

Казачков Е.Л., Пастернак И.А., Пастернак А.Е.

## **Оценка диагностического потенциала экспрессии TTF-1, EGF, Mesotelial cell и онкомаркера P504S в папиллярном раке щитовидной железы у детей**

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г.Челябинск

Kazachkov E. L., Pasternak I. A., Pasternak A. E.

### **Evaluation of the diagnostic potential of expression of TTF-1, EGF, mesotelial cell and tumor marker P504S in papillary thyroid cancer in children**

#### **Резюме**

Цель исследования - оценка экспрессии TTF-1, EGF, Mesotelial cell, P504S в папиллярных карциномах щитовидной железы у детей. Материал и методы. Исследованы образцы 30 щитовидных желез детей 10-17 лет, удаленных после хирургического лечения. Анализ экспрессии TTF-1, EGF, Mesotelial cell, P504S проводился иммуногистохимическим методом на серийных срезах. Результаты. Экспрессия TTF-1, EGF отмечалась при папиллярном раке и более выраженная в морфологически неизменной щитовидной железе. Во всех исследованных образцах карцином обнаружена слабая экспрессия Mesotelial cell. P504S-позитивные клетки определялись только в ткани папиллярного рака (при фолликулярном и папиллярном варианте). Выводы. Частота коэкспрессии Mesotelial cell и P504S при папиллярном раке щитовидной железы позволяет использовать данные маркеры в качестве дополнительных для дифференциальной диагностики папиллярного рака.

**Ключевые слова:** папиллярный рак у детей, экспрессия маркеров TTF-1, EGF, Mesotelial cell, P504S в щитовидной железе

#### **Summary**

The aim of the study is to evaluate the expression of TTF-1, EGF, Mesotelial cell, P504S in papillary carcinoma of the thyroid gland in children. Material and methods. Samples of 30 thyroid glands of children aged 10-17 that have been deleted after surgical treatment. Analysis of expression of TTF-1, EGF, Mesotelial cell, P504S was performed by immunohistochemical method on serial sections. Results. The expression of TTF-1, EGF was observed in papillary carcinoma and more severe in morphologically normal thyroid. In all studied samples of carcinomas detected the weak expression of Mesotelial cell. P504S-positive cells was determined in the tissue of papillary cancer (in follicular and papillary). Conclusions. The frequency of coexpression Mesotelial cell and P504S in papillary thyroid cancer enables the use of these markers as additional for the differential diagnosis of papillary cancer.

**Key words:** papillary cancer in children, expression of markers TTF-1, EGF, Mesotelial cell, P504S in the thyroid gland

---

#### **Введение**

В течение последних десятилетий регистрируется рост заболеваемости раком щитовидной железы у детей и подростков РФ [1-3]. Согласно данным более 25% узловых образований в щитовидной железе у детей являются злокачественными и выжидательная тактика и их консервативное лечение в детском возрасте неоправданны [4]. Вместе с тем, сомнительные результаты исследований биопсий щитовидных желез в 15-35% случаев ведут к инвалидизирующей операции, заместительной гормонотерапии и ухудшению качества жизни [5]. Исследование

опухолей щитовидной железы традиционно считается одним из сложных разделов патологоанатомической практики [1]. Кроме того, современная диагностика опухолей диктует не только необходимость установления гистологического варианта, степени дифференцировки, а также обязательной оценки прогноза течения болезни и возможного ответа на терапию. Для этого наряду с традиционными методами диагностики рака щитовидной железы необходимо осуществлять поиск новых маркеров, ассоциированных с канцерогенезом и прогрессией тиреоидных опухолей [6]. Экспрессия пролиферации, апоптоза,

ТТГ, ТФР- $\beta$ , галектина-3, виментина, протонкогена gas21, HBME-1, цитокератинов и других маркеров описывается при карциномах, зобе и аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы [6-11]. По мнению других авторов, диагностическая и прогностическая роль данных маркеров сомнительна [1,9,11]. Большинство исследователей считают, что применение нескольких видов маркеров увеличивает точность диагностики заболеваний щитовидной железы и способствует разработке новых прогностических критериев, необходимых для персонализированной медицины [6,8].

