



УКРАЇНА

(19) UA (11) 51771 (13) U
(51) МПК (2009)
G01N 33/48

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

1

2

(21) u201002615

(22) 09.03.2010

(24) 26.07.2010

(46) 26.07.2010, Бюл. № 14, 2010 р.

(72) СЕДАКОВ ІГОР ЄВГЕНОВИЧ, СКОЧИЛАС
ТЕТЯНА ЛЕОНІДІВНА, ПОМІНЧУК ДЕНИС ВОЛО-
ДИМИРОВИЧ

(73) СЕДАКОВ ІГОР ЄВГЕНОВИЧ

(57) Спосіб діагностики раку молочної залози, що
включає імуноцитохімічне дослідження пухлини
шляхом тонкогілкової аспіраційної біопсії (ТАБ)
під контролем УЗД, який **відрізняється** тим, що

забір біоптату здійснюють з декількох точок пух-
линного вузла, але з одного проколу шкіри молоч-
ної залози, для чого спочатку здійснюють прокол
шкіри молочної залози над пухлинним вузлом, а
потім голку направляють спочатку у центр пухлин-
ного вузла і здійснюють забір вмісту, витягають її з
вузла і знову послідовно вводять голку в точки по
його краю, орієнтуючись на положення стрілки
годинника - 3, 6, 9, 12 умовного циферблата, аспі-
руючи вміст у цих точках, після чого голку виво-
дять з молочної залози.

Корисна модель належить до онкології і може
бути використана в діагностиці раку молочної за-
лози як для морфологічної верифікації пухлини,
так і для оцінки молекулярно-біологічних особли-
востей її, тобто ступеня диференціювання, здат-
ності до інвазії і метастазування, чутливості до
хіміопрепаратів, а отже з особливостями перебігу
та прогнозом захворювання в кожному конкретно-
му випадку.

На сьогодні використовується великий арсе-
нал діагностичних методик для визначення гормо-
нального статусу пухлин молочних залоз. Остан-
нім часом найбільше розповсюдження одержав
імуногістохімічний (ІГХ) метод, який дозволяє ви-
значити приналежність гормонорецепторів саме
до пухлинних клітин, що практично неможливо при
біохімічних дослідженнях [Герштейн Е.С., Кашлин-
ский И.Е. Тканевые маркеры как факторы прогноза
при раке молочной железы / Практическая онколо-
гия. - 2002; 3(1): 38-44].

Однак ІГХ-дослідження, котре проводиться на
парафінових зрізах пухлини і широко застосову-
ється в клінічній практиці, має ряд недоліків, серед
яких основними є втрата і маскування антигену під
час приготування препарату, а також тривалий час

визначення молекулярних маркерів. Крім того,
спосіб травматичний, тому що вимагає виконання
товстоголкової трепан-біопсії, а знання гормо-
нального статусу пухлини молочної залози та інших
тканинних маркерів прогнозу і лікарської чутливос-
ті важливо на доопераційному етапі для призна-
чення адекватної неoad'ювантної терапії.

У зв'язку з цим, усе більшого практичного інте-
ресу набуває метод визначення експресії молеку-
лярних маркерів на клітинному рівні - імуноцитохі-
мічний (ІЦХ) метод. Незаперечною перевагою ІЦХ
є те, що використовується для приготування пре-
паратів пункційна біопсія більш проста малотрав-
матична процедура, що практично не супроводжу-
ється ускладненнями, дозволяє, по-перше,
одержати достатню кількість клітинного матеріалу
для ІГХ-дослідження, по-друге, не вимагає вели-
ких часових витрат, виконується швидко протягом
2-3 годин. Крім того, помічено, що мембранні і
ядерні маркери частіше позитивно забарвлюються
в цитологічних, ніж у гістологічних препаратах, що,
скоріш за все, пов'язано з більш обережною обро-
бкою цитопрепаратів, відсутністю втрати і маску-
вання антигенів при проведенні і депарафінізації
матеріалу з використанням агресивних хімічних

(19) UA (11) 51771 (13) U

реагентів [Глухова Е.И. Экспрессия белков, контролирующих апоптоз, при раке молочной железы: Автореф дис. ... канд. мед. наук. М., 2003. - С.27].

Відомий спосіб ІЦХ діагностики раку молочної залози [Волченко Н.Н., Савостикова М.В. Иммуно-цитохимическое исследование при раке молочной железы / Маммология, №4, 2006. - С.8-21.], обраний за прототип. Як відзначають самі автори "...можливості ІЦХ методу обмежуються іноді поганою якістю мазків або малою кількістю клітин у цитопрепаратах", у зв'язку з чим спосіб-прототип для розширення можливостей методу використовує так звані рідинні системи, коли пунктати, отримані під контролем УЗД, вносять у спеціальне середовище накопичення і потім центрифугують його для концентрації малої кількості клітин в одному мініполі на склі, при цьому клітини розташовуються в одному моношарі, зберігається їхня архітектура, зменшується фон і кількість елементів крові, концентрація клітин в одному місці значно економить дорогі сироватки, поліпшує якість результатів ІЦХ дослідження. Для здійснення способу-прототипу при заборі матеріалу використовують метод тонкоголкової аспіраційної біопсії (ТЛБ), як один з найбільш точних і безпечних методів диференціальної діагностики вузлових утворень у молочних залозах.

