



УКРАЇНА

(19) UA (11) 36880 (13) A

(51) 6 G01N33/574

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА ВИНАХІДвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ ДООПЕРАЦІЙНОЇ ДІАГНОСТИКИ ЗЛОЯКІСНИХ НОВОУТВОРЕНЬ ЩИТОВИДНОЇ ЗАЛОЗИ

(21) 2000020938

(22) 18.02.2000

(24) 16.04.2001

(33) UA

(46) 16.04.2001, Бюл. № 3, 2001 р.

(72) Зелінська Ганна Володимирівна, Божок Юрій Михайлович

(73) Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка Академії медичних наук України

(57) Спосіб доопераційної діагностики злоякісних новоутворень щитовидної залози, що включає отримання пункційного матеріалу, виготовлення

цитологічних препаратів, проведення на них імуноцитохімічної реакції непрямим імунопероксидазним методом за допомогою моноклональних антитіл та визначення білків в клітинах фолікулярного епітелію, **відрізняється** тим, що на цитологічних препаратах проводять ренатурацію антигенних детермінант та виявляють клітини фолікулярного епітелію, що містять детермінанти цитокератину № 17, і при наявності таких клітин більше 1% від загальної кількості тиреоцитів, встановлюють діагноз папілярної карциноми.

Спосіб доопераційної діагностики злоякісних новоутворень щитовидної залози.

Винахід стосується медицини, а саме ендокринології, і може застосовуватись для доопераційної діагностики злоякісних новоутворень щитовидної залози.

Існує ряд способів доопераційної діагностики злоякісних новоутворень щитовидної залози:

-цитологічний, що полягає у дослідженні морфологічних ознак клітин, отриманих з пунктів щитовидної залози [S.R. Kini Guides to Clinical Aspiration Biopsy, Thyroid., IGAU-SHOI, NY - Tokyo, 1987.]

-цитохімічний, що полягає у визначенні в пункті відсотку клітини з високою активністю дипетиділамінопептидази IV [Yatsuki Aratake. Dipeptidyl Aminopeptidase IV staining of citologic preparation to distinguish benign from malignant thyroid diseases. Anat.Pat. 96, 306-310, 1991]

Недоліком цитологічного методу є те, що він базується на визначенні непрямих, або вторинних ознак малігнізації клітин щитовидної залози.

Цитохімічний метод з визначення активності дипетиділамінопептидази не дозволяє врахувати відсоток неепітеліальних клітин у пунктах тому, що після визначення активності ферменту неможливо провести відповідне пофарбування для визначення типу реагуючих з субстратом клітин. Оскільки неепітеліальні клітини (наприклад, макрофаги) не містять зазначених ферментів і можуть складати від 5 до 50% всіх клітин пунктату, помилка при встановленні діагнозу цими методами стає значною.

Відомий і імуноцитохімічний спосіб доопе-

раційної діагностики злоякісних новоутворень щитовидної залози, Для цього на висушених нефіксованих мазках пункційного матеріалу за допомогою моноклональних антитіл непрямим імунопероксидазним методом проводять виявлення йодопероксидази. Цей фермент міститься в нормальних клітинах фолікулярного епітелію, але зникає в значному відсотку епітеліальних клітин раку щитовидної залози [Jean-Francois Henry, M.D. Thyroperoxidase immunodelection for the diagnosis of malignancy on fine-needle aspiration of thyroid nodules. World J. Surg. 18, 529-534, 1994]. Однак цей метод також має недоліки:

а) як критерій малігнізації використовується зникнення антигена (йодопероксидази), а не поява нового антигену. В той же час всі неепітеліальні клітини та нефолікулярний епітелій не містять йодопероксидази, хоча вони не злоякісні.

б) реакцію з антитілами проти йодопероксидази проводять на нефіксованих і непофарбованих препаратах, що виключає можливість встановлення співвідношення епітеліальних та неепітеліальних клітин в пунктах. В той же час, всі неепітеліальні клітини не містять йодопероксидази, хоча їх кількість може коливатись в широких межах від пухлини до пухлини. Тому цей метод не дозволяє, з певністю встановити вміст клітин з активністю йодо пероксидази, а відтак точно встановити діагноз раку щитовидної залози.

Винахід зроблено у зв'язку з потребою створити спосіб доопераційної діагностики злоякісних новоутворень щитовидної залози в тих випадках, коли встановити діагноз імуноцитохімічним методом неможливо через те, що він не дозволяє вра-

(19) UA (11) 36880 (13) A

хувати помилки, що вносять присутні в пунктах макрофаги.

Завданням даного винаходу є створення такого способу доопераційної діагностики злоякісних новоутворень щитовидної залози, який би давав задовільну точність діагнозу незалежно від вмісту неепітальних клітин у пунктах шляхом проведення імуноцитохімічного визначення цитокератину № 17 в клітинах, попередньо оброблених препаратів.

