

УДК 616.441-006.5-076:616.441-006.6-037
DOI <http://doi.org/10.30978/CEES-2023-1-7>

Роль визначення активності DAP IV при цитологічному дослідженні пухлин «сірої зони» TBSRTC IV у прогнозуванні папілярного раку щитоподібної залози та метастазів



О. А. Товкай¹, В. О. Паламарчук¹,
Є. С. Козачук^{1,2}, Н. І. Белемець¹, В. В. Куц^{1,3}

¹Український науково-практичний центр ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів та тканин Міністерства охорони здоров'я України, Київ

²Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, Київ

³ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології імені Ф. Г. Яновського НАМН України», Київ

Тонкоголова аспіраційна пункційна біопсія (ТАПБ) є золотим стандартом морфологічної верифікації злякисних новоутворень щитоподібної залози (ЩЗ) і відіграє провідну роль у плануванні менеджменту цієї категорії пацієнтів [1].

Особливе місце ТАПБ посідає у діагностиці пухлин «сірої зони» (клас III, IV, V за TBSRTC (The Bethesda System For Reporting Thyroid Cytopathology)). Вірогідність отримання позитивного результату щодо злякисної пухлини в таких випадках становить від 10—30 % для III класу до 30—40 і 50—75 % для IV та V класу відповідно [2].

Попри високу інформативність цитологічного методу в диференційній діагностиці вузлових новоутворень ЩЗ, частота сумнівних цитологічних висновків становить від 13 до 30 %, щодо наявності раку — від 10 до 60 %. Це пов'язане з ферментативною активністю ракових і доброякісних пухлин, що зумовлює схожість цитологічних ознак та утруднює інтерпретацію результатів [3, 4].

Від чіткості в інтерпретації результатів цитологічного дослідження залежить обсяг оперативного втручання, тактика лікування та спостереження, що в подальшому може вплинути на якість життя пацієнта [5—7].

Для підвищення ефективності цитологічних досліджень у сучасній цитологічній практиці активно впроваджують методи цитохімічного аналізу біопсійного матеріалу як допоміжну діагностичну опцію [8—10]. В основі таких методів лежить принцип використання маркерів і виявлення відповідних молекул специфічності, що може вказувати на наявність злякисного або доброякісного процесу. Крім того, зниження ферментативної активності фолікулярного епітелію ЩЗ вважають одним із чинників канцерогенезу [11].

За даними досліджень, проведених нещодавно, одним із найперспективніших і специфічних цитохімічних маркерів злякисності новоутворень ЩЗ є дипептидил-амінопептидаза IV (ДАП IV) (цитохімічне дослідження триває 40—45 хв), або антиген CD-26 (імуноцитохімічне дослідження потребує тривалішого часу (до 4 год залежно від фірми-виробника антитіл та системи візуалізації)). При злякисних новоутвореннях ЩЗ чутливість визначення ДАП IV становить 71 %, специфічність — 95 %, точність діагностики — 93 %, що вказує на вирішальну роль CD-26 в канцерогенезі. Таким чином, визначення цитохімічної активності ферменту ДАП IV у клітинах

Товкай Олександр Андрійович, д. мед. н., проф., директор Українського науково-практичного центру ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: director.tovkai@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1329-279X>; **Паламарчук Володимир Олександрович**, д. мед. н., керівник відділу ендокринної хірургії. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1329-279X>; **Козачук Єлизавета Сергіївна**, к. мед. н., вчений секретар. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2453-2496>; **Белемець Наталія Іванівна**, зав. відділення цитології. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1050-1277>; **Куц Володимир Васильович**, ст. наук. співр. відділу інформаційно-комп'ютерних технологій. E-mail: lanadmin@ifp.kiev.ua. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4434-7298>

ЩЗ доцільно використовувати як маркер малігнізації, а також для прогнозування виявлення папілярного раку щитоподібної залози (ПРЩЗ) та його прогресування (метастазів) у цитологічних аспіратах вузлових утворень «сірої зони» [12].

Мета роботи — проаналізувати і встановити порогові значення активності ДАП IV, за яких вірогідність виявлення папілярного раку щитоподібної залози та його метастазів у лімфатичних вузлах є клінічно значущою у пацієнтів з цитологічним висновком категорії TBSRTC IV для визначення методу подальшого лікування.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження виконано в Українському науково-практичному центрі ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України (далі — Центр) у період з 2021 до 2022 р.

