

ПЕДІАТРІЯ

УДК 616.441 – 006.6 – 07

©В. Г. Хоперія

Український науково-практичний центр ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України, м. Київ

ІМУНОЦИТОХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ТИРЕОЇДНОЇ ПЕРОКСИДАЗИ: ЗАСТОСУВАННЯ У ЦИТОЛОГІЧНІЙ ДІАГНОСТИЦІ ВУЗЛІВ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ В ДІТЕЙ

ІМУНОЦИТОХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ТИРЕОЇДНОЇ ПЕРОКСИДАЗИ: ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ У ЦИТОЛОГІЧНІЙ ДІАГНОСТИЦІ ВУЗЛІВ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ В ДІТЕЙ – Дані порівняльного аналізу результатів тонкогolkової аспіраційної пункційної біопсії (ТАПБ) вузлів щитоподібної залози (ЩЗ) з остаточною гістологічними діагнозами у дітей є обмеженими. В цьому дослідженні результати ТАПБ 707 дітей порівняно з гістологічними діагнозами у 165 випадках. Оцінено ефективність застосування імуноцитохімічного дослідження тиреоїдної пероксидази (ТПО) з моноклональними антитілами 47 (МоАт-47) у 54 прооперованих хворих. За умов застосування стандартного цитологічного дослідження чутливість, специфічність, позитивний і негативний прогностичний індекс склали 95,4; 55,8; 61,7 і 95 %, а при застосуванні МоАт-47 – 100, 75, 73,3 і 100 % відповідно. У сумнівних випадках ТАПБ позитивна реакція з МоАт-47 є надійним маркером для виключення злоякісності. Доброякісні та злоякісні висновки ТАПБ співпадають із гістологічними діагнозом, водночас для сумнівних ТАПБ застосування МоАт-47 може бути корисним доповненням з метою підвищення діагностичної ефективності цитологічного аналізу.

ИММУНОЦИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТИРЕОИДНОЙ ПЕРОКСИДАЗЫ: ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ В ЦИТОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ УЗЛОВ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ДЕТЕЙ – Данные сравнительного анализа результатов тонкоигольной аспирационной пункционной биопсии (ТАПБ) узлов щитовидной железы с заключительными гистологическими диагнозами у детей ограничены. В настоящем исследовании результаты ТАПБ 707 детей сопоставлены с гистологическими диагнозами в 165 случаях. Оценена эффективность применения иммуноцитохимического исследования тиреоидной пероксидазы (ТПО) с моноклональными антителами 47 (МоАт-47) у 54 прооперированных больных. При применении стандартного цитологического исследования чувствительность, специфичность, положительный и негативный прогностический индекс составили 95,4; 55,8; 61,7 и 95 %, а при использовании МоАт-47 – 100; 75; 73,3 и 100 % соответственно. В случаях сомнительных ТАПБ положительная реакция с МоАт-47 является надежным маркером для исключения злокачественности. Доброкачественные и злокачественные заключения ТАПБ совпадают с гистологическим диагнозом, тогда как для сомнительных ТАПБ применение МоАт-47 может быть полезным дополнением с целью повышения диагностической эффективности цитологического анализа.

USE OF THYROID PEROXIDASE IMMUNOCYTOCHEMISTRY STAINING ON CYTOLOGICAL DIAGNOSIS OF THYROID IN CHILDREN – There are presented data of comparing results of fine needle aspiration biopsies (FNABs) to histological diagnosis in children. FNABs were performed in 707 children and cytological results were compared to histology in 165 cases. The usefulness of immunostaining with anti-TPO monoclonal antibodies (MoAb47) on FNAB samples was examined in 54 operated patients. The sensitivity, specificity, and positive and negative predictive values were 95,4; 55,8; 61,7; and 95 % with standard FNAB; and 100; 75; 73,3; and 100 % with MoAb47. Among suspicious FNAB, positive MoAb47 staining was a reliable

marker for exclusion of malignancy. Benign and malignant FNAB accurately predict histological diagnosis. In suspicious FNAB, MoAb47 immunostaining may be a useful adjunct to standard cytology.

Ключові слова: рак щитоподібної залози, діти, тонкогolkова аспіраційна пункційна біопсія, маркери злоякісності, діагностика.

Ключевые слова: рак щитовидной железы, дети, тонкоигольная аспирационная пункционная биопсия, маркеры злокачественности, диагностика.

