

ОСОБЛИВОСТІ ЕПІТЕЛІАЛЬНО-МЕЗЕНХІМАЛЬНОЇ ТРАНСФОРМАЦІЇ ПАПІЛЯРНОЇ КАРЦИНОМИ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ НА ТЛІ ХРОНІЧНОГО АУТОІМУННОГО ТИРЕОЇДИТУ*

Караченцев Ю. І.^{1,2}, Філоненко Н. Г.¹,
Калужина О. В.², Сорокіна І. В.²

¹ ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України»,
м. Харків, Україна;

² Харківський національний медичний університет,
м. Харків, Україна
xirurgi4ka@gmail.com

Папілярна карцинома щитоподібної залози (ПКЩЗ) відноситься до найбільш поширеної форми раку щитоподібної залози (ЩЗ). На її долю припадає близько 80% всіх діагностованих карцином даної локалізації [1]. Захворюваність на хронічний аутоімунний тиреоїдит (ХАІТ) суттєво зросла за останні 50 років [2].

Асоціація між ХАІТ і ПКЩЗ залишається предметом тривалих та постійних дебатів. В науковій літературі фігурують різні думки щодо впливу даної імунної патології на перебіг досліджуваної форми раку. Існує інформація про морфологічні критерії прогнозу ПКЩЗ, проте без фонових процесів [3, 4]. Саме показникам епітеліально-мезенхімальної трансформації

(ЕМТ) сьогодні приділяється велика увага, оскільки це є важливим прогностичним фактором у перебігу багатьох пухлинних процесів [5], у тому числі і при вищевказаній формі раку [6].

Як зазначають вітчизняні автори, ЕМТ визначає клінічну поведінку пухлини, зокрема шляхом підвищення її інвазивності, виживання клітин, зниження проліферації, спричинення імуносупресії [5].

Метою роботи було встановити особливості імуногістохімічних показників маркерів епітеліально-мезенхімальної трансформації папілярної карциноми щитоподібної залози на тлі хронічного аутоімунного тиреоїдиту у порівнянні з ізольованою карциномою без наявності фонові патології.

* Роботу виконано в рамках НДР ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України» «Наукове обґрунтування вибору методів діагностики та комплексного лікування хворих на злоякісні новоутворення у зобнозміненій тканині щитоподібної залози» (№ державної реєстрації 0117U007185).

Установою, що фінансує дослідження, є НАМН України.

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

Автори гарантують відсутність конфлікту інтересів та власної фінансової зацікавленості.

Рукопис надійшов до редакції 02.07.2023.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Комплекс досліджень був проведений відповідно етичним та морально-правовим вимогам Статуту Української асоціації з біоетики та нормам GCP (1992 р.), GLP (2002 р.), принципам Гельсінської декларації прав людини, Конвенції Ради Європи про права людини і біомедицини та ухвалений Комітетом з медичної етики при ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України»

(ДУ ІПЕП). Тканина ЩЗ, що була видалена під час оперативних втручань, проведених в ДУ ІПЕП, слугувала матеріалом дослідження. Матеріал розділили на три групи: 1 група: папілярний рак щитоподібної залози (ПКЩЗ) (25 випадків) (папілярна карцинома ЩЗ — 8260/3), 2 група: папілярний рак щитоподібної залози на фоні хронічного аутоімунного тиреоїдиту (ПКЩЗ + ХАІТ) (25 випадків), 3 група: хронічний

Таблиця 1

Імуногістохімічні показники маркерів епітеліально-мезенхімальної трансформації тканини щитоподібної залози в досліджуваних групах

| Група | Панцитокератин | Кератин-7 | Віментин | Е-кадгерин |
|-------------|----------------|-----------|-----------|------------|
| ПКЩЗ | + (30%) | + (28%) | +++ (86%) | + (31%) |
| ПКЩЗ + ХАІТ | ++ (49%) | ++ (44%) | ++ (58%) | ++ (63%) |
| ХАІТ | +++ (87%) | +++ (97%) | + (25%) | +++ (90%) |

