



УКРАЇНА

(19) UA (11) 77350 (13) C2  
(51) МПК (2006)  
A61B 10/00  
G01N 33/483

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

**(54) СПОСІБ ЦИТОГЕНЕТИЧНОЇ ДИФЕРЕНЦІЙНОЇ ДІАГНОСТИКИ ФІБРОАДЕНОМ ТА РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ**

1

(21) а200504317  
(22) 06.05.2005  
(24) 15.11.2006  
(46) 15.11.2006, Бюл. № 11, 2006 р.  
(72) Болгова Лідія Севаст'янівна, Туганова Тамара Миколаївна, Галахін Костянтин Олександрович, Смолянка Іван Іванович, Махортова Марина Геннадіївна, Алексеєнко Оксана Іванівна, Скляр Світлана Юріївна, Досенко Ірина Вікторівна, Руда Ольга Іванівна  
(73) ІНСТИТУТ ОНКОЛОГІЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ  
(56) SU 1627138 A1, 15.02.1991  
RU 2068995 C1, 10.11.1996  
RU 2085943 C1, 27.07.1997  
А.В. Упоров, Е.В. Цырлина, К.М. Пожарисский. Сравнительное изучение пролиферации (по выявлению антигена Ki-67) и активности ядрышковых

2

организаторов клеток рака молочной железы. Вопросы онкологии, №3, том 44, 1998  
А.В. Юркевич, Г.И. Оскольский, Ю.Ю. Первов. Морфологические и молекулярно-генетические аспекты ядрышкового организатора рибосом. Pacific Medical Journal, 2005, No1, p. 85-87  
(57) Спосіб цитогенетичної диференційної діагностики фіброаденом та раку молочної залози, що включає підрахунок аргентофільних гранул у ядрі епітеліальних клітин пухлин молочної залози, який відрізняється тим, що кількісно визначають підтипи I та II високоактивних нуклеолонемних ядерців інтерфазних епітеліальних клітин залозистого типу, і при вмісті нуклеолонемних ядерців I типу  $85,00 \pm 0,35 \%$  та II типу  $15,00 \pm 0,35 \%$  діагностують доброякісні фіброаденоми, а при вмісті нуклеолонемних ядерців I типу  $35,00 \pm 0,25 \%$  та II типу  $65,00 \pm 0,25 \%$  діагностують рак молочної залози.

Винахід відноситься до медицини, зокрема, до онкології і стосується цитогенетичної діагностики фіброаденом молочної залози та раку молочної залози і може бути використаний для їх диференційної діагностики.

Відомий спосіб диференційної гістологічної діагностики захворювань молочної залози [1], за допомогою якого проводили визначення активності ядерцевоутворюючих регіонів хромосом у хворих на рак молочної залози. Однак використання цих даних недостатньо для цитологічної диференційної діагностики доброякісних та злоякісних пухлин молочної залози.

За прототип запропонованого способу використані дослідження [Лебекова Ж.Т., Шибанова А.И. Определение активности ядрышкоорганизующих зон в дифференциальной диагностике заболеваний молочной железы // Новости клинической цитологии России. - 2000. - Т.4, №3-4. С.90-92], які

основані на визначенні в цитологічних препаратах пофарбованих за [методом Howell W., Black D. (1980) в модифікації Н.Н. Мамаева та співавт. (1984)], активності аргентумпозитивних ядерцевоутворюючих зон в ядрах епітеліальних клітин пухлин молочної залози.

Перевагою даного прототипу є встановлення найбільш характерних трьох типів розташування аргентофільних ядерцевоутворюючих регіонів хромосом в залежності від ступеню диференціювання (високого, помірного, низького) раку молочної залози.

Недоліком прототипу є можливість визначення тільки середнього вмісту аргентофільних гранул на ядро та загальної кількості ядерців без встановлення їх типу, що не дає змоги проведення диференційної діагностики фіброаденом та раку молочної залози в залежності від вмісту підтипів високоактивних форм нуклеолонемних ядерців,

(13) C2

(11) 77350

(19) UA

для визначення злоякісної трансформації пухлинних клітин.

