

DOI:10.3724/SP.J.1008.2013.00357

超声引导下正常甲状旁腺细针穿刺物甲状旁腺激素含量测定及细胞学验证

章建全*, 盛建国, 赵璐璐, 卢峰

第二军医大学长征医院超声诊疗科, 上海 200003

[摘要] **目的** 以前期筛选出的正常甲状旁腺超声影像特征为基础, 进行正常甲状旁腺超声引导下细针穿刺, 测定抽吸物甲状旁腺激素(PTH)含量并进行细胞学涂片检查, 验证正常甲状旁腺超声影像特征的可靠性。**方法** 2012年10月至2013年1月, 10例健康志愿者在履行自愿、知情、同意的前提下入选本研究。在超声引导下完成正常甲状旁腺声像区、颈部淋巴结声像区的22G细针穿刺, 对细针穿刺抽吸物分别制备细胞学涂片和洗脱液。同步采取外周静脉血, 将洗脱液和血液标本送检验科行PTH半定量测定。细胞学涂片送病理科检查。**结果** 10例受试者的正常甲状旁腺声像区和颈淋巴结声像区细针穿刺取材均获成功, 细胞学检查均发现有细胞存在, 无术中术后并发症。受试者正常甲状旁腺穿刺物洗脱液中PTH测值232.53~357.38 pg/mL, 平均(287.12±35.41) pg/mL; 淋巴结穿刺物洗脱液中PTH测值8.67~34.28 pg/mL, 平均(16.03±8.47) pg/mL; 血液PTH测值32.64~47.85 pg/mL, 平均(37.44±7.26) pg/mL。10份甲状旁腺区标本中3份细胞量不足, 不能做出判断; 另7份标本细胞量充足, 其中4份倾向于甲状旁腺来源, 3份不能确定。10份淋巴结区标本都能够见到明确的淋巴细胞, 淋巴结诊断成立。**结论** 超声引导下穿刺抽吸物洗脱液PTH测定结果与超声影像上正常甲状旁腺、良性淋巴结具有高度的一致性, 初步证实前期筛选出的正常甲状旁腺超声影像特征的可靠性。

[关键词] 甲状旁腺; 超声检查; 细针穿刺; 细胞学诊断; 洗脱液; 甲状旁腺激素

[中图分类号] R 582 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2013)04-0357-05

Determination of parathyroid hormone content in ultrasound-guided fine-needle aspiration of normal parathyroid and cytological verification

ZHANG Jian-quan*, SHENG Jian-guo, ZHAO Lu-lu, LU Feng

Department of Ultrasound in Medicine, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China

[Abstract] **Objective** To determine the parathyroid hormone (PTH) content in ultrasound-guided fine-needle aspiration sample of normal parathyroid based on ultrasound characteristics previously screened out, so as to verify the reliability of the ultrasound characteristics of normal parathyroid. **Methods** Between Oct. 2012 and Jan. 2013, 10 healthy volunteers were enrolled in the present study after obtaining written informed consent and approval by the ethics committee of our institution. Ultrasound-guided percutaneous aspiration from both the ultrasonic parathyroid area and well-recognized neck lymph node was conducted by using 22G fine needles. The aspirates were taken for cytology purpose and the washing of the left-over in the canula was taken for PTH evaluation by electrochemiluminescence. Simultaneously samples of venous blood were obtained also for PTH evaluation as controls. **Results** The aspiration procedures were successfully for all the 10 subjects, and cytological examination all found cells, with no intraoperative or and postoperative complications. PTH level in the washing of left-over extracted from the parathyroid aspirates averaged (287.12±35.41) pg/mL and ranged 232.53-357.38 pg/mL, and that from the lymph node averaged (16.03±8.47) pg/mL and ranged 8.67-34.28 pg/mL; while the serum PTH level averaged (37.44±7.26) pg/mL and ranged 32.64-47.85 pg/mL. Three of the ten aspirates of parathyroid did not have enough cells to make predication, and the other seven aspirates had enough cells, with four likely from parathyroid and three from indefinite origins. All the ten aspirates from the lymph node areas were confirmed to have definite lymphocytes. **Conclusion** PTH evaluation results by fine-needle washing after ultrasound-guided aspiration are highly consistent with the ultrasonic parathyroids and lymph nodes, which preliminarily proves the reliability of the previously identified ultrasound characteristics of

[收稿日期] 2013-03-25 **[接受日期]** 2013-04-01

[基金项目] 国家自然科学基金(81171436). Supported by National Natural Science Foundation of China (81171436).

