

Казачков Е.Л.¹, Пастернак И.А.¹, Пастернак А.Е.²

Иммуноморфологическая характеристика интратиреоидных инфильтратов при папиллярной карциноме и узловом коллоидном зобе у детей

1 — ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Челябинск; 2 — ГБУЗ «Челябинское областное бюро судебно-медицинской экспертизы», г. Челябинск

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

Immunomorphological characteristics intrathyroidal infiltrates in papillary carcinoma, and nodular colloid goiter in children

Резюме

Цель исследования – изучить качественный и количественный состав клеточного инфильтрата при папиллярном раке и узловом коллоидном зобе в детском возрасте (от 7 до 17 лет). Материал и методы. Обнаружены клеточные инфильтраты в щитовидных железах при аутопсийном исследовании (n=39 случаев) у 12,8% умерших от нетиреоидной патологии. При изучении операционно-биопсийного материала также выявлены интратиреоидные клеточные инфильтраты: при папиллярной карциноме – у 58,3% пациентов (n=36 случаев), при узловом коллоидном зобе – у 23,9% детей и подростков (n=98 случаев). Проведены морфометрический анализ и иммуногистохимическое фенотипирование клеточных инфильтратов с применением панели CD3, CD4, CD8, CD20, CD68. Результаты и обсуждение. При количественной оценке установлено, что максимальные показатели численной плотности и площади клеточных инфильтратов характерны для папиллярной карциномы. В иммуногистохимическом профиле клеточного инфильтрата преобладали CD3+CD4+ лимфоциты как в неизменной щитовидной железе, так и при карциноме и узловом зобе. Вместе с тем, при папиллярной карциноме отмечено уменьшение экспрессии цитотоксических CD8+ и увеличение экспрессии CD20+ лимфоцитов.

Ключевые слова: интратиреоидный инфильтрат, иммуногистохимический фенотип, папиллярная карцинома, узловый коллоидный зоб

Summary

The aim of the study was to study the qualitative and quantitative composition of cell infiltrate in papillary cancer and nodular colloid goiter in childhood (from 7 to 17 years). Material and methods. Cellular infiltrates were discovered in the thyroid glands at autopsy study (n=39) at 12.8% of deaths from non-thyroid pathology. In the study of surgical and biopsy material revealed cell infiltrates - with papillary carcinoma (n=36) in 58.3% of patients with nodular colloid goiter (n=98) - in 23.9% of children and adolescents. Morphological analysis and immunohistochemical phenotype test results cellular infiltrates with the use of a panel of CD3, CD4, CD8, CD20, CD68. Results and discussion. The quantitative assessment found that the maximum values of numerical density and area of cell infiltrates are characteristic of papillary carcinoma. In the immunohistochemical profile of the cell infiltrate CD3+CD4+ lymphocytes prevailed both in the unchanged thyroid gland and in carcinoma and nodular goiter. At the same time, papillary carcinoma showed a decrease in the expression of cytotoxic CD8+ and an increase in the expression of CD20+ lymphocytes.

Key words: intrathyroid infiltrate, immunohistochemical phenotype, papillary carcinoma, nodular colloid goiter

Введение

В последние десятилетия отмечается высокая частота распространенности аутоиммунных заболеваний щитовидной железы [1-3]. Основным морфологическим признаком аутоиммунных процессов считается появление в щитовидной железе инфильтратов из лимфоид-

ных и плазматических клеток [1,3,4]. При аутопсийном исследовании щитовидных желез умерших от нетиреоидной патологии у 25-56% лиц также обнаруживаются лимфоплазматические инфильтраты [3,5]. Отмечается, что нарастание частоты подобных изменений происходит у женщин после 50 лет [3]. Согласно данным других

авторов [1], усиление аутоиммунных реакций связано с пубертатным периодом и сопровождается более частым развитием тиреоидных заболеваний. При этом подчеркивается, что практически все формы тиреоидной патологии могут сопровождаться аутоиммунными реакциями, что обусловлено нарушением иммунологической толерантности организма к этому органу. M. Biczysko et al. [5] также указывают на возможность аутоиммунизации при узловом зобе и необходимость нового подхода к интерпретации патогенеза заболеваний щитовидной железы, ранее не относящихся аутоиммунной патологии.