Дизайн дослідження — моноцентрове, когортне, проспективне.

Проаналізовано результати доопераційного та післяопераційного морфологічного дослідження біологічного матеріалу 304 пацієнтів з вузловим або багатовузловим зобом.

У всіх пацієнтів доопераційний цитологічний висновок відповідав категорії TBSRTC IV — фолікулярна неоплазія або підозра на фолікулярну неоплазію [2]. Для поліпшення діагностичної ефективності після ТАПБ додатково використано метод цитохімічного визначення активності ДАП IV у всіх цитологічних випадках з категорією TBSRTC IV.

Усім пацієнтам виконано оперативне лікування в обсязі екстрафасціальної тиреоїдектомії або гемітиреоїдектомії із центральною дисекцією.

Залежно від результатів патолого-гістологічного дослідження післяопераційного матеріалу пацієнтів розподілили на дві групи: основну (n = 236) — підтверджений діагноз ПРЩЗ з/без метастатичних депозитів і контрольну (n = 68) — діагноз ПРЩЗ не підтверджено.

Визначення активності ДАП IV здійснювали за допомогою цитохімічного методу з попередньою фіксацією і забарвленням аспіраційного матеріалу за методикою Y. Aratake та співавт. [15].

Патолого-гістологічне дослідження післяопераційного матеріалу виконували після забарвлення препаратів гематоксиліном та еозином. Діагноз встановлено двома патологоанатомами відповідно до гістологічної класифікації ВООЗ пухлин ЩЗ залози (четверте видання, 2017) [16].

Накопичення та первинну обробку даних здійснювали за допомогою програми MS Excel 2013.

Для оцінки можливості використання показника ДАП IV для прогнозування ПРЩЗ та його метастазів у випадках пухлин із категорією TBSRTC IV застосовано ROC-аналіз з використанням веб-калькулятора для ROC-кривих (<http://www.jrocf.org>) та набору програм Epitools (<https://epitools.ausvet.com.au>). Площу під кривою (AUC) з 95 % довірчим інтервалом (ДІ) визначали за методом E. R. DeLong та співавт. [13]. Розрахунки операційних характеристик тесту з 95 % ДІ проводили за допомогою Diagnostic test evaluation calculator (MedCalc, https://www.medcalc.org/calc/diagnostic_test.php).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Проблема встановлення діагнозу після виконання ТАПБ, особливо у випадках утворень, які належать до «сірої зони», є актуальною. Насамперед це залежить від ферментативної та клітинної активності епітелію утворення, що в деяких випадках хибно інтерпретується дослідником.

Імовірність встановити злаякісність за наявності цитологічного висновку категорії TBSRTC IV становить від 20 до 40 % [14]. Це спонукає до пошуку додаткових методів дослідження на клітинному рівні, які можуть звузити так званий діагностичний коридор похибки до мінімуму і підвищити ефективність цитологічного аналізу. Одним із таких методів може бути визначення активності ДАП IV у цитологічному матеріалі.

Про це свідчить аналіз ROC-кривої (AUC = 0,652 (95 % ДІ 0,582—0,722)), що свідчить про середню якість моделі (рис. 1).

У нашому дослідженні встановлено, що величина активності ДАП IV є точкою відсікання (вирішальне правило $X \geq T$, критерій вибору — найкраще співвідношення чутливості та специфічності (табл. 1), тобто за активності ДАП IV > 6 (інтенсивність реакції та кількість клітин, у яких відбулась реакція у цитоплазмі), імовірність отримання діагнозу ПРЩЗ значно збільшується. Однак це не заперечує отримання висновку про злаякісність після гістоморфологічного дослідження за активності ДАП IV < 6 (рис. 2).

Прогностична значущість позитивного результату (висновок про злаякісність) при активності ДАП IV становить 85,1 %, тобто є високою.