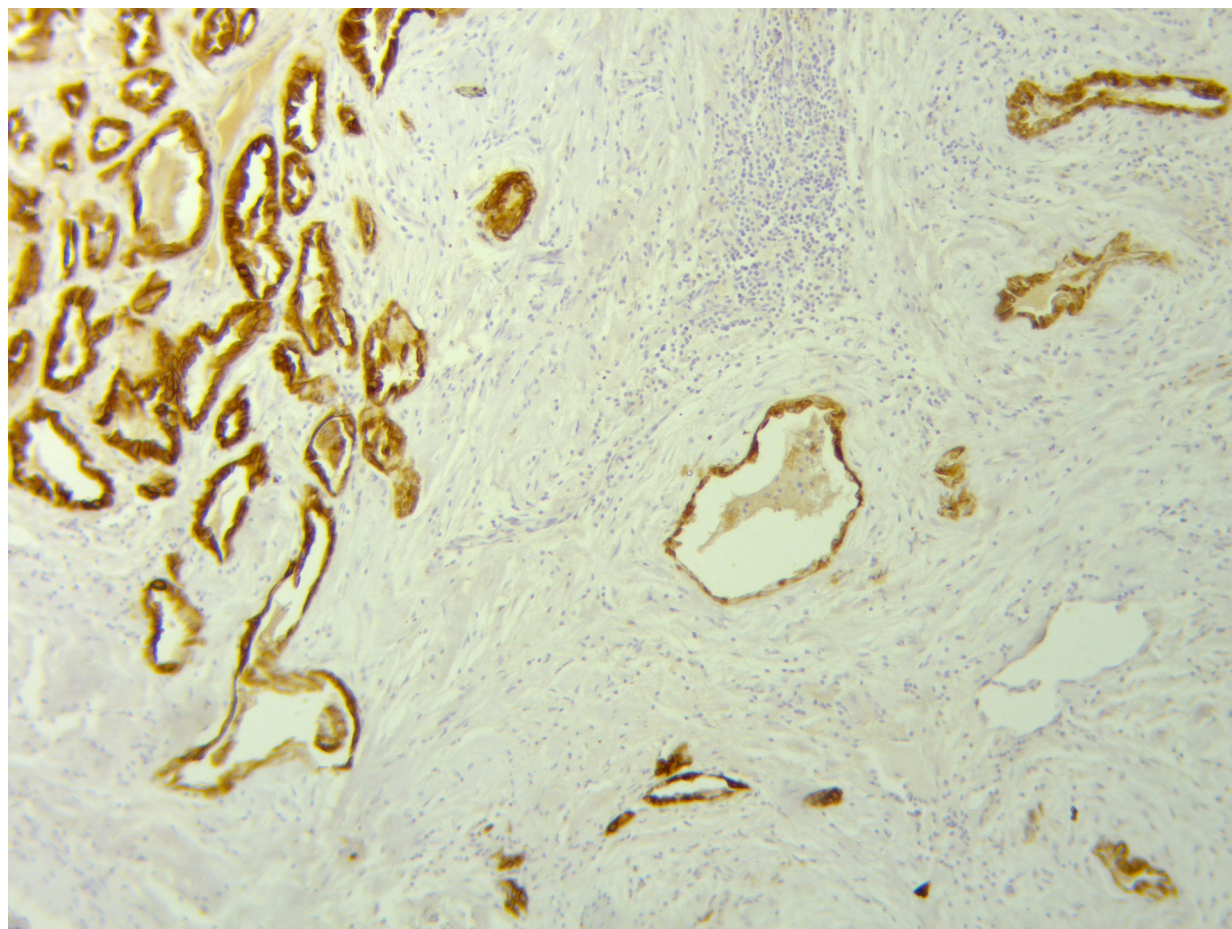


Рис. 1. Експресія віментину фолікулярним епітелієм пухлинних комплексів в тканині щитоподібної залози з папілярною карциномою щитоподібної залози. ІГХ-дослідження з МКА до віментину, $\times 100$.

аутоімунний тиреоїдит (ХАІТ) (10 випадків). Згідно оновленій класифікації пухлин ЩЗ ВООЗ 2017 року встановлювався гістологічний варіант форми раку.

Видалена тканина ЩЗ підлягала макроскопічному описанню, відбирали шматочки для мікроскопічного дослідження, які надалі фіксували у 10% розчині формаліну, проводили через спирти зростаючої концентрації, рідину Никифорова (96% спирт і діетиловий ефір у співвідношенні 1:1), хлороформ та заливали у парафін. З приготованих таким чином блоків готували серійні зрізи товщиною $4-5 \times 10^{-6}$ м для подальшого фарбування гематоксиліном і еозином (оцінювали запально-патологічні зміни).

Імуногістохімічне (ІГХ) дослідження проводили непрямим методом Кунса за методикою М. Brosman (1979) з використанням моноклональних антитіл (МКА) «Thermo Fisher Scientific Inc.», США та

ДАКО (Данія), Rady-to-Us на парафінових зрізах товщиною $5-6 \times 10^{-6}$ м. Досліджували наступні ІГХ маркери ЕМТ: панцитокератин та кератин-7 (проміжний філамент епітеліальних тканин), віментин (проміжний філамент, характерний для мезенхімальних тканин), Е-кадгерин (як маркер міжклітинної адгезії). Для оцінки вказаних маркерів застосовували напівкількісну шкалу оцінювання ступеня виразності реакції: «-» — негативна (0% — немає клітин, що експресують маркер у полі зору, $\times 400$), «+» — слабка (1–33% клітин), «++» — помірна (34–66% клітин) та «+++» — виражена (67–100% клітин).