[作者简介] 章建全, 博士生, 副教授、副主任医师, 硕士生导师.

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 021-81886051, E-mail: ultramez@sina.com

normal parathyroids.

[Key words] parathyroid; ultrasonography; fine-needle aspiration; cytology; washing of left-overs; parathyroid hormone
[Acad J Sec Mil Med Univ, 2013, 34(4): 357-361]

甲状旁腺超声影像的诸多研究中几乎都以甲状旁腺疾病为焦点, 关乎正常甲状旁腺者甚少。我们的前期研究^[1]及韦力等^[2]的研究均认为, 正常甲状旁腺多呈椭圆形、强回声小结节的超声表现。我们前期对正常甲状旁腺进行了超声影像解剖描述, 也尝试了多种间接验证方法^[1], 但尚缺乏客观的直接证据。因此, 本研究在前期的无创性验证研究基础上, 拟利用超声引导下超微创 (super-microinvasive) 穿刺技术^[3], 结合现代分子检验及免疫病理诊断手段, 获取客观、直接的第一手证据, 对正常甲状旁腺超声影像作进一步深入求证, 为后续研究奠定基础。

1 材料和方法

1.1 研究对象 2012年10月至2013年1月, 选择10例健康志愿者参加本研究。入选条件为颈部超声未见异常甲状旁腺声像(如增生、腺瘤、囊肿、腺癌等)、血清甲状旁腺激素(parathyroid hormone, PTH)测值在正常范围内。男女各5例, 年龄26~53岁, 中位年龄34岁。全部受试者均被告知研究的目的和意义、技术与方法的特性、操作过程及要求、可能发生的危害和对策, 并签署知情同意书。研究方案获得医院医学伦理委员会批准。

1.2 研究设计 利用PTH器官来源的唯一性及其在正常甲状旁腺、外周血液、颈部淋巴结中的浓度差异, 通过检测受试者的外周静脉血、正常甲状旁腺细针穿刺抽吸物洗脱液和颈部淋巴结细针穿刺抽吸物洗脱液3种标本材料中的PTH浓度, 借助PTH浓度的客观测定结果以验证前期研究所筛查的正常甲状旁腺超声影像正确与否。正常甲状旁腺、颈部淋巴结标本材料抽吸物洗脱液通过超声引导下穿刺获得并制备。穿刺抽吸物除了制备洗脱液检测PTH外, 还对其进行光镜下细胞学检查与诊断。

1.3 细针穿刺及抽吸物洗脱液的制备 首先使用高频超声(Siemens Sequoia-512; HiVision-Preirus, 探头中心频率皆为14 MHz)对拟穿刺的甲状旁腺声像区、颈淋巴结声像区进行定位, 通过彩色多普勒超声血流显像(CDFI)和(或)超声造影(CEUS)预先了解拟穿刺目标的血供状态及其滋养血管的分布, 预设安全穿刺路径和减少抽吸物标本中血液含量的穿

刺针尖入点。穿刺体位取仰卧位, 常规消毒和2%利多卡因局部麻醉。在超声实时引导下, 以Free-hand穿刺技术将22G甲状腺穿刺专用细针(日本八光医疗株式会社制, 图1)轻柔、准确地穿刺进入正常甲状旁腺声像区内, 以无负压吸引提插法并变换穿刺位点进行4次往复提插后拔出穿刺针。穿刺进针方向可因具体情况而异(图2), 以“有利于安全操作、有利于成功取材”为原则。更换另一根穿刺细针后, 以同样的方法对同侧颈部良性淋巴结声像区进行取材。同步抽取受试者3 mL外周静脉血, 抗凝保存。

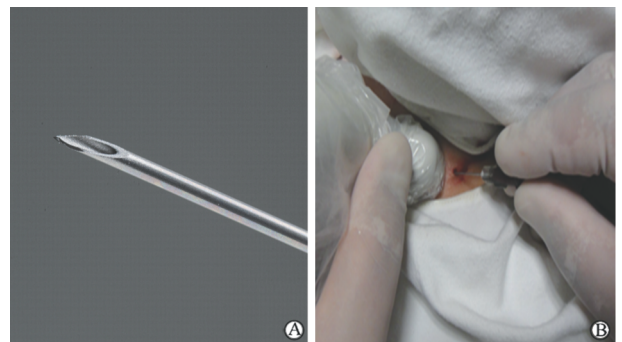


图1 超声引导下22G细针Free-hand穿刺实况
Fig 1 Ultrasound-guided Free-hand puncture with a 22-gauge fine needle