Величини контрачутливості (ймовірність отримання хибно негативного результату тесту у суб'єкта із хворобою) та контраспецифічності (ймовірність

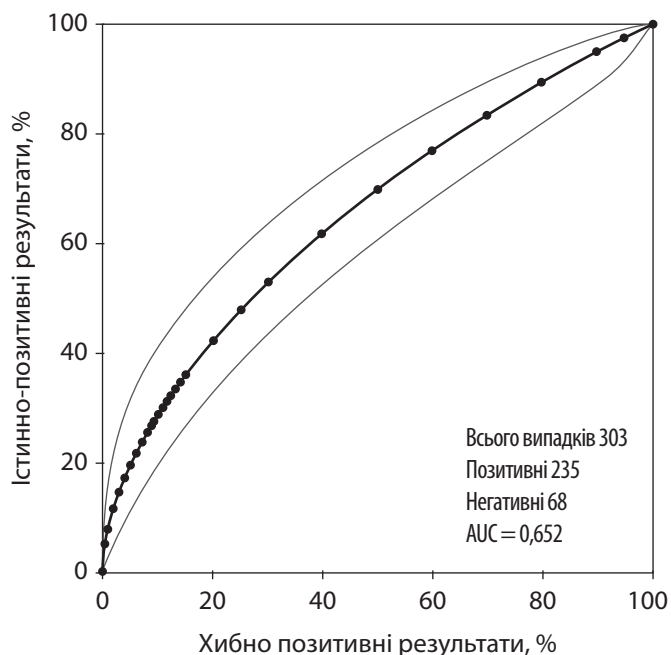


Рис. 1. ROC-крива, яка характеризує зв'язок між активністю ДАП IV та діагнозом папілярного раку щитоподібної залози

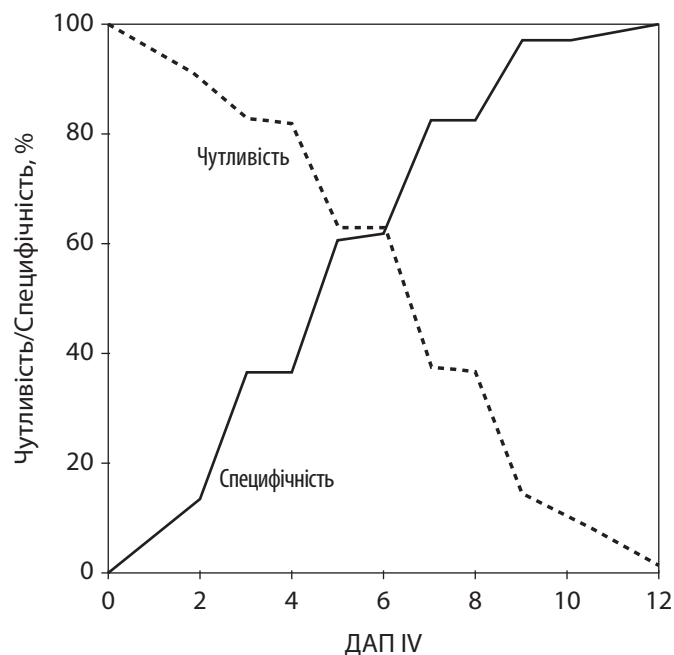


Рис. 2. Графіки чутливості та специфічності тесту прогнозування папілярного раку щитоподібної залози

отримання хибно позитивного результату у суб'єкта без хвороби) для значення ДАП IV 6 практично однакові — відповідно 0,370 та 0,387. При перевищенні цього порогу контрачутливість суттєво зростає, тоді як контраспецифічність знижується (табл. 2).

Для визначення точності прогнозування наявності метастазів ПРЦЗ також застосовано ROC-аналіз. Вивчено зв'язок між певною величиною активності ДАП IV та наявністю виявів метастазування ПРЦЗ.

Якість запропонованої моделі можна інтерпретувати як добру: AUC = 0,782 (95 % ДІ 0,676—0,853) (рис. 3).

Таблиця 1

Основні операційні характеристики тесту для виявлення папілярного раку щитоподібної залози

Показник	Значення (95 % ДІ), %
Чутливість	63,0 (56,6—69,3)
Специфічність	61,8 (49,2—73,3)
Прогностична значущість позитивного результату	85,1 (80,6—88,7)
Прогностична значущість негативного результату	32,6 (27,3—38,3)
Діагностична ефективність	62,7 (57,0—68,2)

Установлено, що точка відсікання ДАП IV становить 8 (вирішальне правило $X \geq T$, критерій вибору — найкраще співвідношення чутливості і специфічності (табл. 3), тобто при значенні ДАП IV ≥ 8 при патоморфологічному дослідженні велика ймовірність виявлення метастазів ПРЦЗ (рис. 4).