Статистичний аналіз отриманих результатів проводили за допомогою пакета ліцензійних програм Microsoft Excel 2010, з використанням пакета «Statistic Soft 6.0» за загальноприйнятими методиками. Визначали середнє арифметичне, середнє відхилення.

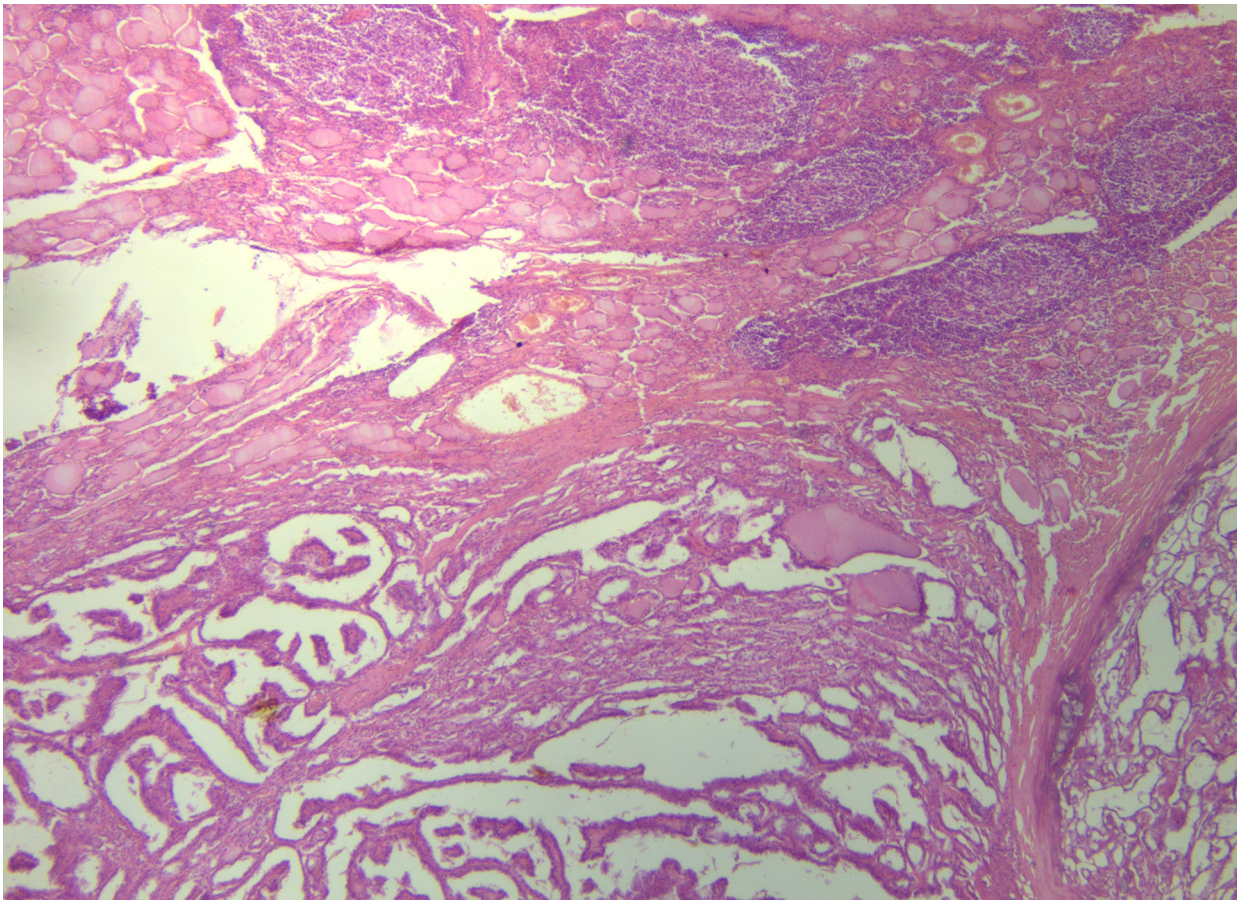


Рис. 2. Тканина щитоподібної залози з папілярною карциною щитоподібної залози та хронічним аутоімунним тиреоїдитом, забарвлена гематоксиліном та еозином, з наявністю папілярних структур карциноми з лімфоїдною інфільтрацією поза пухлиною з утворенням світлих центрів. $\times 40$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Мікроскопічна картина препаратів ЩЗ першої групи, забарвлених гематоксиліном та еозином, характеризувалась наявністю пухлинних комплексів, представлених атиповими А-тиреоцитами, які утворювали правильні папілярні та солідні структури, серед них знаходилась досить виражена сполучно-тканинна строма. Були присутні також ознаки невиразної місцевої лімфоїдної інфільтрації, вторинні зміни (кистоутворення, присутність пасмомних тілець). ІГХ-дослідження тканини органу встановило, що панцитокератин та цитокератин-7, а також Е-кадгерин експресуються фолікулярним епітелієм пухлинних структур слабо («+»), тоді як експресія віментину оцінюється як виразна («+++») (рис. 1) (табл. 1).

