

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ
БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра



Д.Л. Пиневич

2013

Регистрационный номер 107-0913

**ДООПЕРАЦИОННАЯ ДИАГНОСТИКА
ГЮРТЛЕКЛЕТОЧНОГО РАКА И ГЮРТЛЕКЛЕТОЧНОЙ
АДЕНОМЫ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: УО «Белорусский государственный
медицинский университет»

АВТОРЫ: Емельянова О.А., д. б. н, доцент Кириллов В.А.

Минск, 2013

Цитологическая диагностика гюртлеклеточного рака и гюртлеклеточной аденомы щитовидной железы на дооперационном этапе имеет значительные сложности, связанные с совпадением большого числа основных дифференциально-диагностических признаков цитограмм при этих заболеваниях. Согласно рекомендации ВОЗ в случае опухоли фолликулярного строения, дифференциальная диагностика характера заболевания возможна только при гистологическом исследовании на послеоперационном этапе. При этом основным критерием злокачественности гюртлеклеточной опухоли является ее прорастание в капсулу и сосуды. В то же время, решение проблемы классификации опухоли щитовидной железы на дооперационном этапе весьма важно для адекватного оперативного вмешательства. При проведении хирургического лечения в случае гюртлеклеточного рака проводится тотальная тиреоидэктомия с шейной лимфодиссекцией, а при гюртлеклеточной аденоме – гемитериоидэктомия.

Наиболее перспективным подходом для оценки злокачественного потенциала гюртлеклеточной опухоли фолликулярного строения на дооперационном этапе представляется применение экспертных систем на базе совокупности количественных параметров агрегатов клеток Гюртля.

Предлагаемый метод предназначен для врачей, работающих по специальности онкология, эндокринология и клиническая лабораторная диагностика.

Показания к применению

Метод используется для дифференциальной диагностики гюртлеклеточного рака и гюртлеклеточной аденомы щитовидной железы при цитологическом исследовании аспирационного материала пациента.

Приготовление цитологических препаратов

Препарирование мазков биопсийного материала осуществляют по стандартной методике.

Перечень необходимого оборудования

Для проведения цитологических исследований необходим компьютерный анализатор изображений на базе светового микроскопа, цветной видеокамеры, персонального компьютера и соответствующего программного обеспечения.

Описание технологии использования метода дифференциальной диагностики гюртлеклеточного рака и гюртлеклеточной аденомы

1. Сбор изображений. При помощи светового микроскопа исследуются цитологические препараты аспирационного материала щитовидной железы при гюртлеклеточном раке (рис. 1а) и гюртлеклеточной аденоме (рис. 1б). В процессе просмотра отбирают поля зрения, содержащие агрегаты клеток Гюrtля. Съемку проводят с объективом $\times 40$. Для каждого исследуемого случая число собранных изображений агрегатов должно достигать 100. Файлы с изображениями сохраняют в соответствующей папке.

