

ВОЗМОЖНОСТИ ИММУНОЦИТОХИМИИ В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ЕГО МЕТАСТАЗОВ

З.А. Афанасьева, С.В. Петров, Г.Н. Хайрутдинова, Н.В. Балатенко, Т.В. Гурьянова

*Клинический онкологический центр (главврач — канд. мед. наук Р. Ш. Хасанов) МЗ РТ, г. Казань
кафедра патологической анатомии (зав. — проф. Н. Ш. Шамсутдинов)
Казанского государственного медицинского университета*

Щитовидная железа (ЩЖ) является частой локализацией опухолей и опухолеподобных процессов, диагностика которых нередко затруднена [5]. В последние годы в качестве дополнительного диагностического приема (помимо гистологии и электронной микроскопии) получили распространение иммуноцитогистохимические методы [2, 5, 9]. При изучении рака щитовидной железы (РЩЖ) они позволяют решать проблемы тиреоидного канцерогенеза, ряд важнейших диагностических задач, недоступных другим методам, помогают выбрать адекватную тактику лечения и определить прогноз заболевания [1, 3—6, 12, 19]. Иммуноморфологические методы цитологической гистогенетической диагностики РЩЖ основаны на том, что опухолевые клетки различных новообразований (как и клетки нормальной ЩЖ) отличаются друг от друга по наличию и степени экспрессии ряда антигенов, в том числе белковых продуктов онкогенов и генов-супрессоров. Преимущества данных методов исследования связаны с возможностью выявления накопленного белкового продукта в конкретных клетках и гистологических структурах при сохранении их морфологии.

В ЩЖ имеется несколько клеточных типов: это фолликулярные клетки (А-клетки), апудоциты (С-клетки) и онкоциты (В-клетки). Клетки А-клеточного РЩЖ (папиллярные и фолликулярные раковые опухоли) экспрессируют тиреоглобулин, тироксин, трийодтиронин, тиропероксидазу [6, 11, 13, 16, 17, 18, 20]. Недифференцированный РЩЖ из А-клеток теряет способность экспрессировать ТТГ-рецептор, тиреоглобулин, тиропероксидазу, но экспрессирует цитокератины простых эпителиев, эпи-

дермальный фактор роста (ЭФР) и ЭФР-рецептор [8, 10]. Клетки С-клеточного (медуллярного) РЩЖ экспрессируют кальцитонин, хромогранин А, хромогранин АРНЕ5, нейрон-специфическую энolahзу (NSE), синаптофизин, CGRP (calcitonin-gene-related peptide), соматостатин, Vip (вазоактивный интестинальный полипептид), АКТГ, простагландины [7, 12, 14, 15]. Для клеток В-клеточного рака характерна высокая активность фермента сукцинатдегидрогеназы [5].

В доступной нам литературе мы встретили немногочисленные работы, посвященные иммуноморфологии РЩЖ, в частности иммуногистохимическому анализу послеоперационного материала ЩЖ [4, 8, 10, 12, 18, 19], и лишь в единичных работах — вопросы иммуноцитохимии РЩЖ и его метастазов [6, 11, 20].

Целью нашего исследования являлось определение информативности иммуноцитохимического метода в дооперационной дифференциальной цитогенетической диагностике РЩЖ и его метастазов.

В централизованной иммуногистохимической лаборатории КОЦ МЗ РТ были проведены 88 иммуноморфологических исследований (65 иммуноцитохимических и 23 иммуногистохимических анализа) у 61 больного: у 42 — с опухолевой патологией ЩЖ и у 19 — с подозрением на опухоль. Иммуноцитохимические исследования (в мазках) выполнены у 40 больных, иммуногистохимические (на парафиновых и криостатных срезах) — у 14, оба метода исследования — у 7. У некоторых больных иммуноморфологический анализ неоднократно повторяли либо одновременно исследовали ЩЖ, лимфатические узлы, метастазы в другие органы (легкие, печень). Иммуноцитохимическое

исследование использовали как метод дооперационной диагностики РЩЖ и его микрометастазов, в том числе у леченных больных.

