

Н.П. Ткачук, М.І. Шеремет

Кафедра хірургії № 1 (зав. – проф. І.Ю. Полянський) Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет», Чернівці

ОЦІНКА МАРКЕРІВ ПРОЛІФЕРАЦІЇ ТА АПОПТОЗУ У ХВОРИХ НА ПІСЛЯОПЕРАЦІЙНИЙ РЕЦИДИВНИЙ ЗОБ

Резюме. У статті наведено результати порівняльного аналізу процесів апоптозу та проліферативної активності у тканині щитоподібної залози (ЩЗ) у хворих на післяопераційний рецидивний зоб (ПРЗ), аденому щитоподібної залози (АЩЗ) та у нормальній тиреоїдній тканині. Під час імуногістохімічного дослідження тканини виявлено високу проліферативну активність тканини у хворих на ПРЗ, помірну проліферативну активність тканини при АЩЗ і низьку в контролі. При ПРЗ відзначена інтенсивна експресія Fas, Bcl-2 та Ki-67 порівняно з нормальною тканиною, так і з аденомою ЩЗ, що засвідчує про імунологічно обумовлену загибель тиреоїдного епітелію. Під час дослідження комбінованих показників апоптозу та проліферації у цих хворих виявлено, що у випадках ПРЗ підвищена кількість усіх груп поєднаних клітин як у порівнянні з групою пацієнтів з АЩЗ, так і з незміненою тиреоїдною тканиною. Показники проліферації та апоптозу в тканині ЩЗ можуть слугувати додатковими прогностичними маркерами післяопераційного рецидивного зобу.

Ключові слова: щитоподібна залоза; післяопераційний рецидивний зоб; апоптоз; проліферація.

Незважаючи на великий досвід хірургічного лікування вузлового зоба, частота післяопераційного рецидиву не знижується і досягає 5-10%. Серед проблем тиреоїдної хірургії найбільш обговорюваними в літературі залишаються розробка показань до операції з вибором її оптимального обсягу, а також профілактика післяопераційних рецидивів та гіпотиреозу [1-3].

Чимало в літературі відомо публікацій, присвячених вивченню морфології щитоподібної залози при післяопераційному рецидивному зобі [4-9].

Сукупна точність клінічних, інструментальних і лабораторних методів діагностики щодо встановлення морфологічного походження вузлових новоутворень ЩЗ навіть за найсміливішими висновками не перевищує 80 % [1, 5, 8, 10, 11]. Такий результат не може задовольнити ні хірургів (невіправдана гіпердіагностика раку щитоподібної залози, ні ендокринологів (неадекватний і несвочасний відбір пацієнтів для хірургічного лікування). Клінічно встановити злоякісність вузла на ранньому етапі досить складно, а діагноз, як правило, встановлюється на пізніх стадіях при наявності регіонарних і віддалених метастазів [8,9]. У якості критеріїв прогнозування ПРЗ пропонуються чисельні імуногістохімічні, імуноцитохімічні та молекулярні маркери, жоден з яких, на жаль, не має стовідсоткової специфічності [5, 6, 8, 9].

Одним із факторів виникнення ПРЗ є пору-

шення регуляції клітинного циклу з пригніченням апоптозу та активацією проліферації [11-14].

Перспективним маркером вважається Ki-67. Антитіла Ki-67 розпізнають ДНК-зв'язаний ядерний протеїн, що наявний в ядрах клітин в 01-, 8-, 02- та М-фазах і не існує в 0₀-фазі. Проліферативна активність багатьох новоутворень оцінюється за допомогою Ki-67. Виявлено зв'язок між значеннями індексу проліферації, ступенем гістологічної диференціації пухлини і клінічним прогнозом при злоякісних пухлинах ендометрію, яєчників, легенів, молочної залози, сечового міхура, лімфомах та пухлинах нервової системи [10-14].

