

Г. В. ЗЕЛІНСЬКА, Г. М. КУЛІНІЧЕНКО, Г. Я. УСТИМЕНКО

ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка НАМН України», Київ

ЦИТОМОРФОЛОГІЧНІ ТА ІМУНОЦИТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПЕРВИННИХ ПАПІЛЯРНИХ КАРЦИНОМ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ ТА ЇХ МЕТАСТАЗІВ (РАДІОЙОДОРЕЗИСТЕНТНИХ ТА РАДІОЙОДОЧУТЛИВИХ)

THE CYTOLOGICAL AND IMMUNOCYTOCHEMICAL ADVANCES OF THE PRIMARY THYROID PAPILLARY CARCINOMAS AND THEIR METASTASES (RADIOIODINE RESISTANT AND RADIOIODINE UPTAKE)

Незважаючи на сприятливий прогноз папілярного раку щитоподібної залози (ЩЗ), для нього є характерним лімфогенне метастазування в регіонарні лімфовузли, що зустрічається в середньому у 50 % хворих. За даними різних авторів, ця цифра коливається від 39 до 90 % [1, 2]. Найбільшою проблемою є радіоїодорезистентні метастази (РЙРМ) папілярних карцином (ПК) ЩЗ, клітини яких втрачають здатність до накопичення радіоїоду, і радіоїодотерапія (РЙТ) для них стає неефективною. За даними світової літератури, їх поява спостерігається в 7–25 % випадків [3]. Питання їх ранньої діагностики, прогнозування та лікування залишаються актуальними. Метою дослідження є порівняння цитоморфологічних особливостей первинних ПК з їх метастазами (радіоїодорезистентними та радіоїодочутливими) та дослідження проліферативної активності клітин їх РЙРМ.

У роботі використано матеріал, отриманий в результаті проведення тонкоіголкових аспіраційних пункційних біопсій (ТАПБ) у пацієнтів чоловічої та жіночої статі віком від 8 до 40 років, що проходили обстеження, хірургічне лікування та РЙТ в клініці Інституту ендокринології та обміну речовин НАМН України. Цитоморфологічні дослідження були проведені на пункційному матеріалі первинних папілярних карцином (ПК) та метастазах 22 пацієнтів (15 — радіоїодорезистентних, 7 — радіоїодочутливих метастазів).

Імуноцитохімічні дослідження проводили на пунктатах 30 карцином (4 — медулярні карциноми, 26 — ПКЩЗ) та 13 РЙРМ ПК ЩЗ, які були виявлені після проведення тотальної тиреоїдектомії та РЙТ. *Цитоморфологічні дослідження матеріалу пункційних біопсій* проводили на мазках, фіксованих метанолом та забарвлених за стандартним методом Романовського [4]. *Імуноцитохімічні дослідження* проводили непрямым імунопероксидазним методом за допомогою моноклональних антитіл миші проти антигену Ki-67 (Clone MIB-1, DakoCytomation, Данія). У другому шарі використовували антитіла проти g-глобулінів миші, мічені пероксидазою хрому (DakoCytomation, Данія). Після проведення імуноцитохімічної реакції ядра клітин дозбарвлювали розчином гематоксиліну.

© Г. В. Зелінська, Г. М. Кулініченко, Г. Я. Устименко, 2015

За даними літератури, морфологічні ознаки пухлин деякою мірою відображають їх біологічну поведінку. Знайдено чимало гістоморфологічних та імуноцитохімічних проявів агресивної поведінки та радіоїодорезистентності карцином ЩЗ. Так, за даними деяких авторів, такі патоморфологічні особливості, як солідна структура пухлин, оксифілія клітин, некротичні зміни корелюють з радіоїодорезистентністю карцином ЩЗ [5, 6]. За даними дослідників, втрата чутливості тиреоїдних карцином до радіоїоду є наслідком зниження їх диференціювання. Порівняльне гістоморфологічне дослідження між первинними пухлинами та радіоїодорезистентними метастатичними осередками тиреоїдних карцином показало наявність різниці в їх будові в 37 % випадків. Цю різницю вважають проявом генетичної нестабільності цих пухлин. При цьому, у 70 % пацієнтів з папілярним раком ЩЗ, у яких розвилися РЙРМ, у метастазах виявляли гістологічні елементи низького ступеня диференціювання — ознаки низькодиференційованої або висококлітинної карциноми [7, 8].