Однак недоліком способу-прототипу, як і інших аналогів ІЦХ способу, є, насамперед, те, що при одержанні матеріалу шляхом тонкоголкової аспіраційної біопсії (ТАБ) молочної залози забір його здійснюють з однієї точки пухлинного вузла. При цьому не враховують такий важливий фактор як гетерогенність пухлини молочної залози за клітинним складом, а саме ту обставину¹, що пухлина у своєму розвитку складається з декількох клонів. Таким чином, за способом-прототипом, внаслідок того, що забір матеріалу здійснюють в одній точці (будь-якій) пухлинного вузла, інформативність і вірогідність дослідження знижується, тому що не враховуються такі фактори:

- імовірність потрапляння в пухлинний вузол;
- гетерогенність пухлини (тобто неоднорідність пухлини в різних її частинах);
- кількість аспірованого матеріалу.

Корисна модель вирішує завдання підвищення інформативності і вірогідності діагностики з урахуванням неоднорідності пухлини.

Поставлене завдання вирішується тим, що забір біоптата шляхом тонкоголкової аспіраційної біопсії (ТАБ) виконують суворо під контролем УЗД і здійснюють його з декількох точок пухлинного вузла, але з одного проколу шкіри молочної залози, для чого спочатку здійснюють прокол шкіри молочної залози над пухлинним вузлом, а потім голку направляють спочатку в центр пухлинного вузла, здійснюючи забір вмісту, витягають її з вузла і знову послідовно вводять голку у точки по його краю, орієнтуючись на положення стрілки годинника - 3, 6, 9, 12 умовного циферблату, аспіруючи вміст у цих точках, після чого голку виводять з молочної залози.

Новизна способу полягає у тому, що, насамперед, забір матеріалу здійснюють під контролем УЗД з декількох і суворо орієнтованих точок в один

шприц, при цьому виконують тільки один прокол шкіри молочної залози. Цей алгоритм забезпечує забір біоптата, що дозволяє одержати більш розгорнуту картину клітинного та імуноцитохімічного складу пухлини.

Спосіб здійснюють таким чином.

Пацієнта вкладають на кушетку у положенні лежачи на спині. За допомогою УЗД-апарата візуалізують пухлинний вузол у тканині молочної залози. За допомогою шприца для ін'єкцій ($V=5,0-20,0\text{мл}^3$) виконують прокол шкіри молочної залози над пухлинним вузлом. Після чого в шприці створюють розрідження і голку шприца направляють у центр пухлинного вузла й аспірують вміст даної точки, а потім здійснюють аналогічні дії в точках, орієнтованих на положення стрілки годинника - 3, 6, 9, 12 умовного циферблату по краю пухлинної о вузла. При цьому забір біоптата здійснюють з одного проколу шкіри. Всі дії виконують під контролем УЗД. Під час виймання голки у шприці підтримують розрідження.

Отриманий вміст наносять на предметне скло і передають морфологу. Дослідження нанесеного на скло вмісту біоптата необхідно виконувати не пізніше, ніж протягом 1-2 годин після взяття матеріалу.

Таким чином, заявлена модифікація ІЦХ методу дозволяє розширити можливості сучасних морфологічних методів дослідження, підвищити їх вірогідність і на доопераційному етапі оцінити прогностичні фактори, виявити агресивні властивості пухлини та прогнозувати чутливість до хіміогормонального лікування.

Приклади конкретного використання способу.

Хвора Н.. 45 років, госпіталізувалась у Донецький обласний протипухлинний центр 20.11.2009. ІХ - №95116. Діагноз: рак лівої молочної залози, стадія $T_2N_1M_0$. Проведена тонкоголковою біопсією пухлини для верифікації процесу.

Цитологічне заключення: залозистий помірно-диференційований рак молочної залози. Для визначення гормонального статусу пухлини на доопераційному етапі була виконана товстоголковою трепан-біопсією утворення. Гістологічна відповідь - інфільтруюча карцинома II ступеня злоякісності. Імуногістохімічне заключення - пухлина естроген-негативна (ER 7%), прогестероннегативна (PR 4%). За даним висновком гормонотерапія хворій не показана.

При виконанні запропонованого способу діагностики раку молочної залози за заявленим способом отримані такі результати: цитологічне заключення - залозистий помірнодиференційований рак; імуноцитохімічне дослідження - пухлина містить 18% клітин з естрогеновими рецепторами і 17% клітин з прогестероновими рецепторами, тобто є естроген - і прогестеронпозитивною. Таким чином, у результаті дослідження за заявленим способом зроблений висновок, що хвора має потребу в гормонотерапії, а з огляду на її збережену менструальну функцію - у пригніченні функції яєчників, тобто в оварієктомії.

Діагностичне дослідження, проведене за запропонованим способом, радикально змінило тактику лікування хворої, оскільки був отриманий

більш повний аналіз клітин пухлини на чутливість до гормонотерапії. Розбіжності в дослідженнях стосовно способу-прототипу та заявленого спосо-

бу відбулися внаслідок гетерогенності пухлини, а, отже, недостатньо вірогідної інформації під час узяття біоптата з однієї точки пухлинного вузла.