Багатообіцяючим для прогностичного застосування є маркер p53. Білок p53 - продукт гена-супресора пухлини p53, експресується в усіх клітинах організму. Результатом його активації є зупинка клітинного циклу і реплікації ДНК, а при надмірному стресовому сигналі – запуск апоптозу. Білок p53 активується при ушкодженнях генетичного апарату, а також при стимулах, які можуть призвести до подібних пошкоджень або є сигналом при несприятливому стані клітини (стресовому стані). Функція білка p53 полягає у видаленні з пулу тих клітин, які є потенційно онкогенними, звідси образна назва білка p53 – англ. guardianofthegenome – охоронець геному [13-17].

Ряд авторів досліджували молекулярно-біологічні маркери апоптозу та проліферації при злоякісних захворюваннях ЩЗ та дифузному токсич-

ному зобі [4,7,8,12,13]. Однак публікації стосовно використання імуногістохімічних маркерів з метою прогнозування ПРЗ в літературі практично відсутні.

Таким чином, неоднозначне трактування результатів проведених досліджень різними авторами дає змогу зробити висновок про те, що оцінка маркерів, які регулюють апоптоз, та їх взаємовідносин між собою (білка p53 і його мутацій, Bcl-2, Fas-системи) і з показниками проліферації (Ki-67) з метою прогнозування післяопераційного рецидивного зобу є вкрай актуальною проблемою.

Мета дослідження: створення нових прогностичних маркерів діагностики післяопераційного рецидивного зоба шляхом дослідження активності апоптозу і проліферації у тканині щитоподібної залози у таких пацієнтів.

Матеріал і методи. Упродовж 2016-2018 рр. обстежили 55 жінок зі скаргами на дискомфорт у ділянці ший. Оцінювали гормональний статус (ТТГ, вільний Т4, вільний Т3), рівень антитіл до тиреоглобуліну (АТ-ТГ) і до тиреодної пероксидази (АТ-ТПО), обсяг і структуру щитоподібної залози (ЩЗ) за даними ультразвукового дослідження.

У 30 встановлено діагноз ПРЗ (I-а група, основна). Рецидивний зоб виник через $12 \pm 7,5$ років після операції. Показами до повторної операції у цій групі хворих були: збільшення щитоподібної залози зі симптомами стиснення і звуження трахеї та стравоходу; наявність вузлів з компресією на органи ший; прогресуюче зростання зоба, незважаючи на проведену протягом 1-1,5 років консервативну терапію; підозра на злоякісне переродження, засноване на даних ТАПБ.

Нами виділена група з 25 жінок, у яких, за даними УЗД, тонкоголкової аспіраційної пункційної біопсії (ТАПБ) та гістологічного заключення після операції було діагностовано аденому ЩЗ (II-а група). Ми виділили цю групу в зв'язку з тим, що ця патологія є однією з найбільш розповсюджених серед вузлових форм зоба.

Для контролю вилучено тканину щитоподібної залози, взятої від 36 жителів Чернівецької області, загинувших під час ДТП та нещасних випадків (III група).

У дослідження не вилучали пацієнток з гіпертиреозом, маніфестним гіпотиреозом, артеріальною гіпертензією та серцево-судинними захворюваннями, тяжкою соматичною патологією і після настання менопаузи.

У всіх хворих виконано оперативне втручання. Об'єм операції – від гемітиреоїдектомії до тире-

оїдектомії. Після проведеного втручання тканина ЩЗ для забиралася для імуногістохімічного дослідження не пізніше ніж 30 хв. після операції. Шматочки тканини масою 100-300 мг доставлялися на льоду в лабораторію і відразу ж розрізали на 4-6 частин масою в середньому по 50-70 мг кожен. Після поділу їх закривали у спеціальний пластиковий контейнер і зберігали при температурі -70°C до виконання основних досліджень.

У всіх хворих з операційного матеріалу (тканин) готували суспензію клітин, фарбуючи тиреоцити моноклональними антитілами (МКА) до мембранних рецепторів і внутрішньоклітинних білків. У роботі використовували МКА для оцінки параметрів апоптозу та проліферації фірми «CALTAG» (Австрія) - Bcl-2-Fits, Fas-PE-Cy5, FasL-PE-Cy5 та p53-Fits і Ki-67-PE фірми «DAKO» (США).

Щільність експресії мембранних (внутрішньоклітинних) рецепторів (білків) оцінювали в умовних одиницях (у. Од.) по середній інтенсивності світіння флуоресценції (MFI), пропорційної номеру каналу, виміряного в логарифмічному режимі.