Проте не знайдено даних літератури щодо цитоморфологічних проявів РЙРМ. Ми мали унікальну можливість проведення порівняльних цитоморфологічних досліджень первинних ПК та їх метастазів (радіоїодорезистентних та радіоїодочутливих). Проведені цитоморфологічні дослідження показали, що в більшості випадків цитологічні характеристики метастазів та первинних карцином подібні, як у випадках пацієнтів з радіоїодорезистентними, так і у пацієнтів з радіоїодочутливими метастазами. Порівняльні цитоморфологічні дослідження первинних ПК з РЙРМ свідчать, що в 60 % випадків цитограми первинних пухлин були типовими для ПК. Зустрічалися клітини ПК з різним проявом атипії, базофілії, чіткості контурів та розмірів клітин (рис. 1, а).

У двох випадках цитограми первинних пухлин були характерними для оксифільноклітинних карцином. Цитологічні характеристики клітин РЙРМ цих пацієнтів не дуже відрізнялися від цитограм їх первинних пухлин. Проте на відміну від первинних ПК, у 26 % випадків РЙРМ зустрічалися комплекси вакуолізованих клітин, розташованих навколо псамомних

тіл. У випадках оксифільноклітинних карцином метастази були також представлені оксифільними клітинами, але якщо в первинних пухлинах клітини були розміщені групами, то в пунктатах метастазів — ізольовано. У 80 % випадків цієї групи метастазів експресія тиреоїдної пероксидази була відсутня, в інших випадках — 5–12 %.

При порівняльному цитоморфологічному дослідженні первинних карцином з їх радіодочутливими метастазами виявилось, що цитограми первинних пухлин та їх метастазів представлені клітинами більш «спокійної» морфології, ніж у пацієнтів з РЙРМ. Клітини первинних пухлин та метастазів, які накопичували радіоїод, не мали яскравих ознак атипії та були схожими на аденоматозні вузли (рис. 1, б). Вміст тиреоїдної пероксидази в метастазах цієї групи складав від 60 до 90 %.

Таким чином, цитоморфологія клітин радіодочутливих метастазів та високий вміст тиреоїдної пероксидази є відображенням кращого диференціювання та здатності до зв'язування радіоїоду їх клітинами в порівнянні з радіодорезистентними метастазами.

Предметом наступного дослідження є також вивчення проліферативної активності клітин РЙРМ. Як свідчать джерела літератури, пухлина тим активніше відповідає на радіаційну терапію, чим більша проліферативна здатність її клітин. Відповідно до основного радіобіологічного закону (Бергонье-Трибондо), тканини, які складаються з малодиференційованих клітин, що активно проліферують, належать до радіодочутливих, а тканини, які містять диференційовані клітини, що слабо проліферують, або зовсім не проліферують, є радіорезистентними [9]. Тому цікаво дізнатися, чи не пов'язана радіодорезистентність метастазів ПК ШЗ зі зниженням проліферативної активності клітин в порівнянні з загальною популяцією ПК.

Відомим маркером проліферативної активності клітин є антиген Ki-67 — ядерний негістоновий протеїн, який експресується в усіх фазах клітинного циклу за винятком G0 фази [10]. За даними літератури, маркери проліферації клітин є асоційованими з біологічними ознаками та клінічною поведінкою пухлин. Так, висока експресія Ki-67 корелює з поганим

