

## АЛГОРИТМ ПРОГНОЗУВАННЯ РАДІОЙОДРЕЗИСТЕНТНОСТІ ПАПІЛЯРНОГО РАКУ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ НА ПІДСТАВІ ЦИТОЛОГІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ МАТЕРІАЛУ ТОНКОГОЛКОВИХ АСПІРАЦІЙНИХ ПУНКЦІЙНИХ БІОПСІЙ\*

Тронько М. Д., Зелінська Г. В., Кваченюк А. М.,

Божок Ю. М., Кулініченко Г. М.

*ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка» НАМН України,  
м. Київ, Україна  
ann.zelinskaya@ukr.net*

Незважаючи на переважно сприятливий прогноз папілярного тиреоїдного раку, найбільшою проблемою його діагностики та лікування залишаються радіоїодрезистентні метастази (РЙРМ), клітини яких втрачають здатність до акумуляції радіоїоду (РЙ) [1–4]. Розвиток радіоїодрезистентності корелює зі скороченням виживання у хворих з віддаленими РЙРМ [5]. Як відомо, запізнення у виявленні метастазів різко погіршує показники виживання хворих на рак щитоподібної залози (ЩЗ) [6]. Тому актуальними є питання ранньої діагностики, лікування та прогнозування появи РЙРМ. Існуючі літературні дані свідчать про розробку методів

прогнозування поведінки пухлин на основі як загально-клінічних, так і гістологічних, імунохімічних і молекулярно-генетичних чинників [7–13]. Відомим є NIS (натрій-йод-симпортер), імуногістохімічне визначення якого проводиться в гістологічному матеріалі папілярних карцином (ПК) ЩЗ, коли вже неможливо вплинути на хід оперативного втручання [14]. Для прогнозування агресивної клінічної поведінки ПК ЩЗ запропоновано використання такого молекулярного фактору, як мутація гену BRAF в пунктатах ПК [15]. Однак, суперечливі дані щодо кореляції його експресії з частотою рецидування, радіоїодрезистентністю та агресивною поведінкою карцином

\* Роботу виконано згідно з плановою науковою тематикою ДУ «Інстит ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка» НАМН України «Діагностика і клінічна оцінка лікування регіонарних та віддалених метастазів диференційованого раку щитоподібної залози у хворих, які були дітьми та підлітками на момент аварії на ЧАЕС», (державний реєстраційний № 0114U002153).

Установою, що фінансує дослідження, є НАМН України.

Автори гарантують повну відповідальність за все, що опубліковано в статті.

Автори гарантують відсутність конфлікту інтересів і власної фінансової зацікавленості при виконанні роботи та написанні статті.

Рукопис надійшов до редакції 29.05.2019.

та вартість відповідного обладнання на-вряд чи дозволить використовувати цей фактор в практиці українських клінік. При цьому, ані в Україні, ані за кордоном не було проведено досліджень щодо можливостей цитологічного передопераційного прогнозування РЙРМ ПК ЩЗ, яке може бути найбільш своєчасним та ще до проведення оперативного втручання дозволить визначати адекватну тактику терапії.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Цитологічні та ІЦХ дослідження були проведені на матеріалі тонкоголкових аспіраційних пункційних біопсій (ТАПБ) 110 метастазів, виявлених в післяопераційному періоді, після проведення тиреоїдектомії та радіойодтерапії (85-РЙРМ та 25-радіойодчутливих метастазів (РЙЧМ)). Використовували матеріал пацієнтів обох статей віком 16–47 років. Усі пацієнти були проінформовані та дали згоду на використання їх біологічного матеріалу для проведення досліджень. Інформативність нативних цитологічних препаратів була оцінена під мікроскопом під час проведення ТАПБ. Для проведення цитологічних досліджень пункти були зафіксовані метанолом та пофарбовані за методом Романовського. ІЦХ проводили за допомогою непрямого імунопероксидазного методу після відновлення

Тому, **метою** роботи було проведення пілотних комплексних цитологічних та імуноцитохімічних (ІЦХ) досліджень пунктів післяопераційних метастазів ПК ЩЗ з метою визначення особливостей їх клітин, які корелюють з радіоїодрезистентністю, на основі чого можливо створення алгоритму передопераційного прогнозування ефективності радіойодтерапії метастазів тиреоїдних ПК.

