



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) UA

(11) 85639

(13) U

(51) МПК

G01N 33/483 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2013 06981**

(22) Дата подання заявки: **03.06.2013**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **25.11.2013**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **25.11.2013, Бюл.№ 22**

(72) Винахідник(и):

Благодаров Володимир Миколайович
(UA),

Бордік- Старенко Наталія Юріївна (UA),
Жильцов Олексій Валерійович (UA),
Шлопов Валерій Геннадійович (UA)

(73) Власник(и):

ДОНЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.
ГОРЬКОГО,

пр. Ілліча, 16, м. Донецьк-3, 83003 (UA)

(54) СПОСІБ МОРФОЛОГІЧНОЇ ДИФЕРЕНЦІЙНОЇ ДІАГНОСТИКИ ГЕПАТОЦЕЛЮЛЯРНОЇ НОДУЛЯРНОЇ АДЕНОМИ І КАРЦИНОМИ

(57) Реферат:

Спосіб морфологічної диференційної діагностики гепатоцелюлярної нодулярної аденоми і гепатоцелюлярної нодулярної карциноми включає взяття біопсії нодулярного новоутворення печінки з наступним визначенням ступеня диференціювання пухлинної паренхіми і структури колагенових волокон строми в гістологічному препараті. Структуру колагенових волокон вивчають за допомогою поляризаційно-оптичного мікроскопа, після чого додатково визначають середні коефіцієнти вихідної оптичної сили подвійного променезаломлення, вмісту глікозаміногліканів і нейтральних мукополісахаридів в колагенових волокнах пухлини. При наявності ділянок колагенових волокон з показником середнього коефіцієнта вихідної оптичної сили подвійного променезаломлення колагенових волокон в діапазоні від 3,806 до 4,523, коефіцієнта вмісту в них глікозаміногліканів і нейтральних мукополісахаридів, відповідно в діапазоні від 1,235 до 1,304 і від 1,644 до 1,718, діагностують гепатоцелюлярну нодулярну аденому. При середніх показниках коефіцієнта вихідної оптичної сили подвійного променезаломлення колагенових волокон в діапазоні від 1,629 до 1,832, коефіцієнта вмісту в них глікозаміногліканів і нейтральних мукополісахаридів, відповідно в діапазоні від 1,511 до 1,601 і від 1,412 до 1,539, діагностують гепатоцелюлярну нодулярну карциному.

UA 85639 U

Спосіб належить до медицини, а саме до патологічної анатомії й онкології, і може бути використаний для об'єктивної морфологічної диференційної діагностики гепатоцелюлярної нодулярної аденоми і гепатоцелюлярної нодулярної карциноми.

На сьогодні однією з важких проблем морфологічної діагностики первинних нодулярних утворень печінки вважається трудність об'єктивної диференційної діагностики між гепатоцелюлярними аденомами і нодулярним гепатоцелюлярним раком [1, 2].

Відомий спосіб діагностики цирозу та/або первинного раку печінки, який включає забір проби крові з вени та виділення сироватки крові, опромінення її ультрафіолетовим світлом та вимірювання інтенсивності люмінесценції, який відрізняється тим, що вимірювання інтенсивності люмінесценції здійснюють для принаймні двох довжин хвиль в межах 420-480 нм, а про наявність цирозу печінки та/або первинного раку печінки судять по від'ємному значенню відношення $(j_2 j_1)/(\lambda_2 \lambda_1)$, де j_1 - інтенсивність люмінесценції на довжині хвилі λ_1 , j_2 - інтенсивність люмінесценції на довжині хвилі λ_2 , причому λ_2 більша за λ_1 [3].

Однак цей спосіб по інтенсивності люмінесценції сироватки крові може лише побічно відображати рівень метаболічних процесів, що відбуваються в цілому в організмі, але не може відповісти на питання, який саме процес у печінці - рак або цироз?

Відомий спосіб морфологічної диференційної діагностики гепатоцелюлярної нодулярної аденоми і карциноми в гістологічних зрізах, забарвлених гематоксиліном і еозином. Спосіб заснований на мікроскопічному виявленні атипичних гепатоцитів, що формують нодулярні новоутворення в печінці [4].

Недоліком способу є відсутність однозначних патогістологічних критеріїв, що відрізняють гепатоцелюлярну нодулярну аденому від гепатоцелюлярної нодулярної карциноми.

Відомо, що пухлини печінки складаються з двох компонентів - епітеліального, представленого гепатоцитами і стромального, представленого колагеновими волокнами і судинами [5]. Відомо також, що колагенові волокна в пухлині є продуктом епітеліально-мезенхімальної трансформації і, отже змінюють свої тинкторіальні та оптичні властивості в процесі виникнення злоякісної пухлини [6].