Особенно часто (38-48% случаев) полиморфно-клеточная инфильтрация щитовидной железы обнаруживается при папиллярной карциноме, что рассматривается как проявление местного противоопухолевого иммунитета или реактивных изменений [1,3,4,7,8]. При этом данные о фенотипическом составе инфильтрата, его связи с характеристиками опухоли (гистологической формой, характером роста опухоли, метастазированием, рецидивированием) достаточно противоречивы [4,7-10]. В то же время некоторыми авторами [10] лимфоидная инфильтрация при раке щитовидной железы расценивается как второе самостоятельное заболевание – аутоиммунный тиреоидит. По-разному трактуется очаговая и/или диффузная инфильтрация при диффузном и узловом нетоксическом и токсическом зобе: как аутоиммунный тиреоидит либо как иммунореактивные изменения в ответ на повреждение органа или лечение. Существует мнение [1,3], что необоснованная морфологическая диагностика аутоиммунного тиреоидита имеет место довольно часто, когда не принимается во внимание наличие другого характерного маркера - оксифильной трансформации тиреоидного эпителия.

Цель исследования – охарактеризовать качественный и количественный состав клеточного инфильтрата при папиллярном раке и узловом коллоидном зобе у детей и подростков.

Материалы и методы

В исследовании был проанализирован операционно-биопсийный материал пациентов центра хирургической эндокринологии 7-17 лет, прооперированных по поводу узловых образований щитовидной железы в 2000-2017 гг. Согласно нашим данным, узловые образования у детей и подростков наиболее часто были представлены узловым коллоидным зобом (n=98) и папиллярной карциномой щитовидной железы (n=36).

В качестве группы контроля изучались щитовидные железы 39 умерших в возрасте 7-17 лет в результате насильственных причин, а также от заболеваний, не связанных с тиреоидной патологией и не имевших ее в анамнезе.

Серийные гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Для иммуногистохимического исследования применяли пероксидазный метод с полимерной системой детекции и использованием первичных антител к CD3, CD4, CD8, CD20, RTU (Ventana, USA), CD68 разведение 1:1000 (Cell Marque, USA). Результаты

иммунного окрашивания оценивали в баллах: 0 – отсутствие окрашивания, 1+ -10% окрашенных клеток, 2+ -10-50% окрашенных клеток, 3+ - более 50% позитивно окрашенных клеток инфильтрата. Морфометрическое исследование численной плотности и площади клеточного инфильтрата проводилось на микрофотографиях (увеличение 400) с применением лицензионной программы анализа изображения микрообъектов «Видеотест-Морфология 5.1» («Видеотест», Россия).

Полученные данные сравнивали с помощью U-теста Манна-Уитни, рассчитывали медиану (M), интерквартильный размах (Q1-Q3). Качественные признаки в двух независимых группах анализировали с применением двустороннего теста Фишера. Результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При гистологическом исследовании у 7 (19,4%) пациентов с папиллярной карциномой и у 3 (3%) детей с узловым коллоидным зобом ($p=0,03$) в качестве коморбидного заболевания был диагностирован аутоиммунный тиреоидит. Данные наблюдения сочетания папиллярной карциномы или узлового зоба с аутоиммунным тиреоидитом исключались нами из дальнейшего анализа.

Очаговая и/или диффузная клеточная инфильтрация обнаруживалась в щитовидной железе детей всех анализируемых групп: при аутопсийном исследовании – в 5 (12,8%) случаях, при узловом коллоидном зобе – у 23 (23,9%) пациентов, при папиллярной карциноме – в 14 (58,3%) наблюдениях ($p=0,01$ по сравнению с контролем).

Интенсивность клеточной инфильтрации при узловом зобе, папиллярной карциноме и в аутопсийных случаях значительно варьировала – от одиночных элементов до массивных скоплений клеток в строме вплоть до формирования лимфоидных фолликулов с герминативными центрами. Инфильтраты локализовались чаще всего перинодулярно – в 18,3% при узловом зобе и в 27,7% случаев при папиллярной карциноме. Реже элементы инфильтрата обнаруживали в непосредственно узле – 15,3% и 78% случаев соответственно. Формирование лимфоидных фолликулов при папиллярной карциноме регистрировалось в 22,2% случаев, при узловом зобе – в 4,3%.

При морфометрическом анализе установлено, что численная плотность и площадь клеточного инфильтрата была значимо больше при папиллярной карциноме по сравнению с контролем и узловым зобом ($p=0,01$). Минимальные показатели численной плотности клеточного инфильтрата регистрировались в контрольной группе ($p=0,00$) (рисунки 1 и 2).