A: Dual-level designed needle tip enhancing sharpness; B: Picture of ultrasound-guided puncture

为保持材料的新鲜度, 现场由助手对细针抽吸物进行处理, 制备洗脱液和细胞学涂片。用5 mL空注射器吸取3 mL空气接上含抽吸物的穿刺细针, 用力将抽吸物吹到细胞保存液中, 该细胞保存液留待送病理科行细胞学检查。接着用1 mL生理盐水对穿刺细针的管腔残留物反复冲洗3次, 制成抽吸物洗脱液, 该洗脱液留待送检验科行PTH测定。

1.4 洗脱液和血清PTH的测定 对每例受试者送检的2份洗脱液和1份血液标本均2 851×g离心10 min, 取上清液上机检测PTH(电化学发光法, 罗氏全自动免疫分析仪e601)。

1.5 细针抽吸物的细胞学检查 将每例受试者的2份抽吸物细胞保存液标本送病理科离心、弃上清, 取沉渣涂片, H-E染色观察。因研究平台技术水平有限, 未能对细胞涂片进行PTH免疫化学染色标记。

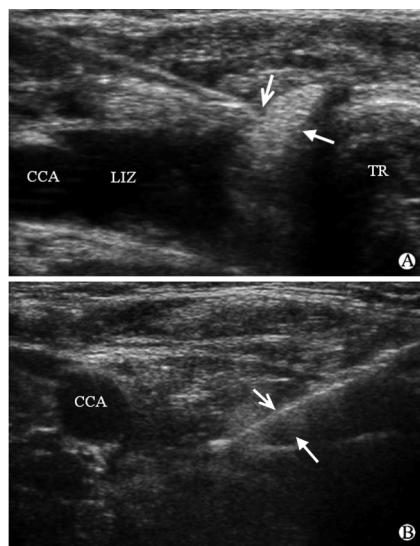


图2 穿刺路径

Fig 2 Puncture route

CCA: Right common carotid artery; LIZ: Liquid isolating zone; TR: Trachea. A: A puncture route lateral to medial for right inferior parathyroid; B: A puncture route medial to lateral for right inferior parathyroid. Closed arrow: Parathyroid; Open arrow: Needle tip

1.6 统计学处理 采用 SPSS 18.0 软件分析数据, 每例受试者 3 份标本中的 PTH 浓度测值属于计量资料, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 因配对性好, 故采用配对资料的 t 检验进行分析。检验水平 (α) 为 0.05。

2 结果

2.1 穿刺效果及安全性 10 例受试者的正常甲状旁腺声像区和颈淋巴结声像区细针穿刺取材均获成功, 细胞学检查均发现有细胞存在。患者细针穿刺均在门诊进行, 无一例发生术中并发症。1 周后颈部超声复查, 未见穿刺区域有血肿等异常。受试者无不适主诉。

2.2 穿刺物洗脱液 PTH 测定结果 10 例受试者的正常甲状旁腺穿刺物洗脱液中 PTH 测值 232.53~357.38 pg/mL, 平均为 (287.12 ± 35.41) pg/mL。淋巴结穿刺物洗脱液中 PTH 测值 8.67~34.28 pg/mL, 平均 (16.03 ± 8.47) pg/mL。血液 PTH 测值 32.64~47.85 pg/mL, 平均 (37.44 ± 7.26) pg/mL。3 种取材的 PTH 测值高低依次为正常甲状旁腺声像区、静脉血、颈淋巴结声像区, 组间比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.3 细胞学检测结果 细胞学检查确认 10 份甲状旁腺声像区标本中 3 份细胞量不足, 不能作出判断。

另 7 份标本细胞量充足, 其中 4 份倾向于甲状旁腺来源 (图 3A), 3 份不能确定。10 份淋巴结声像区标本都能够见到明确的淋巴细胞 (图 3B), 淋巴结诊断确切。

