

Оригинальные работы

УЗЛОВОЙ КОЛЛОИДНЫЙ ЗОБ: КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ТИРЕОИДНОЙ АВТОНОМИИ И ПРОГРЕССИРОВАНИЯ РОСТА

С.С. Антонова, П.В. Юшков, Е.А. Трошина, Ф.М. Абдулхабилова, Е.К. Егорычева, И.А. Абесадзе

ГУ Эндокринологический научный центр РАМН (директор – академик РАН и РАМН И.И. Дедов)

Цель. Разработать клинико-морфологические показатели становления функциональной автономии (ФА) и прогрессирующего роста узлового коллоидного зоба (УКЗ). **Методы.** Для сопоставления клинических и морфологических показателей темпов роста и формирования ФА в УКЗ была организована группа пациентов с узловым эутиреоидным зобом (УЭЗ) (40 человек) и узловым токсическим зобом (УТЗ) (40 человек). Всем больным проводили обследование, включающее осмотр, пальпацию щитовидной железы (ЩЖ), УЗИ, определение ТТГ и св. Т4, скintiграфию, тонкоигольную аспирационную биопсию, иммуноцитохимические исследования. В работе был использован метод непрямой иммунопероксидазной реакции с моноклональными антителами крысы/мыши к Ki-67, TSH, galectin-3, апо-тест (“Dako Corporation”, “Novocastra Laboratories Ltd.”). **Результаты.** 1. В УЭЗ экспрессия маркера клеточной пролиферации Ki-67 достоверно возрастает пропорционально увеличению степени пролиферации, а в УТЗ – прогрессированию ФА ЩЖ. 2. Степень выраженности апоптоза в УЭЗ уменьшается пропорционально увеличению степени пролиферации тиреоцитов в узле, а в УТЗ – пропорционально нарастанию ФА ЩЖ. 3. В 100% случаев в ткани УЭЗ отмечалось достоверно положительное окрашивание с рецептором ТТГ, тогда как в группе УТЗ в 81% случаев экспрессия рецептора ТТГ была отрицательной. 4. Экспрессия галектина-3 выражена в очагах с тяжелой дисплазией ткани узлов ЩЖ, что сопоставимо с выявлением галектина-3 в ткани высокодифференцированных карцином. **Выводы.** 1. Выраженная и умеренно выраженная экспрессия Ki-67 и низкая или отрицательная иммуноморфологическая экспрессия по апо-тесту позволяет отнести такие узлы к быстрорастущим. 2. Достоверно отрицательная экспрессия рецептора ТТГ в образцах ткани УКЗ свидетельствует о развитии в нем ФА, что является показанием к терапии радиоактивным йодом или оперативному вмешательству. 3. Галектин-3, вероятно, является ранним маркером высокого риска малигнизации в ткани ЩЖ. 4. Проведенное комплексное исследование пациентов с УКЗ с использованием клинических, лабораторно-инструментальных, морфологических и иммуноморфологических методов позволяет оптимизировать диагностику узловых форм заболеваний ЩЖ, разработать клинико-морфологические критерии быстрого роста и становления ФА ЩЖ, определить способы их лечения и прогностические тенденции с учетом основных патогенетических и морфофункциональных характеристик.

Nodal colloid goiter: clinical and morphological criteria of thyroid autonomy and progressive growth

S.S. Antonova, P.V. Yushkov, E.A. Troshina, F.M. Abdulkhabirova, E.A. Egorich, I.A. Abesadze

Endocrinological Research Center of Russian Academy of Sciences

Goal. To work up clinical and morphological criteria of thyroid autonomy and progressive growth in nodal colloid goiter (NCG). **Methods.** A group of patients with nodal euthyroid goiter (NEG) (40 patients) and a group of patients with nodular toxic goiter (NTG) (40 patients) were formed to compare clinical and morphological criteria of NCG growth to/with development of functional autonomy (FA). All patients were conducted research including physical examination, thyroid palpation, ultrasound, blood level of TSH and T4, scintiography, aspiration (needle) biopsy, immunocytological and immunohistological reactions and statistics. In the study the method of indirect immunoperoxidase reaction with monoclonal rat/mouse antigens to Ki-67, TSH, galectin-3, Apo-test (“Dako Corporation”, “Novocastra Laboratories Ltd.”) was used. **Results.** 1. In NEG expression of cell proliferation marker Ki-67 for certain rises pro rata to increase of proliferation degree, and in NTG grows according to FA development. 2. Apoptosis expression in NEG decreases according to degree of thyrocytes in a nodule, but in NTG falls pro rata to accumulation of thyroid FA. 3. Positive reaction for TSH in NEG tissue was found in 100%, whereas negative reaction for this receptor in NTG tissue was observed in 81% of all cases. 4. Galectin-3 was expressed in focuses of severe dysplasia of thyroid nodes tissue comparable to galectin-3 expression in the tissue of high-grade differentiated adenocarcinomas. **Summary/conclusion.** 1. Severe and moderate expression of Ki-67 and mild or negative immunomorphological reaction for Apo-test allows to refer such kinds of nodules to fast-growing/rapid-growing ones. 2. Reliable negative expression TSH receptor in the tissue of NCG is evidence of FA development and is an indication for a treatment of radioactive iodine or for an operation. 3. Galectin-3 probably is an early marker of malignant transformation in thyroid tissue. 4. Having conducted complex research of NCG patients using clinical, laboratory, morphological and immunomorphological methods allows to optimize the diagnostics of thyroid nodular diseases, to work out clinical and morphological criteria of progressive growth and FA, to determine ways of their treatment and prognostic tendencies taking into account pathological and morphofunctional features of NCG.