При иммуногистохимическом исследовании экспрессия маркеров CD3, CD4, CD8, CD20 характеризовалась мембранным окрашиванием клеток, CD68 – позитивной цитоплазматической реакцией. Большая часть клеток инфильтратов приходилась на CD3+лимфоциты, которые располагались по периферии лимфоидных фолликулов или в виде массивных скоплений либо единичных клеток в строме. Наибольший уровень экспрессии CD3+ лимфоцитов был установлен при узловом зобе

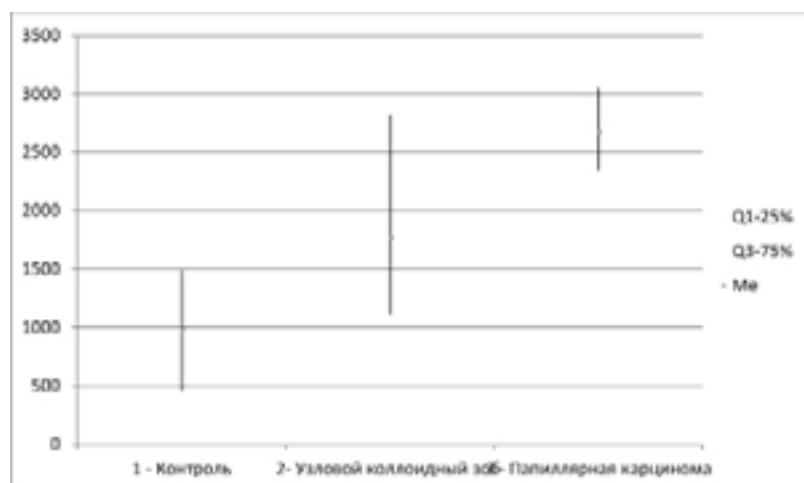


Рисунок 1- Площадь клеточного инфильтрата (мкм) при узловом коллоидном зобе, папиллярной карциноме и в контроле

Примечание: $p_{1-2}=0,056$, $p_{2-3}=0,017$, $p_{1-3}=0,000$

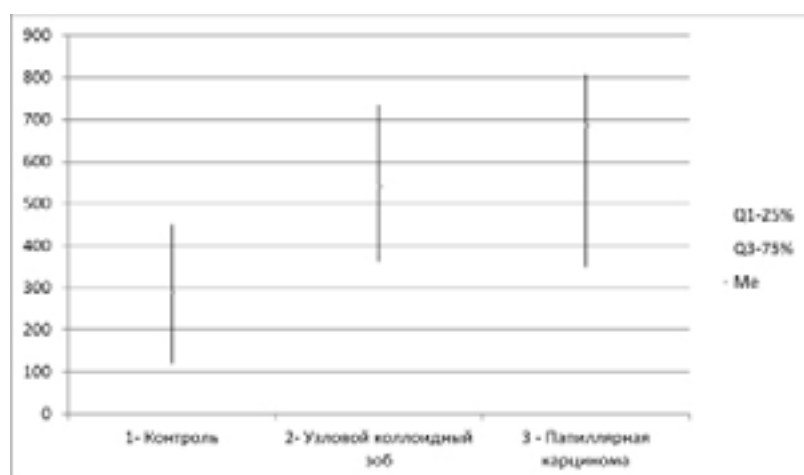


Рисунок 2 - Численная плотность клеток (абс.) инфильтрата

Примечание: $p_{1-2}=0,001$, $p_{2-3}=0,003$, $p_{1-3}=0,002$

($p=0,03$) (рисунок 3, А — рисунок 3 см. на специальной цветной вставке журнала — прим. ред.) и папиллярной карциноме ($p=0,01$) в отличие от контрольной группы. Среди субпопуляций Т-лимфоцитов преобладали CD4+ -хелперы. Экспрессия цитотоксических CD8+лимфоцитов обнаруживалась во всех группах; их уровень при папиллярной карциноме уменьшался по сравнению с узловым зобом ($p=0,02$) (рисунок 3, Б). Количество CD20+лимфоцитов было большим при папиллярной карциноме ($p=0,00$) и узловым зобом ($p=0,01$). По данным литературы [8], преобладание CD20+лимфоцитов в инфильтрате при раке щитовидной железы связывают с нарастанием гуморального противоопухолевого иммунитета. Наконец, представительство среди клеточного инфильтрата CD68+макрофагов было минимальным.