**Целью** исследования стала оценка экспрессии ТТФ-1, EGF, Mesotelial cell, P504S в папиллярных карциномах щитовидной железы у детей.

## Материал и методы

Был исследован операционный материал щитовидных желез от 43 детей 10-17 лет, оперированных в 2000-2015 гг. в Челябинском областном центре эндокринной хирургии по поводу злокачественных новообразований щитовидной железы. Из них у 30 больных (средний возраст  $14,7 \pm 0,3$ ) была верифицирована самая распространенная форма карциномы - папиллярный рак щитовидной железы. Соотношение женский/мужской пол у детей с папиллярным раком составило - 2,8; 24 (80%) были жителями г. Челябинска и других городов области - центров металлургической и химической промышленности. Локализация опухоли выявлена - в правой доле у 13, в левой доле - у 11, в перешейке - у 4, поражение обеих долей (и перешейка) - у 2 детей. Во всех случаях карцинома диагностирована в 1 стадии: 9 случаев -T1N0M0, 12 случаев T2N0M0, 2 - T1N1M0, 6- T2N1M0, 1- T2N2M0. У 16 детей была выполнена гемитиреоидэктомия, у 7- тиреоидэктомия, у 3- удаление перешейка и резекция обеих долей, еще у 3 больных - субтотальная резекция доли, в одном случае - резекция доли и энуклеация узла другой доли. Группу контроля составили щитовидные железы от 3 детей, умерших в результате дорожно-транспортных происшествий. Исследования одобрены локальным этическим комитетом.

Серийные гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофусином по ван Гизону. Иммуногистохимические исследования проводили с использованием антител к ТТФ-1, Mesotelial cell, P504S (Cell Marque), EGF (GeneTex). Интерпретация результатов иммуногистохимических реакций проводилась полуквантитативным методом по балльной системе.

Автоматизированную статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью лицензионного пакета прикладных программ «Statistica 6.0» («StatSoft, Inc.»). Оценку статистической значимости различий результатов исследования выполняли с построением таблиц кросстабуляции и вычислением точного двустороннего критерия Фишера. Уровень значимости приняли при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

В большинстве случаев сроки наблюдения от момента выявления заболевания щитовидной железы до

оперативного лечения составлял от 1 года до 7 лет, только 12 детей были прооперированы в течение первых 6 месяцев. При этом в 3 случаях папиллярный рак был диагностирован после патоморфологического исследования операционного материала. В 9 случаях размеры опухоли не достигали более 1см, в 5 случаях был обнаружен мультицентрический рак (до 4 узлов). Инкапсулированная опухоль определялась в 19 случаях, с капсулярной инвазией - в 11 случаях. Среди гистологических форм папиллярного рака [10] были диагностированы: папиллярный - 23, фолликулярный - 6, оксифильный вариант - 1 случай. При патогистологическом исследовании в папиллярном варианте наряду с сосочковыми структурами, преимущественно составляющими ткань опухоли, часто выявлялись фолликулы и псаммомные тельца. Фолликулярный вариант папиллярного рака характеризовался преимущественно инкапсулированным ростом, практически полным отсутствием сосочкового строения (или единичными сосочками) и наличием патогномичных оптически пустых ядер в опухолевых клетках. В качестве коморбидной патологии при папиллярной карциноме в 23,3% случаев диагностировались аутоиммунные заболевания щитовидной железы (аутоиммунный тиреоидит и токсический зоб). Аналогичная частота комбинации рака и неопухоловой патологии у детей Челябинской области регистрируется более 25 лет [5].