Прогностична значущість негативного результату (ймовірність відсутності метастазів) за актив-

Таблиця 2

Контрачутливість і контраспецифічність тесту щодо прогнозу наявності папілярного раку щитоподібної залози для деяких значень DAP IV

Значення DAP IV	Контрачутливість	Контраспецифічність
2	0,098	0,868
3	0,170	0,632
4	0,183	0,632
5	0,370	0,397
6	0,370	0,387
7	0,626	0,176
8	0,634	0,531
9	0,855	0,029
10	0,894	0,029

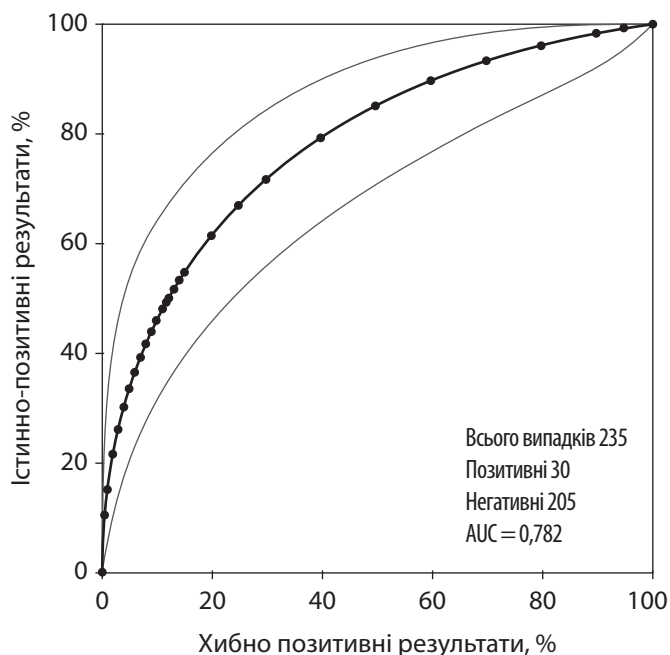


Рис. 3. ROC-крива, яка характеризує зв'язок між активністю ДАП IV та наявністю метастазів папілярного раку щитоподібної залози

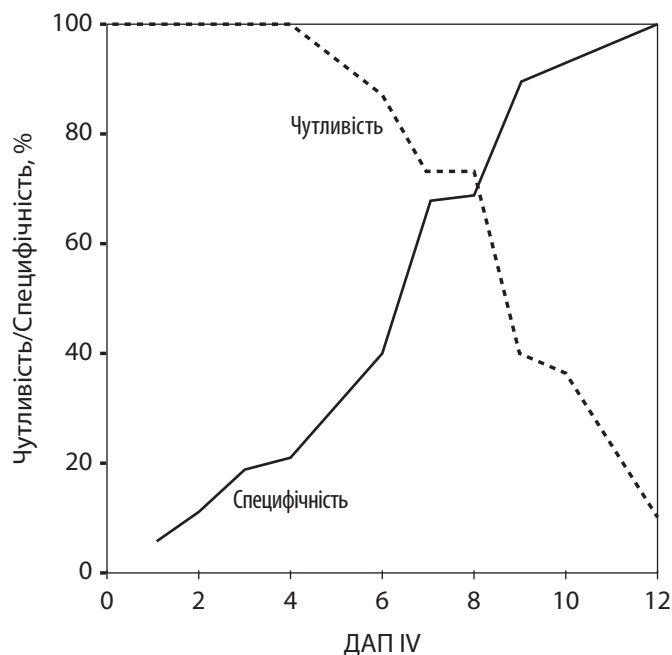


Рис. 4. Графіки чутливості та специфічності тесту для виявлення метастазів папілярного раку щитоподібної залози

ності ДАП IV ≥ 8 є високою. У нашому дослідженні хибно негативних результатів було 8 із 147 негативних результатів загалом, тоді як хибно позитивних результатів — дуже багато (передіагностика), тому прогностична значущість позитивного результату є низькою.