прогнозом у пацієнтів з раком молочної залози або простати [11, 12]. Було показано, що експресія цього антигену асоційована з віком, розміром пухлини, ектратиреоїдною інвазією, метастазуванням та агресивним гістологічним типом ПК. Епідеміологічні та клінічні дослідження показали, що висока експресія антигену Ki-67 корелює з високим ризиком рецидивів та віддалених метастазів та поганим прогнозом відносно виживання пацієнтів з ПКШЗ [13]. Пацієнти з високим індексом Ki-67 мають значно менший строк життя, ніж пацієнти з низьким індексом Ki-67 [14]. Усе це свідчить про існування зв'язку між визначеною за допомогою антитіл до антигену Ki-67 проліферативною активністю пухлин та їх агресією і схильністю до метастазування. Тому цікаво було б дізнатися, чи існує кореляція між радіодорезистентністю ПКШЗ та проліферативною активністю його клітин. Не знайдено даних літератури щодо проведення порівняльних досліджень експресії маркера проліферативної активності — антигену Ki-67 в радіодорезистентних та радіодочутливих метастазах ПКШЗ.

Була відпрацьована методика імуноцитохімічного визначення маркера проліферативної активності клітин — антигену Ki-67 в пунктатах. Антиген виявлявся у вигляді гранулярного та дифузного забарвлення ядер тиреоцитів. Показана відсутність або незначна кількість (0,5 %) клітин, які містять антиген Ki-67 в пунктатах вузлового зоба. В пунктатах карцином вміст клітин з антигеном Ki-67 складав від 1 до 10 %. Найбільший процентний вміст цих клітин спостерігався в пунктатах медулярного раку, дифузносклерозуючого варіанта ПК та ПК на фоні аутоімунного тиреоїдиту (7–10 %). У пунктатах досліджених РЙРМ, як і в загальній групі ПК, вміст клітин, експресуючих антиген Ki-67, складав 1–7 % (рис. 2).

Таким чином, дослідження не показали значної різниці в експресії маркера проліферативної активності клітин — Ki-67 в радіодорезистентних метастазах в порівнянні з загальною групою папілярних карцином. Найбільшу експресію антигену демонструють медулярні та дифузносклерозуючі папілярні карциноми щитоподібної залози. Нечисленність досліджуваних груп спонукає продовжувати дослідження.

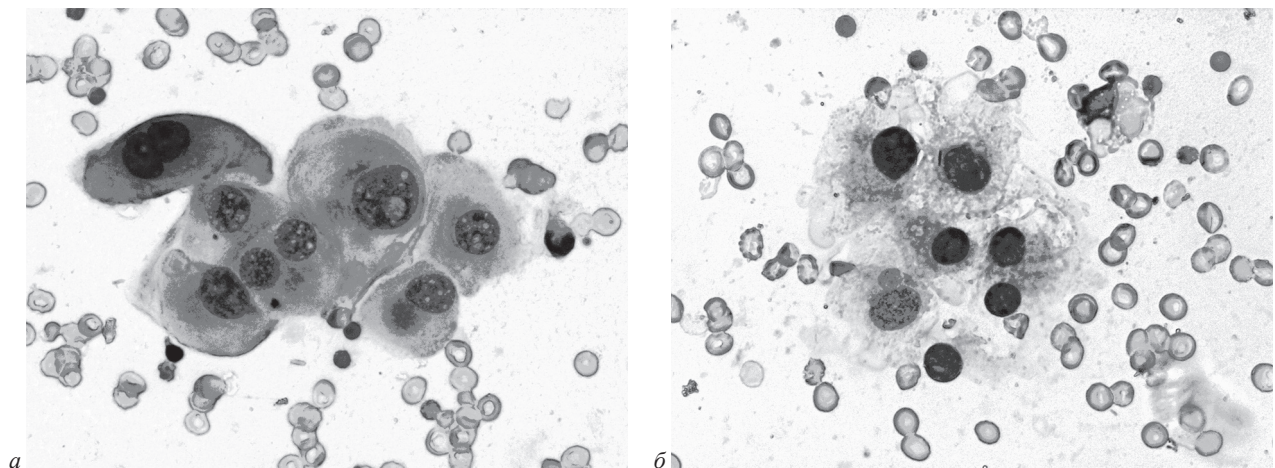


Рис. 1. Клітини папілярного раку в пунктатах радіодорезистентного (а) та радіодочутливого (б) метастазів. Об. 40, ок. 3,3. Забарвлення за методом Романовського–Гімзи

