



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **14863** (13) **U**
(51) МПК (2006)
G01N 33/574

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ЛІКУВАННЯ РАДІОЙОДОТЕРАПІЄЮ ПАПІЛЯРНОГО РАКУ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

1

(21) u200602889

(22) 17.03.2006

(24) 15.05.2006

(46) 15.05.2006, Бюл. № 5, 2006 р.

(72) Зелінська Ганна Володимирівна, Епштейн Овсій Володимирович

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

(57) Спосіб прогнозування ефективності лікування радіойодотерапією папілярного раку щитоподібної

2

залози, який включає дослідження матеріалу щитоподібної залози імуноцитохімічним методом з подальшим визначенням ефективності лікування, який **відрізняється** тим, що як тканину щитоподібної залози використовують її пунктат, в клітинах якого визначають антиген - цитокератин 17, і, якщо вміст клітин з цим антигеном не перевищує 5%, прогнозують ефективне лікування радіойодотерапією.

Корисна модель стосується медицини, а саме ендокринології, онкології, та радіології, і може застосовуватись для прогнозування ефективності лікування радіойодотерапією папілярного раку щитоподібної залози.

Завдяки можливості лікування диференційованого раку щитоподібної залози за допомогою радіойоду, переважна більшість пацієнтів з цим захворюванням має нормальну тривалість життя. Однак, за даними різних авторів, від 10 до 30% диференційованих раків щитоподібної залози не піддаються радіойодотерапії. Відсутність здібності тканин метастазів до зв'язування радіойоду є найважливішим фактором ризику смерті таких хворих. Тому дуже важливим є прогнозування ефективності лікування радіойодотерапією папілярного раку щитоподібної залози.

В літературі існують суперечливі дані відносно факторів прогнозування лікування радіойодотерапією папілярного раку щитоподібної залози. Так, за даними Batge B., для ефективного лікування і зв'язування радіойоду диференційованими карциномами щитоподібної залози необхідна наявність фолікулів з колоїдом, який містить тиреоглобулін та тироксин. [Batge B. Histology and immunocytochemistry of differentiated thyroid carcinomas do not predict radioiodine uptake: a clinicomorphological study of 62 recurrent or metastatic tumors. Virchows Arch. // A Pathol Anat. - 1992. - №421. - P.521-526]. В той же час деякі дослідники, на відміну від цих авторів вважає більш важливим фактором прогнозування ефективності

лікування радіойодом продукцію тироксинами трийодтиронину (Т3). [Kodama T., Fujimoto Y., et al. Histochemical demonstration of thyroxine, triiodothyronine, and thyroglobulin in the primary lesion of thyroid carcinoma, and its predictability for radioiodine uptake by metastatic lesions. // World journal of Surgery. - 1988. - V.12, P.439-444]. За даними Kasagi K, лікування радіойодотерапією відбувається ефективніше у пацієнтів більш молодого віку. [Iwata M, Misaki T, Konishi J, Sakahara H. Recent progress in radionuclide therapy. Nippon Igaku Hoshasen Gakkai zasshi // Japan acta radiological. - 2000. - V.60, №13. - P.729-37].

Підсумовуючи аналіз літературних даних, можемо зробити висновок, що чітких критеріїв прогнозування ефективності лікування радіойодотерапією папілярного раку щитоподібної залози немає.

За найближчий аналог взятий спосіб прогнозування лікування радіойодотерапією папілярного раку щитоподібної залози за допомогою виявлення натрій-йод симпортера - протеїну плазматичної мембрани тиреоцитів, що відповідає за захоплення йоду. Протеїн виявляють на парафінових зрізах карцином щитоподібної залози за допомогою імуноцитохімічного методу. Наявність протеїну в клітинах папілярної карциноми щитоподібної залози дозволяє прогнозувати ефективне лікування радіойодом. Відсутність протеїну дозволяє припустити неефективне лікування радіойодом та появу метастазів раку щитоподібної залози, нечутливих до радіойоду з вірогідністю 46% [Min J.J., Chung

(13) **U**

(11) **14863**

(19) **UA**

J.K., Lee Y.J., Jeong J.M., Lee D.S., Jang J.J., Lee M.C., Cho B.Y., et al. Relationship between expression of the sodium/iodide symporter and 1311 uptake in recurrent lesions of differentiated thyroid carcinoma. // *European journal of nuclear medicine*. - 2001. - V.28, №5. - P.639-45].