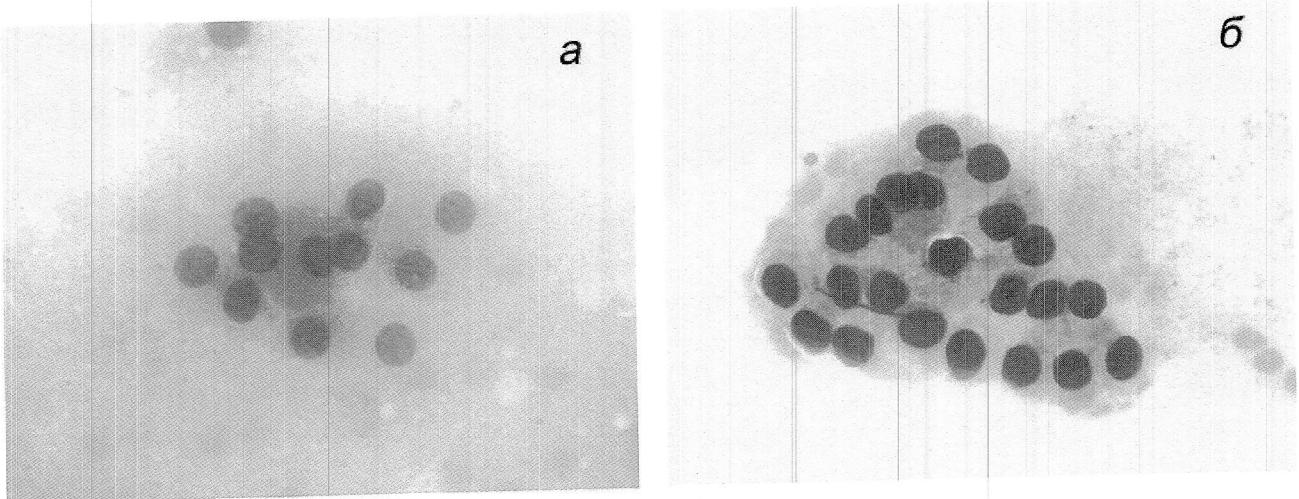


Рис. 1. Агрегаты клеток Гюrtля. а – гюртлеклеточный рак; б – гюртлеклеточная аденома. Окраска по Май-Грюнвальд-Гимза. Объектив $\times 40$

2. Морфометрия агрегатов клеток Гюrtля. Для проведения морфометрии агрегатов клеток Гюrtля и создания исходной базы данных используется специализированная компьютерная программа. Для построения исходной базы данных измеряются следующие параметры размеров и

архитектуры агрегатов: площадь S ; периметр P ; количество клеток в агрегате N ; площадь, приходящаяся на одну клетку S_c ; среднее расстояние между клетками в агрегате L ; момент инерции M – усредненная сумма квадратов расстояний от центра тяжести агрегата до каждой клетки; отклонение координаты K – усредненная сумма абсолютных значений расстояния от центра тяжести агрегата до каждой клетки. В каждом индивидуальном случае общий размер выборки должен составлять 100 агрегатов.

3. *Математическое преобразование исходной базы морфометрических данных.* Преобразование исходной базы морфометрических данных в информативные количественные параметры проводят путем оценки среднего, построения гистограмм и регрессионного анализа.

а) *Оценка среднего.* Расчет средних значений параметров проводят с помощью «Microsoft Excel». Файл с исходной базой морфометрических данных открывают с помощью программы, проводят расчет указанной функции для всех параметров и на выходе получают индивидуальные средние значения количественных показателей агрегатов клеток Гюrtля. Индивидуальные средние значения каждого количественного параметра определяют по 100 агрегатам.

б) *Построение гистограмм.* Для построения гистограмм используют базы данных таких параметров агрегатов клеток Гюrtля, как площадь S (рис. 2) и момент инерции M (рис. 3). При этом гистограммы распределения площади агрегатов клеток Гюrtля строят с шагом 400 мкм^2 и определяют отношение (больше либо меньше 1) доли агрегатов во 2-ом классе ($400\text{--}800 \text{ мкм}^2$) к 1-ому классу ($0\text{--}400 \text{ мкм}^2$) F_{II}/F_I и число классов n . Гистограммы распределения момента инерции клеточных скоплений строят с шагом 230 мкм^2 и находят отношение доли агрегатов во 2-ом классе ($230\text{--}460 \text{ мкм}^2$) к 1-ому классу ($0\text{--}230 \text{ мкм}^2$) F_{II}/F_I и число классов n .

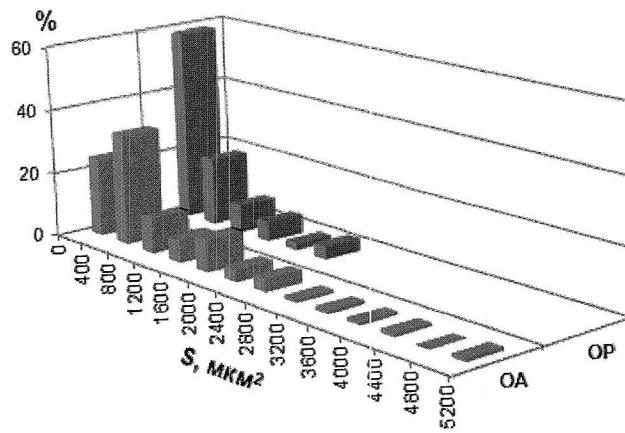


Рис. 2. Типичный вид гистограмм площади S агрегатов клеток Гюртля при гюртлеклеточном раке (OP) и аденоэме (OA)

