

М. Туффаха, С.Г. Гичка, Д. Шмідт-Шнайдерс*

ДОЦІЛЬНІСТЬ КОМПЛЕКСНОГО ПІДХОДУ ДО ВИКОРИСТАННЯ ІМУНОГІСТОХІМІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ У ДІАГНОСТИЦІ ПУХЛИН

Київський медичний університет УАНМ, Київ

*Інститут патології клініки Карла Тіма, Коттбус (Німеччина)

ВСТУП

Використання лише одного (двох) маркерів під час імуногістохімічних досліджень є найбільш поширеною помилкою в онкологічній діагностиці, надто у випадках диференційної діагностики злоякісних пухлин зі схожими морфологічними картинами або пухлин із близьким імунофенотипом [1]. У кожному конкретному випадку правильним є використання адекватної панелі антитіл, що допомагає уникнути помилкового тлумачення результатів. Завжди бажано для підтвердження або виключення діагнозу провести імуногістохімічне дослідження з додатковими антитілами. Особливої обережності слід дотримувати у діагностиці пухлин тих органів, які зрідка, але уражаються метастазами.

Метою дослідження була ілюстрація проведення такого роду діагностики та диференційної діагностики на прикладі випадку з практики – пухлинного ураження щитоподібної залози (ЩЗ).

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ

У роботі вивчали операційний матеріал – видалену ЩЗ хворого Х., 1947 р. н., якому раніше в іншій клініці за результатами біопсійного дослідження було встановлено діагноз "фолікулярна карцинома щитоподібної залози" на підставі гістологічного дослідження та результатів імуногістохімічної реакції з використанням ТТФ-1, експресія якого, як правило, є позитивною для тиреоїдних пухлин.

Хворому було виконано тиреоїдектомію, видалено ЩЗ вагою 72 г. Клінічний діагноз: "фолікулярна карцинома щитоподібної залози? Метастаз пухлини?". У роботі застосовано гістологічні, імуногістохімічні та молекулярні методи дослідження. Гістологічні препарати забарвлювали гематоксилін-еозином і за методикою PAS, на парафінових зрізах проводили імуногістохімічні реакції з використанням рекомен-

дованої панелі антитіл [1-3]: тиреоглобулін, ТТФ-1, PAX-8, кальцитонін, цитокератиновий профіль. Додатково застосовано антитіла для виявлення експресії напсину, PEA, хромограніну В, CD56 і Ki-67.

Молекулярні дослідження включали проведення PCR із Kit-комплектом фірми "Qiagen", що дозволяє виявити 29 мутацій в EGFR (рецептор епідермального чинника росту 2) на базі нормального гена, а саме: 19 делецій в екзоні 19; мутації T790M, L858R, L861Q; 3 мутації G719X (G719S, G719A і G719C); мутацію S768I; 3 інверсії в екзоні 20.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Макроскопічний опис: препарат щитоподібної залози з капсулою. У правій і лівій частках дифузно визначали тверді інфільтрати, сіро-білого кольору, що мали нечіткі межі. Найбільший розмір пухлинного інфільтрату у ЩЗ склав 72 мм. Розміри лівої частки становили 74×32×22 мм, правої – 75×40×28 мм. Макроскопічно капсула залози була інтактною.

Мікроскопічні зміни: у паренхімі ЩЗ в обох частках виявляли фолікулярні структури, вистелені однорядним сплосченим кубічним епітелієм. Фолікули ЩЗ мали різну величину, були заповнені колоїдом. Дифузно між фолікулами визначали ділянки, що складались переважно з поліморфних атипичних клітин з еозинофільною цитоплазмою, що мали як витягнуту форму, так і форму правильного багатогранника. Частина клітин мали гігантські розміри, визначались також окремі фігури мітозу. У пухлинних клітинах містилися великі, пухкі везикулярні ядра з одним або декількома грудкуватими ядерцями. Осередки пухлинного росту мали здебільшого солідну будову. У ділянках пухлинного росту не виявлено осередків плоскоклітинної диференціації, як і чітких тубулярно-залозистих утворень. Визначали фокальні комедоподібні некрози пухлинної тканини. Крім того, виявлено ознаки ма-

сивної інвазії пухлинних клітин у лімфатичні та кровоносні судини та осередки екстраорганної інвазії (рис. 1).