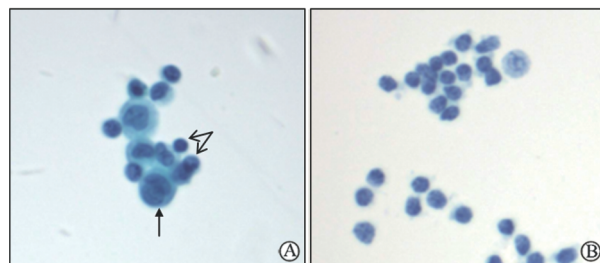


图3 细针穿刺细胞学检查结果

Fig 3 Cytology results after fine-needle aspiration

A: Cytological findings of the aspirates from parathyroid on ultrasound showing chief cells (open arrows) and macrophages (closed arrow) in the view field; B: Cytological findings of the aspirates from lymph node on ultrasound showing lymphocytes in the view field. Original magnification: $\times 400$

3 讨论

组织病理学检查是确定受检目标结构来源于何种组织、何种器官的最重要的方法, 也最具权威性。实施组织病理学检查的前提是获得组织标本材料。标本的获取可通过手术切除病灶后取材, 也可通过手术前穿刺活检取材。不同的染色方法对组织学诊断结果的影响较大, 近年来借助显示特异性标记物的免疫组织化学染色是较为常用的病理诊断技术, 可明显提高诊断敏感性和特异性。随着细针穿刺技术的普及, 逐渐由免疫组织化学染色派生出免疫细胞化学染色技术^[4]。但免疫细胞化学染色技术镜检的诊断效果如何, 受到标本材料的质量优劣以及病理医师的阅片技术与诊断能力高低的影响。

甲状旁腺功能亢进需要积极的外科性干预, 这已是临床共识。但是甲状旁腺腺瘤或增生结节与甲状腺结节、颈部淋巴结病灶具有一定的相似性, 与喉返神经解剖关联密切, 使得对甲状旁腺病灶的术前定位 (preoperative localization) 显得十分重要。其中高频超声检查及其引导下的穿刺活检是备受重视的技术手段。出于对粗针穿刺活检出血并发症的忌惮, 多数人更倾向于细针穿刺。

Agarwal 等^[5]认为细针穿刺细胞学检查影响因素较多, 对甲状旁腺腺瘤的诊断敏感性不高。Knezević 等^[6]发现, 由于抽吸物中细胞数量不足、细胞结构破坏或细胞形态特征不够典型等因素的影响,

细针穿刺细胞学检查对甲状旁腺病灶的诊断敏感性和特异性均不高。抽吸物中的嗜酸粒细胞、核内假包含体、上皮细胞乳头形成以及结节囊性变,都可能使细胞学面临误诊的陷阱。

Abati 等^[7]对 12 例原发性甲状旁腺功能亢进症患者(其中 11 例首次外科手术后未能奏效)的甲状旁腺病灶采用细针穿刺诊断技术,将细胞学检查与细针穿刺抽吸物的 PTH 放射免疫测定结合起来,病理学医师以单盲法在完全不知晓对应标本的 PTH 测值情况下独立诊断。结果表明抽吸物 PTH 测定这一方法非常敏感和特异,甲状旁腺病灶细针抽吸物 PTH 值达到 1 300~262 000 pg/mL(患者对应的血清 PTH 值为 50~340 pg/mL),而来自非甲状旁腺病灶的抽吸物 PTH 值均低于患者自身血清 PTH 值。细针穿刺细胞学检查与洗脱液 PTH 检测相结合的方法,帮助确定了外科手术后残余或新生的甲状旁腺病灶确切位置。Knezević 等^[6]认为细针穿刺抽吸物 PTH 浓度测定具有弥补细胞学检查缺

陷的作用。Cavaco 等^[8]通过 RT-PCR 扩增的方法分析细针穿刺抽吸物中 PTH 转录基因,发现基因水平的细针穿刺物分析方法更能够对甲状旁腺腺瘤作出敏感、特异的术前定位诊断。

甲状旁腺增生、腺瘤直径常可达 1 cm 或更大,在超声精确引导下使用 18G 粗针穿刺活检,能够安全地获取满意组织条块供病理学诊断使用(图 4)。但是正常甲状旁腺体积小,质地柔软,周围缺乏坚固的支撑。对其行粗针穿刺取材时,因腺体容易发生退让而失败。此外,粗针的针尖段无效切割区长达 5 mm,处置失当时容易发生针尖突入气管、血管等严重损伤,这在研究正常甲状旁腺超声影像时是不宜使用的,更严重的是粗针穿刺后可能发生甲状旁腺内出血、钙化甚或坏死,使其正常功能受到影响。Abati 等^[7]的成功经验对我们采用细针穿刺细胞学检查联合抽吸物 PTH 测定研究和确证正常甲状旁腺超声影像是一个很好的启发,于是有了本研究的设计思路。

