В. В. Хазієв, Н. І. Гойденко

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського Національної академії медичних наук України», м. Харків

© Хазієв В. В., Гойденко Н. І.

ЕКСПРЕСІЯ ГАЛЕКТИНА-3 У ФОЛІКУЛЯРНИХ ПУХЛИНАХ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

Резюме. Імуногістохімічне дослідження не виявило експресію галектина-3 у випадках фолікулярних аденом щитоподібної залози. У пухлинних клітинах фолікулярного та папілярного тиреоїдного раку галектин-3 імуногістохімічно виявлявся у 87,5 та 100 % відповідно, у зв'язку з чим галектін-3 може застосовуватися в якості маркера диференційної діагностики рака та фолікулярних аденом у комплексі з іншими онкомаркерами. Фолікулярні аденоми щитоподібної залози з наявністю експресії галектина-3 необхідно розцінювати як новоутворення з високим потенціалом малігнізації або злоякісні, що вимагає відповідного хірургічного втручання.

Ключові слова: *галектін-3, щитоподібна залоза, фолікулярна аденома, папілярний рак, фолікулярний рак.*

Вступ

До теперішнього часу існують труднощі в диференціальній діагностиці вузлових новоутворень щитоподібної залози (ЩЗ) невеликого розміру на ранніх стадіях раку, що відповідає Т1-Т2 [4, 8]. Специфічні серологічні онкомаркери для діагностики високодиференційованого раку ЩЗ поки не запропоновані, а інформація щодо діагностичної значущості деяких онкомаркерів (тиреоглобулін, раково-ембріональний антиген – РЕА) суперечлива [2, 7]. Разом з тим велике значення надається виявленню експресії онкомаркерів при імуноцито- і гістохімічному дослідженні тиреоїдної патології [6, 9, 12]. Рядом дослідників в якості можливого онкомаркера при патології ЩЗ розглядаються галектини [2, 9, 12]. Галектин-1 та галектин-3 (бетагалактозидзв'язуючий лектин) є посередниками взаємодії поверхні клітин з екстрацелюлярним матриксом. В декількох імуногісто- та цитохімічних дослідження було показано, що галектин-3 відсутній в нормальній тиреоїдній тканині, гіперпластичних вузлах при вузловому зобі та фолікулярних аденомах [10, 13, 18]. В той же час він експресувався в папілярних, фолікулярних та анапластичних карциномах, а також в частині медулярних карцином. Експресія галектину-1 спостерігалася у папілярних та анапластичних карциномах і була відсутньою або слабкою у фолікулярних карциномах та аденомах ЩЗ [11]. У деяких роботах доводилася перспективність дослідження експресії галектіна-3 методом проточної флуороцітометрії в клітинному матеріалі з вузла ЩЗ [3, 5, 17]. Таким чином, галектини можна було б розглядати як перспективний маркер малігнізації. Але цьому перешкоджають інші дані, згідно з якими експресія галектину-3 спостерігається в ділянках тиреоїдиту в нормальних та доброякісно-змінених тканинах ЩЗ, а також в третині фолікулярних аденом [14, 16]. Враховуючи суперечливу інформацію про результати дослідження онкомаркерів для діагностики РЩЗ, вивчення їх діагностичної значущості для диференціальної діагностики раку і доброякісних захворювань ЩЗ представляє науково-практичний інтерес .

Метою роботи було провести аналіз експресії галектіна-3 в препаратах фолікулярних пухлин ЩЗ і оцінити можливість застосування зазначеного онкомаркера для диференційної діагностики доброякісних і злоякісних захворювань ЩЗ.

Матеріали та методи досліджень

Для імуногістохімічного дослідження експресії рецепторів до галектину-3 був проаналізований операційний матеріал 59 хворих, що були прооперовані у хірургічному відділенні клініки ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України» з приводу одновузлового нетоксичного зоба. Дослідженню підлягали 24 препарати тиреоїдних фолікулярних аденом (ФА), 16 препаратів фолікулярного раку ЩЗ (ФРЩЗ), 19 препаратів папілярного раку щитоподібної залози (ПРЩЗ). Для визначення онкомаркерів використовувалися МКА до галектину-3 (клон 9С4, LabVision). Зрізи товщиною 4-5 мкм наносили на предметні стекла, які заздалегідь були оброблені адгезивною рідиною (poly-L-lysine) з подальшою депарафінізацією відповідно прийнятим стандартам. Для кожного маркера виконувалися контрольні дослідження з метою виключення помилково позитивного або помилково негативного результатів. Подальшу обробку проводили з використанням систем візуалізації LSAB2 і LabVision (UltraOne) впродовж 10 хвилин з кожним реагентом з проміж-

ним промиванням у ТРИС-буферному розчині. Після цього проводили реакцію з хромогеном (DAB (DakoCytomation)), мікроскопічно оцінюючи якість взаємодії на протязі від 20 с до 3 хвилин.