активності антигенів за розробленою нами раніше методикою [16]. Використовували моноклональні антитіла (МКАТ) миші проти тиреоїдної пероксидази (ТПО) (ТРО-47, Dako, Данія, розведення 1:50), тиреоглобуліну (ТГ) (Dako, Данія, розведення 1 : 100) та МКАТ другого етапу реакції проти гамма-глобулінів миші, мічені пероксидазою хрому (Dako, Данія, розведення 1 : 100). Статистичне опрацювання даних робили за непараметричним критерієм Мана-Уїтні та за тестом  $\chi^2$  в пакеті Statistical11. Статистичне опрацювання матеріалу проведено з обчисленням середнього арифметичного значення та його статистичної похибки ( $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ ), медіани (Me), мінімальних і максимальних значень (min ÷ max). Різницю вважали статистично значущою при  $p < 0,05$ .

Таблиця 1

**Описові статистики  
для радіоїодрезистентних метастазів (n = 85)  
та радіоїодчутливих метастазів (n = 25)  
папілярного тиреоїдного раку за показниками —  
тиреоїдна пероксидаза та тиреоглобулін**

Імуноцитохімічні характеристики	Me, %	Min ÷ Max, %	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ , %
Радіоїодчутливі метастази (тиреоїдна пероксидаза)	77,5*	30 ÷ 100	74,07692 ± 3,558272
Радіоїодрезистентні метастази (тиреоїдна пероксидаза)	0	0 ÷ 25	0,50633 ± 0,311457
Радіоїодчутливі метастази (тиреоглобулін)	92,5*	78 ÷ 100	91,31250 ± 1,852293
Радіоїодрезистентні метастази (тиреоглобулін)	56	0 ÷ 100	47,53247 ± 3,991600

Примітка:

\*  $p < 0,001$  статистично значущі відмінності у порівнянні з групою радіоїодрезистентних метастазів.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За даними наших попередніх досліджень було показано, що визначення відсотку епітеліоцитів, які експресують ЦК 17 в пунктатах первинних ПК ЩЗ може бути використано для передопераційного прогнозування радіоїодрезистентності [17]. Даний метод дозволяє виділити групу ризику пацієнтів з високою вірогідністю появи РЙРМ (якщо відсоток імунно-позитивних клітин перевищує 5%) та забезпечити їх ретельне спостереження з метою своєчасного виявлення цих метастазів.

Незважаючи на проведення тиреоїдектомії та радіоїодтерапії, у пацієнтів з ПК ЩЗ, в післяопераційному періоді з'являються як нечутливі до РЙ метастази, так і РЙЧМ, для яких РЙ-лікування буде ефективним. ІЦХ профіль післяопераційних метастазів визначався за допомогою МКАТ до ТГ та ТПО в їх пунктатах. В результаті виконаного дослідження була статистично підтверджена значна різниця між РЙРМ та РЙЧМ за відсотком тиреоцитів, які містять ТГ ( $p = 0,0000038$ ) та ТПО ( $p = 0,000000$ ) на рівні  $p < 0,001$ . Відсутність ТПО-позитивних клітин в пунктах післяопераційних метастазів, свідчить про їх нездатність до акумуляції РЙ, неефективність подальшої РЙ-терапії та необхідність хірургічного видалення метастазу. Якщо більше, ніж 77,5 % тиреоцитів містить ТПО, передбачають здатність метастазу до накопичення РЙ і доцільність подальшої РЙ-терапії. Що стосується ТГ, то не було виявлено випадків його відсутності в пунктатах РЙЧМ в порівнянні з РЙРМ. Однак, в пунктатах 28 % РЙРМ відсоток ТГ-позитивних клітин не відрізнявся від РЙЧМ і складав 78–100 %. Це свідчить про можливість передопераційного прогнозування радіоїодрезистентності післяопераційних метастазів лише при відсотку ТГ-позитивних клітин нижче 56 %. Узагальнені статистичні дані ІЦХ досліджень представлені в таблиці.