Дані, наведені у табл. 4, ілюструють той факт, що при значеннях ДАП IV < 4 , метастази практично не трапляються, підвищення показника контрачутливості спостерігається, починаючи з величини ДАП IV ≥ 8 .

З огляду на отримані результати, питання щодо категоричності при виборі тактики лікування у випадках новоутворень ЩЗ категорії TBSRTC IV є менш дискусійним та більш прогнозованим за рахунок використання додаткового цитологічного методу і проведення статистичного аналізу. Це дає змогу з певною ймовірністю прогнозувати наявність як ПРЩЗ, так і його метастазів.

Таблиця 3

Основні операційні характеристики тесту для виявлення метастазів папілярного раку щитоподібної залози

Показник	Значення (95 % ДІ), %
Чутливість	73,3 (54,1—87,7)
Специфічність	68,8 (62,0—75,1)
Прогностична значущість позитивного результату	25,6 (20,4—31,6)
Прогностична значущість негативного результату	94,6 (90,6—97,0)
Діагностична ефективність	69,4 (63,0—75,2)

Таблиця 4

Контрачутливість і контраспецифічність тесту на виявлення метастазів папілярного раку щитоподібної залози для певних значень DAP IV

Значення DAP IV	Контрачутливість	Контраспецифічність
2	0	0,898
3	0	0,805
4	0	0,790
5	0,133	0,595
6	0,133	0,595
7	0,267	0,322
8	0,267	0,312
9	0,600	0,107
10	0,633	0,068

ВИСНОВКИ

При застосуванні ДАП IV як предиктора ПРЦЗ для вузлів із цитологічними характеристиками категорії TBSRTC IV імовірність отримання діагнозу папілярного раку стає клінічно значущою, починаючи з величини активності ДАП IV ≥ 6 , при цьому значення контрачутливості становить 0,37.

Зі збільшенням активності ДАП IV у пацієнтів із категорією TBSRTC IV імовірність виявлення метастазів ПРЦЗ підвищується (порогове значення активності для метастазів ДАП IV 8, величина контрачутливості — 0,267).

Отримані результати дослідження можуть мати практичне значення, оскільки дають змогу практикуючому лікарю визначити варіант лікування: при значеннях ДАП IV < 6 можливе застосування альтернативних методів лікування або активне спостереження, при ДАП IV < 8 потреба в профілактичній дисекції не має рекомендаційного характеру.

Конфлікту інтересів немає.

Участь авторів: концепція і дизайн дослідження — О. А. Товкай; збір та опрацювання матеріалу — В. О. Паламарчук, Н. І. Белемець; статистична обробка даних — В. В. Куц; написання тексту — В. О. Паламарчук, Є. С. Козачук; редагування — Є. С. Козачук.