Відомий спосіб морфологічного дослідження нодулярних пухлин печінки, вибраний як прототип, при якому виконують інцизійну біопсію пухлини, забарвлюють гістологічні препарати з наступним морфологічним визначенням на наявність атипичних клітин, що дозволяє об'єктивізувати морфологічну діагностику пухлин печінки [7].

Але даний спосіб не досить інформативний, тому що не дозволяє диференціювати гепатоцелюлярну нодулярну аденому і гепатоцелюлярну нодулярну карциному в гістологічних зрізах, забарвлених гематоксиліном і еозином, за відомими морфологічними ознаками, такими як клітинний атипізм і мітотичний індекс, що відображає морфологію тільки епітеліального компонента як аденоми, так і раку.

В основу корисної моделі поставлена задача вдосконалення способу диференційної діагностики гепатоцелюлярної нодулярної аденоми і карциноми, в якому досягається підвищення точності діагностики за рахунок виявлення колагенових волокон з поляризаційно-оптичними параметрами колагену різного ступеня зрілості, що відображає взаємовідношення між ступенем диференціювання пухлинних клітин і ступенем зрілості колагенових волокон, яке дозволяє об'єктивно диференціювати гепатоцелюлярну аденому і рак.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі морфологічної диференційної діагностики гепатоцелюлярної нодулярної аденоми і карциноми, що включає взяття біопсії нодулярного новоутворення печінки з наступним визначенням ступеня диференціювання пухлинної паренхіми і структури колагенових волокон строми в гістологічному препараті, відповідно до корисної моделі, структуру колагенових волокон вивчають за допомогою поляризаційно-оптичного мікроскопа, після чого додатково визначають середні коефіцієнти вихідної оптичної сили подвійного променезаломлення, вмісту глікозаміногліканів і нейтральних мукополісахаридів в колагенових волокнах пухлини, і при наявності ділянок колагенових волокон з показником середнього коефіцієнта вихідної оптичної сили подвійного променезаломлення колагенових волокон в діапазоні від 3,806 до 4,523, коефіцієнта вмісту в них глікозаміногліканів і нейтральних мукополісахаридів, відповідно в діапазоні від 1,235 до 1,304 і від 1,644 до 1,718, діагностують гепатоцелюлярну нодулярну аденому, а при середніх показниках коефіцієнта вихідної оптичної сили подвійного променезаломлення колагенових волокон в діапазоні від 1,629 до 1,832, коефіцієнта вмісту в них глікозаміногліканів і нейтральних мукополісахаридів, відповідно в діапазоні від 1,511 до 1,601 і від 1,412 до 1,539, діагностують нодулярну гепатоцелюлярну карциному.

Спосіб здійснюють наступним чином.

Після виконання інцизійної біопсії нодулярної пухлини печінки виготовляють гістологічні зрізи. Гістологічні препарати депарафінують і незабарвлені зрізи досліджують у поляризаційному мікроскопі в 10 полях зору при збільшенні 900х, тобто окуляр - 10 і об'єктив - масляна імерсія 90, визначають коефіцієнт вихідної оптичної сили подвійного променезаломлення колагенових волокон та протоколюють. Потім у гістологічних препаратах, в одному з них забарвленому толуїдиновим синім при рН-5,3 та другому з ШИК-реакцією, обчислюють показник коефіцієнта вмісту в них глікозаміногліканів і нейтральних мукополісахаридів. Сумарні показники порівнюють із середньостатистичними показниками, наведеними у табл. Середньостатистичні показники розраховані на 14 вивчених випадках гепатоцелюлярної нодулярної аденоми і 17 випадках нодулярної гепатоцелюлярної карциноми.

Таблиця

Кількісні поляризаційно-оптичні параметри колагенових волокон строми нодулярної гепатоцелюлярної аденоми і раку

Назва поляризаційно-оптичного показника колагенових волокон	Групи	
	гепатоцелюлярна аденома (n=14)	гепатоцелюлярна карцинома (n=17)
Коефіцієнт вихідної оптичної сили подвійного променезаломлення	3,806-4,523	1,629-1,832
Коефіцієнт вмісту глікозаміногліканів	1,235-1,304	1,511-1,601
Коефіцієнт вмісту нейтральних мукополісахаридів	1,644-1,718	1,412-1,539

При наявності ділянок колагенових волокон з показником середнього коефіцієнта вихідної оптичної сили подвійного променезаломлення колагенових волокон в діапазоні від 3,806 до 4,523, коефіцієнта вмісту в них глікозаміногліканів і нейтральних мукополісахаридів, відповідно в діапазоні від 1,235 до 1,304 і від 1,644 до 1,718, діагностують гепатоцелюлярну нодулярну аденому, а при середніх показниках коефіцієнта вихідної оптичної сили подвійного променезаломлення колагенових волокон в діапазоні від 1,629 до 1,832, коефіцієнта вмісту в них глікозаміногліканів і нейтральних мукополісахаридів, відповідно в діапазоні від 1,511 до 1,601 і від 1,412 до 1,539, діагностують нодулярну гепатоцелюлярну карциному.