В основу винаходу поставлено задачу вдосконалити спосіб цитогенетичної діагностики фіброаденом та раку молочної залози шляхом визначення підтипів (в залежності від розташування аргентофільних гранул) високоактивних нуклеолонемних ядерець інтерфазних епітеліальних клітин залозистого типу, які характеризують патологічний процес та відбивають його біологічну активність, що дозволить покращити цитологічну діагностику фіброаденом і раку молочної залози.

Поставлена задача вирішується наступним чином:

Матеріал пункційної біопсії фіброаденом чи раку молочної залози наноситься тонким шаром на сухі знежирені предметні скельця, цитологічні препарати висушуються на повітрі, після цього фіксуються та фарбуються за методом Howell W. et Blak D. в модифікації Л.С. Болгової, Т.М. Туганової, І.С. Кузиної [3], з подальшим дослідженням безпосередньо в аргентумпозитивних епітеліальних залозистих клітинах молочної залози вмісту підтипів високоактивних нуклеолонемних ядерець. Цитогенетичні дослідження виконані за допомогою імерсійної системи мікроскопа МБІ-15-2. В кожному випадку проводився підрахунок в 100 ядрах епітеліальних клітин молочної залози аргентофільних гранул в залежності від їх розмірних градацій та розташування у ядрі.

Визначені два підтипи високоактивних нуклеолонемних ядерець інтерфазних епітеліальних клітин залозистого типу в залежності від розташування аргентофільних гранул:

I (перший) - характеризується переважно периферійним розташуванням пілоподібних, дрібних та середніх аргентофільних гранул по поверхні досліджуємих ядерець (Фіг.1);

II (другий) - характеризується, окрім периферичного розташування аргентофільних гранул, різним ступенем заповнення поверхні досліджуваних ядерець аргентофільними гранулами, які мають різні розмірні градації - пілоподібні, дрібні та переважно середні і великі (Фіг.2).

Встановлені статистично вірогідні відмінності вмісту I підтипу морфофункціональних нуклеолонемних ядерець при доброякісних фіброаденомах ( $85,00 \pm 0,35\%$ ) у 20 хворих (табл.1) при порівнянні з раком молочної залози ( $35,00 \pm 0,25\%$ ) у 15 хворих (табл.2) та статистично вірогідним підвищенням II-го підтипу при злоякісних процесах (залозистому раку) молочної залози ( $65,0 \pm 0,25\%$ ) у 15 хворих (табл.2), в порівнянні з фіброаденомами ( $15,0 \pm 0,35\%$ ) у 20 хворих (табл.1), на основі яких з урахуванням цитоморфологічних ознак можна висити об'єктивне діагностичне рішення.

Запропонований спосіб цитогенетичного дослідження дозволяє проводити більш точну диференційну діагностику фіброаденом та раку молочної залози.

Переконливими доказами вірогідності способу цитогенетичної діагностики фіброаденом та раку молочної залози є витяги з 2-х історій хвороб:

I. Пацієнтка Л.М., 1960 р.н.. Історія хвороби №4999/97р. Знаходилась в клініці Інституту онкології з 21.09.97р. по 27.09.97р. Після проведення

УЗД на межі зовнішніх квадрантів лівої молочної залози виявлено ділянку структурно перебудованої тканини до 3см у діаметрі з нечіткими контурами. Заключення: фіброаденоматоз лівої молочної залози. Під місцевою анестезією проведена пункція новоутворення. З отриманого матеріалу виготовлені цитологічні препарати, які пофарбовані за методом Паппенгейма. Мікроскопічне дослідження проводили за допомогою мікроскопа МБІ-15-2, з використанням об'єктивів ( $\times 10$ ,  $\times 40$ ,  $\times 90$ ).

Цитологічне заключення №2731/97: жирнокраплинний детрит, комплекси епітеліальних клітин зі збільшеними помірно поліморфними ядрами.

