

УДК 616.441-006.6-089:615.849.2

ЮРІЙ ІВАНОВИЧ КАРАЧЕНЦЕВ, МАКСИМ ЄВГЕНОВИЧ САЗОНОВ,
ВАДИМ ВІТАЛІЙОВИЧ ХАЗІЄВ, ВІКТОР МИКОЛАЙОВИЧ ДУБОВИК,
ЄГОР ПАВЛОВИЧ КОРЧАГІН, ЛЕОНІД ВОЛОДИМИРОВИЧ ГЕРАСИМЕНКО,
А. КОРКЕЛІЯ

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

ВИЗНАЧЕННЯ ЕКСПРЕСІЇ НАТРІЙ-ЙОД СИМПОРТЕРА ПРИ ВИСОКОДИФЕРЕНЦІЙОВАНИХ ПАПІЛЯРНИХ КАРЦИНОМАХ І ФОЛІКУЛЯРНИХ НЕОПЛАЗІЯХ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

Резюме. Основним методом лікування високодиференційованого раку щитоподібної залози (РЩЗ) є радикальне хірургічне лікування з подальшим проведенням радіоїодотерапії (РЙТ), ефективність якої залежить від можливості клітини накопичувати радіофармпрепарат. Можливість захоплення йоду визначається наявністю на мембрані клітини білка натрій-йод симпортера (NIS), яка в процесі канцерогенезу може бути втрачена. Досліджено рівень експресії NIS у високодиференційованому папілярному РЩЗ і фолікулярних неоплазіях, що включають в себе як доброякісні, так і злоякісні пухлини. До 12 % усіх папілярних і 56 % фолікулярних карцином демонструють відсутність експресії NIS, що говорить про можливу нечутливість до РЙТ і підвищений ризик рецидиву захворювання.

Ключові слова: експресія натрій-йод симпортера, рак щитоподібної залози.

Однією з найактуальніших проблем сучасної ендокринології є невпинне зростання кількості захворювань щитоподібної залози (ЩЗ), яке значною мірою відбувається за рахунок вузлових форм зобу та раку щитоподібної залози (РЩЗ) [1–5]. Темпи приросту РЩЗ за останнє десятиріччя значно перебільшують показники інших онкологічних захворювань. В Україні у 2014 році захворюваність на РЩЗ становила в середньому 7,4 на 100 тис. населення, а його частка в структурі всієї онкологічної патології становить від 0,5 до 3 % [6].

В Україні щорічно проводиться близько 3000 операцій з приводу РЩЗ [6].

До 90 % усіх випадків РЩЗ складають високодиференційовані папілярні й фолікулярні карциноми — від 70 до 75 % та 20–25 % відповідно [7; 8]. Крім фолікулярного раку (ФРЩЗ) подібну гістологічну структуру, з переважанням фолікулярних клітин мають і фолікулярні аденоми (ФА), що ускладнює диференціальну діагностику між ними на доопераційному етапі, а також іноді викликає труднощі і при остаточному гістологічному дослідженні [9; 10]. В останньому випадку мова йде про так звані групи пухлин неуточненого потенціалу злоякісності (ПНПЗ), які займають проміжне місце між ФА і високодиференційованим папілярним і фолікулярним РЩЗ.

Проблема встановлення злоякісності пов'язана не тільки і не стільки з морфологічними та клінічними

особливостями самих пухлин, скільки з недостатнім знанням біологічної сутності новоутворень. В останні роки зроблені спроби використання сучасних методів імуногістохімії та молекулярної біології для розкриття молекулярно-генетичних механізмів розвитку пухлин, уточнення їх злоякісності й оцінки прогнозу.

Основним методом лікування злоякісних пухлин ЩЗ залишається вчасно виконане хірургічне втручання [8; 11]. Виконання тиреоїдектомії дозволяє проводити наступну терапію радіоактивним йодом, яку застосовують з метою ліквідації залишкової тиреоїдної тканини як радикальне або паліативне лікування локорегіонарних або віддалених йодопозитивних метастазів [8; 11; 12].