Морфологічне дослідження препаратів групи ПКЩЗ у поєднанні з ХАІТ при

забарвленні гематоксиліном та еозином характеризувалось присутністю пухлинних комплексів, що утворювали папілярні структури різної товщини та висоти, подекуди з солідними осередками, а також виразною безпосередньо перитуморозною та дифузно розташованою у пухлині лімфоїдною інфільтрацією з наявністю світлих центрів (рис. 2). Крім цього в органі були наявні склеротичні зміни у вигляді сполучнотканинних перетинок з «вузлуотворенням», подекуди — з полями склерозу.

При ІГХ-дослідженні тканина ЩЗ при поєднанні ПКЩЗ і ХАІТ демонструвала помірну («++») експресію досліджуваних маркерів — панцитокератину, кератину-7, віментину, Е-кадгерину (рис. 3) фолікулярним епітелієм (див. табл. 1).

Третя група при мікроскопічному дослідженні при забарвленні гематоксиліном

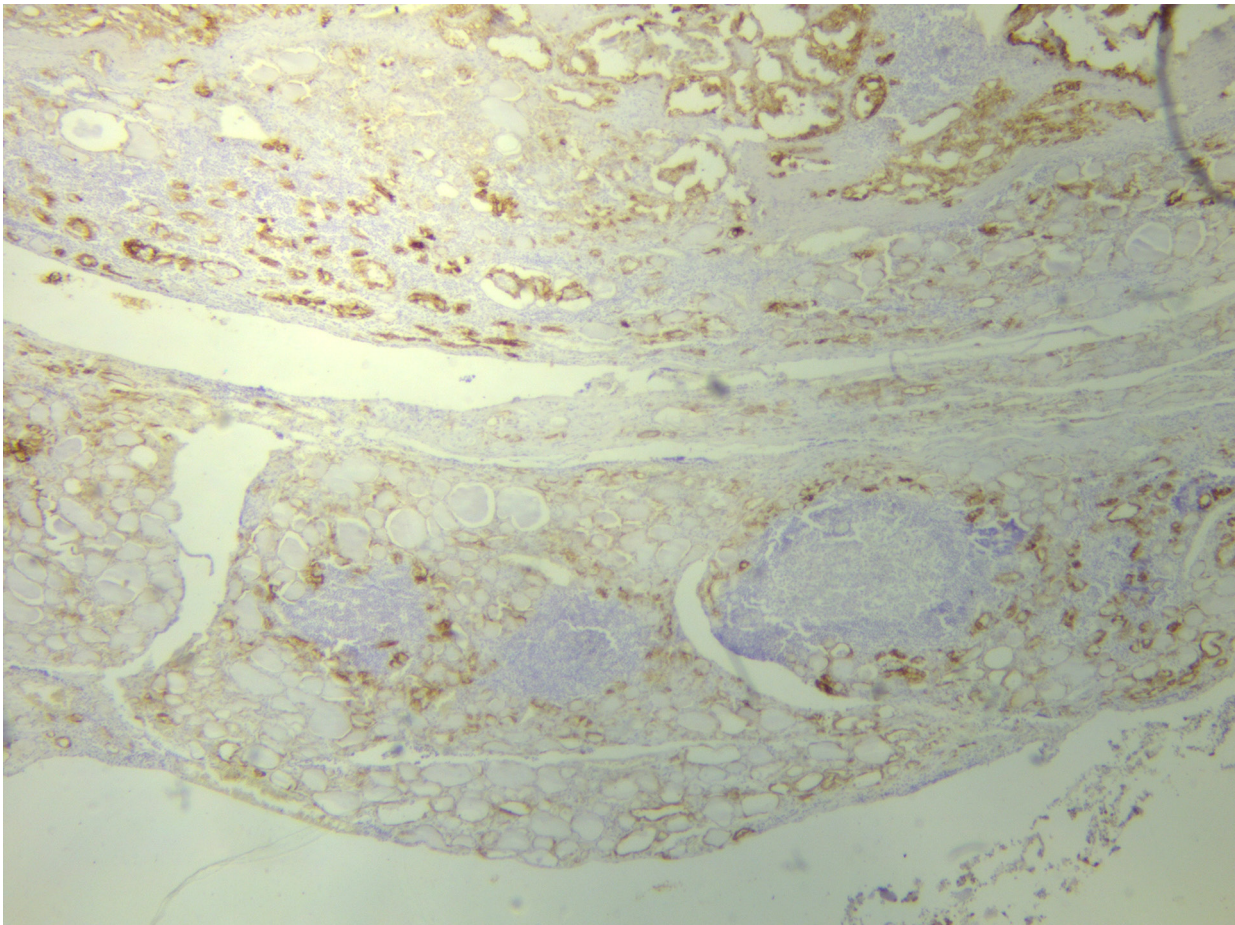


Рис. 3. Тканина щитоподібної залози з папілярною карциномою щитоподібної залози та хронічним аутоімунним тиреоїдитом, що експресує Е-кадгерин клітинами фолікулярного епітелію. ІГХ-дослідження з МКА до Е-кадгерину, $\times 40$.