Проведений цитологічний аналіз популяції тиреоцитів пунктів післяопераційних метастазів дозволили виявити цитологічні особливості, притаманні РЙРМ ПК ЩЗ. Було показано, що цитограми всіх РЙЧМ представлені однорідним епітелієм

без виразних ознак поліморфізму та атипії. В той же час, цитограми РЙРМ характеризувалися наявністю епітеліальних пластів нерегулярної будови та наявністю особливих фенотипів тиреоцитів — із світлою

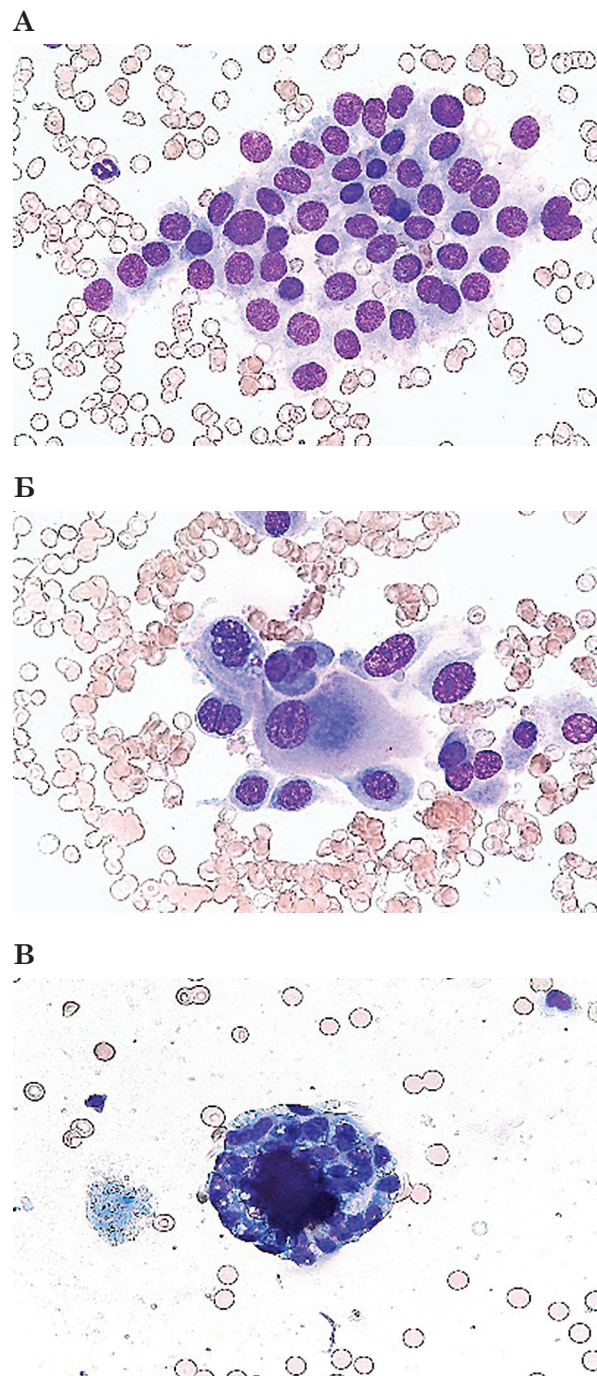


Рис. 1.

А. Однорідна популяція тиреоцитів в пунктаті РЙЧМ.

Б. Тиреоцит з макулою, нерегулярна будова епітеліального пласта в пунктаті РЙРМ.

В. Комплекс псамомного тіла та тиреоцитів в пунктатах РЙРМ.  $\times 400$ .

**Частота цитологічних характеристик  
в пунктах радіодрезистентних метастазів (n = 85)  
та радіоїодчутливих метастазів (n = 25) папілярного тиреоїдного раку**

Цитологічні характеристики	Радіоїодчутливі метастази	Радіодрезистентні метастази
Особливі клітинні фенотипи	0 %*	45 (85) 53,6 %
Кістозна дегенерація	1 (25) 4 %*	31 (85) 37 %
Комплекси псамомних тілець та тиреоцитів	0 %*	21 (85) 24,7 %

*Примітка:*

\*  $p < 0,05$  статистично значущі відмінності у порівнянні з групою радіодрезистентних метастазів.