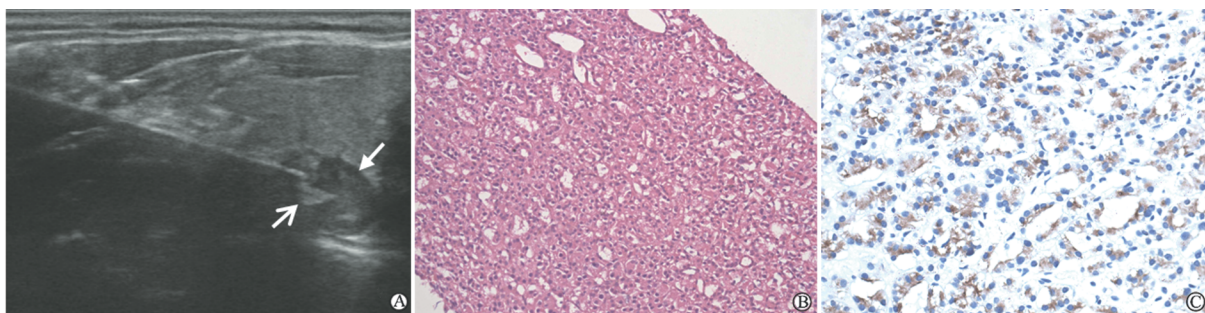


图 4 甲状旁腺增生结节粗针穿刺活检

Fig 4 Core-needle biopsy of a parathyroid nodule

A 56-year-old woman was incidentally found having 2 enlarged parathyroid glands by neck ultrasound examination and proved to have hyperparathyroidism by subsequent serum determination of an elevated parathyroid hormone level but normal calcium value. They were given core-needle biopsy and radiofrequency ablation therapy afterwards. A: Sonogram of puncture (open arrow indicates core needle tip, closed arrow indicates right superior parathyroid nodule); B: H-E staining showing a densely arranged tissue; C: Immunohistochemical staining showing presence of parathyroid hormone in the cytoplasm (brown granules). Original magnification: $\times 100$ (B), $\times 200$ (C)

本研究所使用的 22G 细针针尖设计特别,锋利度极佳,能够较好地克服柔韧组织的抵抗或退让效应,穿刺送针非常顺畅,甲状旁腺几乎来不及退让针尖已进入腺体内,穿刺成功率高,创伤轻微。只要取材量足、质优,应该是理想的穿刺技术。但是细胞学涂片的判断结果往往受到不同细胞学病理医师的诊断能力和经验影响,发生超声医师穿刺取材成功,而病理医师不能作出诊断的尴尬,一定程度上阻碍了这项超微创技术的普及应用。本组的甲状旁腺和颈

淋巴结细针穿刺过程均由同一介入超声医师实施,但细胞学检查结果却相差甚远。10 份甲状旁腺声像区标本中 3 份因细胞量不足,不能做出判断。细胞量充足的 7 份标本中 3 份不能确定来源,明确诊断的仅占 40%。但 10 份淋巴结声像区标本都能够确切地见到淋巴细胞,淋巴结来源诊断为 100%。

细针穿刺抽吸物洗脱液测定 PTH 的基本科研思路是利用 PTH 来源唯一性或甲状旁腺是 PTH 主要“产地”的理论。本研究显示,取自甲状旁腺声

像区抽吸物中的 PTH 浓度平均达 287.12 pg/mL, 远高于血液中的浓度 (37.44 pg/mL), 但是淋巴结声像区抽吸物中的 PTH 平均为 16.03 pg/mL, 低于血液中的浓度。穿刺抽吸物洗脱液 PTH 浓度的高低与超声图像上的正常甲状旁腺、良性淋巴结声像区具有高度一致性。理论上讲, 颈部淋巴结内的 PTH 含量应该为 0 或非常低, 除非该淋巴结发生了甲状旁腺癌转移。但是在穿刺过程中, 尽管使用的是细针, 仍难免有少量血液进入到穿刺标本中来, 导致其中含有了来自循环血液中的 PTH 成分, 因此淋巴结标本中 PTH 的测值不为 0, 但是总体上仍明显地低于血液中浓度。