Key words: childhood thyroid cancer, thyroid fine needle aspiration biopsy, malignancy markers.

ВСТУП Дані про поширеність вузлового зоба серед дорослого населення ґрунтуються на результатах численних популяційних досліджень і вона складає від 3,2 до 8 %. У дітей вузли щитоподібної залози (ЩЗ) виявляють рідше – в 1,5 % випадків [1]. Натомість частота виявлення раку ЩЗ серед оперованих із приводу вузлової патології ЩЗ дітей більша за таку в дорослих і коливається від 9,2 до 50 % [2]. Внаслідок цього існує підвищена настороженість щодо злоякісного ураження вузлів ЩЗ у дітей і агресивніша тактика лікування для будь-якого вузла ЩЗ, виявленого в дитинстві.

Тонкогolkову аспіраційну пункційну біопсію (ТАПБ) наразі вважають найефективнішим методом морфологічної діагностики вузлів ЩЗ. Традиційно цитологічні висновки ТАПБ поділено на чотири категорії: неінформативні (або недіагностичні), доброякісні, сумнівні (або невизначені) та злоякісні. За результатами різних досліджень описано високу діагностичну ефективність ТАПБ у випадках доброякісних і злоякісних утворень ЩЗ. А серед сумнівних ТАПБ після гістологічного дослідження злоякісний процес визначають у 10–60 % випадків. Згідно з останніми рекомендаціями Асоціації цитологів Папанікалау групи сумнівних висновків ТАПБ поділено на три підгрупи: невизначена атипія (ознаки атипії клітин невизначеного характеру), фолікулярна неоплазія та підозра на рак [9]. За даними великого дослідження, у яке увійшли 4703 ТАПБ, остаточною гістологічним дослідженням було встановлено діагноз раку ЩЗ для випадків із невизначеною атипією, фолікулярною неоплазією та підозрою на рак ЩЗ у 13,5; 32,2 і 64,7 % випадків відповідно [3]. З метою підвищення ефективності ТАПБ розроблено низку нових методичних підходів, за допомогою яких на підставі відмінностей генетичних, молекулярних і біохімічних ознак доброякісних і злоякісних утворень ЩЗ визначено надійні маркери злоякісності. Зокрема, для таких маркерів як тиреоїдна пероксидаза (ТПО),

дипептидил-амінопептидаза IV (ДАПІV) і Hecton Battifora мезотеліальний антиген-1 (НВМЕ-1), виявлено високу кореляцію з прогресією раку ЩЗ (РЩЗ), що дає можливість розглядати їх як потенційні маркери малігнізації для цитологічної діагностики вузлів ЩЗ [4].

Тиреоїдна пероксидаза (ТПО) є ферментом ЩЗ, необхідним для нормального функціонування органа, і одним з основних продуктів фолікулярних клітин. Імуноцитохімічні дослідження ТПО з моноклональними антитілами 47 (МоАТ-47) у тканині ЩЗ виявили позитивну імунореактивність у нормальних клітинах і клітинах доброякісних пухлин залози, водночас у більшості випадків раку ЩЗ вона була негативною. Застосування цього методу дозволяє підвищити діагностичну ефективність стандартного цитологічного аналізу, надто у випадках фолікулярних пухлин [5].

Потенційне значення маркерів злоякісності у цитологічній діагностиці вузлів ЩЗ в дітей описано у попередніх дослідженнях. Враховуючи, що РЩЗ у дітей схильний до швидкої прогресії, наслідки хибно негативних результатів ТАПБ викликають значну стурбованість. З іншого боку, агресивний терапевтичний підхід, обґрунтований хибно позитивними результатами ТАПБ, може призвести до неадекватного хірургічного втручання.

Метою нашого дослідження став аналіз діагностичної ефективності стандартного цитологічного дослідження у великій когорті педіатричних пацієнтів і визначення доцільності застосування імуноцитохімічного дослідження з МоАТ-47 у цитологічній діагностиці вузлів ЩЗ в дітей.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Ретроспективно проаналізовано результати цитологічних досліджень вузлів ЩЗ, проведених у відділенні патоморфології і цитології Українського науково-практичного центру ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин (Центр) МОЗ України у період 1999–2008 років. Усього проаналізовано 17 809 ТАПБ вузлів ЩЗ, серед яких 707 (0,4 %) було проведено у дітей віком від 6 до 17 років.