та еозином характеризувалась наявністю поміж тканини ЩЗ множинних осередків, місцями — полів, лімфоїдних інфільтратів різних за розміром та площею з дифузним розташуванням лімфоцитів та утворенням лімфоїдних фолікулів зі світлими центрами розмноження. Тиреоїдні фолікули, що розташовувались в безпосередньому оточенні описаних елементів, переважно малого діаметру, інколи з резорбцією колоїду або ж навіть його відсутністю. Окрім цього тканина мала сполучно-тканинні перетинки різної товщини з наявністю хибного вузлуотворення («псевдовузли») (рис. 4).

ІГХ-дослідження тканини ЩЗ, враженої ХАІТ, встановило виразну («+++») експресію маркерів панцитокератину та кератину-7, Е-кадгерину клітинами фолікулярного епітелію та слабкий («+») її прояв білку віментину (рис. 5) (див. табл. 1).

При порівнянні знайдених змін в досліджуваних групах перш за все звертають на

себе увагу особливості лімфоїдної інфільтрації пухлинних комплексів при ізольованій карциномі. Там вона присутня, проте слабо виражена, дане явище може бути розцінене, як прояв місцевої імунної відповіді при пухлинному процесі. Це також підтверджується відсутністю імунних клітин поза осередків раку.

Описані в першій групі (ПКЩЗ) зміни характеризувались зниженням експресії Е-кадгерину, яке вказує на порушення міжклітинної адгезії, а також зниженням експресії панцитокератину та кератину-7 при виразній експресії мезенхімального маркеру віментину. Описані зміни властиві для явищ ЕМТ [3, 5]. Тканина ЩЗ в групі з ХАІТ демонструвала виразну експресію епітеліальних маркерів (панцитокератину та кератину-7), маркеру міжклітинної адгезії (Е-кадгерину) при низькій експресії мезенхімального маркеру (віментину). Наведена картина не суперечить доброякіс-

