Оригінальні дослідження

DOI: 10.31793/1680-1466.2021.26-4.326

Цитологічні чинники прогнозу післяопераційного метастазування та радіойодрезистентності папілярного раку щитоподібної залози

М.Д. Тронько, Г.В. Зелінська, Ю.М. Божок, А.М. Кваченюк, С.В. Гулєватий, Г.М. Кулініченко, Г.Я. Устименко

ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»

Резюме. Актуальною проблемою є раннє передопераційне прогнозування поведінки папілярної карциноми (ПК) щитоподібної залози (ЩЗ) на основі виявлення специфічних цитологічних особливостей пунктатів первинних ПКЩЗ, які корелюють із частотою їх післяопераційного метастазування та радіойодрезистентністю. **Мета** — дослідити кореляцію між експресією тиреоїдної пероксидази (ТПО), а також наявністю особливих клітинних субпопуляцій у пунктатах первинних ПКЩЗ та частотою їх післяопераційного метастазування. **Матеріал і методи.** Цитологічні та імуноцитохімічні дослідження проведено за допомогою моноклональних антитіл до ТПО «TPO-47» («DakoCytomation», Данія) на матеріалі тонкогольчастих аспіраційних пункційних біопсій (ТАПБ) первинних ПКЩЗ та їх метастазів, отриманих від 125 пацієнтів, що проходили обстеження, хірургічне лікування та радіойодтерапію в клініці ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України» (ІЕОР). **Результати.** Показано зворотний кореляційний зв'язок ($p<0,05$) між вмістом ТПО-позитивних епітеліоцитів у пунктатах первинних ПКЩЗ та частотою їх післяопераційного метастазування. При вмісті ТПО-позитивних епітеліоцитів від 50,0 до 92,0% не було визначено метастазів ПКЩЗ у післяопераційний період. Радіойодрезистентні метастази (РЙРМ) реєстрували лише при відсутності ТПО або при <25,0% ТПО-позитивних епітеліоцитів у пунктатах первинних ПКЩЗ. Індивідуальне порівняння вмісту ТПО-позитивних тиреоцитів у матеріалі первинних ПКЩЗ та їх синхронних метастазів продемонструвало, що їх відсоток у більшості випадків не збігається. Статистично підтверджена різниця між частотою післяопераційного метастазування в групах пацієнтів із наявністю та відсутністю особливих S-епітеліоцитів у пунктатах первинних ПКЩЗ ($p=0,0272$ за тестом χ^2). **Висновки.** Визначення експресії ТПО та наявності S-епітеліоцитів у матеріалі ТАПБ первинних ПКЩЗ може бути використано для прогнозування їх післяопераційного метастазування та радіойодрезистентності. Високий відсоток ТПО-позитивних епітеліоцитів у пунктатах ПКЩЗ (>50,0%) дозволяє прогнозувати їх сприят-

© М.Д. Тронько, Г.В. Зелінська, Ю.М. Божок, А.М. Кваченюк, С.В. Гулєватий, Г.М. Кулініченко, Г.Я. Устименко

ливу поведінку без розвитку післяопераційних метастазів. Показано, що коли вміст ТПО-позитивних клітин не перевищує 25,0% тиреоцитів пунктату ПКЩЗ, не виключено післяопераційне метастазування та поява РЙРМ. Доведена різниця між частотою післяопераційного метастазування в залежності від наявності особливих S-епітеліоцитів у пунктатах первинних ПКЩЗ.

Ключові слова: щитоподібна залоза, папілярна карцинома, цитологічні дослідження, метастазування, радіойодрезистентність, тиреоїдна пероксидаза.

Попри сприятливий прогноз ПКЩЗ для більшості пацієнтів, у післяопераційний період (після проведення тиреоїдектомії та радіойодтерапії) у низці випадків виникають рецидиви та метастази, зокрема радіойодрезистентні [1-3]. Для РЙРМ неефективна радіойодтерапія, тому медіана виживання пацієнтів із віддаленими метастазами різко знижується [4-6]. Існує безліч систем прогнозування поведінки тиреоїдного раку, які базуються на клінічних, гістологічних і молекулярно-генетичних особливостях пухлин [7-10]. Водночас, найбільш раннім етапом прогнозування поведінки тиреоїдного раку в перспективі може бути передопераційне прогнозування на основі виявлення специфічних цитологічних особливостей пунктатів первинних ПКЩЗ, які корелюють із частотою їх післяопераційного метастазування та радіойодрезистентністю.

Перспективними маркерами передопераційного прогнозування поведінки ПКЩЗ можуть бути деякі цитологічні та імуноцитохімічні фактори. За даними низки досліджень, ТПО використовується не тільки як цитологічний маркер малігнізації новоутворень ЩЗ, а й як прогностичний чинник клінічної поведінки пухлин [11, 12]. Так, виявлено зворотну залежність між рівнем експресії ТПО в тканині пухлини та стадією новоутворення за міжнародною класифікацією стадій злоякісних новоутворень (TNM-класифікація) [12]. Крім того, ми показали, що цитологічною особливістю РЙРМ є наявність особливих клітинних субпопуляцій, які відрізняються від інших епітеліоцитів за цитологічними та імуноцитохімічними характеристиками та можуть представляти інтерес в якості маркерів прогнозу поведінки ПКЩЗ [13].

Мета роботи — дослідити кореляцію експресії ТПО та наявності особливих клітинних субпопуляцій у пунктатах первинних ПКЩЗ та частоти їх післяопераційного метастазування.

Матеріал і методи

Дослідження проводили на цитологічному матеріалі ТАПБ ПКЩЗ та метастатичних лімфатичних вузлів пацієнтів чоловічої та жіночої статі, які проходили обстеження, хірургічне лікування та радіойодтерапію в клініці ІЕОР.

У групу обстежених було включено 125 пацієнтів із верифікованими патоморфологічно ПКЩЗ, яким проводилась ТАПБ із наступним цитологічним дослідженням, тиреоїдектомія з дисекцією лімфовузлів шиї, через 4-6 тижнів — післяопераційна радіойодтерапія і супресивна гормональна терапія L-тироксином. Згідно з критеріями Американської тиреоїдної асоціації (American Thyroid Association, ATA) РЙРМ визначали як: метастатичні осередки, які не поглинають радіоактивний йод; метастатичні осередки, які поглинають радіоактивний йод, але захворювання прогресує протягом року після проведення радіойодтерапії; захворювання прогресує, незважаючи на отриману сумарну дозу радіойоду щонайменше 600 мКі (22,2 ГБк) [3-5]. Пацієнти отримали від 1 до 7 курсів радіойодтерапії, середня кумулятивна активність радіойоду склала 5,47±5,1 ГБк.