Цей метод має певні недоліки:

1. Імуноцитохімічне виявлення натрій-йод симпортеру проводять на парафінових зрізах папілярного раку щитоподібної залози. Це потребує затрат часу та є дорогим за вартістю. Заливка матеріалу в парафін та виготовлення зрізів здійснюється протягом кількох днів і вірогідність такого прогнозування становить 46%.

2. Прогнозування лікування радіойодотерапією папілярного раку щитоподібної залози цим методом здійснюється на постопераційному гістологічному матеріалі. В той же час клініцисти (ендокринологи та хірурги) повинні мати інформацію відносно можливої подальшої поведінки пухлини при лікуванні радіойодотерапією ще до втручання, що може вплинути на план операції (термін її виконання та обсяг).

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити інформативний, простий у виконанні, оперативний та точний спосіб прогнозування ефективності лікування радіойодом папілярного раку щитоподібної залози шляхом виявлення в пунктатах цитокератину.

Поставлена задача досягається тим, що в способі прогнозування ефективності лікування радіойодотерапією папілярного раку щитоподібної залози, який включає дослідження матеріалу щитоподібної залози імуноцитохімічним методом з подальшим визначенням ефективності лікування, згідно з даною корисною моделлю, в якості тканини щитоподібної залози використовують її пунктат, в клітинах якого визначають антиген - цитокератин 17, і якщо вміст клітин з цим антигеном не перевищує 5%, прогнозують ефективне лікування радіойодотерапією.

До даного рішення автори прийшли на підставі аналізу двох груп пацієнтів з високою та низькою ефективністю лікування папілярного раку щитоподібної залози радіойодотерапією, виявлено, що в пунктатах щитоподібної залози пацієнтів першої групи процентний вміст клітин з цитокератином 17 не перевищував 5%, а у 70% пацієнтів другої групи - перевищував 5%. Для того, щоб вилікувати пацієнтів першої групи було достатньо одного лікувального курсу радіойодотерапії, у цих пацієнтів не з'являлося рецидивів і метастазів папілярного раку щитоподібної залози. Пацієнти другої групи отримали від 2-х до 7-ми курсів радіойодотерапії. У цих хворих були знайдені поодинокі або множинні метастази в лімфовузлах ший, легенів та середостіння.

Основною відмінністю вказаного способу від найближчого аналогу є те, що автори вперше пропонують з метою прогнозування ефективності лікування радіойодотерапією папілярного раку щитоподібної залози на доопераційному етапі, використовувати імуноцитохімічне виявлення в епітелії пунктату цитокератину 17, який, як доведено авторами, є прогностичним фактором.

Даний спосіб імуноцитохімічного визначення цитокератину 17 в епітелії пунктату щитоподібної залози є більш інформативним, оперативним (займає 3 години) та простим за виконанням, ніж виявлення натрій-йод симпортеру на парафінових зрізах, що займає кілька днів. Та головне, спосіб дозволяє здійснити прогноз відносно ефективності лікування радіойодотерапією на етапі пункційної біопсії, тобто ще до операції. Вірогідність прогнозування складає 70%.

Спосіб здійснюється таким чином.

Матеріал, отриманий з новоутворень щитоподібної залози за допомогою тонкогільчатої аспіраційної пункційної біопсії, фіксують метанолом та фарбують за методом Май-Грюнвальд-Гімзе. Препарати досліджують під мікроскопом та встановлюють цитологічний діагноз. На одному з пунктів папілярного раку щитоподібної залози проводять реакцію обезбарвлення за методом, описаним у патенті №23098A UA, 1996р. Після цього проводять імуноцитохімічну реакцію подвійним імунопероксидазним методом за допомогою моноклональних мишиних антитіл до цитокератину 17 (Clone CK-E3, Sigma). Продукт реакції візуалізують за допомогою діамінбензидину. Після промивання буфером PBS, препарат висушують та досліджують під мікроскопом. Цитоплазма клітин, що містить детермінанти цитокератину 17 фарбується у коричневий колір. Ядра клітин фарбують за допомогою гематоксиліну.