Цитогенетичне дослідження проведено на забарвлених модифікованим методом Howell W. та Blak D. [3] архівних цитологічних препаратах пунктату. Підраховані 100 аргентумпозитивних ядер. Вміст нуклеолонемних ядерець 1-го типу склав 100%, а II-го - 0%, що підтверджує доброякісний характер процесу.

Хворій проведена операція 23.09.97р. - секторальна резекція лівої молочної залози.

Патогістологічне дослідження №13078/97: Проліферативно-дольковий фіброаденоматоз.

Заключний клінічний діагноз: Фіброаденоматоз лівої молочної залози, ліпома лівої молочної залози.

II. П-ка Т. І, 1952 р. н. Історія хвороби №3328/96. Знаходилась з 06.06.96р. по 17.07.96р. в клініці Інституту онкології. Близько 20 років перебувала на диспансерному обліку з приводу мастопатії. В 1994 році помітила пухлинне утворення в лівій молочній залозі, не лікувалась. З діагнозом кіста лівої молочної залози направлена в Інститут онкології. При обстеженні лівої молочної залози на межі верхніх квадрантів пальпується пухлина 5,0 $\times$ 6,0см в діаметрі, з рівними контурами, регіонарні лімфатичні вузли пальпаторно не збільшені. Під місцевою анестезією проведена пункція новоутворення. З отриманого матеріалу виготовлені цитологічні препарати, які пофарбовані за методом Паппенгейма. Мікроскопічне дослідження проводили за допомогою мікроскопа МБІ-15-2, з використанням об'єктивів ( $\times 10$ ,  $\times 40$ ,  $\times 90$ ).

Цитологічне заключення №2110/96: Залозиста карцинома.

Цитогенетичне дослідження проведено на забарвлених модифікованим методом Howell W., Відк D. [3] архівних цитологічних препаратах пунктату. Підраховані 100 аргентумпозитивних ядер. Вміст нуклеолонемних ядерець I-го типу склав 20,00%, а II-го - 80,00%, що підтверджує злоякісний характер процесу.

Хворій проведена операція 20.06.96р. - радикальна мастектомія.

Патогістологічне дослідження №10557/96: Інфільтруючий залозистий рак молочної залози (карцинома, II стадія злоякісності). В лімфатичних вузлах метастази раку.

Заключний клінічний діагноз: Рак лівої молочної залози, T<sub>3</sub>N<sub>1</sub>M<sub>0</sub>, стадія III, кл. гр. II.

Пояснення до графічних матеріалів винаходу:

Фіг.1. Цитограми фіброаденом молочної залози (I підтип нуклеолонемних ядерець в аргентумпозитивних ядрах епітеліальних клітин). Фарбу-

вання за методом Howell W. et Blak D. в модиф.,  $\times 1000$ .

Фіг.2. Цитограми раку молочної залози (II підтип нуклеолонемних ядерець в аргентумпозитивних ядрах епітеліальних клітин). Фарбування за методом Howell W. et Blak D. в модиф.,  $\times 1000$ .

Таблиця 1

Підтипи нуклеолонемних ядерець в цитологічних препаратах хворих з клінічним діагнозом "Фібroadенома молочної залози"

№ п/п	П.І. та по-батькові	Кількість ядер	Підтипи нуклеолонемних ядерець (%)	
			I	II
1.	Б-та	100	91,00	9,00
2.	Т-ка	100	100,00	0
3.	С-юк	100	100,00	
4.	К-й	100	100,00	0
5.	Я-ка	100	90,00	10,00
6.	С-ук	100	100,00	0
7.	Б-ор	100	100,00	0
8.	Т-ка	100	100,00	0
9.	Б-ка	100	100,00	0
10.	Л-ец	100	66,00	34,00
11.	Т-на	100	90,30	9,70
12.	К-ак	100	89,00	11,00
13.	С-ва	100	98,00	2,00
14.	Ч-ко	100	60,00	40,00
15.	С-ук	100	100,00	0
16.	Т-ва	100	58,00	42,00
17.	Ч-ин	100	80,00	20,00
18.	Б-ко	100	75,00	25,00
19.	З-ка	100	80,00	20,00
20.	М-ка	100	30,00	70,00
Середні значення нуклеолонемних ядерець в залежності від підтипу (M $\pm$ m)%			85,00 $\pm$ 0,35	15,00 $\pm$ 0,35