Вопросы диагностики, дифференциальной диагностики, прогноза и клинко-морфологических критериев тиреоидной автономии и прогрессирования роста в узловом коллоидном зобе (УКЗ) представляют собой актуальную проблему современной клинической эндокринологии и хирургии. Это связано как с постоянным совершенствованием методов диагностики узловых образований щитовидной железы (ЩЖ), так и с возрастанием количества пациентов с данной патологией и отсутствием четких клинко-морфологических критериев становления тиреоидной автономии и прогрессирования роста УКЗ.

Узловой коллоидный зоб — это неопухоловое заболевание, характеризующееся образованием в ЩЖ инкапсулированных очагов гипертрофии и/или гиперплазии фолликулов. В настоящее время среди узловых образований ЩЖ УКЗ обнаруживают в 60–75% случаев [1]. Основными методами обследования пациентов с УКЗ являются осмотр, исследование уровней тиреоидных гормонов и ультразвуковое исследование (УЗИ) щитовидной железы [4]. Однако тактика ведения пациентов с УКЗ базируется главным образом на результатах тонкоигольной аспирационной биопсии (ТАБ) с последующим цитологическим исследованием пунктата [5].

В настоящее время наиболее обсуждаемым вопросом является выработка показаний для консервативного и оперативного лечения УКЗ. Поэтому важно распознавание любого прогрессивного увеличения узлов, их роста и формирования в них функциональной автономии (ФА). В последнее время с целью совершенствования методов диагностики используются иммуноморфологические методы исследования ЩЖ [3]. Оценка темпов роста узловых образований определяется соотношением пролиферативной активности клеток и их запрограммированной гибели — апоптозом. Поэтому применение иммуноморфологических маркеров пролиферативной активности (антигена клеточной пролиферации Ki-67) и апоптоза (апо-тест) может позволить оценить темпы роста УКЗ, а иммуноморфологические реакции с антителами к рецептору ТТГ — определить выраженность ФА ЩЖ. Целью настоящей работы было разработать клинко-морфологические и молекулярно-биологические критерии становления ФА и прогрессирующего роста УКЗ.

Материалы и методы

В исследование были включены 80 пациентов с диагнозом узловой (многоузловой) коллоидный зоб (установлен при ТАБ), которые впоследствии были прооперированы в ЭНЦ РАМН в период с 2002 по 2004 гг.

I группа. Пациенты с узловым коллоидным зобом (УКЭЗ) — 40 человек в возрасте

от 31 до 75 лет ($52 \pm 11,8$ года). По результатам гистологического исследования, в зависимости от степени пролиферации тиреоцитов, все пациенты были разделены на 3 подгруппы: больные с узловым коллоидным частично пролиферирующим зобом (28%), с узловым коллоидным, разной степени пролиферирующим зобом (42%) и пациенты с узловым коллоидным активнопролиферирующим зобом (30%) с явлениями аденоматоза.

II группа (группа сравнения). Пациенты с узловым коллоидным зобом с признаками ФА (УКЗ с ФА), также 40 человек в возрасте от 18 до 71 года ($48,95 \pm 13,3$ года). После обследования все пациенты этой группы были разделены на 3 подгруппы по степени компенсации ФА, определяющейся результатами гормонального обследования и при скинтиграфии ЩЖ: больные с ФА в стадии компенсации (52,5%), с ФА в стадии субкомпенсации (27,5%) и с ФА в стадии декомпенсации (20%). Все они были обследованы амбулаторно и при необходимости стационарно в отделении профилактики и лечения йододефицитных заболеваний (завотделением — д. м. н. Е.А. Трошина) и в хирургическом отделении (завотделением — д. м. н. Н.С. Кузнецов) ЭНЦ РАМН.