Вначале проводили диагностическое ультразвуковое исследование ЩЖ, лимфатических узлов шеи и других регионов, печени. Далее выполняли тонкоигольную аспирационную пункционную биопсию пальпируемого очага. Материал помещали на несколько стекол, равномерно распределяли по всей их поверхности (иногда добавляли каплю физиологического раствора). Мазки высушивали. Один мазок подвергали стандартному цитологическому исследованию. При наличии в нем опухолевых клеток другие мазки использовали для иммуноцитохимической реакции. Применяли биотин-стрептавидиновый метод (LSAB-DAKO) [2].

Нами были определены следующие маркеры: тиреоглобулин (Тг), кальцитонин (Ca), хромогранин А (Хр), нейронспецифическая энолаза (NSE), S-100 (кальций связывающий белок — маркер опухолей нейрогенной природы), цитокератины (7, 8, 19, PAN-ЦКР), эпителиальный мембранный антиген (ЭМА), раковоэмбриональный антиген (РЭА), антимеланомный антиген (HMB-45), антиген ядер пролиферирующих клеток (PCNA), простатспецифический антиген (PSA), общий лейкоцитарный антиген (ОЛА), антиген активированных В-лимфоцитов (BLA-36), CD3 (антиген для всех Т-лимфоцитов), CD 20 (антиген для В-лимфоцитов), CD 45RA (антиген для всех В-лимфоцитов), CD 45 RO (антиген для большинства Т-лимфоцитов), фактор пролиферации Ki 67, виментин (белок промежуточных филаментов клеток мезенхимального происхождения — маркер клеток мезенхимального происхождения), десмин (маркер мышечных клеток), белки гена супрессора p53 и онкогена c-erbB2/неу. Полученные результаты оценивали совместно с патоморфологом и клиницистом.

Иммуногистохимическое исследование позволило при раке РЩЖ (15 наблюдений папиллярного, 2 — фолликулярного рака, 12 — медулярного и 2 — недифференцированного рака), лимфосаркоме ЩЖ (5 наблюдений) поставить правильный диагноз в 100% случаев, при

метастазирующей карциноме без первичного очага (3 наблюдения) — в 66,6%, а также дифференцировать метастазы РЩЖ: в одном наблюдении — от вторичной саркомы, в другом — от вторичного рака легкого.

Иммуноцитохимический анализ у 20 из 25 больных РЩЖ дал возможность точно определить цитогенетический тип рака до начала лечения, у 3 больных исключить микрометастазы в шейные лимфатические узлы. У одной больной, у которой проводили дифференциальную диагностику мезенхимальной опухоли и РЩЖ, только послеоперационный иммуногистохимический анализ помог выяснить тканевое происхождение новообразования (низкодифференцированный рак из А-клеток). В одном случае папиллярного РЩЖ клетки метастаза в шейный лимфатический узел не экспрессировали тиреоглобулин, что не позволило с уверенностью констатировать тиреоидный генез метастаза. Таким образом, точность метода составила 92%.

У 2 (20%) из 10 больных с метастазами папиллярного рака в лимфатические узлы клетки метастазов, в отличие от первичной опухоли, не экспрессировали тиреоглобулин, что свидетельствовало о снижении уровня их дифференцировки.

Иммуноцитохимическое исследование позволило до операции у пациентов с цитологическим диагнозом “недифференцированный рак” установить точный цитогенетический диагноз недифференцированного рака (клетки опухоли экспрессировали только ЭМА и ЦКР), низкодифференцированного С-клеточного рака (клетки опухоли сохраняли способность экспрессировать кальцитонин), низкодифференцированного А-клеточного рака (клетки опухоли экспрессировали тиреоглобулин), низкодифференцированного смешанного А- и С-клеточного рака (клетки опухоли экспрессировали тиреоглобулин и кальцитонин).