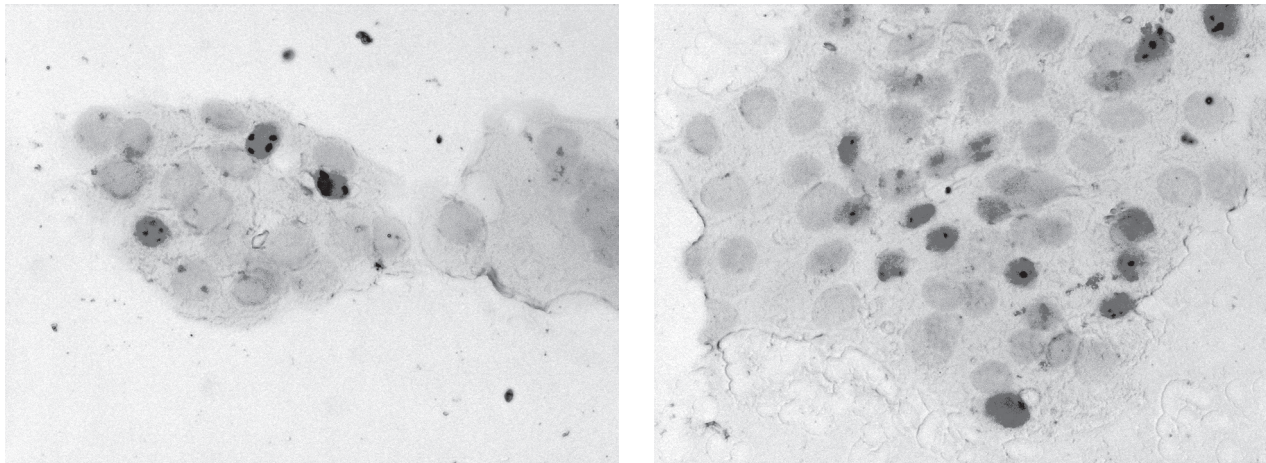


Рис. 2. Імуноцитохімічне виявлення антигену Ki-67 у клітинах пунктату радіоїодорезистентного метастазу папілярного раку щитоподібної залози. Об. 40, ок. 3,3. Ядра клітин забарвлені гематоксиліном

Цитоморфологічні характеристики первинних пухлин та їх метастазів не мають значних відмінностей. Водночас цитологічні характеристики клітин групи пацієнтів з радіоїодорезистентними метастазами