При підрахунку клітин оцінювали показники проліферації та апоптозу у ділянках дослідження, використовуючи гейтування (рисунок), при якому визначалося вікно, куди потрапляли клітини розміром до 25 мкн.

Визначали кількість клітин і їх щільність з маркерами, розподіленими на поверхні клітин, Fas, FasL і внутрішньоклітинних маркерів проліферації Ki-67 та апоптозу Bcl-2, p53. Фенотипування проводили на проточному цитофлуориметрі з підрахунком 100000 подій у зразку і розрахунком відносної кількості клітин, а також показником щільності експресії рецепторів (білків) на клітинах, або групі клітин.

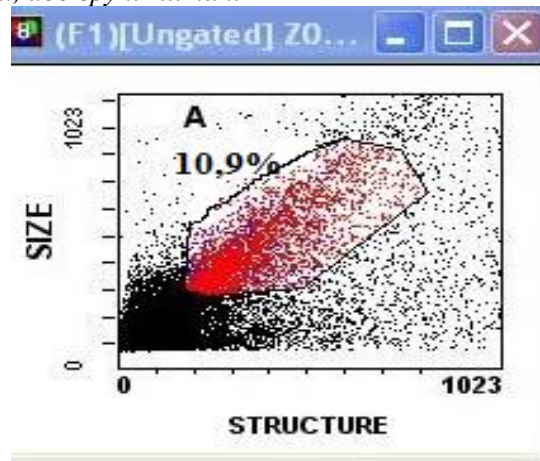


Рисунок. Гістограма зони дослідження гетерогенної суспензії тканини ЩЗ з обмеженою зоною гейтування (А)

Цифрові дані (гістограми) у вигляді файлів (LMD) аналізували спеціальною аналітичною програмою CXР ver.2.2 з отриманням результатів проведених досліджень.

Також досліджували нечисельні групи клітин, утворені можливими комбінаціями: p53 / Ki-67, p53 / Fas, Bcl-2 / Ki-67, Bcl-2 / Fas, Fas / Ki-67, p53 / FasL, Fas / FasL, Bcl-2 / FasL.

Результати дослідження та їх обговорення. Хворі на ПРЗ та АЩЗ не відрізнялись за віком (відповідно $34,2 \pm 10,33$ і $38,0 \pm 10,62$ року, $p = 0,12$), індексом маси тіла (ІМТ $23,5 \pm 2,71$ і $24,3 \pm 4,88$ кг / м², $p = 0,43$, відповідно). Цифрові результати проведених досліджень представлені в таблиці 1.

У хворих I-ої групи відзначено високовірогідне підвищення кількості клітин з маркером Fas та Fas-L порівняно з АЩЗ і, особливо, з незміненою тканиною залози. Це засвідчує про високу ймовірність розвитку Fas-індукованого апоптозу тиреоцитів при ПРЗ.

Дослідження внутрішньоклітинного маркера проліферації Ki-67 у пацієнтів із захворюваннями ЩЗ показало, що кількість клітин, що несуть цей маркер, була високовірогідно більшою за ПРЗ на 68,2%, ніж за АЩЗ ($p=0,0001$), та на 76,3%, ніж у незміненої тканині ЩЗ ($p=0,0001$). Таким чином, виявлено пряму залежність між вираженістю експресії білка Ki-67 і Fas рецепторів у хворих на ПРЗ.

Загальна кількість клітин з онкосупресором p53 була вищою у групі хворих на ПРЗ, ніж у пацієнтів із АЩЗ на 52,6% ($p=0,001$). Натомість щільність рецепторів p53 була більшою у хворих АЩЗ ($4,19 \pm 1,09$ у. Од.), ніж у таких із ПРЗ, де цей показник становив $3,07 \pm 0,28$ у. од. Водночас, щільність рецепторів p53 у незміненої тканині була у 2,5 раза нижчою, ніж у пацієнтів на ПРЗ, та більш ніж у 3 рази – ніж у хворих на АЩЗ. За да-

ними літератури, втрату функції білка p53 встановлювали приблизно у 50 % випадків злоякісних пухлин людини, у тому числі і щитоподібної залози [13-17].

