного матеріалу, згідно з корисною моделлю, виконують тонкогolkову аспіраційну біопсію вузлового утворення ЩЗ з наступним визначенням в біоптаті вмі-

(19) UA (11) 65261 (13) U

сту білків $p21^{Cip1/WAF1}$ та $p63$ і при значенні рівня індексу мітки для білка $p21^{Cip1/WAF1}$ 0,88 та більше, а для $p63$ -0,53 та більше діагностують тиреоїдну мікрокарциному.

Спосіб, що заявляється, реалізують таким чином.

Під час проведення ультразвукового дослідження ЩЗ визначають характер вузлового утворення та його розміри. Для цитологічної верифікації діагнозу проводять тонкоголкову аспіраційну біопсію і направляють отриманий клітинний матеріал на цитологічне дослідження. Паралельно виготовляють цитологічний препарат на адгезивному предметному склі та фіксують його 2-3 краплями охолодженого ацетону. При відсутності цитологічних даних про злоякісну трансформацію тиреоїдів (тобто цитологічно діагностовану доброякісну вузлову патологію), проводять стандартне імунocyтохімічне дослідження з визначенням експресії $p21^{WAF1/CIP1}$ та $p63$ в отриманому пунктаті. Оцінку результатів дослідження проводять під світловим мікроскопом ($\times 1250$, масляна імерсія) шляхом підрахунку відсотку позитивно забарвлених клітин (визначають індекс мітки - IM) за стандартними правилами. Якщо IM перевищує 0,53 для білка $p63$ та 0,88 для білка $p21^{WAF1/CIP1}$, вважають, що в даному доброякісному утворенні присутні пухлинні тиреоцити у вигляді мікрокарциноми, яку неможливо було діагностувати цитологічно через будь-які обставини. Індекс мітки нижче зазначеної межі свідчить про відсутність ракового вогнища в доброякісному утворенні ЩЗ - визначається діагноз доброякісного вузлового утворення щитоподібної залози.

Спосіб ілюструють наступні приклади.

Приклад 1. Хвора М-к, 1960 р.н. Діагноз: Папілярний рак щитоподібної залози рT1mNOMO, після хірургічного лікування, I стадія, 3-тя клінічна група. Тиреотоксикоз середньої тяжкості, рецидивний перебіг, після хірургічного лікування. Гіпотиреоз тяжкого ступеня. УЗД щитоподібної залози - залоза розташована в типовому місці, збільшена за рахунок обох часток. У лівій частці визначається

гіпоехогенна зона без чітких контурів - 10 мм в діаметрі. Проведено аспіраційну пункційну біопсію гіпоехогенної зони лівої частки із встановленням діагнозу колоїдний зоб. Згідно зі способом, що заявляється, хворій проведено дослідження експресії білків $p21^{WAF1/CIP1}$ та $p63$ у вузловому утворенні лівої частки. Індекс мітки для $p21^{WAF1/CIP1}$ дорівнював 2,12, а для білка $p63$ -1,24. Зроблено висновок, що у тканині вузлового утворення лівої частки знаходиться мікрофокус раку. У зв'язку з рецидивним перебігом тиреотоксикозу виконано екстрафасціальну тиреоїдектомію. Патогістологічний діагноз - інкапсульована папілярна мікрокарцинома ЩЗ розміром 3 мм без ознак інвазивного росту.

Приклад 2. Хворий Г-в, 1970 року народження. Діагноз: Кістозно-вузловий лівобічний зоб. Вважає себе хворим, починаючи з вересня 2010 р., коли сам у себе помітив пухлиноподібне утворення на лівій стороні шиї. При обстеженні було встановлено наявність кістозно-вузлового зоба. УЗД - щитоподібна залоза розташована звичайно, має гетерогенну структуру, права частка - $35 \times 15 \times 21$ мм, ліва - $39 \times 18 \times 21$ мм. У лівій частці візуалізується кістозне утворення з капсулою діаметром 1,5 см. Проведена аспіраційна пункційна біопсія кістозного утворення. Цитологічний висновок - відповідає кістозно-вузловому зобу. Паралельно у хворого проведено дослідження експресії білків $p21^{WAF1/CIP1}$ та $p63$ в кістозному утворенні лівої частки. Індекс мітки для обох білків - $p21^{WAF1/CIP1}$ та $p63$ дорівнював 0. Зроблено висновок, що у тканині кістозно-вузлового утворення лівої частки ознак злоякісної трансформації тиреоцитів не виявлено. Проведено лівобічну резекцію ЩЗ. Патогістологічний діагноз - макромікрофолікулярний колоїдний зоб, кіста щитоподібної залози.

Таким чином, імунocyтохімічне визначення експресії білків проліферації та апоптозу $p21^{WAF1/CIP1}$ та $p63$ у вузлових утвореннях дозволяє на доопераційному етапі обстеження встановити діагноз тиреоїдної мікрокарциноми в доброякісних пухлинах щитоподібної залози.