Приклад № 1

Хвора Х., 25 років (історія хвороби № 73693) перебувала на стаціонарному лікуванні в хірургічному відділенні № 7 Донецького протипухлинного центру з 10.01. 2011 р. до 30.01.2011 р.

Скарги на тяжкість і біль у правому підребер'ї. Туберкульоз, тифи, паратифи, малярію, гепатити, венеричні захворювання, ВІЛ-інфікованість заперечує. Алергічні реакції не спостерігалися. Вважає себе хворою близько місяця, коли вперше стала відзначати вищевикладені скарги. При виконанні скануючої комп'ютерної томографії органів черевної порожнини виявлено утворення 5,5 см в діаметрі лівої частки печінки у 2 сегменті, яке необхідно диференціювати між аденомою, гемангіомою, карциномою печінки. При надходженні стан хворої задовільний нормостенічної статури. Шкірні покриви і видимі слизові бліді. Живіт м'який, помірно болючий при пальпації.

22.03.11 р. виконана гемігепатектомія зліва, холецистектомія.

Мікроскопічне новоутворення в печінці представлено множинними вузлами різної величини, які нагадують за будовою "часточки печінки". "Часточки" сформовані зрілими гепатоцитами, на більшому протязі з помірно вираженими ознаками атипії, відокремлені один від одного широкими прошарками високодиференційованої волокнистої сполучної тканини. На окремих ділянках виявляються дитсрегенераторні ділянки з проліферацією гепатоцитів і формуванням аденоматозних структур. Зустрічаються гепатоцити з двома і трьома великими ядрами і поодинокі гігантські гепатоцити. У центрі більшості "часточок" і міжчасткових прошарках сполучної тканини визначаються зірчастої форми ділянки вираженої проліферації епітелію дрібних жовчних проток. Клітинний і ядерний поліморфізм виражений помірно. Зустрічаються поодинокі типові гепатоцити. Додаткове вивчення структури колагенових волокон між та усередині часточок показало, що середній показник коефіцієнта вихідної оптичної сили подвійного променезаломлення колагенових волокон склав $3,827 \pm 0,094$, коефіцієнт вмісту в них глікозаміногліканів і нейтральних мукополісахаридів, відповідно дорівнював - $1,261 \pm 0,065$ і $1,681 \pm 0,044$.

Патогістологічний висновок (препарати №14468-14475) Пухлина печінки має будову гепатоцелюлярної нодулярної аденоми (гепатоми) на фоні фокально-нодулярної гіперплазії.

Оглянута онкологом 24.04.2013 року. Ознак продовження хвороби немає.

Приклад № 2

5 Хвора Б-ва, 23 років, (історія хвороби № 20812) перебувала на стаціонарному лікуванні в хірургічному відділенні № 7 Донецького обласного протипухлинного центру з 06.08.2012 по 27.08.2012.

10 Скарги на болі в правому підребер'ї, слабкість, поганий апетит. Вважає себе хворою близько місяця, коли вперше стала відзначати вищеперераховані скарги. Туберкульоз, тифи, паратифи, малярію, гепатити, венеричні захворювання, ВІЛ-інфікованість заперечує. Алергічні реакції не спостерігалися. На диспансерному обліку не перебуває.

КТ: у правій частці печінки визначається утворення 6,5 см, яке потрібно диференціювати між первинною гепатоцелюлярною карциномою і вогнищем гіперплазії.

15 При об'єктивному обстеженні відзначено, що стан хворої відносно задовільний, нормостенічної статури. Шкірні покриви і видимі слизові забарвлені блідо. Язик обкладений білуватим нальотом, сухий. Живіт м'який, болючий в правому підребер'ї, помірно болючий при пальпації в інших відділах, симптомів подразнення черевної порожнини немає. Печінка вистіє на 3 см від краю реберної дуги, край закруглений, горбистий, болючий при пальпації. Симптом Пастернацького негативний з обох боків. Випорожнення і діурез не порушені.

20 07.08.12 виконана трепан біопсія новоутворення печінки під контролем УЗД. Патогістологічний висновок № 12НД01909 - морфологічна картина найбільше відповідає гепатоцелюлярній карциномі.

13.08.12 виконана операція: резекція правої частки печінки, холецистектомія, катетеризація печінкової артерії.

25 Макроскопічно (гістологічний аналіз № 30882-30891) в резектованій лівій частці печінки виявляється чітко контурований вузол діаметром 7,0 см, розташований субкапсулярно, який виступає над поверхнею, інтимно спаяний з навколишніми тканинами, еластичної консистенції, на розрізі однорідний, рожево-білуватого кольору.