За результатами імуногістохімічного дослідження виявлено інтенсивну експресію TTF-1 у пухлині та оточуючій залозу тканині (рис. 2).

Реакція на PAX-8 була позитивною лише у збереженій паренхімі ЩЗ і негативною – у клітинах пухлини (рис. 3).

Реакція на тиреоглобулін також була чітко позитивною у паренхімі ЩЗ і негативною – у клітинах пухлини (рис. 4). Експресія кальцитоніну була негативною в усіх клітинах.

Реакція на ЦК7 була позитивною як у нормальних, так і у пухлинних клітинах. Експресія ЦК5/6 у цих структурах була негативною.

У зв'язку з виявленим нетиповим імуногістохімічним профілем пухлини ЩЗ було проведено додаткове дослідження, що включало таку панель: напсин, PEA, Ki-67, хромогранин В,

CD56. Останні два маркери використано з метою виключення нейроектодермальної природи пухлини.

У результаті дослідження виявлено, що пухлинні клітини інтенсивно експресували напсин і PEA, що характерно для легеневої карциноми (рис. 5).

Реакція на хромогранин В була негативною як у нормальних, так і у пухлинних клітинах. Також пухлинні клітини негативно забарвлювалися в реакції на CD56. Лише окремі епітеліальні клітини фолікулів давали позитивну реакцію на цей маркер. Індекс проліферації (Ki-67) у клітинах пухлини склав близько 5%.

Отже, було підтверджено метастатичне ураження ЩЗ. Патогістологічна картина та результати проведеного імуногістохімічного дослідження свідчать про розповсюджене метастатичне ураження ЩЗ первинною пухлиною з імунофенотипом, характерним для аденокарциноми ле-

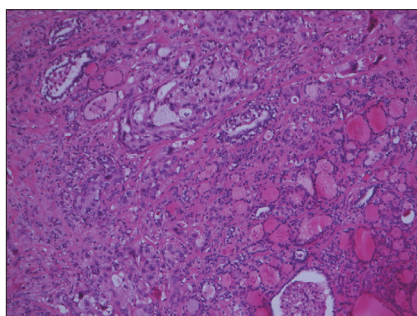


Рис. 1. Дифузно-осередкові розростання пухлини солідної та залозистоподібної будови у щитоподібній залозі. Забарвлення гематоксилином і еозином. $\times 100$.

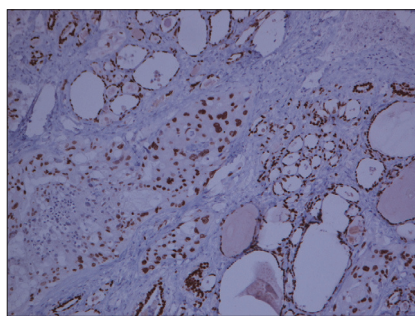


Рис. 2. Інтенсивна експресія TTF-1 у пухлині та оточуючій залозу тканині. Імуногістохімічне забарвлення. $\times 100$.

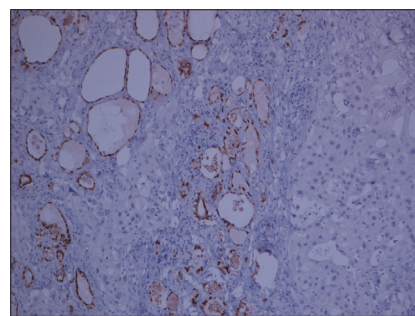


Рис. 3. Позитивна експресія PAX-8 у паренхімі щитоподібної залози та негативна – у пухлині. Імуногістохімічне забарвлення. $\times 100$.

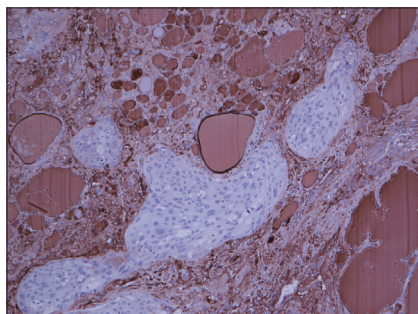


Рис. 4. Позитивна реакція на тиреоглобулін у паренхімі щитоподібної залози; відсутність експресії маркера у пухлинних клітинах. Імуногістохімічне забарвлення. $\times 100$.