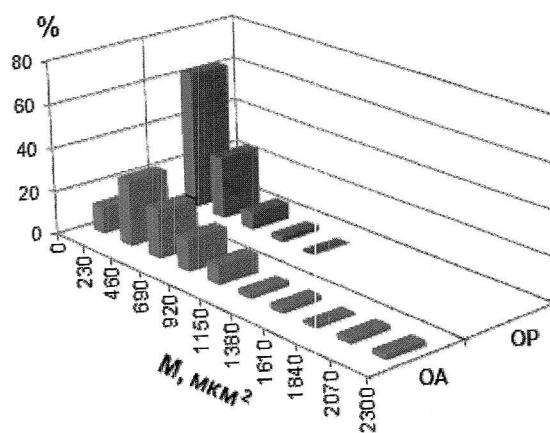


Рис. 3. Типичный вид гистограмм момента инерции M агрегатов клеток Гюртля при гюртлеклеточном раке (OP) и аденоэме (OA)

в) *Регрессионный анализ.* Регрессионный анализ проводят с помощью пакета программ «Statistica». По исходной базе данных строят диаграмму рассеяния зависимости периметра от площади агрегатов клеток Гюртля. Программа описывает скопление экспериментальных точек регрессионной кривой второго порядка, представляющей собой обращенную вершиной вверх параболу, и определяет ее уравнение. Исходя из этого уравнения находят квадратный коэффициент a , линейный коэффициент b и свободный член c . После чего программа рассчитывает площадь A_S под отрезком параболы от минимального S_{\min} до максимального S_{\max} значения площади агрегатов клеток Гюртля (рис. 4) и площадь A_D под куполом па-

работы между точками пересечения кривой с осью абсцисс между корнями S_1 и S_2 квадратного уравнения (рис. 5).

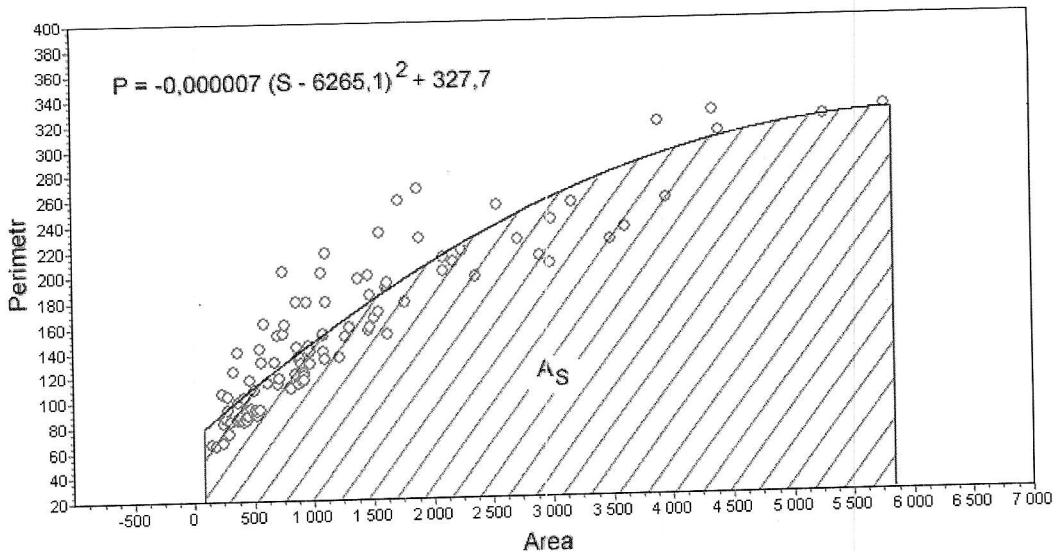


Рис. 4. Типичный вид регрессионной кривой второго порядка при гюртлеклеточной аденоме. Приведено уравнение параболы и схематическое изображение площади A_S под отрезком параболы