Положительная иммуногистохимическая реакция с ТТФ-1 отмечалась в 100% случаев. Интенсивность иммуногистохимической реакции чаще оценивалась как выраженная при папиллярном варианте, умеренная - при фолликулярном варианте (рис 1 а - *этой и другие рисунки к статье см. на специальной цветной вставке журнала - прим. ред.*). Вместе с тем, более высокой экспрессия ТТФ-1 была в перитуморозной зоне и в контрольной группе. Поэтому данный маркер рекомендуется применять дифференцированных тиреоидных опухолей [12].

Экспрессия с EGF была обнаружена во всех исследованных образцах в виде гомогенного или мелкогранулярного окрашивания цитоплазмы. Максимальный уровень экспрессии был отмечен при папиллярном варианте карциномы [табл.]. Прогностическая роль EGF и EGFR трактуется неоднозначно, поскольку их экспрессия определяется не только в опухолях, но и в нормальной ткани щитовидной железы [9,13].

Позитивное окрашивание с антителами к Mesotelial cell диффузного характера отмечено как в случаях рака так и в морфологически нормальной ткани щитовидной железы. Наибольшее число Mesotelial cell-положительных клеток выявлялось в строме карцином, чаще фолликулярного варианта (рис. 1 б). Для точности диагностики папиллярного рака предлагают оценивать коэкспрессию Mesotelial cell (HBME-1), галектина-3, тиреоглобулина и цитокератина [6,7].

В течение последних 15 лет активно обсуждается роль маркера онкогена - P504S

для дифференциальной диагностики рака предстательной железы, а также опухолей желудочно-кишечного тракта, почек и матки [14]. Положительная реакция

Таблица. Экспрессия TTF-1, EGF, Mesotelial cell, P504S в папиллярном раке щитовидной железы

Маркер	Контроль (1)	Папиллярный вариант (2)	Фолликулярный вариант (3)	p-уровень значимости различий
TTF-1	+	+	+/-	p>0,05
EGF	-/+	+	+/-	p>0,05
Mesotelial cell	-	-/+	+/-	p <sup>1-2</sup> =0,01, p <sup>1-3</sup> =0,04
P504S	-	-/+	+/-	p <sup>1-2</sup> =0,000, p <sup>1-3</sup> =0,0003

с указанным онкомаркером описывается как зернистое окрашивание цитоплазмы, которое мы наблюдали исключительно в эпителии тиреоидных карцином (рис 1 в, г). Экспрессия P504S определялась в небольшом количестве опухолевых клеток (10-20%) и преимущественно в папиллярных структурах. Схожие результаты были получены другими авторами, что свидетельствует о специфических особенностях этого маркера [15].

### Заключение

Результаты проведенного исследования показали, частота коэкспрессии Mesotelial cell и P504S при папиллярном раке щитовидной железы в отличие от ткани нормальных желез позволяет использовать данные маркеры в качестве дополнительных в дифференциальной диагностике папиллярного рака. Экспрессия TTF-1 и EGF связана с гормональной чувствительностью опухолевых клеток и

характерна как для папиллярной карциномы так и для морфологически неизменной щитовидной железы. ■

**Казачков Е.Л.** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии и судебной медицины ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. **Пастернак И.А.** – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры патологической анатомии и судебной медицины ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. **Пастернак А.Е.** – кандидат медицинских наук, начальник ГБУЗ «Челябинское областное бюро судебно-медицинской экспертизы». Автор, ответственный за переписку Казачков Е.Л. – тел. 8(351)232-01-45, e-mail: doctorkel@narod.ru

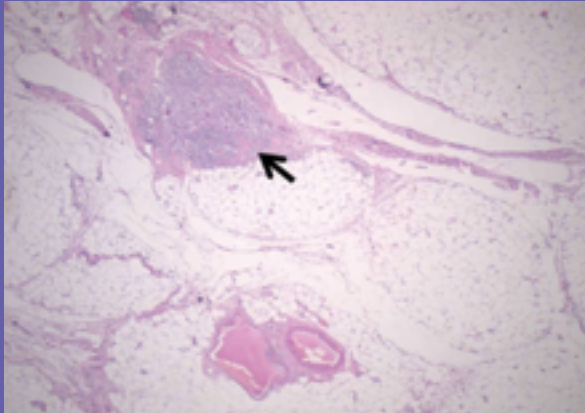
### Литература:

1. Хмельницкий О.К. Цитологическая и гистологическая диагностика заболеваний щитовидной железы. СПб: СОТИС; 2002.
2. Коваленко В.Л., Пастернак И.А., Кулаев И.А., Пастернак А.Е. Морфологические особенности щитовидной железы у детского населения, проживающего в условиях экологического неблагополучия. Вестник РАМН. 2010; 65(6):30-4.
3. Онищенко Г.Г. Чернобыль - 30 лет спустя. Радиационно-гигиенические и медицинские последствия аварии. Радиационная гигиена. 2016; 9(2): 10-9.
4. Рогова О.С., Самсонова Л.Н., Окминян Г.Ф. Структура узлового зоба у детей. Бюллетень сибирской медицины, 2015;14(5): 54-0.
5. Dinauer C.A., Breuer C., Rivkees S.A. Differentiated thyroid cancer in children: diagnosis and management. Curr. Opin. Oncol. 2008; (20): 59-5.
6. Гервальд В.Я., Климачев В.В., Авдалян А.М. и соавт. Рак щитовидной железы и методы его исследования. Фундаментальные исследования. 2014; 10(10):1911-17.
7. Коган Е.А., Рожкова Е.Б., Середин В.П., Пальцев М.А. Прогностическое значение экспрессии тиреоглобулина и онкомаркеров (p53, EGRF, RET-онкогена) в различных вариантах папиллярного рака щитовидной железы (клинико-морфологическое и иммуногистохимическое исследование). Арх. пат. 2006; 68 (4):8-11.
8. Глухов А.И., Ипполитов Л.И., Зимник О.В., Высоцкая О.В., Марченко И.А., Жуликов Д.В. Экспрессия молекулярно-биологических маркеров в опухолях щитовидной железы. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2009; (3):27-31.
9. Erdogan-Durmus S., Ozcan D., Ali Kurt E., Arslan A. CD56, HBME-1 and cytokeratin 19 expressions in papillary thyroid carcinoma and nodular thyroid lesions. J Res Med Sci. 2016; 21-9.
10. Зайратьянц О.В. Болезни эндокринной системы, расстройства питания. В: Пальцев М.А., Кактурский Л.В., Зайратьянц О.В.(ред.). Патологическая анатомия: нац. рук-во. М: ГЭОТАР-Медиа; 2011.784-05.
11. Маркелова Е.В., Здор В.В., А.Л. Романчук, Бирко О.Н. Матриксные металлопротеиназы их взаимосвязь с системой цитокинов, диагностический и прогностический потенциал. Иммунология, аллергология, инфектология. 2016; (2): 11-21.
12. Bishop I.A., Sharma R., Illei P.B. Napsin A and thyroid transcription factor1 expression in carcinomas of the lung, breast, pancreas, colon, kidney, thyroid and malignant mesotelioma. Hum Pathol. 2010; 41 (8): 20-5.
13. Fisher K.E, Jani J.C., Fisher S.B et al. Epidermal

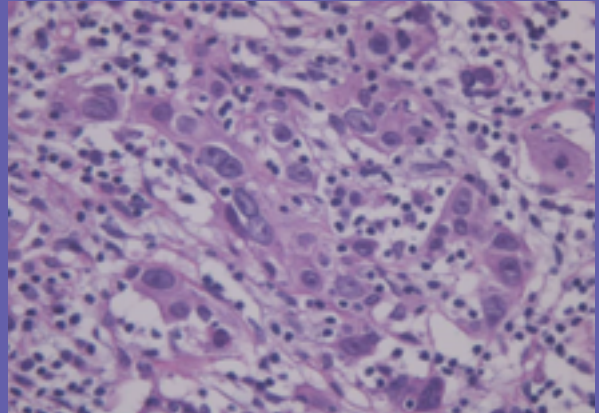
- growth factor receptor overexpression is a marker for adverse pathologic features in papillary thyroid carcinoma. J Surg Res. 2013; 185(1): 217-4.*
14. Jang Z., Fanger G.R., Woda B.A. et al. Expression of alpha-methylacyl-CoA racemase (P504s) in various malignant neoplasms and normal tissues a study of 761 cases. *Hum Pathol. 2003;34 (8):792-6.*
  15. Tretiakova M.S., Sahoo S., Takahashi M. et al. Expression of alpha-methylacyl-CoA racemase in papillary renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol. 2004; 28:69-6.*