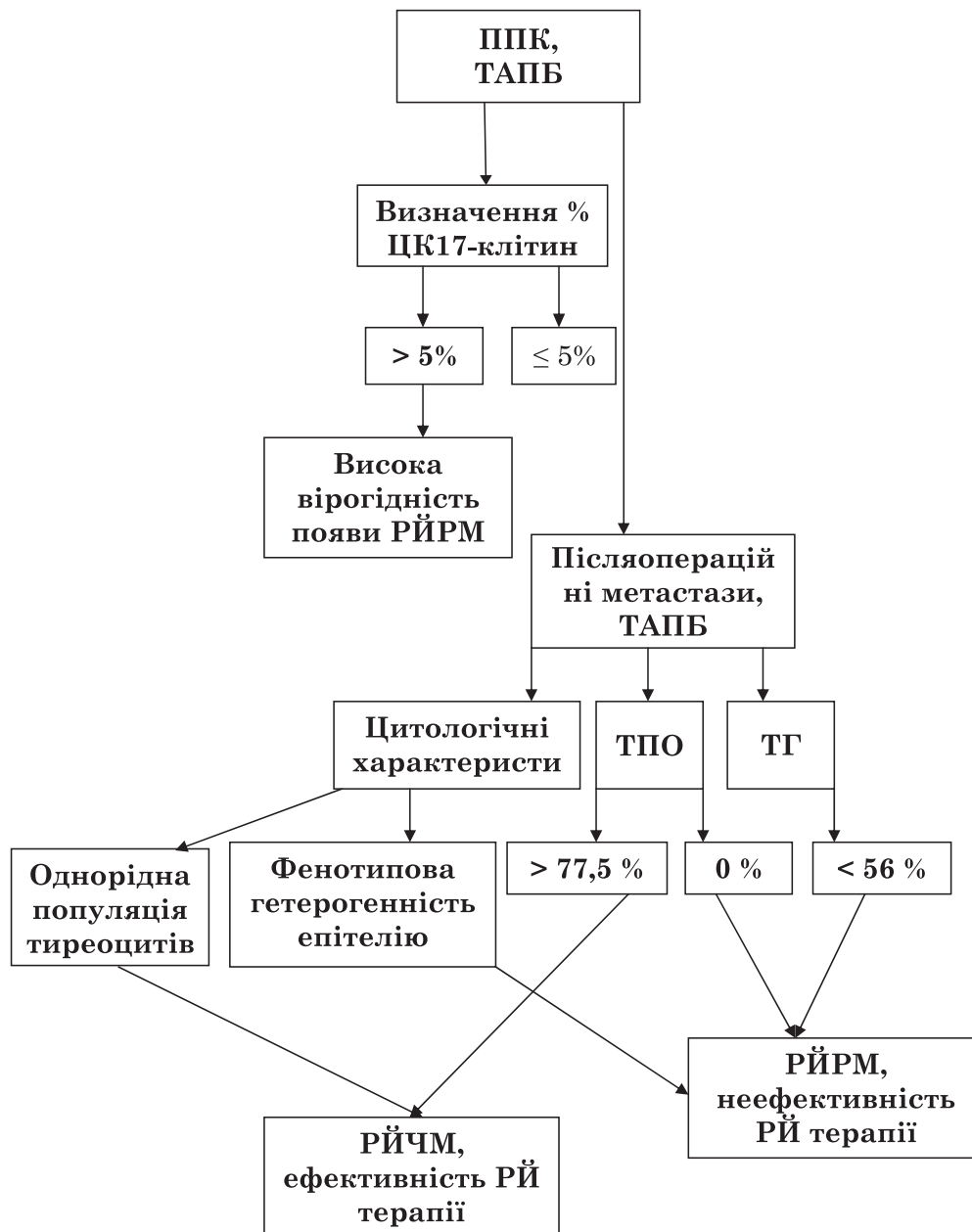


Рис. 2. Схема алгоритму передопераційного прогнозування радіоїодрезистентності папілярного тиреоїдного раку.



цитоплазмою та чіткою поверхнею і з наявністю базofilної макули біля ядра. Їх епітеліальна природа була підтверджена імуноцитохімічно з використанням МКАТ до цитокератинів 7,8. Описані фенотипи тиреоцитів, а також ознака кістозної дегенерації, особливі комплекси псамомних тілець з оточуючими тиреоцитами виявлялися статистично імовірно частіше в РЙРМ на відміну від РЙЧМ (рис. 1, табл. 2).