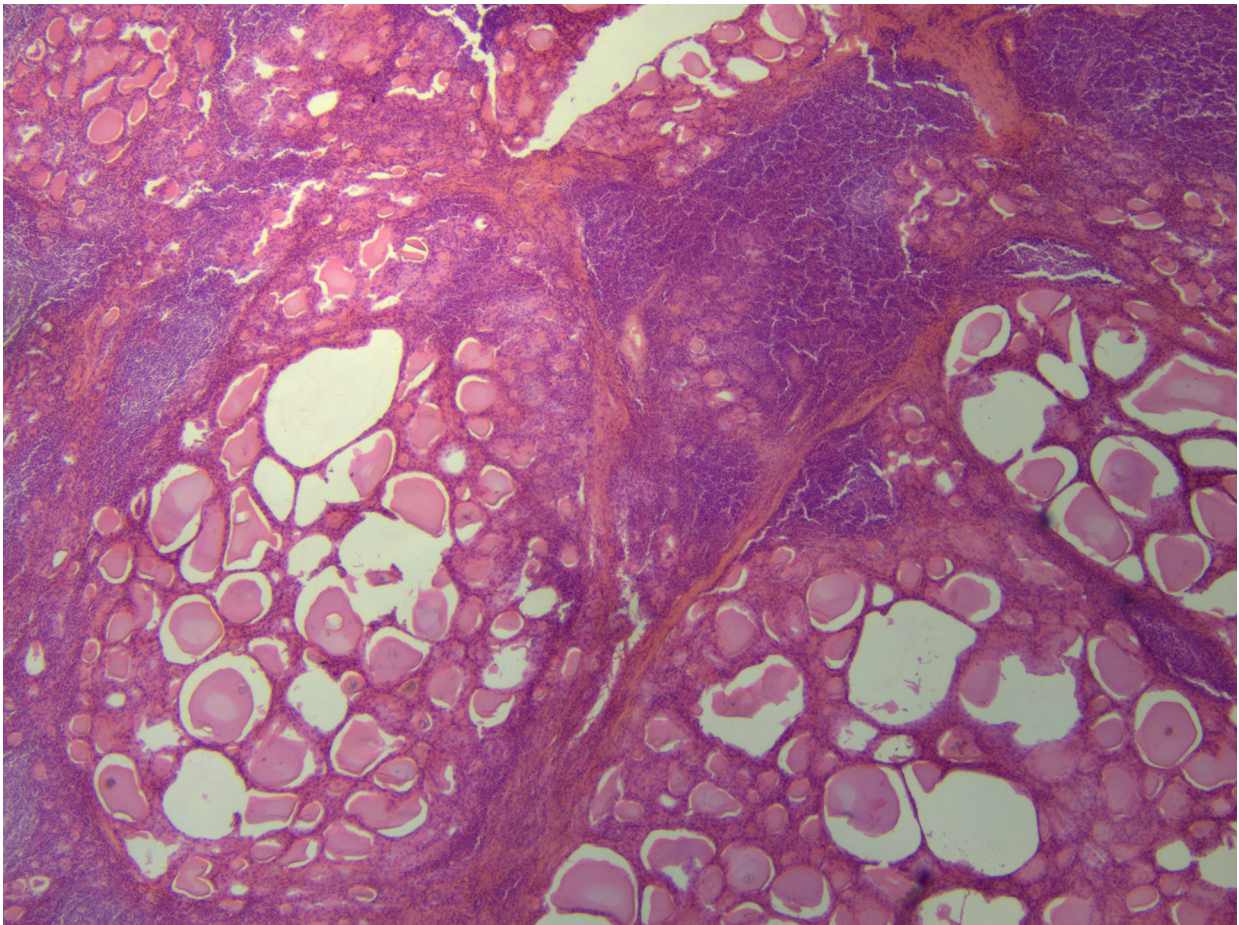


Рис. 4. Тканина щитоподібної залози з хронічним аутоімунним тиреоїдитом, забарвлена гематоксилином та еозином, з наявністю лімфоїдної інфільтрації, сполучно-тканинних перетинок з формуванням «псевдовузлів». $\times 40$.

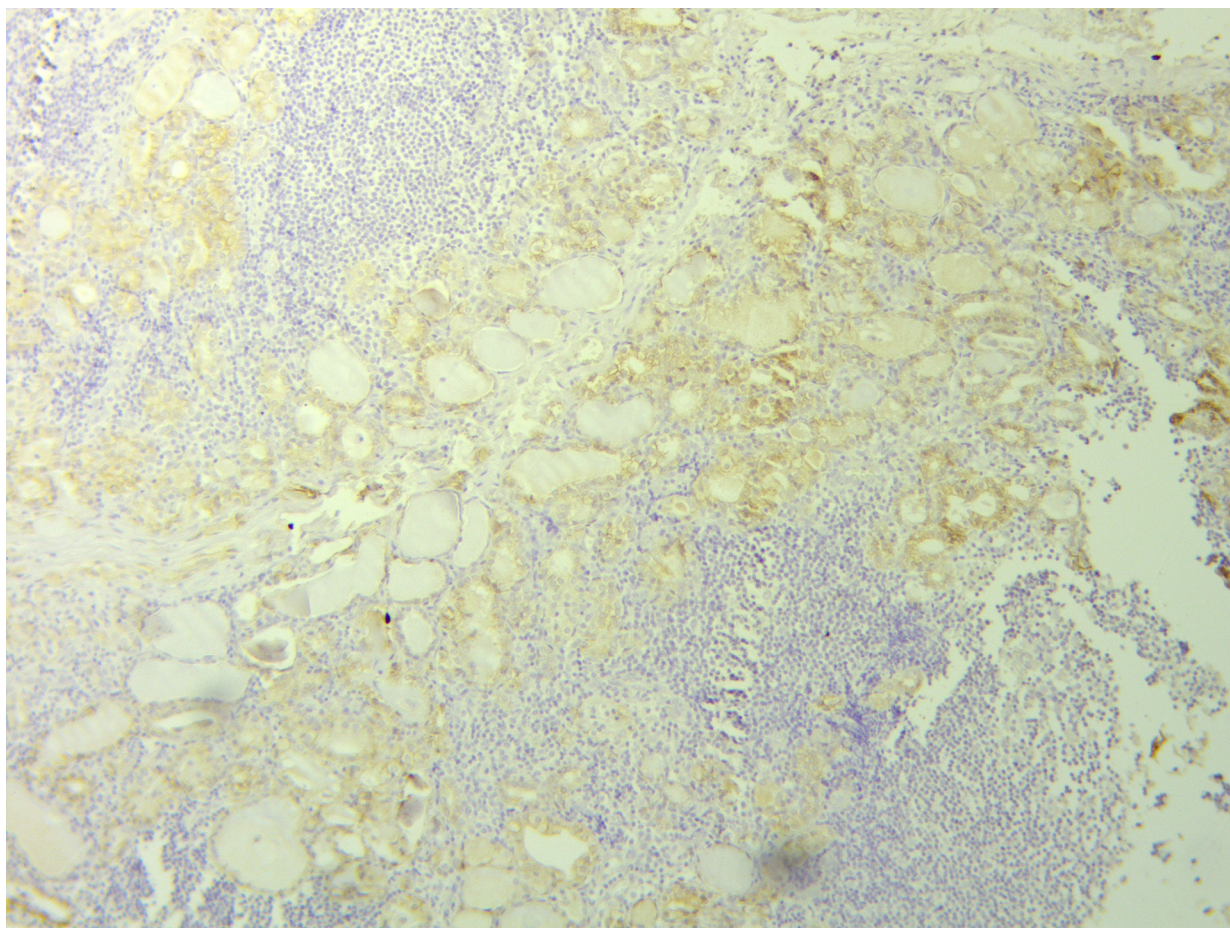


Рис. 5. Експресія віментину фолікулярним епітелієм в тканині щитоподібної залози з наявністю хронічного аутоімунного тиреоїдиту. ІГХ-дослідження з МКА до віментину, $\times 100$.