ТАПБ проводили під або без контролю ультразвукового дослідження залежно від клінічних показань. Стандартне забарвлення проводили за методом Май-Грюнвальда-Гімза. Цитологічні результати поділили на 4 групи: 1 – неінформативні; 2 – доброякісні; 3 – сумнівні; 4 – злоякісні.

Імуноцитохімічне дослідження з активності тиреоїдної пероксидази проводили із застосуванням специфічних моноклональних антитіл 47 (МоАТ-47) та універсального набору. Для порівняльного аналізу з цитологічним дослідженням було відібрано гістологічні препарати пухлин ЩЗ 165 дітей, прооперованих у хірургічному відділенні Центру. Гістологічний діагноз встановлено відповідно до гістологічної класифікації ВООЗ пухлин ЩЗ. Усього проаналізовано 121 випадок доброякісних і 44 – злоякісних пухлин ЩЗ.

Для статистичного аналізу використано програму SPSS (версія 13.0, 2004 SPSS Inc, США).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Серед 707 дітей із вузловим зобом, яким проведено ТАПБ, було 559 дівчаток і 148 хлопчиків (співвідношення дівчатка/хлопчики – 3,7:1). Вік хворих складав від 5 до 17 років. У досліджуваній групі було 52 пацієнти препубертатного віку (5–10 років), у тому числі 33 дівчинки і 19 хлопчиків (співвідношення – 1,7:1) і 655 – пубертатного віку (11–17 років), у тому числі 526 дівчинок і 129 хлопчиків (співвідношення – 4,0:1). За даними, наведеними у таблиці 1, визначено значно більше випадків вузлового зоба серед дітей пубертатного віку із непропорційним збільшенням кількості дівчаток. Усі первинні цитологічні діагнози поділено на чотири діагностичні категорії таким чином: 66 неінформативних (9,3 %), 510 доброякісних (72,1 %), 86 сумнівних (12,2 %) і 45 злоякісних (6,4 %). Результати цитологічних досліджень залежно від віку та статі пацієнтів наведено у таблиці 2.

На основі клінічних даних і результатів ТАПБ 165 хворим було проведено гемі- або тиреоїдектомію. Більшість пацієнтів із доброякісними висновками ТАПБ була прооперована на підставі великих розмірів вузла (у середньому 34,4 мм). Під час гістологічного дослідження діагностовано 121 випадок доброякісних і 44 злоякісних пухлин ЩЗ. Поділ первинних цитологічних висновків та остаточних гістологічних діагнозів наведено у таблиці 3. У хворих із неінформативними висновками ТАПБ за результатами гістологічного дослідження виявлено кісти ЩЗ. 69 із 70 (98,5 %) пацієнтів із доброякісними висновками ТАПБ під час гістологічного дослідження встановлено діагноз доброякісного процесу. Найчастіше такий діагноз відповідав багатовузловому зобу (БВЗ) і фолікулярній аденомі (ФА). В

Таблиця 1. Поділ дітей, яким проведено ТАПБ вузлів ЩЗ, за віком і статтю

Вік	Кількість пацієнтів		
	дівчатка	хлопчики	всього
4	2	1	3
5	0	1	1
6	0	4	4
7	3	3	6
8	4	0	4
9	7	4	11
10	17	6	23
11	16	7	23
12	20	11	31
13	42	9	51
14	74	20	94
15	126	27	153
16	139	24	163
17	109	31	140
Усього	559	148	707

Таблиця 2. Цитологічні висновки ТАПБ залежно від віку та статі дітей

Вік, стать	Цитологічні висновки			
	неінформативні (66)	доброякісні (510)	сумнівні (86)	злаякісні (45)
Передпубертатний:				
дівчатка (33)	4	22	2	5
хлопчики (19)	3	8	6	2
Пубертатний:				
дівчатка (526)	43	385	67	31
хлопчики (129)	16	95	11	7

Таблиця 3. Кореляція цитологічних висновків ТАПБ і гістологічних діагнозів у дітей