Ефективність радіоїодотерапії (РЙТ) залежить від можливості пухлини акумулювати всередині клітини радіофармпрепарат (РФП). Однак слід зазначити, що при розвитку пухлинного процесу та дедиференціювання пухлинної тканини більшість біохімічних характеристик нормальної фолікулярної клітини втрачаються [13–15].

Лише наприкінці 90-х років ХХ сторіччя було ідентифіковано білок, який обумовлює процеси надходження йоду до тиреоїдних клітин — натрій-йод симпортер (NIS) [16].

Натрій-йод симпортер — це інтегральний трансмембранний глікопротеїн. Здатність тиреоцитів накопичувати йод є основою для виконання як діагностичних маніпуляцій, так і терапевтичних процедур — абляції за допомогою ¹³¹I. Вплив на синтез і розподіл NIS здійснює тиреотропний гормон (ТТГ). Останній

© Ю. І. Караченцев, М. Є. Сазонов, В. В. Хазієв,
В. Н. Дубовик, С. П. Корчагін, Л. В. Герасименко,
А. Коркелія, 2017

впливає на симпортер через активацію аденілатциклази, що веде до збільшення транскрипції і синтезу NIS [17; 18].

На сьогодні значною проблемою залишається лікування йодонегативного РЩЗ та можливість дедиференціювання пухлин на фоні застосування радіоактивного йоду. Враховуючи це, цілком зрозумілим є інтерес вчених до вивчення експресії NIS у високодиференційованому РЩЗ та доброякісних пухлинах з високим ризиком малігнізації.

Метою дослідження є проведення визначення мембранної експресії імуногістохімічного маркера NIS у папілярному раку щитоподібної залози (ПРЩЗ) та фолікулярних неоплазіях (ФН) ЩЗ.

МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕННЯ

Досліджено операційний матеріал (видалену тиреоїдну тканину) 94 хворих (44 хворих на ПРЩЗ, 50 хворих на ФН), що були оперовані в клініці ДУ «ІПЕП НАМН» протягом 2013–2016 рр. Імуногістохімічним методом в епітеліальних клітинах пухлин виявляли експресію NIS (Anti-Sodium Iodide symporter (SPM186) із використанням первинних моноклональних антитіл (МКАТ) фірми DAKO (Данія). Демаскуюча термічна обробка була виконана методом кип'ятіння зрізів у цитратному буфері (рН 6,0). Для візуалізації первинних антитіл застосовувалась система детекції LSAB-2 System, HRP (стрептавідин-біотин-пероксидазний комплекс), фірма DAKO (Данія). Як хромоген було використано DAB (діамінобензидин). Для вищезазначених маркерів у 10 полях зору підраховувалась кількість епітеліальних клітин, що демонструють інтенсивне зв'язування пероксидази.

Підрахунок результатів здійснювали за допомогою окулярної сітки Автанділова в 10 довільно вибраних полях зору при збільшенні 400. Оцінку імуногістохімічної мітки проводили за ступенем розповсюдження забарвлення, що визначали шляхом підрахунку кількості забарвлених клітин (ядер або цитоплазми) відносно до загального числа клітин (у %). Комплекс

морфологічних досліджень проводився на мікроскопі Primo Star (Carl Zeiss) із використанням програм AxioCam (ERc 5s) і Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Останнім часом при вивченні рівня експресії NIS у високодиференційованих РЩЗ деякі автори відзначали таку тенденцію: рівень експресії NIS часто залишається непорушеним, але не відбувається його вбудовування в мембрану клітини, що, у свою чергу, відображає наявність посттрансляційних порушень. Однією з причин порушення вбудованості NIS у клітинну мембрану називають активацію каскаду РІЗК-АКТ, який, як відомо, веде до дедиференціювання високодиференційованих форм РЩЗ [93–95].