Суть винаходу полягає в тому, що отриманого пункційного матеріалу виготовляють цитологічні препарати, на яких після ренатурації антигенних детермінант проводять імуноцитохімічну реакцію непрямим імунопероксидазним методом за допомогою моноклоальних антитіл та виявляють клітини фолікулярного епітелію, що містять детермінанти цитокератину № 17, і при наявності таких клітин більше 1 % від загальної кількості тиреоцитів, встановлюють діагноз карциноми щитовидної залози.

Основною відмінністю вказаного способу доопераційної діагностики новоутворень щитовидної залози від прототипу є те, що автори вперше пропонують з метою діагностики раку щитовидної залози використати виявлення клітин, які містять детермінанти цитокератину № 17. Цей цитокератин з'являється в епітеліальних клітинах карцином і відсутній в неепітеліальних клітинах, що містяться в пунктах. Цей цитокератин можна, після попередньої обробки, виявляти на препаратах тонкогільчатої аспіраційної біопсії, пофарбованих за методом Май-Грюнвальда-Гімза, що дозволяє виключити з підрахунків неепітеліальні клітини.

Тому можна зробити висновок про те, що винахід відповідає критерію "новизна" та "винахідницький рівень".

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 морфологічно.

Ділянка мазка, що містять епітеліальні клітини, відмічають, проводять ренатурацію антигенних детермінант за методом (заявка на винахід № 95041574, рішення про видачу патенту від 19.02.98). Після цього проводять імуноцитохімічну реакцію за допомогою непрямого імунопероксидазного методу з антитілами Е3 до детермінант цитокератину № 17 Після проведення реакції та дофарбування ядер клітин гематоксилином, підраховують процентний вміст клітин, що містять цитокератин № 17 в загальній популяції

тиреоцитів. Якщо кількість останніх перевищує 1%, встановлюють діагноз карциноми.

Наведемо кілька прикладів використання даного способу в нашій діагностичній цитологічній практиці.

1. У пацієнтки Щукіної Л.А., 1945 року народження при ультрасонографії знайдено новоутворення правої долі щитовидної залози, розміром 25 мм. Проведена тонкогільчата аспіраційна пункційна біопсія новоутворення, після чого пунктати були зафіксовані, профарбовані за стандартним методом Май-Грюнвальда-Гімза, та досліджені морфологічно. Епітеліальні клітини новоутворення не мали певних морфологічних ознак малігнізації, необхідних для встановлення діагнозу карциноми. Після виявлення в пунктаті клітин, що містять детермінанти цитокератину 17, було підраховано їх процентний вміст, який склав 4,8 %, що дозволило підозрювати наявність карциноми щитовидної залози. Пацієнтку було прооперовано. Гістологічне дослідження підтвердило наявність папілярної карциноми.

2. У пацієнтки Давидової А.К., 1989 р.н., в пунктатах новоутворення щитовидної залози епітеліальні клітини мали ознаки виразної атипії, але недостатні для встановлення діагнозу карциноми. В той же час вміст клітин, що мали детермінанти цитокератину 17, складав 3 %. Це дало можливість підозрювати наявність раку щитовидної залози. Післяопераційний гістологічний діагноз підтвердив це припущення.

3. У пацієнтки Бахур В. А., було пропунктоване новоутворення лівої долі щитовидної залози, розміром 17 мм. За цитоморфологічними ознаками було неможливо підтвердити або виключити малігнізацію. В той же час імуноцитохімічно не було знайдено жодної клітини, яка б містила цитокератин № 17. Гістологічно був поставлений діагноз вузлового зобу.

Діагностичні можливості методу доведено шляхом порівняння, отриманих цим способом доопераційних діагнозів з гістологічними висновками у 39 пацієнтів. Всі пацієнти (23), в пунктатах яких 1% чи більше епітеліальних клітин містили цитокератин № 17, після операції мали гістологічний діагноз папілярної карциноми. В жодному випадку у пацієнтів, які мали гістологічний діагноз аденоми або вузлового зобу (16) в пунктатах не було більше 0,25% клітин з цитокератином № 17. Спосіб придатний для використання в цитологічних діагностичних лабораторіях.

---

ДП "Український інститут промислової власності" (Укрпатент)  
Україна, 01133, Київ-133, бульв. Лесі Українки, 26  
(044) 295-81-42, 295-61-97

---

Підписано до друку \_\_\_\_\_ 2001 р. Формат 60х84 1/8.  
Обсяг \_\_\_\_\_ обл.-вид. арк. Тираж 50 прим. Зам. \_\_\_\_\_

---

УкрІНТЕІ, 03680, Київ-39 МСП, вул. Горького, 180.  
(044) 268-25-22

---