Цитологічні дослідження проводили на пунктатах, фіксованих метанолом та забарвлених впродовж 30 хв за методом Романовського-Гимза. Цитологічні характеристики епітелію пунктатів оцінювали за допомогою мікроскопа «Olympus CX41» («Olympus Corporation», Японія). Пунктати вважали інформативними за наявності 6-9 груп незруйнованих клітин фолікулярного епітелію на кожному з 3-4 скелець із кожного пропунктованого новоутворення.

VERTE

Імуноцитохімічні дослідження проводили на пунктатах, забарвлених за методом Романовського-Гімза, після відновлення активності антигенних детермінант [14]. Для цього препарати обробляли 0,1% розчином трипсину впродовж 60 с, після промивки обробляли 1% розчином оцтової кислоти впродовж 10 хв, після чого знову промивали дистильованою водою. Для пригнічення ендогенної пероксидази пунктатів їх обробляли 1% розчином перекису водню впродовж 30 хв, після чого препарати промивали фосфатно-сольовим буфером (pH=7,4). Застосовували непрямий імунопероксидазний метод із використанням моноклональних антитіл миші проти ТПО «TPO-47» («DakoCytomation», Данія, розведення 1:50). В якості вторинних використовували антитіла проти гамаглобулінів миші, які були мічені пероксидазою хрону («DakoCytomation», Данія). Візуалізацію локалізації антигенів проводили за допомогою розчину хромогену — 3,3-діамінобензидину, до якого додавали 10 мкл 6% розчину перекису водню. При визначенні відсотка імунопозитивних клітин підраховували не менше 1000 тиреоцитів у кожному випадку.

Інформація для аналізу була отримана з клінічної бази даних ІЕОР за допомогою медичної інформаційної системи «TerDep». Статистичне опрацювання даних робили з використанням критерію Хі-квадрат (χ^2). Для здійснення кореляційного аналізу між досліджуваними параметрами застосовували рангові коефіцієнти кореляції Спірмена або гамма-кореляції. Розрахунки виконані в пакеті Statistica 12.0 StatSoft. Різниця результатів вважалася вірогідною при $p<0,05$.

Дослідження проведено відповідно до етичних стандартів Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964-2008 рр.), директиви Європейського товариства 86/609 про участь людей у медико-біологічних дослідженнях, а також наказу Міністерства охорони здоров'я України № 690 від 23.09.2009 р. Пацієнти дали свою інформовану згоду на участь у дослідженні, яке схвалене Комісією з біоетики Державної установи «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України» (протокол № 198-КЕ від 16.06.2014).

Загальна характеристика матеріалу дослідження представлена в **табл. 1**.

Таблиця 1. Загальна характеристика об'єкта дослідження
Table 1. General characteristics of the research object

Показники Indicators	ПКЩЗ Papillary thyroid carcinoma (PTC) (n=125)	Доопераційні метастази Preoperative metastases (n=24)
Жінки, n (%) Women, n (%)	94 (75,2)	17 (70,8)
Чоловіки, n (%) Men, n (%)	31 (24,8)	7 (29,2)
Вік на момент операції (роки) Age at the time of operation, years	34,88±12,6	37,45±14,8
Цитологічне дослідження, n (%) Cytological examination, n (%)	125	24 (19,2)
Імуноцитохімічне дослідження, n (%) Immunocytochemical study, n (%)	125	24 (19,2)

Результати та обговорення

Імуноцитохімічне дослідження експресії ТПО в матеріалі ТАПБ первинних ПКЩЗ та їх регіонарних метастазів

Проведено імуноцитохімічне дослідження експресії ТПО з підрахунком відсотка антигенпозитивних епітеліоцитів у пункційному матеріалі 36 первинних ПКЩЗ та 24 регіонарних метастазів, виявлених на момент встановлення діагнозу. Було встановлено, що відсоток епітеліоцитів, які містили тиреоїдну пероксидазу в пунктатах досліджених ПКЩЗ, коливався в межах від 0,0 до 92,0% **(рис. 1)**.

Аналіз кореляції між вмістом епітеліальних клітин, які реагують з антитілами до ТПО, та частотою виявлення метастазів у цих пацієнтів у післяопераційний період (після проведення тиреоїдектомії та радіойодтерапії) доводить наявність зворотного кореляційного зв'язку між показниками ($p<0,05$) як за визначенням гамма-кореляції (–0,489362), так і за методом Спірмена (–0,344788).

Показано, що при високому вмісті тиреоцитів із позитивною реакцією антитіл до ТПО в пунктатах ПКЩЗ (від 50,0 до 92,0%) не було визначено метастазів у післяопераційний період. При цьому, появу РЙРМ реєстрували лише у випадках відсутності експресії ТПО