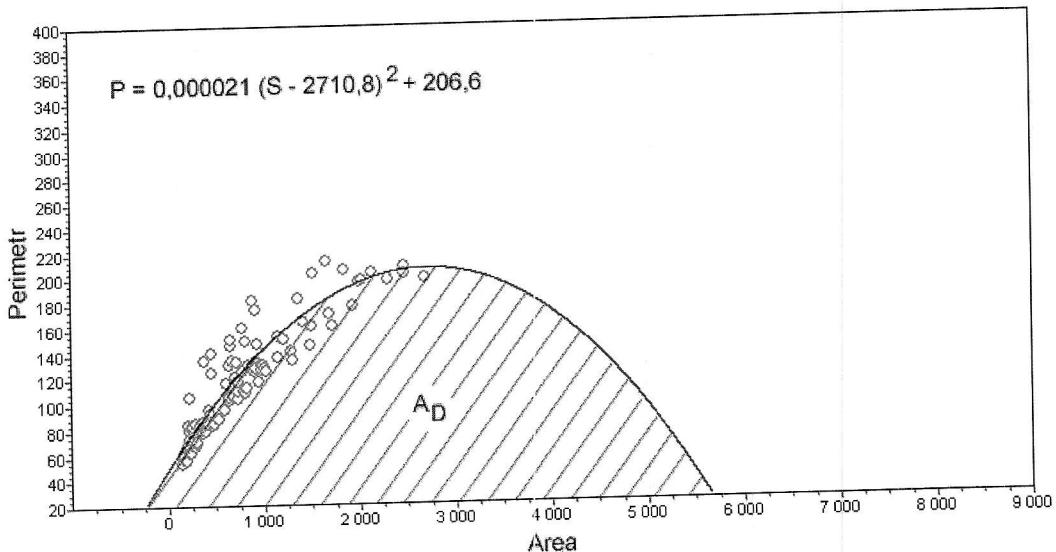


Рис. 5. Типичный вид регрессионной кривой второго порядка при гюртлеклеточном раке. Приведено уравнение параболы и схематическое изображение площади A_D под куполом параболы

4. Постановка диагноза. Диагностика гюртлеклеточного рака и аденомы с помощью экспертной системы осуществляется в количественной форме по величине диагностического индекса D. Полученные после математического преобразования количественные параметры агрегатов клеток

Гюртля исследуемого препарата с неустановленным диагнозом заносят в одномерную X-матрицу экспертной системы (рис. 6).

Количественные параметры	S-матрица		X-матрица	D = 77,0%
	Весовой коэффициент k, %	Пороговое значение параметров	Значение параметров исследуемого образца	
Средняя площадь S, мкм ²	6,6	< 928,2	738,6	6,6 +
Средний периметр P, мкм	6,6	< 128,6	108,4	6,6 +
Среднее количество клеток в агрегате N	5,6	< 8,2	7,3	5,6 +
Средняя площадь на одну клетку Sc, мкм ²	5,1	< 63,7	88,2	0,0 +
Среднее расстояние между клетками L, мкм	6,1	< 24,7	24,0	6,1 +
Среднее отклонение координаты K, мкм	7,1	< 2,91	2,76	7,1 +
Средний момент инерции M, мкм ²	6,6	< 384,7	307,9	6,6 +
Отношение частот на гистограмме площади F _H /F _I	6,0	≤ 1,0	0,74	6,0 +
Число классов на гистограмме площади n	6,1	< 10	10	0,0 +
Отношение частот на гистограмме момента инерции F _H /F _I	5,4	≤ 1,0	0,84	5,4 +
Число классов на гистограмме момента инерции n	6,2	< 6	5	6,2 +
Коэффициент a	5,6	< -1,3×10 ⁻³	-1,3×10 ⁻³	0,0 +
Коэффициент b	6,6	< 4027,6	3819,4	6,6 +
Свободный член c	7,1	< 262,0	235,8	7,1 +
Площадь A _S , усл. ед.,	7,1	< 741680,0	653036,4	7,1 +
Площадь A _D , усл. ед.	6,2	< 1315210,0	1350100,5	0,0

Рис. 6. Экспертная система, состоящая из эталонной двухмерной S-матрицы и исследовательской одномерной X-матрицы. Пример расчета диагностического индекса D для пациента Ж. с гистологическим диагнозом гюртлеклеточный рак

Заполненную X-матрицу сравнивают со стандартной S-матрицей экспертной системы, содержащей пороговые значения параметров для гюртлеклеточного рака и их весовые коэффициенты. Значение диагностического индекса рассчитывают как сумму весовых коэффициентов параметров исследуемого препарата, попавших в диапазон пороговых значений параметров S-матрицы для злокачественной патологии. При попадании значения D в диапазон 17,1 – 100%, диагностируют гюртлеклеточный рак, а при попадании D в интервал 0 – 11,6% – гюртлеклеточную аденоому.

Возможные ошибки при диагностике могут быть обусловлены попаданием диагностического индекса D исследуемого образца в зону неопределенности значений D от 11,6 до 17,1%. Для устранения этой ошибки требуется провести повторный забор цитологического материала опухоли с последующим морфометрическим анализом агрегатов клеток Гюртля и верификацией диагноза с помощью данного метода.

Противопоказаний к применению метода нет.