Отримані дані вказують на можливість використання p53 як маркера прогнозування післяопераційного рецидивного зоба.

Загальна кількість клітин із білком Bcl-2 була більшою на 15,14% ($p=0,05$) у пацієнтів із ПРЗ, ніж у хворих на АЩЗ, і на 11,5% ($p=0,05$) більшою, ніж у незміненої тканині, і супроводжувалася підвищеною щільністю розподілу цього внутрішньоклітинного білка на 45,5% ($p=0,001$) і 51,85% ($p=0,001$), відповідно. Високий рівень цього антиапоптичного показника засвідчує про стримування процесів ініціації апоптозу і збільшення строків виживання тиреоцитів.

Оцінка маркера проліферації Ki-67 у тканинах ЩЗ у хворих на ПРЗ засвідчила наявність більшої кількості клітин із внутрішньоклітинним білком Ki-67, ніж у групі пацієнтів із АЩЗ, за відносно невисокої щільності розподілу цього білка в Ki-67-позитивних клітинах. За даними літератури, якщо прийняти рівень 20 % за межу між доброякісними та злоякісними новоутвореннями ЩЗ, то за допомогою Ki-67 можна визначати малігнізацію на пункційному матеріалі з чутливістю до 82 % і точністю до 84 % [11, 14].

У зв'язку з цим виникає необхідність поєднаного використання показників маркерів апоптозу та проліферації з розрахунком порогових значень величин і показників діагностичної ефективності для прогнозування ПРЗ (табл. 2).

Під час дослідження комбінованих показників апоптозу та проліферації у хворих на ПРЗ виявили більшу кількість усіх груп поєднаних клітин (p53 / Ki-67, p53 / Fas, Bcl-2 / Ki-67, Bcl-2 / Fas, Fas / Ki-

Таблиця 1

Маркери апоптозу та проліферації при ПРЗ та АЩЗ

Показники	Групи пацієнтів, n=91		
	I група n=30	II група n=25	III група n=36
Кількість клітин Fas,%	23,14±9,12	2,64±1,73 ^π	0,78±0,37 [≠]
Щільність рецепторів Fas (у. Од.)	6,07±0,79	8,65±4,52 ^π	13,79±8,22 [≠]
Кількість клітин Fas L,%	12,61±1,74	6,81±2,15 ^π	3,76±1,04 [≠]
Щільність рецепторів Fas L (у. Од.)	7,05±2,73	9,87±4,31	11,13±8,62 ^{≠*}
Загальна кількість клітин p53,%	67,23±3,18	31,72±15,2 ^π	64,75±6,62 [*]
Щільність білка p53 (загальна), у.Од.	3,07±0,28	4,19±1,09	1,47±0,14 ^{≠*}
Кількість клітин Ki-67,%	4,91±0,82	1,53±0,49 ^π	1,16±0,12 [≠]
Щільність білка Ki-67, у. Од.	1,88±0,49	3,26±0,68 ^π	1,26±0,09 [*]
Кількість клітин Bcl-2,%	83,61±9,01	70,11±10,36 ^π	73,87±8,23
Щільність білка Bcl-2, у. Од.	9,12±1,65	4,51±1,65 ^π	3,91±0,32 [≠]

Примітки:^π – вірогідність відмінностей між групами II і I ($p < 0,05$).; [≠] – вірогідність відмінностей між групами III і I ($p < 0,05$).; ^{*} – вірогідність відмінностей між групами III і II ($p < 0,05$)

Таблиця 2

Показники груп клітин і щільності рецепторів в / на клітинах із поєднаннями маркерів, що регулюють апоптоз і проліферацію при ПРЗ та АЩЗ