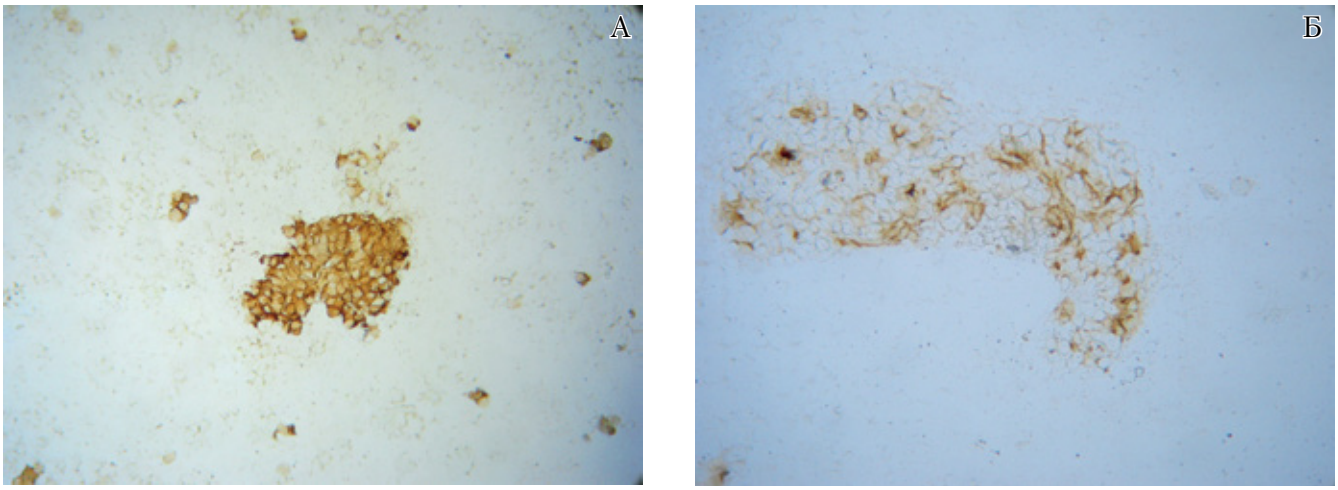

Рис. 1. Результати імуноцитохімічної реакції епітеліоцитів матеріалу ТАПБ ПКЩЗ з антитілами до ТПО.

Примітка: А — виражена реакція тиреоцитів пунктату; Б — мозаїчна реакція тиреоцитів пунктату. Збільшення ×200.

Fig. 1. Results of immunocytochemical reaction of epithelial cells of fine-needle aspiration (FNA) smears of PTC with antibodies to thyroid peroxidase (TPO).

Note: A — expressed reaction of thyrocytes of FNA smear; B — mosaic reaction of FNA smear. Magnification ×200.

в пункційному матеріалі ПКЩЗ, або якщо вона мала місце щонайбільше в 25,0% тиреоцитів у пунктатах **(табл. 2)**.

Також було проведено імуноцитохімічне дослідження експресії ТПО та порівняння вмісту імунопозитивних епітеліоцитів у матеріалі ТАПБ наступних пар: первинних ПКЩЗ та синхронно виявлених регіонарних метастазів.

Показано, що у 29,17% (7 із 24 випадків) експресія ТПО була відсутня в пунктатах як ПКЩЗ, так і їх синхронного метастазу. У 45,83% (11 із 24 випадків) було виявлено зменшення відсотка ТПО-позитивних тиреоцитів у пункційному матеріалі метастазу порівняно з ПКЩЗ. В останніх 25% (6 із 24 випадків) вміст тиреоцитів за наявності ТПО в пунктатах метастазів перевищував такий в матеріалі ПКЩЗ **(рис. 2)**.

Тобто, при індивідуальному порівнянні вмісту ТПО-позитивних клітин у матеріалі ПКЩЗ та їх синхронних метастазів, їх відсоток у більшості випадків не збігався. Відсоток епітеліоцитів із ТПО в пунктатах метастазів у більшості випадків виявився меншим, ніж у матеріалі ПКЩЗ, але в деяких випадках, цей показник у пунктатах метастазів перевищував такий у ПКЩЗ. Не виявлено статистично вагомої різниці між відсотком тиреоцитів із ТПО в пунктатах ПКЩЗ та їх синхронних регіонарних метастазів (p=0,084018 за критерієм Вілкоксона).

Результати проведених досліджень демонструють, що визначення вмісту тиреоцитів за наявності ТПО в матеріалі ТАПБ ПКЩЗ може бути використано для прогнозування їх

Таблиця 2. Розподіл пацієнтів залежно від показників експресії ТПО (%) в епітелії матеріалу ТАПБ первинних ПКЩЗ (n=36) із радіойодчутливими та радіойодрезистентними метастазами (n, %)
Table 2. Distribution of patients depending on indicators of TPO expression (%) in the epithelium of FNA smear of primary PTC (n=36) with radioiodine sensitive and radioiodine resistant metastases (n, %)

Групи Groups	Кількість ТПО-позитивних епітеліоцитів The number of TPO-positive epitheliocytes (%)				
	0-5	>5-25	>25-50	>50-92	Разом
Пацієнти без метастазів, Patients without metastases	3 (8,3)	4 (11,1)	2 (5,6)	4 (11,1)	13 (36,1)
Пацієнти з радіойодчутливими метастазами Patients with radioiodine sensitive metastases	9 (25,0)	5 (13,9)	1 (2,8)	0 (0,0)	15 (41,7)
Пацієнти з радіойодрезистентними метастазами Patients with radioiodine resistant metastases	7 (19,4)	1 (2,8)	0 (0,0)	0 (0,0)	8 (22,2)

VERTE

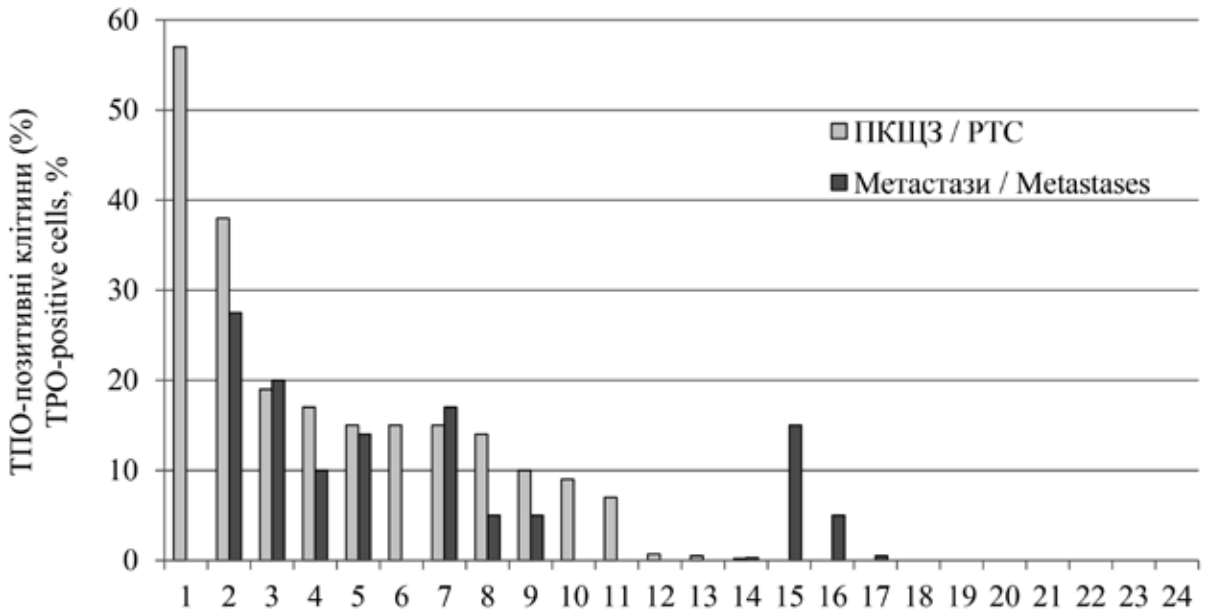

Рис. 2. Розподіл вмісту (%) тиреоцитів з експресією ТПО в пункційному матеріалі ПКЩЗ та їх регіонарних, синхронно виявлених метастазів.