В литературе имеются указания на существование недифференцированных злокачественных опухолей ЩЖ с экспрессией тиреоглобулина [20]. Rosai J. et al. [19] считают, что в данном случае речь идет о неспецифической адсорбции тиреоглобулина клетками недифференци-

рованного РЩЖ. Для решения этого вопроса необходимы дальнейшие иммуноцитохимические и иммуногистохимические исследования недифференцированных и низкодифференцированных опухолей. Мы относили недифференцированные опухоли, которые сохраняли экспрессию тиреоглобулина, к низкодифференцированному А-клеточному раку.

При иммуноцитохимическом исследовании у 5 из 12 больных с метастазирующим раком без первичного очага была выявлена локализация первичного очага (точность метода составила 41,7%), у 5 следующих больных — в желудочно-кишечном тракте. У одной больной была исключена локализация первичного очага в желудочно-кишечном тракте, в молочной и щитовидной железе, что облегчило дальнейший диагностический поиск. У одной больной с метастазами нейроэндокринного рака в лимфатические узлы шеи, леченной ранее по поводу эндокринноклеточного рака молочной железы и имеющей узел в щитовидной железе, не удалось определить локализацию первичного очага (молочная железа или щитовидная железа).

Лимфосаркома была установлена у 4 из 5 больных, причем у одной больной — В-клеточный тип лимфосаркомы, у 3 — Т-клеточный. Точность иммуноцитохимии в диагностике лимфосарком щитовидной железы, по нашим данным, составила 80%.

Главным требованием иммуноцитохимического исследования является получение репрезентативного материала из патологического очага при тонкоигольной аспирационной пункционной биопсии (ТАПБ). Этому требованию отвечает ТАПБ под УЗИ-контролем, особенно при непальпируемых образованиях. У 11 пациентов (2 мужчин и 9 женщин в возрасте от 15 до 68 лет), у которых патологический очаг пальпаторно не определялся, ТАПБ проводили под УЗИ-контролем. Результаты иммуноцитохимических исследований у этих пациентов представлены в табл. 1.

Проведенные иммуноморфологические исследования позволили нам составить таблицу экспрессии маркеров клет-

ками злокачественных опухолей ЩЖ, которая может с успехом использоваться для дифференциальной диагностики злокачественных новообразований органа (табл. 2).

Таким образом, благодаря использованию иммуноцитохимического метода нами были успешно решены следующие задачи в дооперационной диагностике рака щитовидной железы:

1) определен цитогенез рака щитовидной железы (из А-, С-клеток),

2) проведена дифференциальная диагностика: а) недифференцированного РЩЖ и лимфомы; б) недифференцированного РЩЖ и мягкотканной саркомы; в) недифференцированного рака и низкодифференцированного рака из А- и С-клеток; г) метастаз РЩЖ и вторичных опухолей,

3) верифицировать РЩЖ при метастазирующей карциноме без первичного очага;

4) диагностировать рецидивы и микрометастазы РЩЖ в лимфатических узлах и других органах, в том числе при мониторинге леченных больных;

5) определена органная принадлежность метастазов опухолей различных органов в ЩЖ.

Результаты наших исследований подтвердили высокую информативность иммуноцитохимического анализа в диагностике опухолей ЩЖ и их метастазов, на что указывали В.А. Олейник и соавт. [3], Р. Dhimeset al. [11], С.С. Tung et al. [20]. В то же время наша работа, в отличие от вышеупомянутых, включала в себя анализ целого ряда опухолевых поражений ЩЖ, в том числе рака, лимфомы, метастазов других опухолей в ЩЖ. По нашим данным, дооперационное иммуноцитохимическое исследование по диагностической точности намного уступает послеоперационному иммуногистохимическому анализу, но зато дает в руки клинициста существенное преимущество — цитогенез опухоли определяется до операции, что позволяет планировать адекватную тактику лечения [5]. Так, например, при высокодифференцированных раковых опухолях основным методом лечения является операция, тогда как при недифференцированных — комбинированная

Результаты иммуноцитохимических исследований пунктатов из патологического очага, полученных с помощью ТАПБ под УЗИ контролем