Для визначення цінності імуногістохімічних маркерів, а також з метою створення алгоритму післяопераційного лікування високодиференційованого РЩЗ проведено порівняльне визначення NIS у ПРЩЗ та ФРЩЗ, а також у доброякісних або умовно доброякісних фолікулярних новоутвореннях. Отримані дані представлено на рисунках 1, 2.

При визначенні особливостей поширення NIS у пухлинних тканинах фолікулярних новоутворень ЩЗ встановлено, що прості ФА (нормофолікулярні) у 80 % випадків експресували даний маркер (рис. 1).

Солідні ФА та ФРЩЗ мали подібні характеристики щодо експресування NIS (40 та 44 % відповідно), а фетально-ембріональні пухлини ЩЗ — найменшу частоту виявлення (10 %).

Порівняльне дослідження в зразках папілярного та фолікулярного РЩЗ виявило відсутність експресії NIS у 11,36 % папілярних карцином та в більшості зразків ФРЩЗ (56 %) (рис. 2).

Існуючі дані щодо експресії білка NIS є суперечливими. ІГХ-аналіз 72 ПК виявив позитивну реакцію з антитілами до NIS у 68 % випадків [19]. Інші автори виявляли експресію зазначеного білка майже в 90 % ПРЩЗ [20]. Проте є повідомлення про позитивну ІГХ-реакцію з антитілами до NIS лише в невеликому відсотку карцином — 15–25 % випадків [21].



Рис. 1. Частота експресії NIS у тканинах фолікулярних пухлин ЩЗ, %

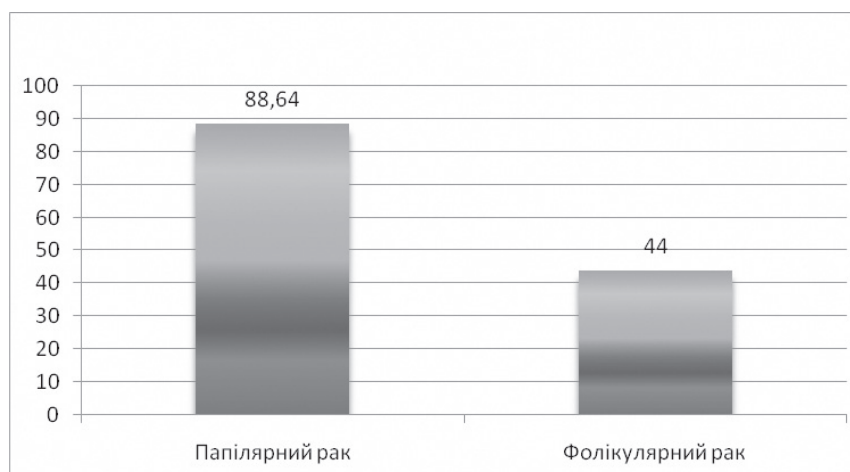


Рис. 2. Частота експресії NIS у високодиференційованих карциномах ЩЗ, %

Деякі автори вказують і на відсутність експресії NIS-білка в злоякісних тиреоїдних пухлинах [22; 23]. Варто зазначити, що в тиреоцитах нормальної ЩЗ NIS-білок інтегрований до клітинної мембрани, проте в диференційованих карциномах ЩЗ він виявляється переважно у цитоплазмі клітин [19]. Таким чином, дані літератури щодо експресії NIS (як мРНК, так і білка) в злоякісних диференційованих тиреоїдних пухлинах мають суперечливий характер — від вираженої його надекспресії до майже повної відсутності такої експресії [24–28]. Причини зазначеної різниці на сьогодні не з'ясовані. Можливо, розбіжність результатів пов'язана з віком хворих та різними біологічними особливостями злоякісних новоутворень, зокрема їхніми інвазійними властивостями, гістологічною будовою, наявністю генетичних змін.