Fig. 2. Distribution of the content (%) of thyrocytes with the expression of TPO in the FNA smear of PTC and their regional synchronously detected metastases.

поведінки та тенденцій метастазування в післяопераційний період (після тиреоїдектомії, радіойодтерапії та супресивної гормональної терапії) з метою визначення тактики моніторингу та терапії пацієнтів із ПКЩЗ. Відсутність експресії або низький відсоток (<25,0%) тиреоцитів із ТПО в матеріалі пунктатів ПКЩЗ не виключає метастазування в післяопераційний період та появу РЙРМ. Високий відсоток антиген-позитивних епітеліоцитів у матеріалі ТАПБ ПКЩЗ (>50,0%) дозволяє прогнозувати сприятливу поведінку пухлини без очікування формування післяопераційних метастазів.

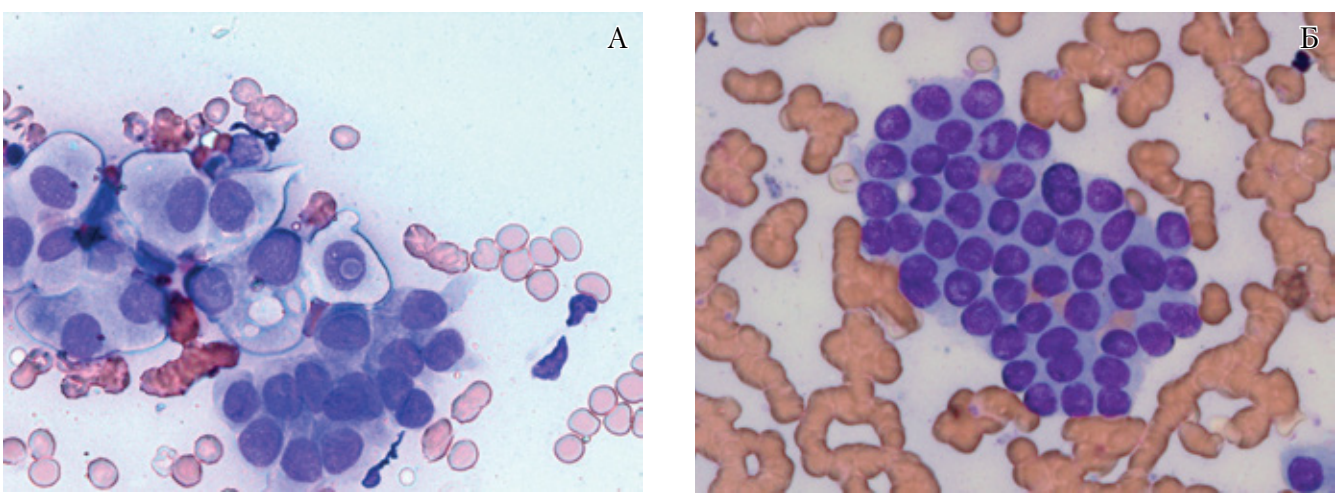

Рис. 3. Цитограми пунктатів метастазів ПКЩЗ.

Примітка: А — S-клітини з чітким контуром та світлою цитоплазмою на тлі інших епітеліоцитів у пунктаті РЙРМ; Б — однорідна популяція епітеліоцитів у пунктаті радіойодчутливого метастазу ПКЩЗ. Забарвлення за Романовським-Гімза. Збільшення ×400.

Fig. 3. Cytograms of FNA smear of metastases of PTC.

Notes: A — S-cells with a clear contour and light cytoplasm on the background of other epitheliocytes in the FNA smear of RIRM; B — homogeneous population of epitheliocytes in the FNA smear of radioiodine sensitive metastasis of PTC. Romanovsky-Gimza staining. Magnification ×400.

Цікаво, що в усіх випадках, коли ТПО не визначалася в пункційному матеріалі як ПКЩЗ, так і її синхронного регіонарного метастазу, у пацієнтів спостерігалось метастазування в післяопераційний період, зокрема розвиток РЙРМ. При відсутності ТПО-позитивних тиреоцитів у матеріалі ТАПБ синхронного метастазу та одночасно їх високому відсотку в пунктаті ПКЩЗ післяопераційне метастазування не визначалось. Тобто, при прогнозуванні післяопераційного метастазування ПКЩЗ доцільно враховувати вміст епітеліоцитів із наявністю ТПО саме в пунктатах первинних ПКЩЗ або відсутність антигена як у пунктатах ПКЩЗ, так і їх синхронних метастазів.

Раніше нами була продемонстрована наявність у пунктатах РЙРМ ПКЩЗ фенотипової гетерогенності фолікулярного епітелію, яка проявлялась більшим розмаїттям субклонів і структур тиреоцитів порівняно з радіойодчутливими метастазами (**рис. 3**). Однією з цитологічних особливостей РЙРМ є наявність особливих фенотипів епітеліоцитів (S-, або «світлих» клітин), які відрізнялись від загальної популяції епітелію наявністю чіткого контуру, світлої цитоплазми, а також відсутністю тиреоглобуліну та тиреоїдної пероксидази, які беруть участь в акумуляції радіойоду [13].