30 Мікроскопічно новоутворення відмежоване від тканини печінки тонким прошарком пухкої волокнистої сполучної тканини. Є безліч нодулярних епітеліальних комплексів різноманітної величини і форми, які оточені вузькими прошарками волокнистої сполучної тканини. Тканина новоутворення, в основній своїй масі, сформована гепатоцитами з помірно вираженими ознаками атипії, що формують аденоматозні, трабекулярні і солідні комплекси. Виявляються атипові мітози. Мітотичний індекс склав 8,3 %.

35 Проведено додаткове вивчення структури колагенових волокон новоутворення за допомогою поляризаційно-оптичного мікроскопа. Середній показник коефіцієнта вихідної оптичної сили подвійного променезаломлення міжчасточкових колагенових волокон склав $1,671 \pm 0,109$, коефіцієнт вмісту в них глікозаміногліканів і нейтральних мукополісахаридів, відповідно дорівнює $1,504 \pm 0,095$ і $1,482 \pm 0,066$, що дало підставу виставити остаточний патоморфологічний діагноз: нодулярна високодиференційована гепатоцелюлярна карцинома.

40 Оглянута онкологом 19.12.2012 року. Відзначено наявність внутрішньопечінкових метастазів, прогресування хвороби.

45 Пропонований спосіб дозволяє підвищити точність діагностики нодулярних доброякісних і злоякісних пухлин печінки в гістологічних препаратах, що забезпечує об'єктивність, надійність морфологічного діагнозу і адекватність вибору хірургічної тактики, що відповідає вимогам сучасної патоморфології та онкології.

Джерела інформації:

1. Bioulac-Sage P., Blanc J.F., Rebouissou S. et al. Genotype phenotype classification of hepatocellular adenoma //World J Gastroenterol 2007 May 21; 13 (19): P. 2649-2654.

50 2. Grazioli L, Bondioni M.P., Haradome H., et al. Hepatocellular adenoma and focal nodular hyperplasia: value of gadoxetic acid-enhanced MR imaging in differential diagnosis.// Radiology. 2012 Feb; 262(2): 520-9.

3. Патент 4487 (UA), МПК (2006) А61В 5/00. Спосіб діагностики цирозу та/або первинного раку печінки/ Бандурин Ю.А. (UA). - № 20040503610, заявл. 14.05.2004, опубл. 15.12.2005, бюл. № 12.

55 4. Thoolen B., Ten Kate F.J., van Diest P.J., et al. Comparative histomorphological review of rat and human hepatocellular proliferative lesions.// J. Toxicol Pathol. 2012, Sep;25(3): 189-199.

5. Серов В.В., Лапиш К, Морфологическая диагностика заболеваний печени /АМН СССР. - М.: Медгиз, 1989, 336с, ил.

6. Казаков В.Н., Шлопов В.Г. Поляризационная микроскопия в биологии медицине. - Донецк, "Каштан". 2008.-320с (рис. 90).

7. Гусарев С.А. Патологоанатомическая характеристика первичного и метастатического рака печени Автореферат диссертации на соискание ученой степени канд. мед. наук. Ростов-на-Дону, -2006.-16 с.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб морфологічної диференційної діагностики гепатоцелюлярної нодулярної аденоми і гепатоцелюлярної нодулярної карциноми, що включає взяття біопсії нодулярного новоутворення печінки з наступним визначенням ступеня диференціювання пухлинної паренхіми і структури колагенових волокон строми в гістологічному препараті, який **відрізняється** тим, що структуру колагенових волокон вивчають за допомогою поляризаційно-оптичного мікроскопа, після чого додатково визначають середні коефіцієнти вихідної оптичної сили подвійного променезаломлення, вмісту глікозаміногліканів і нейтральних мукополісахаридів в колагенових волокнах пухлини, і при наявності ділянок колагенових волокон з показником середнього коефіцієнта вихідної оптичної сили подвійного променезаломлення колагенових волокон в діапазоні від 3,806 до 4,523, коефіцієнта вмісту в них глікозаміногліканів і нейтральних мукополісахаридів, відповідно в діапазоні від 1,235 до 1,304 і від 1,644 до 1,718, діагностують гепатоцелюлярну нодулярну аденому, а при середніх показниках коефіцієнта вихідної оптичної сили подвійного променезаломлення колагенових волокон в діапазоні від 1,629 до 1,832, коефіцієнта вмісту в них глікозаміногліканів і нейтральних мукополісахаридів, відповідно в діапазоні від 1,511 до 1,601 і від 1,412 до 1,539, діагностують гепатоцелюлярну нодулярну карциному.

Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601