Для диференціювання структур тканин зрізи додатково фарбували гематоксиліном Майєра впродовж 3 хв. Дегідратація і заливка в бальзам здійснювалися згідно відомим принципам. Результат оцінювали як позитивний при випаданні солей хромогену саме в пухлинних клітинах. Диференційоване фарбування тканини само по собі було внутрішнім контролем. Клітини, що були позитивними відносно експресії маркерів, вивчали як мінімум на 4-6 випадково вибраних полях зору мікроскопа гістологічних зрізів з використанням об'єктивів × 10 і × 40. Після підрахунку 300 гістологічно ідентифікованих об'єктів (ядер або клітин), обчислювали показники експресії за результатами всіх вивчених ділянок. Враховувалася позитивна реакція в нормальних клітинах фолікулярного тиреоїдного епітелію, а також у пухлинних клітинах. Крім того, експресія галектину-3 оцінювалася і в стромальному компоненті. Оцінка імуногістохімічної реакції ґрунтувалася на інтенсивності фарбування і розподілі імунопозитивних клітин відповідно рекомендаціям авторів [59]. Шкала інтенсивності фарбування: «–» – немає експресії; «+» – слабка експресія; «++» – помірна експресія; і «+++» – інтенсивне фарбування. Отримані дані наведено у таблиці.

Результати досліджень та їх обговорення

Аденоми ЩЗ зустрілися у 24 випадках, що склало 40,7 % у загальній структурі операційного матеріалу. Спостерігалися різні гістологічні форми аденом, а також пухлини гетерогенної будови з ділянками нормо-, макро-, мікрофолікулярної, а також трабекулярної або солідної будови. Такі пухлини класифікувалися по переважаючому типу морфологічної будови.

Жоден з представлених в нашому дослідженні випадків фолікулярних аденом ЩЗ не експресував галектин-3. Визначалася лише стромальна реакція на галектин-3 і експресія цього маркера в ендотелії судин, що само по собі є контролем коректності проведення імуногістохімічної реакції (рис. 1).

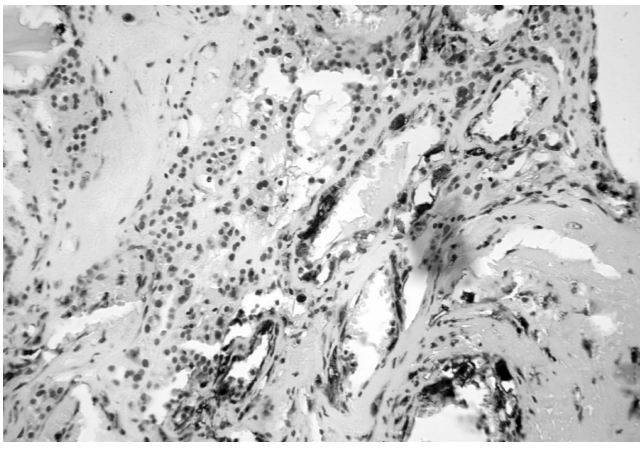

Рис. 1. Мікрофолікулярна аденома. Виразна позитивна стромальна реакція на галектин-3 та відсутність такої у тиреоцитах. ІГХ метод, додаткове фарбування гематоксиліном Майера.× 400.

При аналізі випадків ФРЩЗ (27,1 %) в більшості спостережень частина ЩЗ була збільшена в об'ємі, що залежало від розмірів пухлинного вузла. Розміри злоякісних вузлів варіювали від 1,5 до 3,0 см. Пухлинний вузол був, як правило, представлений солітарним інкапсульованим новоутворенням. Мікроскопічно, так само як і при гістологічному дослідженні ФА, у структурі фолікулярного рака виявлялася нормофолікулярна, мікрофолікулярна, а також солідна або мікрофолікулярно-солідна будова. У ділянках солідної або мікрофолікулярно-солідної будови визначалися ознаки проліферативної активності пухлинних клітин.

Препарати ПРЩЗ складали 32,2 % операційного матеріалу. Макроскопічно уражена частка ЩЗ була збільшена в об'ємі в тому випадку, якщо розміри пухлини були більшими за 1,0 см у діаметрі. ПРЩЗ був представлений або неінкапсульованим щільним утворенням без чітких контурів або щільним інкапсульованим вузлом, розміри якого варіювали від 0,3 до 2,5 см. Визначалися два основні підтипи ПРЩЗ: типовий папілярний та фолікулярний варіант.