Визначають процентний вміст позитивних клітин від загальної популяції епітеліальних клітин пунктату. Підраховують не менше 1000 епітеліальних клітин. Якщо процент клітин, що містять цитокератин 17 не перевищує 5%, прогнозують ефективне лікування радіойодотерапією папілярного раку щитоподібної залози. Ця інформація доводиться до відома ендокринологів, хірургів та радіологів.

Наведемо кілька прикладів використання даного способу в діагностичній практиці.

Приклад 1

У пацієнтки Іванової Е.В., 1984 року народження, в 1994 році при ультрасонографії було виявлено новоутворення правої долі щитоподібної залози розміром 25мм. Проведена тонкогільчата пункційна аспіраційна біопсія (ТАПБ) цього новоутворення та встановлений цитологічний діагноз - папілярна карцинома щитоподібної залози. На одному з пунктів проведено імуноцитохімічне виявлення цитокератину 17. Вміст клітин з цитокератином 17 складав 2,7% від загальної популяції епітеліальних клітин пунктату. Після проведення тотальної тиреоїдектомії, пацієнтці проведено діагностичне сканування у відділенні радіойодотерапії. Протягом 10 років не було виявлено рецидивів або метастазів папілярного раку щитоподібної залози. Хвора вважається здоровою. Таким чином, ми маємо приклад ефективної радіойодотерапії у пацієнтки, в пунктаті якої процентний вміст клітин з цитокератином 17 складав 2,7% (тобто менше 5%).

Приклад 2

Пацієнт Нагуло А.С., 1980 року народження. В 1995 році була проведена ТАПБ вузла правої долі розміром 18мм. Цитологічне була встановлена

папілярна карцинома щитоподібної залози. Вміст клітин з цитокератином 17 в пунктаті складав 8%. Після проведення тотальної тиреоїдектомії пацієнт проходив лікування та діагностичне сканування у відділенні радіойодотерапії. В 1996 році при діагностичному скануванні не було знайдено рецидивів папілярного раку щитоподібної залози. Але ж в 1999 році були виявлені метастази в лімфовузлі шиї, метастази в легені та середостіння. За 1999-2005 роки було проведено 7 лікувальних курсів радіойодотерапії у пацієнтки, в пунктатах якої процентний вміст клітин з цитокератином 17 складав 8% (тобто більш 5%). У пацієнтки з'являлися метастази у лімфовузлі шиї, легені та середостіння.

Приклад 3

Пацієнт Головін А.Л., 1979 року народження. 23.01.96 року була проведена тонкогільчата аспіраційна пункційна біопсія (ТАПБ) збільшеної правої долі щитоподібної залози. Цитологічне заключення - підозра на поєднання аутоімунного тиреоїдиту та карциноми щитоподібної залози. На пункційному матеріалі проведена імуноцитохімічна реакція з антитілами до цитокератину 17. Виявилось, що 100% епітеліальних клітин пунктату містили детермінанти цитокератину 17. Після проведення тотальної тиреодектомії, пацієнт пройшов обстеження та лікування у відділенні радіойодоте-

рапії. В 1997 році при діагностичному скануванні було знайдено слабе накопичення радіойоду в лімфовузлі шиї зліва. Пацієнт отримав лікувальну дозу радіойоду 50мСі. 11.13.03р., при діагностичному скануванні зон накопичення радіойоду не виявлено. При ультрасонографії був виявлений лимфовузел в підщелепній зоні зліва розміром 23мм. Після проведення ТАПБ, був встановлений цитологічний діагноз - метастаз карциноми щитоподібної залози. Пацієнт отримав лікувальну дозу радіойоду 100мСі. В лімфовузлі не було знайдено слідів накопичення радіойоду. Прийнято рішення про проведення операції по видаленню лімфовузла, який не піддається лікуванню радіойодотерапією. Гістологічно підтверджений діагноз метастазу папілярного раку щитоподібної залози. Як видно, ми маємо приклад розвитку метастазу папілярного раку щитоподібної залози, що не лікувався радіойодом у хворого. В пунктаті первинної пухлини процент клітин, що містили цитокератин 17 складав 100%, тобто значно більше 5%.

Таким чином, спосіб є інформативним, простим за виконанням і оперативним, та дозволяє прогнозувати ефективність лікування радіойодотерапією папілярного раку щитоподібної залози на доопераційному етапі з вірогідністю 70% і пропонується для впровадження в спеціалізованих відділеннях лікарень.