

УДК 616.441-006.6:616-076.5:[546.15:615.849.2]

ГАННА ВОЛОДИМИРІВНА ЗЕЛІНСЬКА, ГАЛИНА МИКОЛАЇВНА КУЛІНІЧЕНКО,
ГАННА ЯКІВНА УСТИМЕНКО, ЄВГЕН ОЛЕГОВИЧ МОТОРНИЙ

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

СУБКЛОНАЛЬНА СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦІЇ ТИРОЦИТІВ РАДІОЙОДОРЕФРАКТЕРНИХ ТА РАДІОЙОДОЧУТЛИВИХ МЕТАСТАЗІВ ПАПІЛЯРНОГО РАКУ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

Цитоморфологічне дослідження матеріалу тонкогілкових пункційних біопсій 77 папілярних карцином та 33 метастазів дозволило виявити гетерогенність популяції клітин фолікулярного епітелію в радіоїодорефрактерних метастазах в порівнянні з радіоїодочутливими метастазами. Показано, що радіоїодорефрактерні метастази папілярного раку щитоподібної залози відрізняються від радіоїодочутливих метастазів поліморфізмом у популяції фолікулярного епітелію та наявністю субклонів. Виявлена кореляція між присутністю особливої субпопуляції клітин у первинних папілярних карциномах та частотою виникнення метастазів після проведення у цих пацієнтів стандартної терапії (тиреоедектомія, супресивна гормональна терапія, радіоїодотерапія). Виявлено, що метастази виникають у пацієнтів з папілярними карциномами з присутністю в пунктатах первинних пухлин клітин особливої субпопуляції частіше, ніж у пацієнтів, в пунктатах первинних пухлин яких такі клітини відсутні.

Ключові слова: щитоподібна залоза, папілярна карцинома, матеріал тонкогілкової аспіраційної пункційної біопсії, субпопуляції епітеліоцитів, радіоїодорефрактерні метастази.

Найбільшою проблемою диференційованого раку щитоподібної залози залишаються радіоїодорефрактерні метастази (РЙРМ), клітини яких не здатні до накопичення радіоїоду, і радіоїодотерапія для них стає неефективною. За даними світової літератури, їх поява спостерігається в 7–25 % випадків [1, 2]. Середня медіана виживання пацієнтів з радіоїодорефрактерними метастазами досягає лише 2–3 років [3]. Отже питання ранньої діагностики та прогнозування РЙРМ папілярного раку (ПР) щитоподібної залози (ЩЗ) залишаються актуальними. Метою даної роботи є дослідження субклональної структури популяції тироцитів радіоїодорезистентних метастазів у порівнянні з радіоїодочутливими метастазами (РЙЧМ) папілярного раку щитоподібної залози.

МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕННЯ

У роботі використано матеріал, отриманий в результаті проведення тонкогілкових аспіраційних пункційних біопсій (ТАПБ) у пацієнтів чоловічої та жіночої статі віком від 8 до 40 років, що проходили обстеження, хірургічне лікування та радіоїодотерапію у клініці ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка НАМН України». Цитоморфологічні дослідження проводили на мазках, фіксованих метанолом та забарвлених за стандартним методом Май-Грюнвальда–Гімза. Використовували пункційний матеріал первинних папілярних карцином

77 хворих та метастази 33 хворих (23 — радіоїодорезистентних, 10 — радіоїодочутливих).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Стандартна терапія боротьби з раком щитоподібної залози (хірургічне лікування, гормональна супресія та радіоїодотерапія) забезпечує в більшості випадків сприятливий прогноз для диференційованих тироїдних карцином та 20-річне виживання у більш ніж 90 % пацієнтів. На жаль, у 4–20 % осіб присутня первинно або розвивається з часом так звана «метастатична радіоїодорефрактерна» хвороба, тобто виникають метастази, клітини яких не здатні до накопичення радіоїоду і радіоїодотерапія для них стає неефективною. За даними різних авторів, втрачання тироїдними раками здатності до накопичення радіоїоду корелює з виживанням хворих, середня медіана виживання у яких складає лише 2,5–3,5 роки [1–4]. Отже вкрай актуальним є дослідження особливостей клітин РЙРМ з метою розробки способів доопераційного прогнозування та діагностики таких метастазів.