Крім того, для S-клітин характерною є відсутність молекул епітеліоцитів, виявлених за допомогою антитіл BerEP4, які можуть мати відношення до епітеліально-мезенхімального переходу [15]. Тому, актуальним є питання кореляції між присутністю S-клітин у пунктатах ПКЩЗ та частотою післяопераційного метастазування. Проведене дослідження продемонструвало, що післяопераційні метастази, зокрема радіойодрезистентні, були визначені в 60,97% (25 із 41 випадку) наявності S-клітин у пунктатах первинних ПКЩЗ. Водночас, у пацієнтів із відсутністю цих клітин у пунктатах папілярних раків, такі метастази визначено лише в 35,42% (17 із 48 випадків). Статистично підтверджена різниця між частотою метастазування в групах за наявності та відсутності S-клітин у пунктатах ПКЩЗ ($p=0,0272$ за тестом χ^2).

Вивчення кореляції між наявністю S-клітин у пунктатах ПКЩЗ та кількістю регіонарних метастазів продемонструвало, що в пацієнтів із множинними регіонарними метастазами ці клітини виявлено в 42,0% випадків, тоді як у пацієнтів із відсутністю регіонарних метастазів S-клітини виявлялись лише у 22,0% випадків ($p<0,05$). Отримані дані вказують на наявність зв'язку між частотою післяопераційного метастазування ПКЩЗ та наявністю S-клітин у пунктатах первинних пухлин та можуть свідчити про участь цих особливих тиреоцитів у процесі метастазування. Результати проведених досліджень продемонстровані в **табл. 3**.

Таблиця 3. Частота виявлення післяопераційних метастазів (%) в залежності від наявності S-клітин у пункційному матеріалі первинних ПКЩЗ

Table 3. Frequency of detection of postoperative metastases (%) depending on the presence of S-cells in the FNA smear of primary PTC

Наявність S-клітин Presence of S-cells	Післяопераційні метастази, n (%) Postoperative metastases, n (%)	
	відсутні absent	присутні present
Відсутні Absent (n=48)	31 (64,58)	17 (35,42)*
Присутні Present (n=41)	16 (39,03)	25 (60,97)*

*Примітка: * — $p<0,05$ порівняно з показником групи без післяопераційного метастазування за критерієм χ^2.*

*Note: * — $p<0.05$ compared with the group without postoperative metastases by criterion χ^2.*

Таким чином, вперше запропоновано використання визначення експресії ТПО та наявності особливих S-епітеліоцитів у матеріалі ТАПБ ПКЩЗ із метою раннього передопераційного прогнозування поведінки ПКЩЗ у післяопераційний період (після проведення тиреоїдектомії та радіойодтерапії) та розвитку радіойодрезистентності. Відомо, що запізнення виявлення метастазів знижує показники виживання пацієнтів із ПКЩЗ. Тому на всіх етапах лікування таких пацієнтів важливо враховувати вірогідність розвитку метастазування та радіойодрезистентності з метою вчасної корекції програми лікування. Використання як цитологічних факторів прогнозу поведінки ПКЩЗ особливих S-епітеліоцитів є новітнім цитологічним підходом, який дозволяє дослідити асоціації агресивної поведінки ПКЩЗ саме з комплексом, а не окремими цитологічними ознаками.

VERTE

Висновки

1. Доведено зворотний кореляційний зв'язок між вмістом епітеліальних клітин із позитивною імуноцитохімічною реакцією до ТПО в пункційному матеріалі первинних ПКЩЗ та частотою їх післяопераційного метастазування ($p<0,05$) як за визначенням гамма-кореляції ($r= -0,489362$), так і за методом Спірмена ($r= -0,344788$).
2. Показано, що коли вміст ТПО-позитивних клітин не перевищує 25,0% тиреоцитів пунктату ПКЩЗ, не виключено післяопераційне метастазування та поява РЙРМ. Високий відсоток ТПО-позитивних епітеліоцитів в пунктатах ПКЩЗ (>50,0%) дозволяє прогнозувати їх сприятливу поведінку без розвитку післяопераційних метастазів.
3. Індивідуальне порівняння вмісту ТПО-позитивних тиреоцитів у матеріалі первинних ПКЩЗ та їх синхронних метастазів продемонструвало, що їх відсоток у більшості випадків не збігається. При прогнозуванні післяопераційного метастазування ПКЩЗ доцільно враховувати вміст епітеліоцитів за наявності ТПО саме в пунктатах ПКЩЗ або відсутність антигену як у пунктатах первинної пухлини, так і її синхронного метастазу.
4. Доведена різниця між частотою післяопераційного метастазування в залежності від наявності особливих S-епітеліоцитів у пунктатах ПКЩЗ. Визначення експресії ТПО та наявності S-клітин у пункційному матеріалі ПКЩЗ може бути використано для прогнозування їх післяопераційного метастазування та радіойодрезистентності.