значно відрізняються від групи з радіоїодочутливими метастазами. Цитоморфологія клітин та вміст тиреоїдної пероксидази є відображенням їх диференціювання та здатності до зв'язування радіоїоду.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Solitary lateral neck node metastasis in papillary thyroid carcinoma* / Seok-Mo Kim, Ki Won Chun, Ho Jin Chang, Bup-Woo Kim et al. // *World Journal of Surgical Oncology*. — 2014. — Vol. 12. — P. 109.
2. *Vayisoglu Yusuf*. Involvement of level IIb lymph node metastasis and dissection in thyroid cancer / Yusuf Vayisoglu, Cengiz Ozcan // *Gland Surgery*. — 2013. — Vol. 2, N 4.
3. *Molecular characteristics in papillary thyroid cancers (PTCs) with no 131 I uptake* / C. Mian, S. Barollo, G. Penneliet et al. // *Clin. Endocrinol.* — 2008. — Vol. 68, N 1. — P. 108–116.
4. *Лилли П.* Патогистологическая техника и практическая гистохимия / П. Лилли — М. : Мир, 1969. — 645 с.
5. *Do histological, immunohistochemical, and metabolic (radioiodine and fluorodeoxyglucose uptakes) patterns of metastatic thyroid cancer correlate with patient outcome?* / D. Deandreis, A. Ghuzlan, S. Leboulleux et al. // *Endocr. Relat. Cancer* February. — 2011. — Vol. 1, N 18. — P. 159–169.
6. *Histopathologic characterization of radioactive iodine-refractory fluorodeoxyglucose-positron emission tomography-positive thyroid carcinoma* / M. Rivera, R. Ghossein, H. Schoder et al. // *Cancer*. — 2008. — Vol. 113, N 1. — P. 48–56.
7. *Mutational Profile of Advanced Primary and Metastatic Radioactive Iodine-Refractory Thyroid Cancers Reveals Distinct Pathogenetic Roles for BRAF, PIK3CA, and AKT1* / J. C. Ricorde-Filho, M. Ryder, D. A. Chitale et al. // *Cancer Res.* June. — 2009. — Vol. 69, N 1. — P. 4885.
8. *Busaidy N.* Differentiated Thyroid Cancer: Management of Patients with Radioiodine Nonresponsive Disease / N. Busaidy, Lamki, M. E. Cabanillas // *Journal of Thyroid Research*. — 2012, N 2 Article ID 618985, 12 pages. — Режим доступу: <http://dx.doi.org/10.1155/2012/618985>
9. *Ярмоненко С. П.* Радиобиология человека и животных / С. П. Ярмоненко. — М. : Высш. шк., 1988. — 424 с.
10. *The cell proliferation-associated antigen of antibody Ki-67: a very large, ubiquitous nuclear protein with numerous repeated elements, representing a new kind of cell cycle-maintaining proteins* / C. Schlüter, M. Duchrow, C. Wohlenberg et al. // *J. Cell. Biol.* — 1993. — Vol. 123, N 3. — P. 513–522.
11. *Ki-67: level of evidence and methodological considerations for its role in the clinical management of breast cancer: analytical and critical review* / E. Luporsi, F. André, F. Spyrtatos et al. // *Breast Cancer Res. Treat.* — 2012. — Vol. 132. — P. 895–915.
12. *Ki-67 and outcome in clinically localised prostate cancer: analysis of conservatively treated prostate cancer patients from the Trans-Atlantic Prostate Group study* / D. M. Berney, A. Gopalan, S. Kudahetti et al. // *Br. J. Cancer*. — 2009. — Vol. 100. — P. 888–893.
13. *Ki-67 Labeling Index Is a Predictor of Postoperative Persistent Disease and Cancer Growth and a Prognostic Indicator in Papillary Thyroid Carcinoma* / Akira Miyauchi, Takumi Kudo, Mitsuyoshi Hirokawa et al. // *Eur. Thyroid. J.* — 2013. — N 1. — P. 57–64.
14. *Prognostic significance of Ki-67 labeling index in papillary thyroid carcinoma* / Y. Ito, A. Miyauchi, K. Kakudo et al. // *World J. Surg.* — 2010. — N 34. — P. 3015–3021.

Резюме. Проведено сравнительное цитоморфологическое исследование первичных папиллярных карцином щитовидной железы и их радиоїодрезистентных и радиоїодчувствительных метастазов. Цитоморфологические характеристики первичных карцином и их метастазов не имели значительных отличий. В то же время показано, что цитологические характеристики клеток группы пациентов с радиоїодрезистентными метастазами значительно отличаются от группы с радиоїодчувствительными метастазами.

Цитоморфология клеток и содержание тиреоидной пероксидазы является отображением их дифференцировки и способности к связыванию радиоiodа. Исследования не показали значительной разницы в экспрессии маркера пролиферативной активности клеток — Ki-67 в радиоiodрезистентных метастазах по сравнению с общей группой папиллярных карцином.

Ключевые слова: папиллярная карцинома щитовидной железы, цитоморфологические исследования, радиоiodрезистентные метастазы, тиреоидная пероксидаза, пролиферативная активность.

Summary. The cytomorphological characteristics of the primary thyroid papillary carcinomas and their metastases have no significant differences. In the same time, the radioiodine resistant metastases and radioiodine uptake metastases have different cytomorphological characteristics. The cytomorphological characteristics of the cells and the expression of the thyroid peroxidase in the metastases reflects cell's differentiation and their ability to accumulate of radioiodine. We've not found difference in the expression of the cell's proliferative activity antigen — Ki-67 between radioiodine resistant metastases and common cohort of papillary carcinomas.