Отримані дані вказують на різний характер експресії NIS залежно від морфологічної структури фолікулярних неоплазій. Високий рівень експресії NIS (80 %) в тканинах простих ФА свідчить про їх близькість до характеристик нормально-функціонуючої тканини ЩЗ, тоді як статистика ФРЩЗ та інші типи ФА значною мірою втратили такі властивості. Крім того, отримані дані вказують на можливий

незадовільний ефект РЙТ метастазів при поширених формах ФРЩЗ та ПРЩЗ у зв'язку із відсутністю системи транспортування ізотопів до цитоплазми пухлинних клітин. Визначення зниження рівня експресії NIS може бути використано як прогностичний маркер рецидиву після лікування радіоактивним йодом.

ВИСНОВКИ

1. Імуногістохімічне дослідження фолікулярних неоплазій виявило високий рівень спорідненості доброякісних аденом ЩЗ і ФРЩЗ за показниками функціонування NIS. Солідні та фетально-ембріональні фолікулярні аденоми ЩЗ мали властивості, на відміну від простих (нормофолікулярних) аденом, більш характерні для злоякісного процесу. Вірогідно, що саме ці типи фолікулярних неоплазій мають найвищий потенціал до малігнізації і подальшого метастазування.

2. Дослідження показало, що певна частина високодиференційованих злоякісних пухлин ЩЗ, може бути несприйнятлива до проведення радіоїодотерапії, що суттєво погіршує прогноз захворювання. Визначення зниження рівня експресії NIS може бути використано як прогностичний маркер рецидиву після проведення радіоїодотерапії.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Гостимский А. В. Современный подход к проблеме диагностики и лечения больных раком щитовидной железы [Текст] / А. В. Гостимский, А. Ф. Романчишен, Ю. В. Кузнецова // Вестн. хирургии им. И. И. Грекова. — 2014. — № 6. — С. 85–89.
2. Паньків В. І. Рак щитоподібної залози [Текст] / В. І. Паньків // Міжнар. ендокринол. журн. — 2012. — № 8. — С. 83–89.
3. Рибаків С. Й. Тиреоїдна хірургія [Текст] / С. Й. Рибаків, В. О. Шидловський, І. В. Комісаренко, М. П. Павловський. — Тернопіль : ТДМУ, 2008. — 424 с.
4. Балаболкин М. И. Решенные и нерешенные вопросы эндемического зоба и йоддефицитных состояний [Текст] / М. И. Балаболкин // Пробл. эндокринол. — 2005. — Т. 51. — № 4. — С. 31–37.
5. Берштейн Л. М. Онкоэндокринология: традиции, современность и перспективы [Текст] / Л. М. Берштейн. — СПб. : Наука, 2004. — 343 с.
6. Ларін О. С. Діагностика та лікування диференційованого раку щитоподібної залози: результати 10-річного досвіду спеціалізованої клініки в світлі сучасних принципів контролю захворювання [Текст] / О. С. Ларін, С. М. Черенько // Хірургія України. — 2008. — № 1. — С. 26–31.
7. Баленко Н. В. Рак щитоподібної залози: захворюваність та поширеність [Текст] / Н. В. Баленко, М. В. Гульчій // Гігієна населених місць. — 2013. — № 61. — С. 163–169.