ному процесу. При поєднанні ПКЩЗ з ХАІТ представлені ІГХ зміни мали «проміжний» характер: помірна виразність експресії всіх досліджуваних маркерів, що вказує на відносне зменшення проявів ЕМТ в даній групі порівняно з ізольованою ПКЩЗ.

На нашу думку, наявність імунної інфільтрації, характерної для ХАІТ, в оточуючій карциному тканині та самих пухлинних комплексах може розцінюватись як локальний імунітет [7] та стримуючий

фактор для прогресії туморозного процесу. Дана гіпотеза збігається з результатами інших дослідників, що припускають сприятливий перебіг ПКЩЗ при наявності ХАІТ [8, 9]. З іншого боку, відомо, що наявність аутоімунного процесу в межах цього ендокринного органу часто призводить саме до пухлинної трансформації клітин тиреоїдних фолікулів [10]. Отже, необхідно проводити подальші дослідження в цьому напрямку з вивченням катамнезу хворих.

ВИСНОВКИ

В результаті комплексного патоморфологічного дослідження тканини щитоподібної залози з визначенням імуногістохімічних маркерів епітеліально-мезенхімальної трансформації можна припустити, що наявність хронічного аутоімунного тиреоїдиту у хворого на папілярну карциному

щитоподібної залози є прогностично сприятливими обставинами для перебігу пухлинного процесу, це розцінюється як наявність місцевого стримуючого фактору у вигляді імунної інфільтрації, яка перешкоджає швидкій місцевій прогресії пухлини та її метастазуванню.

ЛІТЕРАТУРА
(REFERENCES)

1. Lee JH, Kim Y, Choi JW, et al. *Eur J Endocrinol* 2013;168(3): 343-349. doi: 10.1530/EJE-12-0903
2. Antonaci A, Consorti F, Mardente S, et al. *Oncology Res* 2009;17: 495-503 doi: 10.3727/096504009789735431
3. Ivakhno IV. Morphological prognostic criteria of papillary thyroid microcarcinomas: Manuscript, *Kharkiv*, 2015: 23 p.
4. Khoperiia VH. Chynnyky prohnozu pukhlyn shchytopodobnoi zalozy, *Kyiv*, 2012: 32 p.
5. Vasylenko IV, Kondratiuk RB, Kudriashov OH. *Klynycheskaia Onkologiya* 2012;5(1): 167-163. <https://www.clinicaloncology.com.ua/article/2405/osobnosti-epitelialno-mezenximalnoj-transformacii-v-rakax-razlichnoj-lokalizacii-i-gistologicheskogo-stroeniya>
6. Lan L, Luo Y, Cui D, et al. *Int J Oncol* 2013;43(1): 113-120. doi: 10.3892/ijo.2013.1913.
7. Loh KC, Greenspan FS, Dong F, et al. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84: 458-463. doi: 10.1210/jcem.84.2.5443
8. Jara SM, Carson KA, Pai SI, et al. *Surgery* 2013;154(6): 1272-1282. doi: 10.1016/j.surg.2013.07.021
9. Ju-Han L, Kim Y, Choi JW, et al. *Eur J Endocrinol* 2013;168(3): 343-349. doi: 10.1530/EJE-12-0903
10. Pomahacova R, Zamboryova J, Paterova P, et al. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2018; 162(4): 289-293. doi: 10.5507/bp.2018.030

ОСОБЛИВОСТІ ЕПІТЕЛІАЛЬНО-МЕЗЕНХІМАЛЬНОЇ ТРАНСФОРМАЦІЇ
ПАПІЛЯРНОЇ КАРЦИНОМИ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ
НА ТЛІ ХРОНІЧНОГО АУТОІМУННОГО ТИРЕОЇДИТУКараченцев Ю. І.^{1,2}, Філоненко Н. Г.¹, Калужина О. В.², Сорокіна І. В.²¹ ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України», м. Харків, Україна;² Харківський національний медичний університет, м. Харків, Україна
xirurgi4ka@gmail.com

Папілярна карцинома щитоподібної залози є найбільш поширеною формою раку щитоподібної залози. Захворюваність на аутоімунний тиреоїдит зросла за останні 50 років. Асоціація між даними патологіями є предметом тривалих та постійних дебатів щодо впливу на перебіг пухлинного процесу.