洗脱液 PTH 测定非常敏感, 不需要太多的细胞碎片, 甚至还要将穿刺针中的细胞材料吹除, 仅利用残留在穿刺针内壁上的 PTH 或 PTH 转录基因即可。但也因其非常敏感, 对多个目标穿刺取材时必须更换穿刺针, 以免造成相互间的“PTH 污染”, 影响检测结果的准确性。这提醒研究人员在工作过程中需要对多个取材细针进行科学的标记管理, 以免出现张冠李戴的乱象。

细针穿刺的另一个优点是标本中含血量少。过多的红细胞不仅会干扰细胞学涂片的质量, 影响需找寻目标细胞的显示, 而且在测定抽吸物洗脱液 PTH 时, 含血过多还会干扰测定结果, 或低估甲状旁腺抽吸物中 PTH 测值, 或夸大淋巴结抽吸物中 PTH 测值。我们在预实验阶段使用了 7 号注射器上的针头与 22G 专用细针进行比较, 发现 22G 针具有取材含血量低的优点。除了注意不同穿刺针的影响以外, 减少取材含血量的另一要点是在彩色多普勒超声或超声造影指引下, 避开血管分支。

研究正常甲状旁腺超声影像特征具有深远意义, 有助于利用术中超声实时监测或开展超声引导下穿刺染色, 帮助外科手术医师在甲状腺全切术中识别和定位正常甲状旁腺, 指导手术医师对正常甲状旁腺进行保护。笔者采用细针穿刺抽吸物 PTH 检测研究正常甲状旁腺超声影像的目的和意义也正在于此。

研究之所以取淋巴结作为对照是基于 3 点考虑: (1) 淋巴结是甲状腺全切术中必须被判断和清扫的对象, 而多数正常甲状旁腺就是被误作淋巴结而切除, 在这二者间应该有一种截然不同的裁定; (2) 淋巴结声像图已经被公认, 在穿刺取材的来源认同性上不存在争议; (3) 甲状旁腺癌具有淋巴结转移的

潜能, 在未来的工作中有可能遇到这样的情形, 需要对淋巴结进行穿刺取材测定 PTH 以判断是否有甲状旁腺癌转移。

本研究的不足在于: (1) 细胞学检查结果未能对抽吸物洗脱液 PTH 测定结果形成较好的支撑, 但反过来也表明洗脱液 PTH 测定可能更有诊断优势; (2) 洗脱液 PTH 测定首先是定性诊断, 还谈不上是完全的定量诊断, 因为冲洗穿刺针管时的用力程度、洗脱液量的精确把控等都会影响检测结果。因此需要对操作人员进行专职化固定, 并加强业务规范训练。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 章建全, 仇明. 正常人甲状旁腺超声影像特征的筛查及验证[J]. 第二军医大学学报, 2013, 34: 349-356.
Zhang J Q, Qiu M. Ultrasonographic features of normal human parathyroids and related identifying strategies [J]. Acad J Sec Mil Med Univ, 2013, 34: 349-356.
- [2] 韦力, 周军, 梁前晖, 王莹, 周畅. 正常甲状旁腺的高频超声表现[J]. 中国临床医学影像杂志, 2012, 23: 1-4.
- [3] 章建全. 关于术语 ultrasonology 和 supermicroinvasive [J]. 中华超声影像学杂志, 2010, 19: 90-91.
- [4] Grimelius L, Johansson H. Pathology of parathyroid tumors [J]. Semin Surg Oncol, 1997, 13: 142-154.
- [5] Agarwal A M, Bentz J S, Hungerford R, Abraham D. Parathyroid fine-needle aspiration cytology in the evaluation of parathyroid adenoma: cytologic findings from 53 patients [J]. Diagn Cytopathol, 2009, 37: 407-410.
- [6] Knezević O A, Tomić-Brzac H, Zarković K, Dodig D, Stromar I K. Diagnostic pitfalls in parathyroid gland cytology [J]. Coll Antropol, 2010, 34: 25-29.
- [7] Abati A, Skarulis M C, Shawker T, Solomon D. Ultrasound-guided fine-needle aspiration of parathyroid lesions: a morphological and immunocytochemical approach [J]. Hum Pathol, 1995, 26: 338-343.
- [8] Cavaco B M, Torrinha F, Mendonça E, Pratas S, Boavida J, Sobrinho L G, et al. Preoperative diagnosis of suspicious parathyroid adenomas by RT-PCR using mRNA extracted from leftover cells in a needle used for ultrasonically guided fine needle aspiration cytology [J]. Acta Cytol, 2003, 47: 5-12.