Показники	Групи пацієнтів, n=91		
	I група n=30	II група n=25	III група n=36
Кількість клітин p53/Ki-67, %	4,97±0,63	1,34±0,43 ^π	0,79±0,12 [≠]
Щільність білка p53, у. Од.	12,14±0,71	7,38±1,61 ^π	4,47±0,28 [≠]
Щільність білка Ki-67, у. Од.	4,73±1,56	2,82±0,77 ^π	1,69±0,11 [≠]
Кількість клітин p53/Fas, %	12,67±2,1	3,12±2,08 ^π	1,14±0,39 ^{≠*}
Щільність білка p53, у. Од.	11,91±0,61	9,05±0,38 ^π	7,42±0,19
Щільність рецепторів Fas, у. Од.	2,86±0,08	3,72±0,31	3,78±0,77
Кількість клітин Bcl-2/ Ki-67, %	5,27±0,86	2,63±0,18 ^π	0,41±0,09 [≠]
Щільність білка Bcl-2, у. Од.	8,57±0,51	7,11±2,19	4,82±0,38 ^{≠*}
Щільність білка Ki-67, у. Од.	3,11±0,12	2,37±0,96	1,07±0,09 ^{≠*}
Кількість клітин Bcl-2/ Fas, %	37,4±1,95	2,42±1,31 ^π	0,71±0,14 ^{≠*}
Щільність білка Bcl-2, у. Од.	8,93±0,49	10,42±1,29	12,28±2,47
Щільність рецепторів Fas, у. Од.	6,07±0,92	6,29±2,79	12,14±3,81 ^{≠*}
Кількість клітин Fas /Ki-67, %	3,32±1,68	1,22±0,17 ^π	0,38±0,43 ^{≠*}
Щільність рецепторів CD95, у. Од.	9,43±2,71	5,93±2,16 ^π	7,96±0,94
Щільність білка Ki-67, у. Од.	2,61±0,63	2,73±0,59	2,55±0,47
Кількість клітин p53/Fas L, %	9,78±1,57	3,39±1,46 ^π	2,57±0,54 [≠]
Щільність білка p53, у. Од.	9,57±0,54	7,67±2,85	5,43±0,41
Щільність рецепторів Fas L, у. Од.	6,52±0,32	6,55±3,78	4,73±1,16
Кількість клітин Fas /Fas L, %	8,27±1,18	1,03±0,38 ^π	0,56±0,23 ^{≠*}
Щільність рецепторів CD95, у. Од.	5,45±1,98	6,47±2,87	14,08±5,89 ^{≠*}
Щільність рецепторів CD95L	8,76±2,95	56,14±18,77 ^π	84,17±39,24 ^{≠*}
Кількість клітин Bcl-2/Fas L, %	13,07±1,73	2,81±0,71 ^π	1,44±0,31 [≠]
Щільність білка Bcl-2, у. Од.	11,15±0,62	10,08±2,68 ^π	16,04±2,42 ^{≠*}
Щільність рецепторів Fas L, у. Од.	2,35±0,19	5,72±2,67 ^π	3,59±0,47 [≠]

Примітки:^π – вірогідність відмінностей між групами II і I ($p < 0,05$); [≠] – вірогідність відмінностей між групами III і I ($p < 0,05$); * – вірогідність відмінностей між групами III і II ($p < 0,05$)

67, p53 / FasL, Fas / FasL, Bcl-2 / FasL) у 3-25 разів порівняно з групою пацієнтів з АЩЗ (табл. 2).

Найвагоміші відмінності виявлено в групі клітин Bcl-2 / Fas, які мали більш ніж 25-кратне їх перевищення у хворих на ПРЗ порівняно з пацієнтами з АЩЗ, що може служити додатковим діагностичним і прогностичним тестом до інших основних інструментальних, лабораторних і морфологічних методів дослідження з метою поліпшення діагностики ПРЗ.

Висновки. 1. У хворих на післяопераційний рецидивний зоб відбувається активація Fas-індукованого апоптозу тиреоїдних клітин ЩЗ із вираженою експресією Fas на тиреоцитах та їх деструкцією, а також збільшення кількості імунореактивних клітин, які експресують Ki-67, що засвідчує про компенсаторну реакцію щодо регенерації збереженого фолікулярного епітелію ЩЗ. 2. Виражена експресія Bcl-2 у лімфоцитах ЩЗ хворих на післяопераційний рецидивний зоб запобігає