*Иванцов А.О., Клецёв М.А., Городнова Т.В., Котив Х.Б., Имянитов Е.Н., Соколенко А.П.*

**Прогностическое значение оценки морфологического регресса метастазов наследственных опухолей яичника в большой сальник после неoadъювантной химиотерапии**



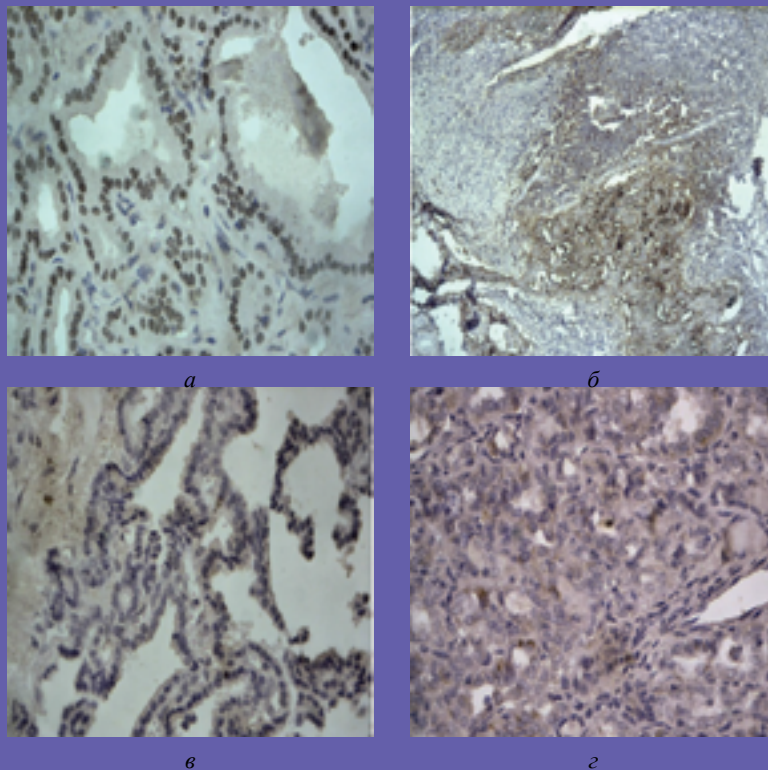
**Рисунок 1.** BRCA1-ассоциированная серозная карцинома яичника высокой степени злокачественности после НАХТ, степень гистопатологического ответа 3, единичный фокус опухолевых клеток (отмечен стрелкой); окр. гематоксилином и эозином, х50.



**Рисунок 2.** BRCA1-ассоциированная серозная карцинома яичника высокой степени злокачественности после НАХТ, степень гистопатологического ответа 3, единичный фокус опухолевых клеток; окр. гематоксилином и эозином, х400.

*Казачков Е.Л., Пастернак И.А., Пастернак А.Е.*

**Оценка диагностического потенциала экспрессии TTF-1, EGF, Mesotelial cell и онкомаркера P504S в папиллярном раке щитовидной железы у детей**



**Рис. 1.** Иммуногистохимическое окрашивание с антителами TTF-1, Mesotelial cell, P504S при папиллярном раке. а – экспрессия TTF-1. ×400; б – экспрессия Mesotelial cell. ×400; в, г – экспрессия P504S ×400.