Заключение

Таким образом, папиллярная карцинома часто сочетается с аутоиммунным тиреоидитом, что также указывают другие исследователи [7,10]. Частота, численность, площадь клеточных инфильтратов, формирование лимфоидных фолликулов при папиллярной карциноме значительно больше по сравнению с узловым коллоидным зобом и неизменной щитовидной железой. Иммунофенотип клеточных инфильтратов щитовидной железы в норме и при ее патологии характеризуется преобладани-

ем CD3+CD4+ лимфоцитов, что согласуется с данными литературы [7-10]. Вместе с тем нами отмечено снижение уровня цитотоксических CD8+-лимфоцитов при папиллярной карциноме по сравнению с узловым зобом, что противоречит данным К.М. Бутолиной и соавт. [4]. Мы согласны с мнением ряда авторов [9,10] о том, что падение уровня цитотоксических CD8+-лимфоцитов при папиллярной карциноме объясняется дисфункцией Т-клеток при раке и появлением особой субпопуляции лимфоцитов CD3+CD4-CD8-, обеспечивающей толерантный иммунный ответ к опухолевым клеткам. ■

Пастернак И.А. – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры патологической анатомии и судебной медицины ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; **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 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. Раскин А.М. Аутоиммунные процессы в патологии щитовидной железы. М: Медицина; 1973.
2. Хмельницкий О.К. Цитологическая и гистологическая диагностика заболеваний щитовидной железы. Спб: СОТИС; 2002.
3. Здор В.В., Маркелова Е.В., Гельцер Б.И. Новые участники нарушения толерантности к антигенам щитовидной железы: к концепции иммунопатогенеза аутоиммунных заболеваний щитовидной железы (обзор литературы). Медицинская иммунология. 2016; 18(3): 209-220.
4. Бутолина К.М., Ляликов С.К., Басинский В.А., Штабинская Т.Г., Алексинский В.С., Маршалэк А. Иммуногистохимическая оценка характера лимфоидной инфильтрации при разных формах тиреоидной патологии. Проблемы здоровья и экологии. 2016; 4(54): 27-31.
5. Viczysko M, Stajgis P, Zeromski J. Lymphocytes in the structure of non-neoplastic goitre. *Pol J Pathol.* 2002;53(2):73-81.
6. Бронников В.И., Голдырева Т.П., Терещенко И.В. Влияние антропогенных загрязнений на структуру щитовидной железы у жителей Перми. *Архив патологии.* 2005; 64(6):18-21.
7. Yukuo C., Tsang-PaiLiu, Yang Po-Sheng, Cheng Shih-Ping. Characteristics of lymphocyte-infiltrating papillary thyroid cancer. 2017; 4:95-99.
8. Zeng R., Lyu Y., Zhang G., Shou T., Wang K., Niu H., Yan H. Positive effect of ROR γ t on the prognosis of thyroid papillary carcinoma patients combined with Hashimoto's thyroiditis. *Am J Transl Res.* 2018; 10(10): 3011–3024.
9. Weber F. Lymphocytes and thyroid cancer more to it than meets the eye? *Endocrine-Related Cancer.* 2014; 21(3): 1-5.
10. Imam S, Paparodis R, Sharma D, Jaume J C. Lymphocytic profiling in thyroid cancer provides clues for failure of tumor immunity. *Endocrine-Related Cancer.* 2014; 21(3): 505–516. (doi:10.1530/ERC-13-0436).

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

Иммуноморфологическая характеристика интратиреоидных инфильтратов при папиллярной карциноме и узловом коллоидном зобе у детей