8. Рыбаков С. И. Рак щитовидной железы: клинические лекции [Текст] / С. И. Рыбаков. — Полтава : АСМИ, 2012. — 572 с.
9. Ali S. Z. The Bethesda system for reporting thyroid cytopathology / S. Z. Ali, E. S. Cibas. — New York : Springer. — 2010. — P. 37–87
10. Goldstein R. E. Implications of follicular neoplasms, atypia, and lesions suspicious for malignancy diagnosed by fine-needle aspiration of thyroid nodules / R. E. Goldstein, J. L. Nettekville, B. Burkey, J. E. Johnson // *Ann. Surg.* — 2002. — Vol. 235, N 5. — P. 656–664.
11. Румянцев П. О. Рак щитовидной железы: Современные подходы к диагностике и лечению [Текст] / П. О. Румянцев, А. А. Ильин, У. В. Румянцева, В. А. Саенко. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. — 448 с.
12. Reiners Ch. Radio-iodine therapy in differentiated thyroid cancer: indications and procedures [Text] / Ch. Reiners // *Best. Pract. Res.* — 2008. — Vol. 22, N 6. — P. 989–1007.
13. *Діагностична цінність визначення експресії імуногістохімічних маркерів для диференційної діагностики гістологічних форм папілярного раку щитоподібної залози* [Текст] / Ю. І. Караченцев, В. М. Дубовик, Н. І. Гойденко [та ін.] // Харківська хірургічна школа. — 2014. — № 2. — С. 144–149.
14. Кузьмич А. И. Натрий-йодидный симпортер как репортерный белок в разработке генотерапевтических препаратов [Текст] / А. И. Кузьмич // *Мед. акад. журн.* — 2012. — Т. 12, № 3. — С. 74–75.
15. Bizhanova A. The Sodium-Iodide Symporter NIS and Pendrin in Iodide Homeostasis of the Thyroid [Text] / A. Bizhanova, P. Kopp [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19196800> *Endocrinology.* — 2009. — Vol. 150, N 3. — P. 1084–1890.
16. Казанцева И. А. Иммуногистохимические исследования в дифференциальной диагностике доброкачественных и злокачественных поражений щитовидной железы / И. А. Казанцева, А. К. Федосенко, Л. Е. Гуревич // *Арх. пат.* — 2001. — Т. 63, № 4. — С. 18–21.
17. *Immunohistochemical analysis of sodium iodide symporter expression in metastatic differentiated thyroid cancer: correlation with radioiodine uptake* [Text] / M. R. Castro, E. R. Bergert, J. R. Goellner [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 2001. — Vol. 86, N 11. — P. 5627–5632.
18. *Прогностическое значение экспрессии натрий-йодного симпортера для высокодифференцированного рака щитовидной железы* [Текст] / Д. Ю. Семенов, М. Е. Борискова, У. В. Фарафонова [и др.] // *Клин. и экспериментальная тиреоидология.* — 2015. — Т. 11, вып. 1. — С. 50–58.
19. *Immunohistochemical profile of the sodium/iodide symporter in thyroid, breast, and other carcinomas using high density tissue microarrays and conventional sections* / I. L. Wapnir, M. van de Rijn, K. Nowels, et al. // *J Clin Endocrinol Metab.* — 2003. — Vol. 88. — P. 1880–8.
20. *Expression of the sodium iodide symporter and thyroglobulin genes are reduced in papillary thyroid cancer* / M. D. Ringel, J. Anderson, S. L. Souza et al. // *Modern Pathol.* — 2001. — Vol. 14. — P. 289–96.
21. *Relationship of sodium/iodide symporter expression with I-131 whole body scan uptake between primary and metastatic lymph node papillary thyroid carcinomas* / S. J. Lee, K. C. Choi, J. P. Han et al. // *J Endocrinol Invest.* — 2007. — Vol. 14, N 5. — P. 28–34/
22. *Functional characterization of human thyroid tissue with immunohistochemistry* / L. Fozzatti, B. Caillou, L. Lacroix et al. // *Thyroid.* — 2007. — Vol. 17, N 3. — P. 203–11.
23. *Immunoanalysis indicates that the sodium iodide symporter is not overexpressed in intracellular compartments in thyroid and breast cancers* / I. Peyrottes, V. Navarro, A. Ondo-Mendez et al. // *Eur J Endocrinol.* — 2009. — Vol. 160, N 2. — P. 215–25.
24. *Mechanick J. I. Diagnosis and Management of Thyroid Nodules.* [Text] / J. I. Mechanick // *Endocrine surgery* / ed. A. E. Schwartz, D. Pertsemliadis, M. Gagner. — New York : Basel, 2004. — 374 p.
25. *Hamburger J. I. Diagnosis of thyroid nodules by fine-needle biopsy : Use and abuse* [Text] / J. I. Hamburger // *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* — 1994. — Vol. 79. — P. 335–339.
26. Хмельницкий О. К. Цитологическая и гистологическая диагностика заболеваний щитовидной железы : рук-во / О. К. Хмельницкий. — СПб. : Сотис, 2002.
27. Свиридова Т. Е. Гистологические и молекулярно-генетические маркеры злокачественности в различных вариантах папиллярного рака щитовидной железы / Т. Е. Свиридова, Е. А. Коган, М. А. Пальцев, В. П. Середин // *Арх. пат.* — 2002. — Т. 64, № 6. — С. 19–23.
28. *Immunohistochemical and sequencing analysis of the Wnt signaling components in Japanese anaplastic thyroid cancers* / T. Kurihara, S. Ikeda, Y. Ishizaki et al. // *Thyroid.* — 2004. — Vol. 14, N 12. — P. 1020–1029.