ЛІТЕРАТУРА/REFERENCES

- Feldkamp J, Führer D, Luster M, Musholt TJ, Spitzweg C, Schott M. Fine needle aspiration in the investigation of thyroid nodules. *Dtsch Arztebl Int.* 2016 May 20;113(20):353-9. doi: 10.3238/arztebl.2016.0353. PMID: 27294815; PMCID: PMC4906830. In German.
- Upadhyaya P, Dhakal S, Adhikari P, Adhikari B, Khadka D, Niraula SR. Histopathological review of diagnostic categories of the Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology — an institutional experience of 5 years. *J Cytol.* 2019 Jan-Mar;36(1):48-52. doi: 10.4103/JOC.JOC_64_18. PMID: 30745740; PMCID: PMC6343391.
- Goldfarb M, Casillas J. Thyroid cancer-specific quality of life and health-related quality of life in young adult thyroid cancer survivors. *Thyroid.* 2016 Jul;26(7):923-32. doi: 10.1089/thy.2015.0589. Epub 2016 Jun 6. PMID: 27161396.
- De Micco C, Zoro P, Garcia S, et al. Thyroid peroxidase immunodetection as a tool to assist diagnosis of thyroid nodules on fine-needle aspiration biopsy. *Eur J Endocrinol.* 1994 Nov;131(5):474-9. doi: 10.1530/eje.0.1310474. PMID: 7952158.
- Juzwizyn J, Dolciewska A, Chabowski M. Quality of life and acceptance of illness in patients who underwent total thyroidectomy. *Ann Ital Chir.* 2020;91:352-8. PMID: 33162401.
- McIntyre C, Jacques T, Palazzo F, Farnell K, Tolley N. Quality of life in differentiated thyroid cancer. *Int J Surg.* 2018 Feb; 50:133-6. doi: 10.1016/j.ijss.2017.12.014. Epub 2017 Dec 26. PMID: 29288117.
- Baloch ZW, Fleisher S, LiVolsi VA, Gupta PK. Diagnosis of «follicular neoplasm»: a gray zone in thyroid fine-needle aspiration cytology. *Diagn Cytopathol.* 2002 Jan;26(1):41-4. doi: 10.1002/dc.10043. PMID: 11782086.
- Cheung CC, Ezzat S, Freeman JL, Rosen IB, Asa SL. Immunohistochemical diagnosis of papillary thyroid carcinoma. *Mod Pathol.* 2001 Apr;14(4):338-42. doi: 10.1038/modpathol.3880312. PMID: 11301350.
- Pagni F, Manzoni M, Buscone S, Leone BE. β -Catenin as a morpho-immunohistochemical marker for the diagnosis of papillary thyroid carcinoma. *Arch Pathol Lab Med.* 2015 May;139(5):572-4. doi: 10.5858/arpa.2014-0155-LE. PMID: 25927143.
- Saffar H, Jahanbin B, Ameli F, Farhang F, Tavangar SM, Saffar H. Diagnostic value of TROP2 expression in papillary thyroid carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2021 Mar 1;29(3):218-22. doi: 10.1097/PAI.0000000000000886. PMID: 33264108.
- Yousaf U, Christensen LH, Rasmussen AK, et al. Immunohistochemical staining for thyroid peroxidase (TPO) of needle core biopsies in the diagnosis of scintigraphically cold thyroid nodules. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2008;68(6):996-1001. doi:10.1111/j.1365-2265.2007.03130.x.
- Kholová I, Ryska A, Ludvíková M, Čáp J, Pecan L. Dipeptidyl peptidase IV expression in thyroid cytology: retrospective histologically confirmed study. *Cytopathology.* 2003 Feb;14(1):27-31. doi: 10.1046/j.1365-2303.2003.01138.x. PMID: 12588307.
- DeLong ER, DeLong DM, Clarke-Pearson DL. Comparing the areas under two or more correlated receiver operating characteristic curves: a nonparametric approach. *Biometrics.* 1988 Sep;44(3):837-45. PMID: 3203132.
- Cibas ES, Ali SZ. The 2017 Bethesda System for reporting thyroid cytopathology. *Thyroid.* 2017 Nov;27(11):1341-6. doi: 10.1089/thy.2017.0500. PMID: 29091573.
- Aratake Y, Kotani T, Tamura K, et al. Dipeptidyl aminopeptidase IV staining of cytologic preparations to distinguish benign from malignant thyroid diseases. *Am J Clin Pathol.* 1991 Sep;96(3):306-10. doi: 10.1093/ajcp/96.3.306. PMID: 1715126.
- Bai Y, Kakudo K, Jung CK. Updates in the Pathologic Classification of Thyroid Neoplasms: a review of the World Health Organization Classification. *Endocrinol Metab (Seoul).* 2020 Dec;35(4):696-715. doi: 10.3803/EnM.2020.807. Epub 2020 Dec 2. PMID: 33261309; PMCID: PMC7803616.

РЕЗЮМЕ

Одним із найефективніших методів діагностики вузлових утворень щитоподібної залози (ЩЗ) є тонкоіголова аспіраційна пункційна біопсія (ТАПБ), яка дає змогу вивчити цитологічні характеристики пухлин ЩЗ. Для поліпшення діагностичної ефективності цитологічних досліджень використовують додаткові методи, зокрема цитохімічне дослідження активності дипептидил-амінопептидази (ДАП IV).

Мета роботи — проаналізувати та встановити порогові значення активності ДАП IV, за яких вірогідність виявлення папілярного раку ЩЗ (ПРЦЗ) та його метастазів у лімфатичних вузлах є клінічно значущою у пацієнтів з цитологічним висновком категорії TBSRTC IV.