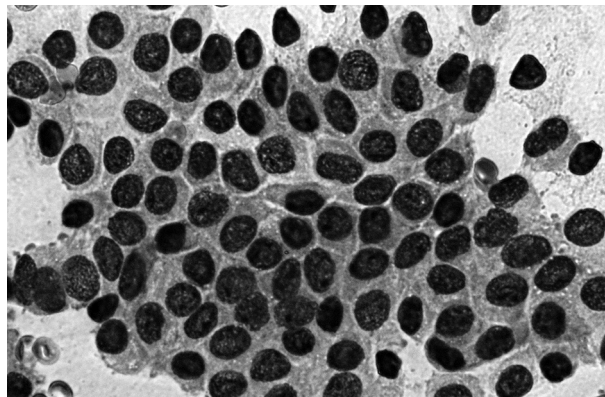
При дослідженні пунктів папілярних карцином та їх метастазів у 82 % випадків спостерігався поліморфізм у популяції клітин фолікулярного епітелію (А-клітин) та наявність різних субклонів клітин, які відрізняються цитоморфологічно. В літературі відсутні дані стосовно подібних досліджень клітинних популяцій ПК та їх метастазів. Існують дані лише щодо генетичних досліджень різних пухлинних фокусів мультифокальних ПК, які одночасно існують та можуть

відрізнятися морфологічно. Теоретично різні пухлинні фокуси можуть мати моноклональне походження, з подальшою інтрафуріозною дисемінацією та морфотиповою диференціацією в результаті субкласноної прогресії або різні пухлинні фокуси можуть бути результатом незалежних трансформуючих явищ різних клонів клітин. Хоча дослідження свідчать про монокласнольне походження цих фокусів з подальшою неопласічною трансформацією та внутрішньотиреоїдальним розповсюдженням папілярної карциноми, здебільшого, від 5 до 30 % складають випадки, коли індивідуальні пухлинні фокуси у пацієнтів з мультифокальною ПК являють собою незалежні пухлини, які походять з різних клонів клітин [5–9].

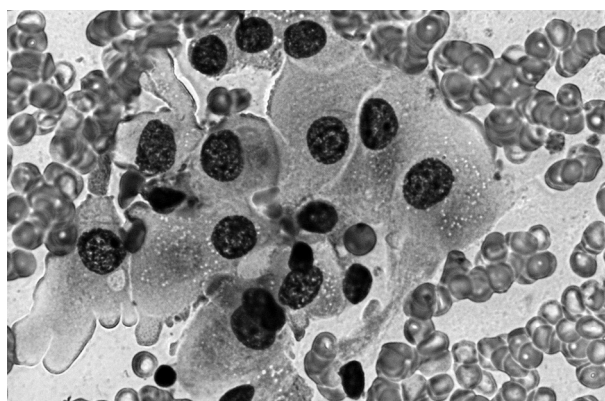
Сучасні теорії онкогенезу (як стохасічна, так і гіпотеза стовбурових клітин) вказують на те, що завдяки генетичним та епігенетичним змінам (аберантній диференціації) монокласнольна за походженням популяція клітин злоякісної пухлини з часом розпадається на ряд субклонів і стає фенотипічно гетерогенною [10, 11]. Саме серед згаданих субклонів можуть з'являтися такі, що здатні до інвазивного росту та утворення метастазів. Метою даної роботи є дослідження субкласнольної структури популяції тироцитів у пунктатах РЙРМ та РЙЧМ з метою виявлення субклонів, здатних утворювати РЙРМ та з метою передопераційного прогнозування розвитку рефрактерності пухлин до радіоїоду у пацієнтів з ПК ЩЗ.

Перед початком дослідження визначимося з типами епітеліальних клітин, які зустрічаються в пунктатах ПК. У цитологічних препаратах ПК у загальній популяції епітеліоцитів фолікулярного епітелію часто можна виділити принаймні 2 типи субпопуляцій епітеліальних клітин. Найчисленнішими є групи клітин 1-го типу, утворені епітеліальними клітинами невеликого розміру (12–20 мкм) з помірним ядерно-цитоплазматичним співвідношенням. Ці групи складаються з одноманітних клітин, що мають амфотильну або слабооксифильну цитоплазму і утворюють одношаровий пласт із відносно регулярним розташуванням тироцитів (рис. 1 а). Групи 2-го типу складаються зі збільшених за розмірами (24–48 мкм) поліморфних базотильних клітин, що мають зменшене ядерно-цитоплазматичне співвідношення. Розташування тироцитів у межах груп 2-го типу є нерегулярним, а самі групи скоріше можна назвати комплексами клітин

чи кластерами, ніж фрагментами епітеліальних пластів (рис. 1 б). Іноді у клітинах груп 2-го типу можна спостерігати базотильну «макулу», розташовану в цитоплазмі біля ядра.