Keywords: papillary thyroid carcinoma, cytological diagnosis, radioiodine resistant metastasis, thyroid peroxidase, proliferative activity.

Є. В. ЛУЧИЦЬКИЙ, В. Є. ЛУЧИЦЬКИЙ, Г. А. ЗУБКОВА, В. М. РИБАЛЬЧЕНКО,
С. В. ГУЛЕВАТИЙ, І. І. СКЛАДАННА, В. В. МАРКОВ

ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка НАМН України», Київ

СТАН ГІПОФІЗАРНО-СТАТЕВОЇ СИСТЕМИ ТА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ПОКАЗНИКИ СПЕРМИ У ЧОЛОВІКІВ, ХВОРИХ НА РАК ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ, В ДИНАМІЦІ ЛІКУВАННЯ

STATE OF PITUITARY-GONADAL SYSTEM AND MORPHOFUNCTIONAL INDICES OF SPERM IN MALES WITH THYROID CANCER AT DIFFERENT STAGES OF TREATMENT

Радіоактивний ^{131}I застосовується у хворих на рак щитоподібної залози (РЩЗ) для післяопераційної абляції залишкової тканини щитоподібної залози, девіталізації регіонарних та віддалених метастазів. Ефективність та безпечність використання ^{131}I до теперішнього часу залишається предметом досліджень та дискусій. У період від 4 до 6 тижнів після тиреоїдектомії з приводу РЩЗ хворим призначають ^{131}I у дозі 2000 МБк (лікувальна доза), повторні курси радіоiodотерапії (РІТ) проводять не раніше, ніж у проміжок від 4 до 6 місяців до повної відсутності активного накопичення. За даними літератури, у 76,8 % хворих спостерігалися ускладнення впродовж перших 3 місяців, а у 60 % вони зберігалися і в подальшому [1, 2]. За ступенем радіочутливості яєчка знаходяться на другому місці після органів кровотворення [3]. Під час РІТ яєчка отримують опромінення з боку йодованих білків, що циркулюють у крові, а також з радіоактивним йодом, що виводиться з сечею. В осіб чоловічої статі віком 20–55 років, лікованих ^{131}I з приводу РЩЗ, спостерігалася транзиторне погіршення статевої функції, яке супроводжувалося зниженням рівня

тестостерону і підвищенням рівня фолітропіну в крові та зниженням кількості нормокінетичних сперматозоїдів в еякуляті [4, 5]. Виявлення ризиків несприятливих ефектів РІТ є важливим для проведення ретельного інформування пацієнтів про коротко- та довготривалі наслідки терапії, а також для запобігання, раннього виявлення та своєчасного лікування цих порушень. Викладене вище підтверджує необхідність дослідження стану репродуктивної функції у чоловіків, хворих на РЩЗ, на етапах лікування.

Дослідження проведені в атестованій гормональній лабораторії ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка НАМН України».

Обстежено 21 пацієнта віком від 21 до 40 років, хворого на РЩЗ, та 23 практично здорових чоловіки 20–45 років. Усім визначали концентрацію загального та вільного тестостерону ($T_{\text{заг}}$, $T_{\text{в}}$), лютропіну (ЛГ), фолітропіну (ФСГ), пролактину (ПРЛ), антиспермальних антитіл (Ас/Ат) та секстероїдзв'язуючого глобуліну (ССЗГ). Гормональні дослідження проводили до лікування, через 1 міс. після тиреоїдектомії та через 4 міс. після курсу радіоiodотерапії.

Рівень гормонів визначали імуноферментним методом (аналізатор Stat Fax 3200) стандартними наборами фірми DRG.

© Є. В. Лучицький, В. Є. Лучицький, Г. А. Зубкова,
В. М. Рибальченко, С. В. Гулеватий, І. І. Складанна,
В. В. Марков, 2015