На основі виявлених цитологічних та ІЦХ особливостей РЙРМ ми запропонували алгоритм передопераційного прогнозування радіоїодрезистентності ПК ЩЗ з метою визначення адекватної тактики терапії (хірургічне видалення метастазу або подальша РЙ-терапія).

1. При визначенні в пунктатах первинних ПК більш, ніж 5% тиреоцитів з експресією ЦК №17, прогнозують високу вірогідність розвитку РЙРМ, що потребує детального спостереження таких пацієнтів.

2. При сонографічному виявленні регіонарних лімфатичних вузлів, підозрілих

на наявність метастазу в післяопераційному періоді, рекомендовано проведення ТАПБ з використанням запропонованих нами методів цитологічного та ІЦХ дослідження пунктату з метою визначення ефективності РЙ-терапії.

3. Для прогнозування радіоїодрезистентності післяопераційних метастазів рекомендується ІЦХ виявлення ТПО. При відсутності ТПО в клітинах пунктату, бажано хірургічне видалення метастазу, при наявності інтенсивної реакції з антитілами до ТПО в більш, ніж 77,5 % тиреоцитів, рекомендують проведення РЙ-терапії.

4. Цитологічне визначення в пунктатах післяопераційних метастазів особливих фенотипів тиреоцитів, кістозної дегенерації, комплексів псамомних тілець та епітелію, дозволяє прогнозувати його радіоїодрезистентність.

5. При відсутності експресії ТГ 0–56 % тиреоцитів, передбачають радіоїодрезистентність метастазу. Результати досліджень слід доводити до відома клініцистів-хірургів, радіологів та ендокринологів (рис. 2).

## ВИСНОВКИ

1. В результаті проведеної роботи вперше був запропонований алгоритм передопераційного прогнозування радіоїодрезистентності тиреоїдної ПК на основі виявлення цитологічних та імуноцитохімічних особливостей тиреоцитів в матеріалі ТАПБ.
2. Визначення експресії ЦК 17 в пунктатах первинних ПК та цитологічних особливостей тиреоцитів, ТПО і ТГ в пунктатах

післяопераційних метастазів, дозволяють прогнозування радіоїодрезистентності та визначення адекватної тактики терапії у пацієнтів з ПК ЩЗ.

3. Комплексне дослідження ІЦХ та цитологічного профілю ПК та їх метастазів дозволяє розробити персоніфікований підхід до прогнозування, моніторингу та терапії пацієнтів з ПК ЩЗ.

## ЛІТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Haugen B, Alexander E, Bible K, et al. *Thyroid*. 2016; 26: 1-133. doi: 10.1089/thy.2015.0020.
2. Pacini F, Yasuhiro L, Markus I. *Exp Rev Endocrinol Metab*. 2012; 7: 541-544. doi: 10.1586/eem.12.36.
3. Pfister D, Fagin J. *Clin Oncol*. 2008; 26: 4701-4704. doi: 10.1200/JCO.2008.17.3682.
4. Busaidy NL. *J Thyroid Res* 2012;2: 11-12. doi: 10.1155/2012/618985.
5. Markovina S, Grigsby P, Schwarz J, et al. *Thyroid*. 2014; 24: 1121-1126.
6. Jepshtejn EV, Olejnik VA, Sovenko TK. *Promeneva diagnostyka, promeneva terapija*. 2000; 1: 53-54.
7. Worden F. *Ther Adv Med Oncol* 2014; 6: 267-279. doi: 10.1177/1758834014548188.
8. Chae Moon Hong, Byeong-Cheol Ahn. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2017; 8: 260. doi: 10.3389/fendo.2017.00260.
9. Yasuhiro Ito, Akira Miyauchi, Mitsuru Ito, et al. *Endocrine J* 2014; 61(8): 1145.
10. Shangdong Lei, Zihai Ding, Junna Ge, Donghui Zhao. *Oncol Lett* 2015; 10(3): 1749-1754 p. doi: 10.3892/ol.2015.3416.
11. Rivera M, Ghossein R, Schoder H, et al. *Cancer*. 2008; 113(1): 48-56. doi: 10.1002/cncr.23515.