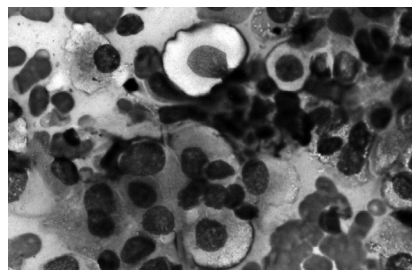
а



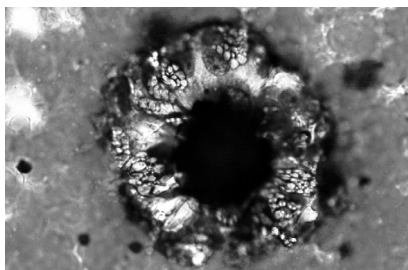
б

Рис. 1. Групи епітеліоцитів 1-го типу (а) та 2-го типу (б) у пунктаті папілярного раку щитоподібної залози. Забарвлення за Романовським. Об. $\times 40$

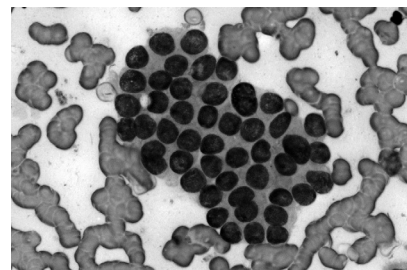
Серед епітеліоцитів, що утворюють групи 2-го типу, привертають увагу особливі клітини, які вкрай відрізняються від інших станом своєї поверхні. На відміну від інших клітин, вони мають надзвичайно чіткі межі, зумовлені різкою різницею у світлозаломленні між цитоплазмою та оточуючим середовищем (рис. 2 а). Згадані клітини мають округлу або грушоподібну форму, мале ядерно-цитоплазматичне співвідношення та широкі варіації у розмірах (18–40 мкм). Їх цитоплазма виявляє помірну базотильність у центральній частині, вона безбарвна на периферії, від чого такі клітини виглядають світлішими за оточуючі. Умовно



а



б



в

Рис. 2. Різноманіття субпопуляцій епітеліоцитів у пунктатах радіоїодорефрактерних метастазів (а, б) у порівнянні з радіоїодочувливими метастазами (в): а — наявність субклонів 2-го типу та клітин субпопуляції «А»; б — комплекс вакуолізованих клітин навколо псамомного тільця; в — клітини 1-го типу в пунктаті радіоїодочувливого метастазу

ми назвали їх клітинами субклону «А». Вони були знайдені нами у 26 % обстежених ПК.

Рутинне порівняльне дослідження первинних ПК з їх метастазами демонструє, що в 30 % випадків їх цитоморфологічна картина відрізняється (нааявністю в метастазі субклону «А», оксифілії, комплексів вакуолізованих клітин навколо псамомних тілець на відміну від первинної ПК). Порівняльні цитоморфологічні дослідження первинних папілярних карцином (ППК) з РЙРМ показали, що в 60 % випадків їх цитограми не відрізнялися за цитологічними характеристиками. Клітини 1-го типу зустрічалися в 83 % РЙРМ (в порівнянні з 92 % ППК). Клітини 2-го типу — в 35 % РЙРМ (в порівнянні з 42 % ППК), оксифільноклітинні зміни — в 25 % РЙРМ (в порівнянні з 17 % ППК). Клітини субклону «А» виявлені в 28 % РЙРМ (відсутні в ППК), комплекси вакуолізованих клітин, розташованих навколо псамомних тіл, були присутні в 10 % РЙРМ (відсутні в ППК) (рис. 2 б).

Порівняльні цитоморфологічні дослідження ППК з РЙЧМ показали, що у всіх випадках їх цитоморфологічна картина подібна, до того ж, їх цитограми представлені лише клітинами 1-го типу. При цьому РЙЧМ не містили ні тироцитів 2-го типу, ані клітин субклону «А», ні комплексів вакуолізованих клітин, розташованих навколо псамомних тіл, ані оксифільних клітин (рис. 2 в).