Препарати ФРЩЗ демонстрували помірну експресію маркера у 14 випадках (87,5 %). У той же час імуногістохімічне дослідження препаратів ПРЩЗ виявило експресію галек-

Таблиця

Частота і вираженість експресії галектина-3 у пухлинах щитоподібної залози

Імуногісто-хімічний маркер	Аденоми щитоподібної залози, n=24			Фолікулярний рак щитоподібної залози, n=16			Папілярний рак щитоподібної залози, n=19		
	вираженість експресії	абс. кількість	%	вираженість експресії	абс. кількість	%	вираженість експресії	абс. кількість	%
Галектин-3	-	0	0,00	++	14	87,50	++	19	100,00

Примітка. «–» - немає експресії; «+» - слабка експресія; «++» - помірна експресія; «+++» - інтенсивне фарбування.

тина-3 у 100 % випадків (рис. 2), що свідчить про вірогідну наявність злоякісного характеру пухлини.

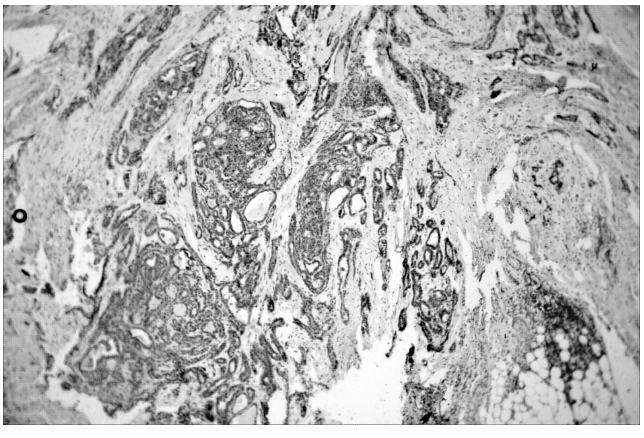

Рис. 2 – Папілярна карцинома. Помірна експресія галектина-3 у цитоплазмі тиреоцитів. ІГХ метод, додаткове фарбування гематоксиліном Майера.×400.

Отримані результати суперечать даним L. Martins та І. А. Абесадзе, які виявили, що крім РЩЗ, експресія галектіна-3 виявляється при ФА (22,5-45 %) [17–18]. На нашу думку виявлення ФА з ознаками атипії клітин та експресії галектіна-3 вказує на злоякісну природу проліферації клітин аденоми і вимагає онкологічної настороженості щодо її малігнізації, що вимагає вибір агресивного характеру хірургічного втручання.

Дослідження доводить, що галектін-3 не може застосовуватися в якості єдиного маркера, проте визначення його експресії може мати велике значення в діагностиці фолікулярних пухлин ЩЗ у комплексі з іншими онкомаркерами.