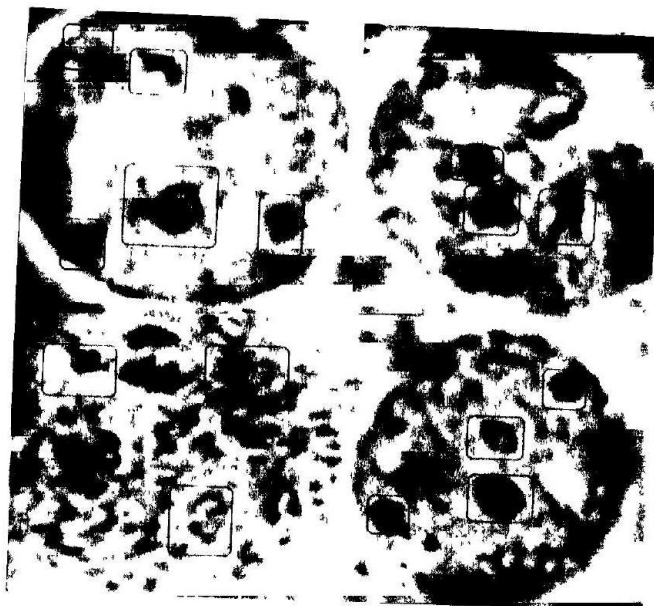
Таблиця 2

Підтипи нуклеолонемних ядерець в цитологічних препаратах хворих з клінічним діагнозом "Рак молочної залози"

№ п/п	П.І. та по-батькові	Кількість ядер	Підтипи нуклеолонемних ядерець (%)	
			I	II
1.	Ч-на	100	10,00	90,00
2.	И-ко	100	50,00	50,00
3.	П-ка	100	20,00	80,00
4.	Т-ка	100	10,00	90,00
5.	В-юк	100	25,00	75,00
6.	С-ка	100	30,00	70,00
7.	К-ир	100	60,00	40,00
8.	Г-ко	100	60,00	40,00
9.	Б-ко	100	40,00	60,00
10.	С-ва	100	40,00	60,00
11.	К-ко	100	30,00	70,00
12.	Л-ко	100	30,00	70,00
13.	Т-ко	100	45,00	55,00
14.	Я-ко	100	35,00	65,00
15.	Г-ко	100	40,00	60,00
Середні значення нуклеолонемних ядерець в залежності від підтипу (M $\pm$ m)%			35,00 $\pm$ 0,25	65,00 $\pm$ 0,25

#### Джерела інформації

1. Упоров А.В., Цырлина Е.В., Пожарисский К.М. Сравнительное изучение пролиферации (по выявлению антигена Ki-67) и активности ядрышковых организаторов клеток рака молочной железы. - Вопросы онкологии. - 1998. - Т.44, №3. - С.316-324.
2. Лебекова Ж.Т., Шибанова А.И. Определение активности ядрышкоорганизующих зон в дифференциальной диагностике заболеваний молочной железы. - Новости клинической цитологии России. - 2000. - Т.4, №3-4. С.90-92. (Прототип).
3. Болгова Л.С., Туганова Т.Н., Кузина И.С. Модификация окраски по Howell W., Blak D. на выявление ядрышкообразующих регионов хромосом при лимфопролиферативных заболеваниях. - ND - 26735. Рукопись депонирована в ГЦНМБ (Россия) 20.04.2001., www SCS MU. PSSi - 24.



Фіг. 1



Фіг. 2