Гістологія	Цитологія			
	неінформативні (12)	доброякісні (70)	сумнівні (50)	злаякісні (33)
Доброякісні (121):				
кіста	8	0	0	0
багатовузловий зоб	0	23	8	0
фолікулярна аденома	4	42	21	0
атипова аденома	0	1	8	0
автоімунний тиреоїдит	0	3	3	0
Злаякісні (44):				
папілярний рак	0	0	4	25
фолікулярний варіант ПР	0	1	5	4
фолікулярний рак	0	0	1	2
медулярний рак	0	0	0	2

одному випадку із доброякісним цитологічним висновком виявлено фолікулярний варіант папілярного раку (ФВПР) ЩЗ. У пацієнтів із сумнівними висновками ТАПБ РЩЗ було підтверджено в 10 випадках із 50 (20 %). Пухлини із невизначеним потенціалом злаякісності (аденоми з обмеженими ядерними ознаками ПРЩЗ) (АА) діагностовано у 8 випадках із 50 (16 %). У 32 із 50 (64 %) випадків з сумнівними цитологічними висновками за результатами гістологічного дослідження встановлено діагноз доброякісного процесу (БВЗ, ФА, автоімунний тиреоїдит (АІТ)).

Для оцінки ефективності ТАПБ ми аналізували лише інформативні цитологічні препарати (153 випадки). Чутливість, специфічність і прогностичну цінність визначали, розглядаючи сумнівні висновки ТАПБ або як "негативні", або як "позитивні" щодо злаякісності. Коли до "позитивних" відносили лише злаякісні висновки ТАПБ, а сумнівні розцінювали як "негативні", 33 випадки виявилися істинно позитивними, 11 – хибно негативними, 109 – істинно негативними, і 0 – хибно позитивними. Чутливість і специфічність склали 75,0 і 100 % відповідно. Коли "позитивними" вважали злаякісні та сумнівні висновки ТАПБ, 43 випадки виявилися істинно позитивними, 1 – хибно негативним, 69 – істинно негативними і 40 – хибно позитивними. Чутливість і специфічність склали 97,7 і 63,3 % відповідно.

Імуноцитохімічне дослідження ТПО з МоАт-47 проведено на цитологічних препаратах 54 прооперованих хворих. За результатами гістологічного дослідження виявлено 32 доброякісних і 22 злаякісних випадки. У 24 із 33 випадків з доброякісним висновком ТАПБ виявлено високий рівень реакції з МоАт-47 (понад 80 % позитивно забарвлених клітин), а в усіх випадках із злаякісними висновками ТАПБ реакція з МоАт-47 була негативною. У випадках доброякісних ТАПБ реакція з МоАт-47 була позитивною в 19–20, а в одному випадку, який за патогістологічним висновком відповідав ФВПР ЩЗ, реакція була відсутньою. У пацієнтів із сумнівними ТАПБ виявлено позитивну імуноцитохімічну реакцію із МоАт-47 у 7 випадках, які за результатами гістологічного дослідження відповідали доброякісному процесу (БВЗ, ФА), проте у випадках раку та пухлин з обмеженими ядерними ознаками ПРЩЗ реакція була слабкою. В усіх випадках злаякісних пухлин виявлено слабку реакцію з МоАт-47. Результати статистичного аналізу даних стандартного цитологічного дослідження та імуноцитохімічного визначення активності ТПО із МоАт-47 наведено у таблиці 4.

Загально визнано, що ТАПБ є мінімально інвазивним і високочутливим методом у діагностиці РЩЗ як у дорослих, так і у пацієнтів дитячого віку. У нашому ретроспективному дослідженні проведено порівняльний аналіз великої кількості результатів ТАПБ з оста-

Таблиця 4. Діагностична ефективність стандартного цитологічного дослідження ТАПБ та імуноцитохімічного визначення ТПО з МоАт-47

	Стандартна цитологія, %	МоАт-47, %
Чутливість	95,4	100
Специфічність	55,8	75
Позитивний прогностичний індекс	61,7	73,3
Негативний прогностичний індекс	95	100

точними гістологічними діагнозами у дітей, а також вперше проаналізовано ефективність застосування імуноцитохімічного дослідження з МоАт-47 в діагностиці вузлів у дітей.

За демографічними даними виявлено значне збільшення поширеності РЩЗ у дітей пубертатного віку з непропорційно високою кількістю серед них дівчинок. Це дозволило припустити, що гормони, пов'язані зі статевим дозріванням, можуть сприяти розвитку РЩЗ у підлітковому віці. За даними попередніх досліджень виявлено асоціацію експресії рецепторів естрогену та сироваткового інсуліноподібного чинника росту-1 (ІЧР-1) із розвитком вузлового зоба [7]. Проте існує необхідність додаткових досліджень у визначенні такого причинно-наслідкового зв'язку.