Предполагаемый диагноз	Локализация очага	Цитологический диагноз	Иммуноцитохимический диагноз	Заключительный диагноз
Метастаз рака почки или первичный РЩЖ	ЩЖ	Аденокарцинома	Метастаз рака почки	Метастаз рака почки в ЩЖ
Метастаз рака без первичного очага или первичный РЩЖ	ЩЖ	Аденокарцинома	Метастаз колоректального рака	Метастаз рака толстой кишки в ЩЖ
Метастаз РЩЖ в шейный лимфоузел после радикального лечения	Лимфоузел	Метастаз РЩЖ	Метастаз А-типа РЩЖ	Метастаз папиллярного РЩЖ в шейном лимфоузле
Метастаз С-клеточного РЩЖ в печень	Очаг в печени	Клетки печени	Метастаз не найден	Киста печени
Метастаз рака прямой кишки или РЩЖ в шейный лимфоузел	Лимфоузел	Метастаз аденокарциномы	Метастаз колоректального рака	Метастаз рака прямой кишки в шейный лимфоузел
Лимфосаркома ЩЖ	ЩЖ	Лимфосаркома	В-клеточная лимфосаркома	В-клеточная лимфосаркома ЩЖ
Метастаз рака без первичного очага	Паховый лимфоузел	Метастаз аденокарциномы	Метастаз А-типа РЩЖ	РЩЖ с метастазами в паховые лимфоузлы
Метастаз меланомы или первичный РЩЖ у леченной по поводу меланомы больной	ЩЖ	Метастаз меланомы или низкодифференцированный РЩЖ	С-клеточный тип РЩЖ	Медулярный РЩЖ
Метастаз РЩЖ в шейный лимфоузел после радикального лечения	Лимфоузел	Метастаз низкодифференцированного рака	Метастаз рака, тиреоидный генез не доказан	Рецидив РЩЖ в шейном лимфоузле
Метастаз РЩЖ в шейный лимфоузел после радикального лечения	Лимфоузел	Лимфоидные элементы	Метастаз не найден	Реактивная гиперплазия шейного лимфоузла
Рецидив лимфосаркомы ЩЖ	ЩЖ	Не проводился	В-клеточная лимфосаркома	Рецидив В-клеточной лимфосаркомы ЩЖ

Таблица 2

Экспрессия маркеров при злокачественных новообразованиях ЩЖ

Злокачественные образования щитовидной железы	Экспрессия маркеров								
	Тг	Ка	Хр	NSE	S100	ЭМА	ЦКР	РЭА	ОЛА
Рак из А-клеток	+	—	—	—	—	+	+	±	—
Рак из С-клеток	—	+	+	+	±/+	+	+	±/+	—
Рак из С-клеток с экспрессией тиреоглобулина	+	+	+	+	+	+	+	±/+	—
Недифференцированный рак	—	—	—	—	—	+	+	*	—
Низкодифференцированный А-клеточный рак	+	—	—	—	—	+	+	*	—
Низкодифференцированный С-клеточный рак	—	+	*	*	*	+	+	+	—
Метастаз А-клеточного рака	+/-	—	—	—	—	+	+	*	—
Метастаз С-рака	—	+	+	+	±/+	+	+	±/+	—
Метастаз недифференцированного рака	—	—	—	—	—	+	+	*	—
Лимфосаркома	—	—	—	—	—	—	—	*	+

Примечание: * маркер не определяли, + яркая положительная реакция, — негативная реакция, ± непостоянная, неяркая окраска в части наблюдений.

терапия (химио-лучевая терапия + операция), а при лимфосаркоме — химио-лучевая терапия.

ВЫВОДЫ

1. Иммуноцитохимическое исследование материала, полученного при тонкоигольной аспирационной пункционной биопсии является точным методом дооперационной диагностики РЩЖ и его метастазов.

2. С целью получения для иммуноцитохимического анализа репрезентативного материала из непальпируемых образований в ЩЖ и увеличенных лимфатических узлов, пораженных микрометастазами рака, а также при очагах в печени необходимо тонкоигольную аспирационную пункционную биопсию проводить под УЗИ контролем.