Список використаної літератури

1. Jin Y, Van Nostrand D, Cheng L, Liu M, Chen L. Radioiodine refractory differentiated thyroid cancer. Crit Rev Oncol Hematol. 2018 May;125:111-20. doi: 10.1016/j.critrevonc.2018.03.012.
2. Colombo C, Minna E, Gargiuli C, Muzza M, Dugo M, De Cecco L, et al. The molecular and gene/miRNA expression profiles of radioiodine resistant papillary thyroid cancer. J Exp Clin Cancer Res. 2020 Nov 16;39(1):245. doi: 10.1186/s13046-020-01757-x.
3. Gild ML, Topliss DJ, Learoyd D, Parnis F, Tie J, Hughes B, et al. Clinical guidance for radioiodine refractory differentiated thyroid cancer. Clin Endocrinol (Oxf). 2018 Apr;88(4):529-37. doi: 10.1111/cen.13508.
4. Capdevila J, Galofré JC, Grande E, Zafón Llopis C, Ramón Y Cajal Asensio T, Navarro González E, et al. Consensus on the management of advanced radioactive iodine-refractory differentiated thyroid cancer on behalf of the Spanish Society of Endocrinology Thyroid Cancer Working Group (GTSEEN) and Spanish Rare Cancer Working Group (GETHI). Clin Transl Oncol. 2017 Mar;19(3):279-87. doi: 10.1007/s12094-016-1554-5.
5. Fugazzola L, Elisei R, Fuhrer D, Jarzab B, Leboulleux S, Newbold K, et al. 2019 European Thyroid Association guidelines for the treatment and follow-up of advanced radioiodine-refractory thyroid cancer. Eur Thyroid J. 2019 Oct;8(5):227-45. doi: 10.1159/000502229.
6. Worden F. Treatment strategies for radioactive iodine-refractory differentiated thyroid cancer. Ther Adv Med Oncol. 2014 Nov;6(6):267-79. doi: 10.1177/1758834014548188.
7. Deandreis D, Al Ghuzlan A, Leboulleux S, Lacroix L, Garsi JP, Talbot M, et al. Do histological, immunohistochemical, and metabolic (radioiodine and fluorodeoxyglucose uptakes) patterns of metastatic thyroid cancer correlate with patient outcome? Endocr Relat Cancer. 2011 Jan 13;18(1):159-69. doi: 10.1677/ERC-10-0233.
8. Wassermann J, Bernier MO, Spano JP, Lepoutre-Lussey C, Buffet C, Simon JM, et al. Outcomes and prognostic factors in radioiodine refractory differentiated thyroid carcinomas. Oncologist. 2016 Jan;21(1):50-8. doi: 10.1634/theoncologist.2015-0107.
9. Aashiq M, Silverman DA, Na'ara S, Takahashi H, Amit M. Radioiodine-refractory thyroid cancer: molecular basis of redifferentiation therapies, management, and novel therapies. Cancers (Basel). 2019 Sep 17;11(9):1382. doi: 10.3390/cancers11091382.
10. Yang X, Li J, Li X, Liang Z, Gao W, Liang J, et al. TERT promoter mutation predicts radioiodine-refractory character in distant metastatic differentiated thyroid cancer. J Nucl Med. 2017 Feb;58(2):258-65. doi: 10.2967/jnumed.116.180240.
11. De Micco C, Savchenko V, Giorgi R, Sebag F, Henry JF. Utility of malignancy markers in fine-needle aspiration cytology of thyroid nodules: comparison of Hector Battifora mesothelial antigen-1, thyroid peroxidase and dipeptidyl aminopeptidase IV. Br J Cancer. 2008 Feb 26;98(4):818-23. doi: 10.1038/sj.bjc.6604194.
12. Pulcrano M, Boukheris H, Talbot M, Caillou B, Dupuy C, Virion A, et al. Poorly differentiated follicular thyroid carcinoma: prognostic factors and relevance of histological classification. Thyroid. 2007 Jul;17(7):639-46. doi: 10.1089/thy.2007.0029.
13. Зелінська ГВ. Роль цитологічних особливостей тиреоцитів радіойодрезистентних метастазів папілярного раку щитоподібної залози в їх передопераційному прогнозуванні. Ендокринологія. 2017;22(3):195-200 (Zelinskaya AV. The cytological features of thyrocyte population of radioiodine-resistant metastases of papillary thyroid cancer in their pre-operational prediction. Endokrynologia. 2017;22(3):195-200. Ukrainian).
14. Bozhok Y, Tavokina L, Epstein E. The new things in diagnostic of thyroid cancer. Optimal combination of morphological and immunocytochemistry research methods of punctious materials. Med Ann. 1996,138:40-3.
15. Latza U, Niedobitek G, Schwarting R, Nekarda H, Stein H. Ber-EP4: new monoclonal antibody which distinguishes epithelia from mesothelial. J Clin Pathol. 1990 Mar;43(3):213-9. doi: 10.1136/jcp.43.3.213.

Подяка

Автори висловлюють подяку зав. лабораторії морфології ендокринної системи ІЕОР, д-ру біол. наук, професору Богдановій Т.І. та канд. мед. наук, пров. наук. співроб. лабораторії морфології ендокринної системи ІЕОР Зурнаджи Л.Ю. за патогістологічну верифікацію досліджених новоутворень, а також лікарям ультразвукової діагностики відділення ультразвукової та функціональної діагностики ІЕОР Шелковому Є.А., Моторному Є.О. та Найді Ю.М. за проведення ТАПБ новоутворень ЩЗ та метастазів.

Cytological factors for prognosis of postoperative metastases and radioiodine resistance of papillary thyroid cancer

M.D. Tronko, H.V. Zelinska, Yu.M. Bozhok, A.M. Kvachenyuk, S.V. Gulevatyi, H.M. Kulinichenko, H.Ya. Ustymenko

SI «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»

Abstract. The early preoperative prediction of the behavior of papillary thyroid carcinoma (PTC) based on the detection of specific cytological features of fine-needle aspiration (FNA) smears of primary PTC, which correlate with the frequency of their postoperative metastases and radioiodine resistance is an urgent problem. **The aim** of this work was to study the correlation between the expression of thyroid peroxidase (TPO), as well as the presence of special cellular subpopulations in the FNA smears of primary PTC and the frequency of their postoperative metastases. **Material and methods**. Cytological and immunocytochemical studies using monoclonal antibodies to TPO «TPO-47» («DakoCytomation», Denmark) were performed on the FNA smears of primary PTC and their metastases obtained from 125 patients treated with radioiodine therapy after surgery in clinic of SI «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine». **Results.** An inverse correlation ($p<0.05$) between the content of TPO-positive epitheliocytes in the FNA smears of primary PTC and the frequency of their postoperative metastasis was shown. No PTC metastases were detected in the postoperative period when the content of TPO-positive epitheliocytes was from 50.0 to 92.0%. Radioiodine resistant metastases (RIRM) were recorded only in the absence of TPO, or at 25.0% positive epitheliocytes at the smears of primary PTS. Individual comparison of the content of TPO-positive thyrocytes in the FNA smears of primary PTCs and their synchronous metastases showed that their percentage in most cases does not match. The difference between the frequency of postoperative metastases in groups of patients with the presence and absence of special S-epitheliocytes FNA smears of primary PTC ($p=0.0272$ according to test χ^2) was statistically confirmed. **Conclusions.** Determination of TPO expression and the presence of S-epitheliocytes in the FNA smears of primary PTC can be used to predict their postoperative metastases and radioiodine resistance. A high percentage of TPO-positive epitheliocytes in FNA smears of PTC (>50.0%) allows to predict their favorable behavior without the development of postoperative metastases. It is shown that when the content of TPO-positive cells does not exceed 25.0% of thyroid cells of the PTC, postoperative metastases and the appearance of RIRM are not excluded. The difference between the frequency of postoperative metastases depending on the presence of special S-epitheliocytes in the FNA smears of the primary PTC is proved.