Висновки

1. Галектин-3 не експресувався у випадках фолікулярних аденом щитоподібної залози.
2. У пухлинних клітинах фолікулярного та папілярного тиреоїдного раку галектин-3 імуногістохімічно виявлявся у 87,5 % та 100 % відповідно, у зв'язку з чим галектін-3 може застосовуватися в якості маркера диференційної діагностики рака та фолікулярних аденом у комплексі з іншими онкомаркерами.
3. Фолікулярні аденоми щитоподібної залози з наявністю експресії галектина-3 необхідно розцінювати як новоутворення з високим потенціалом малігнізації або злоякісні, що вимагає відповідного хірургічного втручання.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Абесадзе И. А.* Дифференциальная диагностика фолликулярных опухолей щитовидной железы: Дис. ... канд. мед. наук. — М., 2008.
2. Гормоны щитовидной железы / Н. М. Скударнова, Н. В. Соболева, Н. В. Мычка. — Кольцово: ЗАО «Вектор-Бест», 2006. — 32 с.
3. *Комбинированный* анализ выявления мутации гена Braf и экспрессии галектина-3 в дооперационной диагностике рака щитовидной железы / Д. Ю. Семенов, М. И. Зарайский, Л. Е. Колоскова [и др.] // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. — 2011. — № 2. — С. 49-56.
4. *Молекулярные* маркеры опухолей / Н. Е. Кушлинский, Е. С. Герштейн, Л. К. Овчинникова, М. А. Дигаева // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2009. — Т. 148, № 8. — С. 199-208.
5. *Новые* возможности пункционной биопсии в диагностике рака щитовидной железы и гиперпаратиреоза / А. Ф. Романчишен, А. В. Гостимский, И. В. Зайцева, Е. В. Липская // Современные аспекты хирургической эндокринологии: мат. XIX рос. симп. — Челябинск, 2010. — С. 306-308.
6. *Определение* экспрессии галектина-3 в ткани фолликулярных опухолей щитовидной железы / Е. А. Коган, Н. А. Петунина, Т. В. Чернышова, Т. Г. Лукьянченко // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. — 2011. — Т. 7, № 1. — С. 45-49.
7. *Пинский С. Б.* Диагностика заболеваний щитовидной железы / С. Б. Пинский, А. П. Калинин, В. А. Белобородов. — М. : Медицина, 2005. — 192 с.
8. *Рак щитовидной* железы: Современные подходы к лечению / П. О. Румянцев, А. А. Ильин, У. В. Румянцева, В. А. Саенко. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. — 448 с.
9. *Роль молекулярных* маркеров в дифференциальной диагностике фолликулярных опухолей щитовидной железы / Е. А. Трошина, Н. В. Мазурина, И. А. Абесадзе [и др.] // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. — 2006. — Т. 2, № 2. — С. 22-26.
10. *Expression of* Galectin-3 in fine-needle aspirates as a diagnostic marker differentiating benign from malignant thyroid neoplasms / Inohara H., Hongo Y., Yoshii T. [et al.] // Cancer. — 1999. — Vol. 85, № 11. — P. 2475—2483.
11. *Expression of* galectin-1 in normal human thyroid gland and in differentiated and poorly differentiated thyroid tumors / L. Chiariotti, M. T. Berlingieri, C. Battaglia [et al.]// Intern. J. Cancer. — 1995. — Vol. 22, № 64 (3). — P. 171—175.
12. *Galectin-3-expression* analysis in the surgical selection of follicular thyroid nodules with indeterminate fine-needle aspiration cytology: a prospective multicentre study / A. Bartolazzi, F. Orlandi, E. Saggiorato [et al.] // Lancet Oncol. — 2008. — Vol. 9, № 6. — P. 508-510.
13. *Galectin-3* and laminin expression in neoplastic and non-neoplastic thyroid tissue / Castronovo V., Sanjuan X., Cardesa A. [et al.] // J Pathol. — 1997. — Vol. 181, № 1. — P. 80—86.
14. *Galectin-3* is a presurgical marker of human thyroid carcinoma / F. Orlandi, E. Saggiorato, G. Pivano [et al.] // Cancer. Res. — 1998. — Vol. 58, № 14. — P. 3015—3020
15. *Galectin_3* messenger ribonucleic acid and protein are expressed in benign thyroid tumors / L. Martins, S. E. Matsuo [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2002. — Vol. 87. №10. — P. 4806–4810.
16. *Immunohistochemical* localization of galectin-3 in malignant and benign human thyroid tissue / D. Cvejic, S. Savin, I. Paunovic [et al.] // Anticancer Res. — 1998. — Vol. 18, № 4A. — P. 2637—2641.

17. *Spencer A. C.* Современные принципы оценки уровня тиреоглобулина при наблюдении пациентов с высокодифференцированным раком щитовидной железы / A. C. Spencer // Thyroid International (на русском языке). — 2003. — № 4. — P. 1-15.

18. *Xu X. C.* Differential expression of galectin-1 and galectin-3 in thyroid tumors. Potential diagnostic implications /X. C. Xu, A. K. el-Naggar,R. Lotan // American J. Pat. — 1995. — Vol. 147, № 3. — P. 815—822.

ЭКСПРЕССИЯ ГАЛЕКТИНА-3 В ФОЛЛИКУЛЯРНЫХ ОПУХОЛЯХ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

В. В. Хазиев , Н. И. Гойденко

Резюме. Иммуногистохимическое исследование не выявило экспрессии галектина-3 в случаях фолликулярных аденом щитовидной железы. В опухолевых клетках фолликулярного и папиллярного тиреоидного рака галектин-3 иммуногистохимически определялся в 87,5 и 100 % препаратов соответственно, в связи с чем галектин-3 может применяться в качестве маркера дифференциальной диагностики рака и фолликулярных аденом в комплексе с другими онкомаркерами. Фолликулярные аденомы щитовидной железы с наличием экспрессии галектина-3 необходимо расценивать как новообразования с высоким потенциалом малигнизации или злокачественные, что требует соответствующего хирургического вмешательства.

Ключевые слова: *галектин-3, щитовидная железа, фолликулярная аденома, папиллярный рак, фолликулярный рак.*

GALECTIN-3 EXPRESSION IN FOLLICULAR THYROID TUMORS

V. V. Khaziev, N. I. Goidenko

Summary. Immunohistochemistry revealed no expression of galectin-3 in the cases of follicular adenoma of the thyroid gland. In tumor cells of thyroid follicular and papillary cancer galectin-3 was determined immunohistochemically in 87.5 % and 100 % respectively, therefore galectin-3 may be used as a marker for the differential diagnosis of cancer and follicular adenoma in combination with other oncomarkers. Follicular adenoma of the thyroid gland with the presence of galectin-3 should be regarded as a neoformation with a high potential for malignancy or malignant, which requires an appropriate surgical intervention.

Key words: *galectin-3, thyroid, follicular adenoma, papillary carcinoma, follicular carcinoma.*