входу клітин у процес апоптозу і подовжує час їх виживання, що, безсумнівно, відіграє важливу роль під час рецидивування гіперпластичних процесів у тканині ЩЗ. 3. Визначення показників (кількість клітин, щільність експресії рецепторів / білків) основних і поєднаних маркерів, регуляторів апоптозу та проліферативної здатності досліджуваної суспензії клітин (p53 / Ki-67, p53 / Fas, Bcl-2 / Ki-67, Bcl-2 / Fas, Fas / Ki-67, p53 / FasL, Fas / FasL, Bcl-2 / FasL) можуть слугувати додатковими діагностичними і прогностичними тестами до основних інструментальних, лабораторних і морфологічних методів діагностики післяопераційного рецидивного зобу, підтверджуючи їх діагностичну цінність.

Перспектива подальших досліджень. Перспективним є дослідження процесів апоптозу та проліферативної активності в аспіраційному біоптаті тканини щитоподібної залози для прогнозування післяопераційного рецидивного зобу.

Список використаної літератури

1. Rudnicki J, Agrawal AK, Jelen M, Sebastian M, Sroczynski M, Zysko D. Histopathological evaluation of recurrent goiter. *Folia Histochem Cytobiol.* 2010;48(3):430-3.
2. Johnson S, Goldenberg D. Intraoperative Monitoring of the Recurrent Laryngeal Nerve During Revision Thyroid Surgery. *Otolaryngol Clin N Am.* 2008;41:1147-54.
3. Cappellani A, Di Vita M, Zanghi A, Lo Menzo E, Cavallaro A, Alfano G, Giuffrida D. The recurrent goiter: prevention and management. *Ann Ital Chir.* 2008;79(4):247-53.
4. Gibelin H, Sierra M, Mothes D, Ingrand P, Levillain P, Jones C, Hadjadj S, Torremocha F, Marechaud R, Barbier J, Kraimps JL. Risk factors for recurrent nodular goiter after thyroidectomy for benign disease: case-control study of 244 patients. *World J Surg.* 2004;28(11):1079-82.
5. Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR, Kloos RT, Lee SL, Mandel SJ, Mazzaferri EL, McIver B, Sherman SI, Tuttle RM. Management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer (The American Thyroid Association Guidelines Taskforce). *Thyroid.* 2006; 16(2):1-34.
6. Pelizzo MR, Merante Boschin I, Toniato A, Sorgato N, Marzola MC, Rubello D. Surgical therapeutic planning options in nodular goiter. *Minerva Endocrinol.* 2010;35(3):173-85.
7. Sheremet M. I., Sydorчук L. P., Shidlovskiy V. O., Bedenyuk A. D. et al. New prognostic markers of nodular forms of goiter combined with autoimmune thyroiditis. *Journal of Education, Health and Sport.* 2017;7(3):475-482.
8. Moalem J, Suh I, Duh QY. Treatment and Prevention of Recurrence of Multinodular Goiter: An Evidence-based Review of the Literature. *World J Surg* 2008;32:1301-12.
9. Sheremet M.I., Shidlovskyy V.O., Sydorчук L.P. Analysis of a process of peroxidation, caspase-3 and caspase-8 in patients with autoimmune thyroiditis. *Journal of Education, Health and Sport.* 2015; 5(11):117-125.
10. Unalp HR, Erbil Y, Akguner T, Kamer E, Derici H, Issever H. Does near total thyroidectomy offer advantage over total thyroidectomy in terms of postoperative hypocalcemia? *Int J Surg.* 2009; 7(2):120-5.
11. Sheremet M.I., Shidlovskyy V.O., Sydorчук L.P. Assessment of proliferation and apoptosis markers in patients with autoimmune thyroiditis. *Journal of Education, Health and Sport.* 2016; 6 (1):179-188.
12. Terris DJ, Khichi S, Anderson SK, Seybt MW. Reoperative thyroidectomy for benign thyroid disease. *Head-Neck.* 2010;32: 285-9.
13. Tezelman S, Borucu I, Senyurek Giles Y, Tunca F, Terzioglu T. The change in surgical practice from sub-total to near-total or total thyroidectomy in the treatment of patients with benign multinodular goiter. *World J Surg.* 2009; 33(3):400-5.
14. Sheremet MI. Hashimoto's thyroiditis: surgical treatment. *Akademios. – Revista de stiinta, inovare, cultura si arta. Chisinau,* 2015; 2(37):77-80.
15. Sheremet M. I., Shidlovskyy V. O., Girila Y. V., Tkachuk N. P. et al. SFAs and FasL in etiopathogenesis of autoimmune diseases of the thyroid gland and nodular forms of goiter. *Journal of Education, Health and Sport.* 2015;5(12):41-49.
16. L.P. Sydorчук, A. R. Sydorчук I, M. I. Sheremet, R. I. Sydorчук et al. Cytokines cascade changes in patients with rheumatoid arthritis depending on endothelial NO-synthase (T-786C) genes polymorphism. *Archives of the Balkan Medical Union.* 2017; 52 (1): 32-38.
17. Dogan L, Karaman N, Yilmaz KB, Ozaslan C, Atalay C. Total thyroidectomy for the surgical treatment of multinodular goiter. *Surg Today.* 2011;41(3):323-7.