Keywords: thyroid gland, papillary carcinoma, cytological examinations, metastases, radioiodine resistance, thyroid peroxidase.

Цитологические факторы прогноза послеоперационного метастазирования и радиойодрезистентности папиллярного рака щитовидной железы

Н.Д. Тронько, А.В. Зелинская, Ю.М. Божок, А.Н. Кваченюк, С.В. Гулеватый, Г.Н. Кулиниченко, А.Я. Устименко

ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко НАМН Украины»

Резюме. Актуальной проблемой является раннее дооперационное прогнозирование поведения папиллярной карциномы (ПК) щитовидной железы (ЩЖ) на основе выявления специфических цитологических особенностей пунктатов первичных ПКЩЖ, которые коррелируют с частотой их послеоперационного метастазирования и радиойодрезистентностью. **Цель** — исследование корреляции между экспрессией тиреоидной пероксидазы (ТПО), а также наличием особых клеточных субпопуляций в пунктатах первичных ПКЩЖ и частотой их послеоперационного метастазирования. **Материал и методы.** Цитологические и иммуноцитохимические исследования при помощи моноклональных антител к ТПО «TPO-47» («DakoCytomation», Дания) проведены на материале тонкоигольных аспирационных пункционных биопсий (ТАПБ) первичных ПК ЩЖ и их метастазов, полученных от 125 пациентов, которые проходили обследования, хирургическое лечение и радиойодтерапию в клинике ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко НАМН Украины». **Результаты.** Доказана обратная корреляционная связь на уровне $p<0,05$ между содержанием ТПО-позитивных эпителиоцитов в пунктатах первичных ПКЩЖ и частотой их послеоперационного метастазирования. Показано, что при содержании ТПО-позитивных эпителиоцитов от 50,0 до 92,0% не было выявлено метастазов ПКЩЖ в послеоперационный период. Радиойодрезистентные метастазы (РЙРМ) регистрировали только при отсутствии ТПО, или при ее наличии не больше, чем в 25,0% тиреоцитов в пунктатах первичных ПКЩЖ. Индивидуальное сравнение содержания ТПО-позитивных тиреоцитов в материале первичных ПКЩЖ и их синхронных метастазов продемонстрировало, что их процент в большинстве случаев не совпадает. Статистически подтверждена разница между частотой послеоперационного метастазирования в группах пациентов с наличием и отсутствием особых S-эпителиоцитов в пунктатах первичных ПКЩЖ ($p=0,0272$ в соотвествии с тестом χ^2). **Выводы.** Определение экспрессии ТПО и наличия S-эпителиоцитов в материале ТАПБ первичных ПКЩЖ может быть использовано для прогнозирования их послеоперационного метастазирования и радиойодрезистентности. Высокий процент ТПО-позитивных эпителиоцитов в пунктатах ПКЩЖ (>50,0%) позволяет прогнозировать их благоприятное поведение без развития послеоперационных метастазов. Показано, что при содержании

VERTE

ТПО-позитивных клеток не больше 25,0% тиреоцитов пунктата ПКЩЖ, не исключено послеоперационное метастазирование и появление РЙРМ. Доказана разница между частотой послеоперационного прогнозирования в зависимости от наличия особых S-эпителиоцитов в пунктатах первичных ПКЩЖ.

Ключевые слова: щитовидная железа, папиллярная карцинома, цитологические исследования, метастазирование, радиойодрезистентность, тиреоидная пероксидаза.

Для цитування: Тронько МД, Зелінська ГВ, Божок ЮМ, Кваченюк АМ, Гулєватий СВ, Кулініченко ГМ, Устименко ГЯ. Цитологічні чинники прогнозу післяопераційного метастазування та радіойодрезистентності папілярного раку щитоподібної залози. Ендокринологія. 2021;26(4):326-335. DOI: 10.31793/1680-1466.2021.26-4.326.

Адреса для листування: Зелінська Ганна Володимирівна, ann.zelinskaya@ukr.net; ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», вул. Вишгородська, 69, м. Київ 04114, Україна.

Відомості про авторів: Тронько Микола Дмитрович, д-р мед. наук, проф., чл.-кор. НАН України, акад. НАМН України, завідувач відділом фундаментальної та прикладної ендокринології, директор ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», ORCID: 0000-0001-7421-0981; Зелінська Ганна Володимирівна, д-р біол. наук, старш. наук. співроб. лабораторії функціональної та ультразвукової діагностики, ORCID: 0000-0002-4320-6901; Божок Юрій Михайлович, д-р біол. наук, провід. наук. співроб. лабораторії функціональної та ультразвукової діагностики, ORCID: 0000-0003-0017-9787; Кваченюк Андрій Миколайович, д-р мед. наук, проф., в. о. завідувача лабораторії функціональної та ультразвукової діагностики, ORCID: 0000-0001-6886-3804; Гулєватий Сергій Васильович, наук. співроб. лабораторії радіології та радіобіології, ORCID: 0000-0002-2382-2950; Кулініченко Галина Миколаївна, лікар-лаборант-цитолог лабораторії функціональної та ультразвукової діагностики, ORCID: 0000-0002-1878-3969; Устименко Ганна Яківна, лікар-лаборант-цитолог лабораторії функціональної та ультразвукової діагностики, ORCID: 0000-0001-6886-3804.

Особистий внесок: Тронько М.Д. — обговорення отриманих результатів, участь у написані статті, Зелінська Г.В. — ідея, дизайн дослідження, проведення цитологічних та імуноцитохімічних досліджень, аналіз і інтерпретація отриманих результатів, написання статті, Божок Ю.М. — концепція і дизайн досліджень, обговорення отриманих результатів, участь у написання статті, Кваченюк А.М. — обговорення результатів, написання статті, Гулєватий С.В. — аналіз результатів радіойодтерапії, Кулініченко Г.М. — проведення імуноцитохімічних досліджень, обговорення отриманих результатів, участь у написанні статті, Устименко Г.Я. — проведення цитологічних досліджень, інтерпретація отриманих результатів, написання статті.

Фінансування: дослідження проводилось у рамках бюджетного фінансування за планом науково-дослідних робіт ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України» (№ державної реєстрації: 0120U100645).