3. Экспрессия тиреоглобулина клетками метастазов опухолей свидетельствует об их тиреоидном генезе, в то же время его отсутствие в опухолевых клетках не исключает происхождения рака из ЩЖ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абросимов А.Ю. // Арх. патол. — 1997. — № 1. — С. 64 — 69.
2. Иммуногистохимическая диагностика опухолей человека (руководство для врачей-морфологов) / Под ред. С.В.Петрова и А.П.Киясова. — Казань, 1998.
3. Олейник В.А., Безверхая Т.П., Эпштейн Е.В., Божок Ю.М. // Пробл. эндокринологии. — 1995. — № 5. — С.37 — 41.
4. Пальцев М.А., Коган Е.А., Туңцова Е.И. // Арх. патол. — 1997. — № 6. — С. 18 — 23.
5. Пачес А.И., Пропп Р.М. Рак щитовидной железы. — М., 1995.
6. Петров С.В., Райхлин Н.Т. и др. // Арх. патол. — 1998. — № 4. — С. 34.
7. Райхлин Н.Т., Кветной И.М., Осадчук М.А. APUD-система (общепатологические и онкологические аспекты). — 1 ч. и 2ч. — Обнинск, 1993.
8. Трошина Е.А., Герасимов Г.А., Александрова Г.Ф. // Пробл. эндокринологии. — 1995. — № 6. — С. 42 — 47.

9. Франк Г.А., Литвинова Л.В., Завалишина Л.Э. и др. Материалы I съезда онкологов СНГ. Часть 1. — М., 1996.

10. Хмельницкий О.К. // Арх. патол. — 1987. — № 7. — С. 3 — 12.

11. Dhimes P., Carabias E., Lozano F., De Agustin P. // Acta cytol. — 1997. — Vol. 41. — P. 565 — 568.

12. Dottorini M.E., Assi A., Sironi M. et al. // Cancer. — 1996. — Vol. 77. — P.1556 — 1565.

13. Elisei R., Pinchera A., Romei C. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1994. — Vol. 78. — P. 867 — 871.

14. Eising E.G., Farahati J., Bier D. et al. // Nuklearmedizin. — 1995. — Vol.34. — P.1 — 7.

15. Hennen G. // Acta Chir. Belg. — 1994. — Vol. 94. — P. 30 — 32.

16. Kusakabe K., Mori E., Kano K. et al. // Japan J. Exp. Med. — 1989. — Vol. 59. — P.37 — 44.

17. Meier C.A. // Schweiz. Med. Wochenschr. — 1995. — Vol.125. — P.2367 — 2378.

18. Tanaka T., Umeki K., Yamamoto I. et al. // J. Pathol. — 1996. — V.179. — P. 89 — 94.

19. Tumors of the thyroid gland. Atlas of tumor pathology. Ed. by J.Rosai et al., AFIP, Washington, 1992.

20. Tung C.C., Chang T.C., Hsieh H.C. // Acta Cytol. — 1995. — Vol.39. — P. 396 — 401.

Поступила 19.03.00.

POSSIBILITIES OF IMMUNOCYTOCHEMISTRY IN THE DIFFERENTIAL CYTOGENETIC DIAGNOSIS OF THE THYROID CANCER AND ITS METASTASES

Z.A. Afanasyeva, S.V. Petrov, G.N. Khairutdinova,
N.V. Balatenko, T.V. Guryanova

Summary

To determine the diagnostic value of immunocytochemistry in the thyroid cancer the immunomorphological examinations (immunocytochemical and immunohistochemical) are carried out in 61 patients with the thyroid cancer, thyroid lymphoma and cancer metastases without the primary focus. Immunocytochemistry is combined with fine needle aspiration biopsy under ultrasonic control in some patients with nonpalpable tumors to receive representative material. The true diagnosis of the thyroid cancer is determined in 92% and 100% of the cases with the help of immunocytochemistry and postoperative immunohistochemistry, respectively. The high information value of immunocytochemistry is proved in the diagnosis of the thyroid cancer, thyroid lymphomas and in searching the primary focus in metastatic carcinoma without the primary focus.