Матеріали та методи. Вперше в Україні проаналізовано можливість використання показника DAP IV для прогнозування ПРЦЗ та його метастазів у випадках пухлин із категорією TBSRTC IV із застосуванням ROC-аналізу з метою визначення порогових значень активності DAP IV, за яких імовірність виявлення ПРЦЗ та його метастазів стає клінічно значущою.

Результати. Установлено, що величина активності ДАП IV 6 є точкою відсікання для отримання діагнозу ПРЦЗ, а значення 8 — точкою відсікання для наявності його метастатичних депозитів, тобто за активності ДАП IV > 6 та > 8, імовірність отримання діагнозу ПРЦЗ і його метастазів значно збільшується. Прогностична значущість позитивного результату, тобто отримання висновку про злоякісність, за величини активності ДАП IV 6 становить 85,1%, тобто є високою. Зі збільшенням активності ДАП IV у пацієнтів із категорією TBSRTC IV імовірність виявлення метастазів ПРЦЗ підвищується (при порозі відсікання ДАП IV 8 величина контрачутливості — 0,267).

Висновки. Отримані результати дослідження дають змогу практикуючому лікарю визначити варіант лікування: при значеннях ДАП IV < 6 можливе застосування альтернативних методів лікування або активне спостереження, при ДАП IV < 8 потреба в профілактичній дисекції не має рекомендаційного характеру.

Ключові слова: папілярний рак, метастази, DAP IV, тонкогolgкова аспіраційна пункційна біопсія.

ABSTRACT

The role of DAP IV activity testing in the cytological examination of tumors of the «gray zone» TBSRTC IV in the prediction of papillary thyroid cancer and metastases

O. A. Tovkai¹, V. O. Palamarchuk¹,
Y. S. Kozachuk^{1,2}, N. I. Belemets¹, V. V. Kuts^{1,3}

¹ Ukrainian Scientific and Practical Center of Endocrine Surgery, Transplantation of Endocrine Organs and Tissues of MoH of Ukraine, Kyiv

² Bogomolets National Medical University, Kyiv

³ SI «National Institute of Phthiology and Pulmonology named after F. G. Yanovskyi NAMS of Ukraine», Kyiv

One of the most effective methods of thyroid nodules diagnosis is the fine-needle aspiration puncture biopsy (FNAPB), allowing evaluation of the cytological characteristics of thyroid tumors. To improve the diagnostic efficiency of cytological investigations, additional methods can be implemented, including cytochemical determination of dipeptidyl aminopeptidase (DAP IV).

Objective — to analyze and establish the DAP IV activity thresholds, at which the probability of detecting papillary thyroid cancer (PTC) and its metastases in lymph nodes is clinically significant in patients with cytological conclusion of the TBSRTC IV category.

Materials and methods. For the first time in Ukraine, an analysis was made of the possibility of using DAP IV to predict papillary cancer and its metastases in cases of tumors with TBSRTC IV using ROC analysis to determine the threshold values of DAP IV activity, defining the clinically significant probability of metastases.

Results. It has been established that 6 is the cut-off DAP IV value for diagnosis of papillary thyroid cancer, and 8 is the cut-off point for the presence of its metastatic deposits. Thus, in case of DAP IV activity values between 6 and 8, the probability of papillary thyroid cancer diagnosis and its metastases significantly increases. The prognostic value of a positive result, i.e. obtaining a malignant diagnosis with DAP IV 6 activity, is 85.1%, which can be interpreted as high. With increasing DAP IV activity in patients with TBSRTC IV category, the probability of the reveal of papillary thyroid cancer metastases increases (threshold value of activity for DAP IV metastases 8 with counter sensitivity 0.267).

Conclusions. The obtained results allow a practitioner to choose treatment options: with values of DAP IV < 6, the alternative therapies or active monitoring can be used, and with DAP IV < 8, the need for preventive dissection may not be advisory.

Keywords: papillary thyroid cancer, metastases, DAP IV, fine-needle aspiration puncture biopsy.

Received • Отримано 11/01/2023
Peer-reviewed • Рецензовано 09/02/2023
Accepted • Прийнято до друку 10/02/2023