Метою дослідження було встановити особливості імуногістохімічних показників маркерів епітеліально-мезенхімальної трансформації папілярної карциноми щитоподібної залози на тлі хронічного аутоімунного тиреоїдиту у порівнянні з ізольованою карциномою без фонової патології.

Матеріали та методи. Тканина щитоподібної залози слугувала матеріалом дослідження. Матеріал розділили на три групи: 1 група: папілярний рак щитоподібної залози, 2 група: папілярний рак щитоподібної залози на фоні хронічного аутоімунного тиреоїдиту, 3 група: хронічний аутоімунний тиреоїдит. Проводилось гістологічне (забарвлення гематоксиліном та еозином) та імуногістохімічне дослідження (визначення панцитокератину, кератину-7, віментину, Е-кадгерину) з подальшим статистичним аналізом отриманих даних.

Результати. В групі з карциномою спостерігалось зниження експресії Е-кадгерину, що вказує на порушення міжклітинної адгезії, а також зниження показників панцитокератину та кератину-7 при виразній експресії мезенхімального маркеру віментину. Група з хронічним аутоімунним тиреоїдитом демонструвала виразну експресію епітеліальних маркерів та маркеру міжклітинної адгезії при низькому рівні віментину, що не суперечить картині доброякісного процесу. При поєднанні описаних патологій імуногістохімічна картина є «проміжною»: помірна виразність експресії всіх досліджуваних маркерів, що вказує на відносне зменшення проявів епітеліально-мезенхімальної трансформації в даній групі порівняно з ізольованою карциномою.

Висновки. В результаті комплексного патоморфологічного дослідження тканини щитоподібної залози з визначенням імуногістохімічних маркерів епітеліально-мезенхімальної трансформації можна припустити, що наявність хронічного аутоімунного тиреоїдиту у хворого на папілярну карциному щитоподібної залози є прогностично сприятливими обставинами для перебігу пухлинного процесу, це розцінюється як наявність місцевого стримуючого фактору у вигляді імунної інфільтрації, яка перешкоджає швидкій місцевій прогресії пухлини та її метастазуванню.

Ключові слова: папілярна карцинома щитоподібної залози, хронічний аутоімунний тиреоїдит, епітеліально-мезенхімальна трансформація, імуногістохімічне дослідження.

**FEATURES OF EPITHELIAL-MESENCHYMAL TRANSFORMATION
OF PAPILLAR THYROID CARCINOMA ON THE BACKGROUND
OF CHRONIC AUTOIMMUNE THYROIDITIS**

Yu. I. Karachentsev^{1,2}, N. G. Filonenko¹, O. V. Kaluzhyna², I. V. Sorokina²

¹ *SI «V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems of the NAMS of Ukraine»,
Kharkiv, Ukraine*

² *Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine
xirurgi4ka@gmail.com*

Papillary thyroid carcinoma is the most common form of thyroid cancer. The incidence of autoimmune thyroiditis has increased over the past 50 years. The association between these pathologies is the subject of a long and ongoing debate regarding the impact on the course of the tumor process.

The aim of the study was to establish the features of immunohistochemical indicators of markers of epithelial-mesenchymal transformation of papillary carcinoma of the thyroid gland against the background of chronic autoimmune thyroiditis in comparison with isolated carcinoma without background pathology.

Materials and methods. The tissue of the thyroid gland served as the research material. The material was divided into three groups: 1st group: papillary thyroid cancer, 2nd group: papillary thyroid cancer against the background of chronic autoimmune thyroiditis, 3rd group: chronic autoimmune thyroiditis. A histological (hematoxylin and eosin staining) and immunohistochemical study (determination of pancytokeratin, keratin-7, vimentin, E-cadherin) was carried out, followed by statistical analysis of the obtained data.

Results. In the group with carcinoma, there was a decrease in the expression of E-cadherin, which indicates a violation of intercellular adhesion, as well as a decrease in the parameters of pancytokeratin and keratin-7 with a pronounced expression of the mesenchymal marker vimentin. The group with chronic autoimmune thyroiditis showed a clear expression of epithelial markers and a marker of intercellular adhesion with a low level of vimentin, which does not contradict the picture of a benign process. When the described pathologies are combined, the immunohistochemical picture is «intermediate»: moderate expressiveness of the expression of all studied markers, which indicates a relative decrease in the manifestations of epithelial-mesenchymal transformation in this group compared to isolated carcinoma.

Conclusions. As a result of a complex pathomorphological study of thyroid tissue with the determination of epithelial-mesenchymal transformation markers by immunohistochemistry, it can be assumed that the presence of chronic autoimmune thyroiditis in a patient with thyroid cancer is a prognostically favorable circumstance for the course of the tumor process, it is considered as the presence of a local restraining factor in the form of immune infiltration, which prevents the rapid local progression of the tumor and its metastasis.

Key words: papillary carcinoma of the thyroid gland, chronic autoimmune thyroiditis, epithelial-mesenchymal transformation, immunohistochemical study.