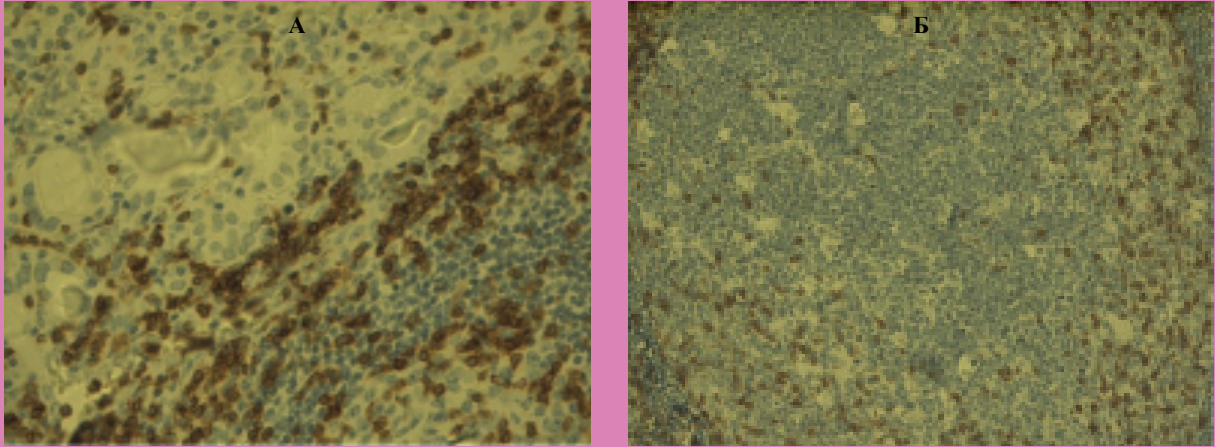


Рисунок 3. Экспрессия CD3+ в инфильтратах узлового коллоидного зоба (А) и CD8+ лимфоцитов папиллярного рака щитовидной железы (Б) Иммуногистохимический метод, А – х 400, Б – х 200.

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

Папиллярный рак щитовидной железы из высоких клеток

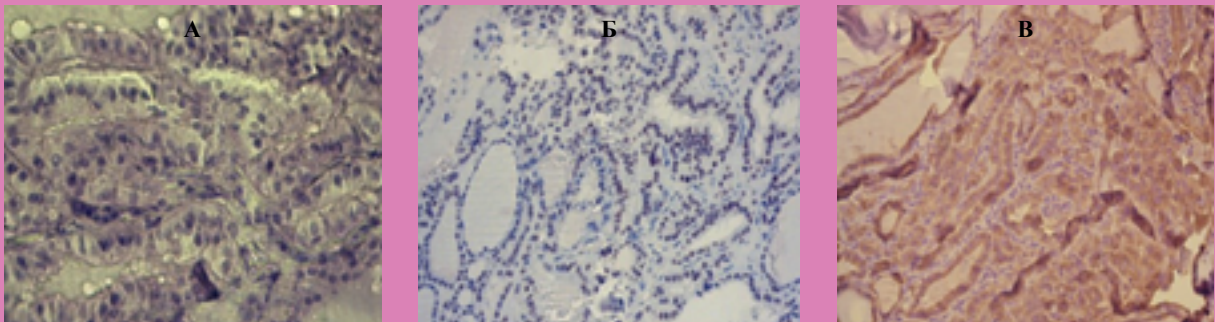


Рисунок 1. Морфологическая характеристика папиллярной карциномы из высоких клеток
а) окраска гематоксилином и эозином; б) экспрессия TTF-1; в) экспрессия EGFR-384.
Иммуногистохимический метод; а - х400, б-в-х200.

Колядина И.В., Завалишина Л.Э., Андреева Ю.Ю., Савёлов Н.А., Тузова Е.А.

Прогностическая значимость генетического статуса TOP2A в HER2-положительном раке молочной железы при неoadьювантной химиотерапии

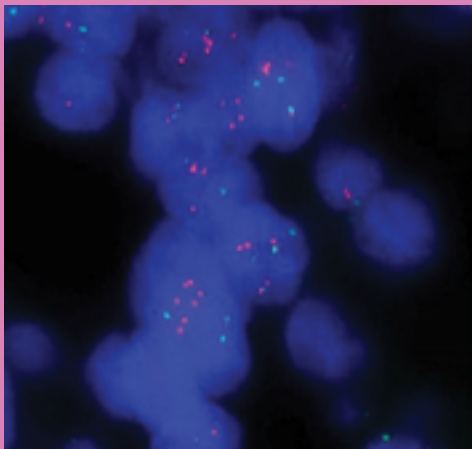


Рисунок 1. Амплификация TOP2A в клетках рака молочной железы.

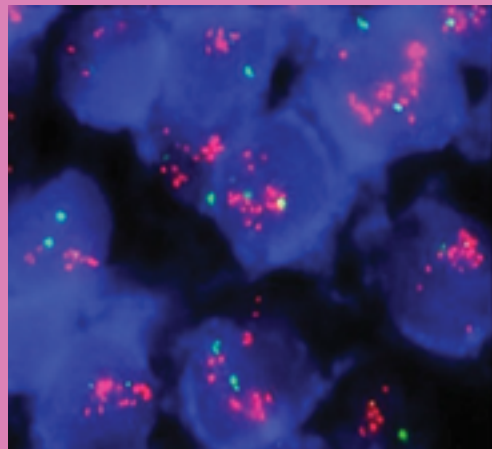


Рисунок 2. Кластерная амплификация HER2 в клетках рака молочной железы.