12. Deandreis D, Ghuzlan A, Leboulleux S, et al. *Endocrinol Related Cancer*. 2011; 1: 159-169. doi: 10.1677/ERC-10-0233.
13. Lastra R, Ricardo R, Lastra M, et al. *Cancer Cytopathol*. 2014; 122: 484-503. doi: 10.1002/cncy.21417.
14. Min J, Chung J, Lee Y, et al. *Eur J Nucl Med*. 2001; 28: 639-645.
15. Xing M, Westra W, Tufano R. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005; 90(12): 6373-6379. doi: 10.1210/jc.2005-0987.
16. Bozhok Y, Tavokina L, Epstein E. *Med Ann*. 1996; 138: 40-43.
17. Zelinskaya A. *Oncology* 2019; 21(1): 31-35.

## АЛГОРИТМ ПРОГНОЗУВАННЯ РАДІОЙОДРЕЗИСТЕНТНОСТІ ПАПІЛЯРНОГО РАКУ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ НА ПІДСТАВІ ЦИТОЛОГІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ МАТЕРІАЛУ ТОНКОГОЛКОВИХ АСПІРАЦІЙНИХ ПУНКЦІЙНИХ БІОПСІЙ

Тронько М. Д., Зелінська Г. В., Кваченюк А. М.,  
Божок Ю. М., Кулініченко Г. М.

*ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка» НАМН України,  
м. Київ, Україна  
ann.zelinskaya@ukr.net*

Радіойодрезистентні метастази є актуальною проблемою діагностики та лікування диференційованого тиреоїдного раку. Метою роботи було проведення комплексних цитологічних та імуноцитохімічних досліджень пунктів післяопераційних метастазів папілярного тиреоїдного раку з метою визначення особливостей їх клітин, на основі чого можливо створення алгоритму передопераційного прогнозування ефективності радіойодтерапії метастазів тиреоїдних папілярних карцином. Цитологічні та імуноцитохімічні дослідження проведені на матеріалі тонкогілкових аспіраційних пункційних біопсій 110 метастазів папілярних тиреоїдних карцином, виявлених в післяопераційному періоді (85-радіойодрезистентних та 25-радіойодчутливих метастазів). Статистичне опрацювання даних проводили за непараметричним критерієм Мана-Уїтні та тестом  $\chi^2$  в пакеті Statistica.11. Була доказана статистично імовірна різниця на рівні  $p < 0,001$  між радіойодрезистентними та радіойодчутливими метастазами за експресією тиреоїдної пероксидази та тиреоглобуліну. Виявлені цитологічні особливості тиреоцитів пунктів радіойодрезистентних метастазів, які зустрічаються в них статистично імовірно частіше, ніж в радіойодчутливих метастазах. В результаті вперше запропонований алгоритм передопераційного прогнозування радіойодрезистентності тиреоїдних папілярних карцином на основі виявлення цитологічних та імуноцитохімічних особливостей тиреоцитів в пунктатах. Визначення експресії цитокератину 17 в пунктатах первинних папілярних карцином та цитологічних особливостей тиреоцитів, експресії тиреоїдної пероксидази та тиреоглобуліну в пунктатах післяопераційних метастазів, дозволяють прогнозування радіойодрезистентності та визначення адекватної терапії у пацієнтів з тиреоїдною папілярною карциномою. Це дозволяє розробити персоналізований підхід до прогнозування, моніторингу та терапії пацієнтів з тиреоїдним папілярним раком.

Ключові слова: папілярна карцинома, щитоподібна залоза, радіойодрезистентні метастази, тонкогілкова аспірація пункційна біопсія, передопераційне прогнозування.

## АЛГОРИТМ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РАДИОЙОДРЕЗИСТЕНТНОСТИ ПАПИЛЛЯРНОГО РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НА ОСНОВЕ ЦИТОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ МАТЕРИАЛА ТОНКОИГОЛЬНЫХ АСПИРАЦИОННЫХ ПУНКЦИОННЫХ БИОПСИЙ

Тронько Н. Д., Зелинская А. В., Кваченюк А. Н.,  
Божок Ю. М., Кулиниченко Г. Н.

*ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В. П. Комиссаренко» НАМН Украины,  
г. Киев, Украина  
ann.zelinskaya@ukr.net*

Радиойодрезистентные метастазы являются актуальной проблемой диагностики и лечения дифференцированного тиреоидного рака. Целью работы было проведение комплексных цитологических и иммуноцитохимических исследований пунктатов послеоперационных метастазов папиллярного тиреоидного рака с целью определения особенностей их клеток, на основе чего возможна разработка алгоритма дооперационного прогнозирования эффективности радиойодтерапии метастазов тиреоидных папиллярных карцином. Цитологические и иммуноцитохимические исследования проведены на материале тонкоигольных аспирационных пункционных биопсий 110 метастазов папиллярных тиреоидных карцином, выявленных в послеоперационном периоде (85-радиойодрезистентных и 25-радиойодчувствительных метастазов). Статистическую обработку данных проводили по непараметрическому

критерию Манна-Уитни и по тесту  $\chi^2$  в пакете Statistica11. Было доказано статистически достоверное различие на уровне  $p < 0,001$  между радиойодрезистентными и радиойодчувствительными метастазами по уровню экспрессии тиреоидной пероксидазы и тиреоглобулина. Выявлены цитологические особенности пунктатов радиойодрезистентных метастазов, которые встречались в них статистически достоверно чаще, чем в радиойодчувствительных метастазах. В результате проведенной работы впервые был предложен алгоритм дооперационного прогнозирования радиойодрезистентности тиреоидного папиллярного рака на основе выявления цитологических и иммуноцитохимических особенностей тиреоцитов в пункционном материале. Определение экспрессии цитокератина 17 в пунктатах первичных папиллярных карцином, цитологических особенностей тиреоцитов, экспрессии тиреоидной пероксидазы и тиреоглобулина в пунктатах послеоперационных метастазов, позволяют прогнозировать радиойодрезистентность и определять адекватную терапию у пациентов с тиреоидным папиллярным раком.

**Ключевые слова:** папиллярная карцинома, щитовидная железа, радиойодрезистентные метастазы, тонкоигольная аспирационная пункционная биопсия, дооперационный прогноз.

# ALGORITHM FOR PREDICTING OF RADIOIODINE RESISTANCE OF THYROID PAPILLARY CARCINOMA ON THE BASIS OF CYTOLOGICAL STUDY OF THE MATERIAL OF FINE NEEDLE ASPIRATION BIOPSIES

M. Tron'ko, G. Zelinskaya, A. Kvachenjuk,  
Y. Bozhok, G. Kulinichenko

*SI «V. P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine», Kyiv, Ukraine  
ann.zelinskaya@ukr.net*

Radioiodine-resistant metastases are relevant problem in the diagnosis and treatment of differentiated thyroid cancer. The aim of the work was to perform complex cytological and immunocytochemical studies of the punctates of postoperative metastases of papillary thyroid cancer in order to determine the features of their cells, on the basis of which it is possible to create an algorithm for preoperative prediction of the effectiveness of radioiodine therapy. Cytological and immunocytochemical studies were performed on the material of fine needle aspiration biopsies of 110 metastases of papillary thyroid carcinomas detected in the postoperative period (85 radioiodine resistant and 25 radiosensitive metastases). Statistical data processing was performed using the non-parametric Mana-Whitney test and the  $\chi^2$  test in Statistica.11. A statistically significant difference was found at  $p < 0.001$  between radioiodine-refractory and radioiodine-avid metastases in expression of thyroid peroxidase and thyroglobulin as a result of this work, the algorithm of preoperative prediction of radioiodine refractory of the thyroid papillary carcinoma was proposed for the first time on the basis of detection of cytological and immunocytochemical features of thyrocytes in punctates. Determination of expression of cytokeratin 17 in punctates of primary papillary carcinoma, cytological features of thyrocytes, expression of thyroid peroxidase and thyroglobulin in postoperative metastases, allow prediction of radioiodine refractory and determination of adequate therapy in patients with papillary carcinoma.

**Key words:** thyroid papillary carcinoma, radioiodine-refractory metastases, fine needle aspiration biopsy, cytological prognosis.