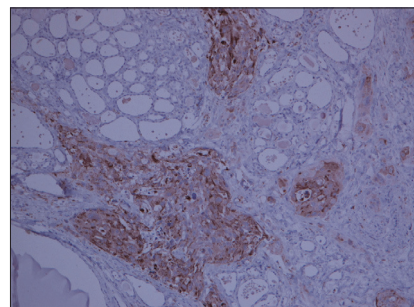


Рис. 5. Інтенсивна експресія напсину у пухлинних клітинах. Імуногістохімічне забарвлення. $\times 100$.

гень, із масивною інвазією пухлини у лімфатичні та кровоносні судини ЩЗ.

Подальше клінічне обстеження хворого із застосуванням комп'ютерної томографії дозволило виявити первинну пухлину в легенях, метастази у медіастинальних лімфатичних вузлах, надниркових залозах і крижовій кістці.

З метою визначення чутливості пухлини до інгібіторів EGFR було додатково проведено молекулярне дослідження. У гені *EGF* виявлено мутацію *T790M*. Рекомендовано застосування препаратів – інгібіторів тирозинкіназ (гефітініб, ерлотиніб, афатиніб) із високою ймовірністю позитивного терапевтичного ефекту [4].

ВИСНОВКИ

1. В імуногістохімічній діагностиці неоплазій щитоподібної залози слід використовувати повну панель, що включає тиреоглобулін, TTF-1, PAX-8, кальцитонін, цитокератиновий профіль.

2. У разі будь-якого відхилення від стандартних результатів імуногістохімічних реакцій, характерних для тиреоїдних пухлин, слід проводити диференційну діагностику пухлини із застосуванням додаткової панелі антитіл.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Туффаха Муин, Гичка С., Гуски Г.* Имуногистохимическая диагностика опухолей. – Киев: ООО "Интермед", 2013. – 223 с.
2. *Tuffaha M.* Phenotypic and genotypic diagnosis of malignancies. Immunohistochemical and molecular approach in tumor diagnosis and detection of minimal residual cancer disease. – Berlin: Wiley-VCH-Verlag, Weinheim, 2008. – 276 p.
3. *Fischer S., Asa S.L.* Application of immunohistochemistry to thyroid neoplasms //Arch. Pathol. Lab. Med. – 2008. – Vol. 132. – P. 359-372.
4. *Pei-Jye Voon, Byoung Chul Cho, Wee-Lee Yeo, Ross A Soo.* The role of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors of the treatment of advanced stage non-small cell lung cancer // J. Thorac. Dis. – 2010. – Vol. 2. – P. 144-153.

РЕЗЮМЕ

Целесообразность комплексного подхода к использованию иммуногистохимических исследований в диагностике опухолей
М. Туффаха, С.Г. Гичка, Д. Шмидт-Шнайдерс

В работе проведено комплексное гистологическое, иммуногистохимическое и молекулярно-генетическое исследование биопсийного и операционного материала случая опухолевого поражения щитовидной железы с целью обоснования алгоритма морфологической и дифференциальной диагностики при патологии такого рода. Сделан вывод, что при иммуногистохимической диагностике неоплазий щитовидной железы должна использоваться полная панель антител, которая включает тиреоглобулин, TTF-1, PAX-8, кальцитонин, цитокератиновый профиль. В случае какого-либо отклонения от стандартных результатов иммуногистохимических реакций, характерных для тиреоидных опухолей, необходимо проводить дифференциальную диагностику с применением дополнительной панели антител.

Ключевые слова: щитовидная железа, неоплазии, иммуногистохимическая диагностика, дифференциальная диагностика.

SUMMARY

Feasibility of an integrated approach to the use of immunohistochemistry in the diagnosis of tumors

M. Tuffaha, S. Gychka, D. Schmidt-Schneiders

The paper conducted a comprehensive histological, immunohistochemical and molecular genetic study of biopsy and surgical specimens case from practice – neoplastic lesions of the thyroid gland in order to justify the algorithm morphological diagnosis and differential diagnosis pathologists at this kind. Argued that with the immunohistochemical diagnosis of thyroid neoplasia should be used full panel of antibodies that includes thyroglobulin, TTF-1, PAX-8, calcitonin, cytokeratin profile. In case of any deviation from the standard results of immunohistochemical reactions characteristic of thyroid tumors, it is necessary to conduct a differential diagnosis with the use of an additional panel of antibodies.

Key words: thyroid gland, neoplasia, immunohistochemical diagnosis, differential diagnosis.

Дата надходження до редакції 27.07.2013 р.