Таким чином, РЙРМ представлені більшим різноманіттям епітеліоцитів (клітини 1-го та 2-го типів, оксифільноклітинні зміни, клітини субклону «А», комплекси вакуолізованих клітин), ніж РЙЧМ, пунктати яких представлені лише 1-м типом епітеліоцитів. Крім того, привертає увагу той факт, що у процесі онкогенезу папілярних карцином, у яких виникають РЙРМ, в цих метастазах з'являються клітини чи структури, які не були знайдені в їх ППК (комплекси вакуолізованих клітин, клітини субклону «А», частіше зустрічаються оксифільноклітинні зміни). Ці типи клітин не зустрічаються в ППК та їх РЙЧМ. Такі цитоморфологічні ознаки можна розглядати, як асоційовані з РЙРМ та які корелюють з радіоїодорезистентністю (таб.).

Наявність у пунктатах РЙРМ більшої кількості субклонів та структур тироцитів у порівнянні з групою

РЙЧМ, можливо, є проявом більшої генетичної гетерогенності цих пухлин, яка є кращим «полігоном» для появи субклонів тироцитів з агресивною поведінкою, які можуть бути джерелом РЙРМ.

Таблиця

Частота зустрічальності різних типів (субпопуляцій) епітеліоцитів в ППК (первинній папілярній карциномі), РЙРМ (радіоїодорефрактерні метастази) та РЙЧМ (радіоїодочутливі метастази), %

Типи клітин	ППК	РЙРМ	ППК	РЙЧМ
тип 1	92	83	100	100
тип 2	35	42	0	0
Субклон «А»	0	28	0	0
Комплекси вакуолізов. клітин	0	10	0	0
Оксифільні клітини	17	25	0	0

Виявлена кореляція між присутністю клітин субклону «А» в ППК ЩЗ та частотою виникнення метастазів після проведення у цих пацієнтів стандартної терапії (тиреоїдектомія, супресивна гормональна терапія, радіоїодотерапія). Досліджували групу з 44 пацієнтів, у яких після тироїдектомії на першому скануванні з лікувальною дозою радіоїоду не було виявлено метастазів. У 67 % пацієнтів (10/15), в пунктатах первинних пухлин яких були виявлені клітини субклону «А», з часом виникли метастази, що накопичували радіоїод. Водночас у пацієнтів, у пунктатах первинних пухлин яких ці клітини були відсутні, такі метастази виникли лише в 27 % випадків (8/29).

ВИСНОВКИ

1. Радіоїодорефрактерні метастази папілярного раку щитоподібної залози демонструють поліморфізм у популяції фолікулярного епітелію та появу субклонів тироцитів на відміну від радіоїодочутливих метастазів.

2. Показано, що метастази виникають у групі пацієнтів із папілярними карциномами з присутністю в пунктатах первинних пухлин клітин субклону «А» частіше, ніж у пацієнтів, у пунктатах первинних папілярних карцином яких такі клітини відсутні.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. 2015 American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer // B. R. Haugen, K. A. Erik, K. C. Bible et al. // *Thyroid*. — 2016. — Vol. 26, N 1. — P. 1–133.
2. *Busaidy N. Differentiated Thyroid Cancer: Management of Patients with Radioiodine Nonresponsive Disease* / N. Busaidy, Lamki, M. E. Cabanillas // *J. Thyroid Research*. — 2012. — N 2 Article ID 618985, 12 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2012/618985>.
3. *Radioactive iodine-refractory differentiated thyroid cancer: unmet needs and future directions* // Y. Ito, M. Luster, F. Pitoia et al. // *Expert Rev. Endocrinol. Metab.* — 2012. — Vol. 7, N 5. — P. 541–554.
4. *Optimizing therapy for radioactive iodine-refractory differentiated thyroid cancer: Current state of the art and future directions* / R. Dadu, M. E. Cabanillas // *Minerva Endocrinol.* — 2012 Dec. — Vol. 37, N 4. — P. 335–356.
5. *Clinical significance of clonality in thyroid nodules* / H. Kim, Z. Piao, C. Park et al. // *Br. J. Surg.* — 1998. — Vol. 85. — P. 1125–1128.
6. *Clonal origin of non-medullary thyroid tumours assessed by non-random X-chromosome inactivation* / S. Moniz, A. L. Catarino, A. R. Marques et al. // *Eur. J. Endocrinol.* — 2002. — Vol. 146. — P. 27–33.
7. *The heterogeneous distribution of BRAF mutation supports the independent clonal origin of distinct tumor foci in multifocal papillary thyroid carcinoma* / R. Giannini, C. Ugolini, C. Lupi et al. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 2007. — Vol. 92, N 9. — P. 3511–3516.