Декларація з етики: автори задекларували відсутність конфлікту інтересів і фінансових зобов'язань.

Стаття надійшла до редакції 31.10.2021 р.; перероблена 10.11.2021 р.; прийнята до друку 15.12.2021 р.; надрукована 28.12.2021 р.

For citation: Tronko MD, Zelinska HV, Bozhok YuM, Kvachenyuk AM, Gulevatyi SV, Kulinichenko HM, Ustymenko HYa. Cytological factors for prognosis of postoperative metastases and radioiodine resistance of papillary thyroid cancer. Endokrynologia. 2021;26(4):326-335. DOI: 10.31793/1680-1466.2021.26-4.326.

Correspondence address: Zelinska Hanna Volodymyrivna, ann.zelinskaya@ukr.net; SI «VP Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine», Vyshgorodska Str., 69, Kyiv, 04114, Ukraine.

Information about the authors: Tronko Mykola Dmytrovych, Dr. Sci. (Medicine), Prof., Corresponding Member of NAS of Ukraine, Acad. of NAMS of Ukraine, Head of the Department of Fundamental and Applied Problems of Endocrinology and Director of the Institute, ORCID: 0000-0001-7421-0981; Zelinska Hanna Volodymyrivna, Dr. Sci. (Biology), Senior Researcher of Functional and Ultrasound Diagnostic Laboratory, ORCID: 0000-0001-7421-0981; Bozhok Yuriy Mykhaylovych, Dr. Sci. (Biology), Lead Researcher of Functional and Ultrasound Diagnostic Laboratory, ORCID: 0000-0003-0017-9787; Kvachenyuk Andriy Mykolayovych, Dr. Sci. (Medicine), Deputy Director for Research at the Clinic, Professor Department of Surgery Endocrine Glands, ORCID: 0000-0001-6886-3804; Gulevatyi Serhii Vasyliovych, Researcher of the Laboratory of Radiology and Radiobiology, ORCID: 0000-0002-2382-2950; Kulinichenko Halyna Mykolayivna, Cytologist of the Laboratory of Functional and Ultrasound Diagnostic, ORCID: 0000-0002-1878-3969; Ustymenko Hanna Yakivna, Cytologist of Laboratory of Functional and Ultrasound Diagnostic, ORCID: 0000-0001-9220-7612.

Personal contribution: Tronko M.D. — discussion of the results obtained, writing an article; Zelinska H.V. — concept and design of research, data collection, cytological and imunocytochemical researches, analysis and interpretation of the results, writing an article; Bozhok Yu.M. — the concept and design of research, discussion of the results obtained, writing an article; Kvachenyuk A.M. — discussion of the results obtained, writing an article; Gulevatyi S.V. — analysis of radioiodinetherapy results; Kulinichenko H.M. — imunocytochemical research, discussion of the results obtained, writing an article; Ustymenko H.Ya. — cytological research, discussion of the results obtained, writing an article.

Funding: the study was carried out within the budget funding according to the plan of research work of the State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine», registration number of the study: 0120U10064.

Declaration of ethics: The authors have declared no conflicts of interest or financial obligations.

The article: received 31 October 2021; reviesed 10 November 2021; accepted 15 December 2021; published 28 December 2021.

Для цитирования: Тронько НД, Зелинская АВ, Божок ЮМ, Кваченюк АН, Гулеватый СВ, Кулиниченко ГН, Устименко АЯ. Цитологические факторы прогноза послеоперационного метастазирования и радиойодрезистентности папиллярного рака щитовидной железы. Эндокринология. 2021;26(4):326-335. DOI: 10.31793/1680-1466.2021.26-4.326.

Адрес для переписки: Зелинская Анна Владимировна, ann.zelinskaya@ukr.net; ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко НАМН Украины», ул. Вышгородская, 69, Киев 04114, Украина.

Сведения об авторах: Тронько Николай Дмитриевич, д-р мед. наук, проф., чл.-корр. НАН Украины, акад. НАМН Украины, заведующий отделом фундаментальной и прикладной эндокринологии,

директор Института, ORCID: 0000-0001-7421-0981; Зелинская Анна Владимировна, д-р биол. наук, старш. науч. сотруд. лаборатории функциональной и ультразвуковой диагностики, ORCID: 0000-0002-4320-6901; Божок Юрий Михайлович, д-р биол. наук, вед. науч. сотруд. лаборатории функциональной и ультразвуковой диагностики, ORCID: 0000-0003-0017-9787; Кваченюк Андрей Николаевич, д-р мед. наук, проф., в.о. заведующего лаборатории функциональной и ультразвуковой диагностики, ORCID: 0000-0001-6886-3804; Гулеватый Сергей Васильевич, науч. сотруд. лаборатории радиологии и радиобиологии, ORCID: 0000-0002-2382-2950; Кулиниченко Галина Николаевна, врач-лаборант-цитолог лаборатории функциональной и ультразвуковой диагностики, ORCID: 0000-0002-1878-3969; Устименко Анна Яковлевна, врач-лаборант-цитолог лаборатории функциональной и ультразвуковой диагностики, ORCID: 0000-0001-6886-3804.

Личный вклад: Тронько М.Д. — обсуждение результатов, участие в написании статьи, Зелинская А.В. — идея, дизайн исследования, проведение цитологических и иммуноцитохимических исследований, анализ и интерпретация полученных результатов, написание статьи, Божок Ю.М. — концепция и дизайн исследований, обсуждение полученных результатов, участие в написании статьи, Кваченюк А.Н. — обсуждение результатов, написание статьи, Гулеватый С.В. — анализ результатов радиойодтерапии, Кулиниченко Г.Н. — проведение иммуноцитохимических исследований, обсуждение полученных результатов, участие в написании статьи, Устименко А.Я. — проведение цитологических исследований, интерпретация полученных результатов, написание статьи.

Финансирование: исследование проводилось в рамках бюджетного финансирования по плану научно-исследовательских работ ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко НАМН Украины» (№ государственной регестрации: 0120U100645).

Декларация по этике: авторы задекларировали отсутствие конфликта интересов и финансовых обязательств.

Статья: поступила в редакцию 31.10.2021 г.; переработана 10.11.2021 г.; принята в печать 15.12.2021 г.; напечатана 28.12.2021 г.