References

1. Rudnicki J, Agrawal AK, Jelen M, Sebastian M, Sroczynski M, Zysko D. Histopathological evaluation of recurrent goiter. *Folia Histochem Cytobiol.* 2010;48(3):430-3.
2. Johnson S, Goldenberg D. Intraoperative Monitoring of the Recurrent Laryngeal Nerve During Revision Thyroid Surgery. *Otolaryngol Clin N Am.* 2008;41:1147-54.
3. Cappellani A, Di Vita M, Zanghi A, Lo Menzo E, Cavallaro A, Alfano G, et al. The recurrent goiter: prevention and management. *Ann Ital Chir.* 2008;79(4):247-53.
4. Gibelin H, Sierra M, Mothes D, Ingrand P, Levillain P, Jones C, et al. Risk factors for recurrent nodular goiter after thyroidectomy for benign disease: case-control study of 244 patients. *World J Surg.* 2004;28(11):1079-82.
5. Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR, Kloos RT, Lee SL, Mandel SJ, et al. Management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer (The American Thyroid Association Guidelines Taskforce). *Thyroid.* 2006;16(2):1-34.
6. Pelizzo MR, Merante Boschin I, Toniato A, Sorgato N, Marzola MC, Rubello D. Surgical therapeutic planning options in nodular goiter. *Minerva Endocrinol.* 2010;35(3):173-85.

7. Sheremet MI, Sydoruk LP, Shidlovskiy VO, Bedenyuk AD. New prognostic markers of nodular forms of goiter combined with autoimmune thyroiditis. *Journal of Education, Health and Sport*. 2017;7(3):475-82.
8. Moalem J, Suh I, Duh QY. Treatment and Prevention of Recurrence of Multinodular Goiter: An Evidence-based Review of the Literature. *World J Surg*. 2008;32:1301-12.
9. Sheremet MI, Shidlovskyy VO, Sydoruk LP. Analysis of a process of peroxidation, caspase-3 and caspase-8 in patients with autoimmune thyroiditis. *Journal of Education, Health and Sport*. 2015; 5(11):117-25.
10. Unalp HR, Erbil Y, Akguner T, Kamer E, Derici H, Issever H. Does near total thyroidectomy offer advantage over total thyroidectomy in terms of postoperative hypocalcemia? *Int J Surg*. 2009;7(2):120-5.
11. Sheremet MI, Shidlovskyy VO, Sydoruk LP. Assessment of proliferation and apoptosis markers in patients with autoimmune thyroiditis. *Journal of Education, Health and Sport*. 2016;6(1):179-88.
12. Terris DJ, Khichi S, Anderson SK, Seybt MW. Reoperative thyroidectomy for benign thyroid disease. *Head-Neck*. 2010;32:285-9.
13. Tezelman S, Borucu I, Senyurek Giles Y, Tunca F, Terzioglu T. The change in surgical practice from subtotal to near-total or total thyroidectomy in the treatment of patients with benign multinodular goiter. *World J Surg*. 2009; 33(3):400-5.
14. Sheremet M.I. Hashimoto's thyroiditis: surgical treatment. *Akademios*. 2015;2:99-102.
15. Sheremet MI, Shidlovskyy VO, Girla YV, Tkachuk NP, Tibirna AG, Dorosh VP. SFas and FasL in etiopathogenesis of autoimmune diseases of the thyroid gland and nodular forms of goiter. *Journal of Education, Health and Sport*. 2015;5(12):41-9. doi: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.34845>
16. Sydoruk LP, Sydoruk AR, Sheremet MI, Sydoruk RI, Petrynych OA, Kazantseva TV, et al. Cytokines cascade changes in patients with rheumatoid arthritis depending on endothelialno-synthase (T-786C) genes polymorphism. *Archives of the Balkan Medical Union*. 2017;52 (1):32-8.
17. Dogan LI, Karaman N, Yilmaz KB, Ozaslan C, Atalay C. Total thyroidectomy for the surgical treatment of multinodular goiter. *Surg Today*. 2011 Mar;41(3):323-7. doi: 10.1007/s00595-009-4272-6.