8. *Independent clonal origins of distinct tumor foci in multifocal papillary thyroid carcinoma* // T. M. Shattuck, W. H. Westra, P. W. Ladenson et al. // *N. Engl. J. Med.* — 2005. — Jun 9. — Vol. 352, N 23. — P. 2406–2412.
9. *Intratumor heterogeneity and clonal evolution in an aggressive papillary thyroid cancer and matched metastases* / S. Penne, T. Konopka, D. Gacquer // *Endocr Relat Cancer.* — 2015 Apr. — Vol. 22, N 2. — P. 205–216.
10. *Ling V. Dynamic heterogeneity and metastasis* / V. Ling, A. F. Chambers, J.F. Harris, R. P. Hill // *J. Cell. Physiol. Suppl.* — 1984. — Vol. 3. — P. 99–103.
11. *Hill R. P. Dynamic heterogeneity: rapid generation of metastatic variants in mouse B16 melanoma cells* / R. P. Hill, A. F. Chambers, V. Ling, J. F. Harris // *Science.* — 1984. — Vol. 224. — P. 998–1001.

Стаття надійшла до редакції 01.06.2016.

А. В. ЗЕЛИНСКАЯ, Г. Н. КУЛИНИЧЕНКО, А. Я. УСТИМЕНКО, Е. О. МОТОРНЫЙ

ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В. П. Комиссаренко НАМН Украины», Киев

СУБКЛОНАЛЬНАЯ СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИИ ТИРОЦИТОВ РАДИОЙОДРЕФРАКТЕРНЫХ И РАДИОЙОДЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ МЕТАСТАЗОВ ПАПИЛЛЯРНОГО РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Цитоморфологические исследования материала тонкоигольных пункционных биопсий 77 папиллярных карцином и 33 метастазов позволили выявить гетерогенность популяции клеток фолликулярного эпителия в радиоiodодрефрактерных метастазах по сравнению с радиоiodочувствительными. Показано, что радиоiodодрефрактерные метастазы папиллярного рака щитовидной железы отличаются от радиоiodочувствительных метастазов полиморфизмом в популяции фолликулярного эпителия и наличием субклонов. Выявлена корреляция между присутствием особой субпопуляции клеток в первичных папиллярных карциномах и частотой возникновения метастазов после проведения у этих пациентов стандартной терапии (тиреоидэктомия, супрессивная гормональная терапия, радиоiodотерапия). Отмечено, что метастазы появляются у пациентов с папиллярными карциномами с наличием в пунктатах первичных опухолей клеток особой субпопуляции чаще, чем у пациентов, у которых в пунктатах первичных опухолей такие клетки отсутствуют.

Ключевые слова: щитовидная железа, папиллярная карцинома, материал тонкоигольной аспирационной пункционной биопсии, субпопуляции эпителиоцитов, радиоiodодрефрактерные метастазы.

A. V. ZELINSKAYA, G. N. KULINICHENKO, A. YA. USTIMENKO, E. O. MOTORNYI

SI «V. P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv

SUBPOPULATIONS OF THYROCYTES IN RADIOIODINE-REFRACTORY METASTASES AND RADIOIODINE- UPTAKE METASTASES OF PAPILLARY THYROID CANCER

The cytomorphological study of fine-needle aspiration biopsy of 77 papillary carcinomas and 33 metastases made it possible to reveal heterogeneity of the population of follicular epithelial cells in radioiodine-refractory metastases compared to radioiodine-uptake metastases. Radioiodine-refractory metastases, unlike radioiodine-uptake metastases, contain several subclones of thyrocytes. Correlation between presence of special subpopulation of cells in primary papillary carcinomas and frequency of metastases after standard medical therapy (thyroidectomy, suppressive hormone therapy, radioiodine therapy) was revealed. It has been concluded that metastases appear more frequently in patients with particular subpopulation of tumor cells in punctates of primary papillary carcinoma than in patients without such cells.

Keywords: thyroid gland, papillary thyroid carcinoma, fine-needle aspiration biopsy material, subpopulation of epithelial cells, radioiodine-refractory metastases.

Контактна інформація:

Зелінська Ганна Володимирівна

канд. біол. наук, старший науковий співробітник відділення функціональної діагностики

ДУ «Институт эндокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка НАМН України», Київ

тел.: +38 (050) 617-19-28, (044) 295-05-06