Стаття надійшла до редакції 3.04.2017.

Ю. И. КАРАЧЕНЦЕВ, М. Е. САЗОНОВ, В. В. ХАЗИЕВ, В. Н. ДУБОВИК, Е. П. КОРЧАГИН,
Л. В. ГЕРАСИМЕНКО, А. КОРКЕЛИЯ

ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им В. Я. Данилевского НАМН Украины», Харьков

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ НАТРИЙ-ЙОД СИМПОРТЕРА В ВЫСОКОДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ ПАПИЛЛЯРНЫХ КАРЦИНОМАХ И ФОЛЛИКУЛЯРНЫХ НЕОПЛАЗИЯХ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Резюме. Основным методом лечения высокодифференцированного рака щитовидной железы (РЩЖ) является радикальное хирургическое лечение с последующим проведением радиойодтерапии (РЙТ), эффективность которой зависит от возможности клетки накапливать радиофармпрепарат. Возможность захвата йода определяется наличием на мембране клетки белка — натрий-йод симпортера (NIS), которая в процессе канцерогенеза может быть утрачена. Исследован уровень экспрессии NIS в высокодифференцированном папиллярном РЩЖ и фолликулярных неоплазиях, включающих в себя как доброкачественные, так и злокачественные опухоли. До 12 % всех папиллярных и 56 % фолликулярных карцином демонстрируют отсутствие экспрессии NIS, что говорит о возможной нечувствительности к РЙТ и повышенном риске рецидива заболевания.

Ключевые слова: экспрессия натрий-йод симпортера, рак щитовидной железы.

YU. I. KARACHENTSEV, M. YE. SAZONOV, V. V. KHAZIEV, V. N. DUBOVIK, YE. P. KORCHAGIN,
L. V. HERASIMENKO, A. KORKELIA

*SI V. Ya. Danilevsky Institute for Endocrine Disorder Research of the National Academy
of Medical Sciences of Ukraine, Kharkiv*

DETERMINATION OF SODIUM-IODIDE SYMPORTER EXPRESSION IN WELL-DIFFERENTIATED PAPILLARY CARCINOMAS AND FOLLICULAR NEOPLASMS OF THE THYROID GLAND

Abstract. The main method for treating well-differentiated thyroid cancer (TC) is radical surgical treatment followed by radioiodine therapy (RIT), which efficacy depends on the ability of the cell to accumulate the radiopharmaceutical agent. Ability to trap iodine is determined by presence of the sodium-iodide symporter protein (NIS) on the cell membrane, which may be lost during carcinogenesis. The level of NIS expression in well-differentiated papillary TC and follicular neoplasms, including both benign and malignant tumors, was studied. Up to 12 % of all papillary carcinomas and 56 % of follicular carcinomas demonstrate absence of NIS expression, which suggests possible insensitivity to RIT and increased risk of disease relapse.

Keywords: expression of sodium-iodide symporter, thyroid cancer.

Контактна інформація:

Сазонов Максим Євгенович

мол. наук. співробітник відділення хірургічної ендокринології і гінекології

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України»

вул. Алчевських, 10, м. Харків, 61002, Україна