Понад 50 % пацієнтів, прооперованих у Центрі з приводу захворювань ЩЗ, мали сумнівні або злаякісні висновки ТАПБ, що підтверджує роль ТАПБ як скринінгового методу у доборі пацієнтів для хірургічного лікування. Сумнівні висновки ТАПБ були основним джерелом хибно негативних і хибно позитивних результатів. За результатами гістологічного аналізу випадки із сумнівними висновками ТАПБ відповідали злаякісним пухлинам (20 %), пухлинам із невизначеним потенціалом злаякісності, або атипичним аденомам (16 %) і доброякісним пухлинам (64 %). За результатами інших досліджень, відсоток виявлення РЩЗ у групі із сумнівними ТАПБ коливався від 15 до 38 % в дорослих і від 10 до 35 % у дітей [3].

Застосування маркерів злаякісності є ефективними доповненнями у встановленні діагнозу раку під час ТАПБ. Так, імуноцитохімічне дослідження активності ТПО з МоАт-47 – один із перших ефективних маркерів злаякісності у диференційній діагностиці доброякісного та злаякісного процесу під час вивчення аспіратів вузлів ЩЗ. Чутливість і специфічність застосування даного маркера у цитологічній діагностиці вузлового зоба в дорослих склали 98 і 80 % відповідно. Застосування цього методу в групі сумнівних висновків ТАПБ

дозволяє виявити доброякісні пухлини, що дає можливість уникати неадекватних хірургічних втручань і значно підвищити чутливість і специфічність стандартного цитологічного дослідження. Отже, чутливість та специфічність стандартного цитологічного аналізу ТАПБ вузлів ЩЗ серед дітей і підлітків аналогічні описаним серед дорослого населення.

ВИСНОВКИ 1. Більшість випадків сумнівних ТАПБ у дітей, за даними остаточного гістологічного дослідження, відповідає доброякісним пухлинам.

2. Імуноцитохімічне дослідження ТПО з МоАт-47 є ефективним методом у цитологічній діагностиці вузлового зоба, надто у сумнівних випадках ТАПБ.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Dinauer C. Thyroid Cancer in Children / C. Dinauer, G. L. Francis // *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*. – 2007. – Vol. 36, № 3. – P. 779–806.
2. Cytopathologic analysis of thyroid lesions in the pediatric population / G. A. Hosler, I. Clark, M. F. Zakowski [et al.] // *Diagnostic Cytopathology*. – 2006. – Vol. 34, № 2. – P. 101–105.
3. Fineneedle aspiration of thyroid nodules: a study of 4703 patients with histologic and clinical correlations / J. Yang, V. Schnadig, R. Logrono, P. G. Wasserman // *Cancer*. – 2007. – Vol. 111, № 5. – P. 306–315.
4. Utility of malignancy markers in fine-needle aspiration cytology of thyroid nodules: comparison of Hectort Battifora mesothelial antigen-1, thyroid peroxidase and dipeptidyl aminopeptidase IV / C. deMicco, V. Savchenko, R. Giorgi, F. Sebag, J.-F. Henry // *British Journal of Cancer*. – 2008. – Vol. 98, № 4. – P. 818–823.
5. De Micco C. The value of thyroid peroxidase immunohistochemistry for preoperative fine-needle aspiration diagnosis of the follicular variant of papillary thyroid cancer / C. De Micco V. Vassko, J.-F. Henry // *Surgery*. – 1999. – Vol. 126, № 6. – P. 1200–1204.
6. Fine needle aspiration cytology of the thyroid: a comparison of 5469 cytological and final histological diagnoses / G. Sangalli, G. Serio, C. Zampatti [et al.] // *Cytopathology*. – 2006. – Vol. 17, № 5. – P. 245–250. 18
7. Oestrogen mediates the growth of human thyroid carcinoma cells via an oestrogen receptor—ERK pathway / Q. Zeng, G. G. Chen, A. C. Vlantis, C. A. van Hasselt // *Cell Proliferation*. – 2007. – Vol. 40, № 6. – P. 921–935.

Отримано 26.03.12