ОЦЕНКА МАРКЕРОВ ПРОЛИФЕРАЦИИ И АПОПТОЗА У БОЛЬНЫХ НА ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫЙ РЕЦИДИВНЫЙ ЗОБ

Резюме. В статье приведены результаты сравнительного анализа процессов апоптоза и пролиферативной активности в ткани щитовидной железы (ЩЖ) у больных послеоперационный рецидивирующий зоб (ПРЗ), аденому щитовидной железы (АЩЗ) и нормальной тиреоидной ткани. При иммуногистохимическом исследовании ткани была обнаружена высокая пролиферативную активность ткани у больных ПРЗ, умеренная пролиферативная активность ткани при АЩЗ и низкая в контроле. При ПРЗ отмечена интенсивная экспрессия Fas, Bcl-2 и Ки-67 по сравнению с нормальной тканью, так и с аденомой щитовидной железы, что свидетельствует о иммунологически обусловленную гибель тиреоидного эпителия. При исследовании комбинированных показателей апоптоза и пролиферации у этих больных выявлено, что в случаях ПРЗ повышенное количество всех групп объединенных клеток как по сравнению с группой пациентов с АЩЗ, так и с не измененной тиреоидной тканью. Показатели пролиферации и апоптоза в ткани щитовидной железы могут служить дополнительными прогностическими маркерами после операционного рецидивного зоба.

Ключевые слова: щитовидная железа; послеоперационный рецидивирующий зоб; апоптоз; пролиферация.

ESTIMATION OF MARKERS OF PROLIFERATION AND APOPTOSIS IN PATIENTS WITH POSTOPERATIVE RECURRENT GOITER

Abstract. The article presents the results of a comparative analysis of apoptosis and proliferative activity in the thyroid tissue of patients with postoperative recurrent goiter, thyroid gland adenoma and normal thyroid tissue. Immune-histochemical examination of the tissue found high proliferative activity of the tissue was found in patients with postoperative recurrent goiter, moderate proliferative activity of the tissue with thyroid adenoma and low in the control. In postoperative recurrent goiter, intense expression of Fas, Bcl-2 and KI-67 were detected in comparison with normal tissue and adenoma of the thyroid gland, indicating an immunologically determined loss of thyroid-bearing epithelium. Examination of combined indices of apoptosis and proliferation in these patients found that in cases of postoperative recurrent goiter the number of all the groups of combined cells increased both in comparison with the group of patients with thyroid gland and with unchanged thyroid tissue. Indicators of proliferation and apoptosis in the thyroid tissue can serve as additional prognostic markers for postoperative recurrent goiter.

Key words: thyroid gland, postoperative recurrent goiter, apoptosis, proliferation.

Відомості про авторів:

Ткачук Ніна Петрівна – асистент кафедри хірургії № 1 Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет»;

Шеремет Михайло Іванович – доцент кафедри хірургії № 1 Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет».

Information about authors:

Tkachuk Nina P. – Assistant of the Department Surgery № 1 Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi;

Sheremet Mykhailo I. – Associate Professor of the Department Surgery № 1 Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi.

Надійшла 22.03.2019 р.

Рецензент – проф. Шидловський В.О. (Тернопіль)