Во всех случаях проводилось обследование, включавшее осмотр, пальпацию ЩЖ, УЗИ ЩЖ и регионарных лимфоузлов (в отделении функциональной диагностики ЭНЦ РАМН), с использованием ультразвукового сканера Hewlett Packard Image Point NX с датчиком 7,5–10 Мгц, с полем зрения 3,5, определение базального уровня ТТГ и св. Т4 (методом усиленной люминесценции с использованием автоматического анализатора “Vitros” (лаборатория биохимической эндокринологии и гормонального анализа ЭНЦ РАМН (заведующий — д. м. н., профессор Н.П. Гончаров), скинтиграфию (отделение лучевой диагностики ММА им. И.М. Сеченова, завотделением — к. м. н. С.П. Паша) в двухдетекторной гамма-камере Millenium MG), ТАБ узловых образований ЩЖ осуществляли сотрудники хирургического отделения ЭНЦ РАМН. Верификация цитологического и гистологического диагнозов и иммуноморфологические методы исследования проводились в отделении патоморфологии ЭНЦ РАМН (заведующий — д. м. н., профессор П.В. Юшков).

Для оценки экспрессии маркеров пролиферации (иммуноморфологического исследования экспрессии антигена клеточной пролиферации Ki-67), апоптоза (распространенности апоптозных телец по апо-тесту) и функциональной автономии (рецепторов к ТТГ) использовали пунктаты ЩЖ 11 больных и 80 образцов ткани ЩЖ исследуемых пациентов, оперированных в хирургическом отделении ЭНЦ РАМН по поводу УКЗ за период с 2002 по 2004 гг.

Иммуноцито- и иммуногистохимическое окрашивание проводилось методом непрямой иммунопероксидазной реакции (ПАП-метод) с моноклональными антителами крысы/мыши к антигену Ki-67, рецептору ТТГ апо-тест (фирма “Dako Corporation”, “Novocastra Laboratories Ltd”). Пропорция окрашенных клеток определялась на основе их подсчета в 10 полях зрения при увеличении объектива $\times 40$ и обозначалась как 0 — нет ни одной окрашенной клетки, 1 — от 1 до 30% окрашенных клеток, 2 — от 31 до 60 % окрашенных клеток, 3 — от 61 до 100 % окрашенных клеток. Окрашивание считали недостоверным, если количество окрашенных клеток соответствовало оценке 0–1 балл, и достоверно положительным, если диапазон был 2–3 балла.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica фирмы StatSoft Inc. (США). Данные представлены в виде $M \pm \delta$ (среднее \pm стандартное отклонение). Для сравнения выборок с нормальным распределением использовали t-критерий Стьюдента или дисперсионный анализ с распределением, отличающимся от нормального, — критерий Манна–Уитни (U). Для корреляционного анализа рассчитывали коэффициент корреляции Спирмена (r). При $r < 0,25$ корреляция расценивалась как слабая, при 0,25–0,75 — умеренная, более 0,75 — сильная [2]. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05.

Результаты и их обсуждение

По данным гормонального обследования пациентов с УКЭЗ средний уровень ТТГ составил $1,4 \pm 0,85$ мЕд/л, а средний уровень св. Т4 — $13,43 \pm 4,65$ пмоль/л. При этом все пациенты находились в состоянии эутиреоза. Средний уровень ТТГ в группе пациентов с УКЗ с ФА составил $0,46 \pm 0,62$ мЕд/л, а св. Т4 — $19,5 \pm 11,07$ пмоль/л, что свидетельствует о тенденции к повышенной функции щитовидной железы в данной группе больных. В группах пациентов с ФА в стадиях субкомпенсации и декомпенсации отмечали значимо более низкий уровень ТТГ ($0,075 \pm 0,078$ и $0,055 \pm 0,034$ мЕд/л соответственно) по сравнению с группой УКЭЗ ($t = 5,1$; $p < 0,001$ и $t = 4,4$; $p < 0,001$ соответственно), а средний уровень св. Т4 в группе УКЗ с ФА в стадии декомпенсации был достоверно выше, чем в группе УКЭЗ, и составил $32,3 \pm 14,8$ пмоль/л ($t = 6,7$; $p < 0,001$).

При сравнительной характеристике размера узлов ЩЖ по УЗИ, в зависимости от цитологических изменений в ЩЖ при преобладании паренхиматозного компонента в зобе и с увеличением степени пролиферации в группе пациентов с УКЗ, увеличи-

вается и средний суммарный объем узлов ЩЖ по данным УЗИ ($r = 1,0$; $p < 0,001$).

На скintiграфии у всех больных с УКЭЗ отмечалось неравномерное накопление РФП с зонами пониженного захвата изотопа — “холодные узлы”, то есть узловые образования в группе пациентов с УКЭЗ являлись функционально неактивными, что подтвердилось данными скintiграфии. В группе сравнения пациентов с УКЗ с ФА у всех больных отмечался повышенный захват РФП, причем преобладали пациенты с узловой формой ФА ЩЖ (72,5%). Диффузно-неравномерное распределение РФП наблюдалось лишь в 5% случаев. А диффузно-узловая форма ФА занимала промежуточное положение (12,5%).

Верификация цитологического диагноза УКЗ обычно не составляет затруднений. Однако по мере прогрессирования УКЗ в цитологических мазках появляются признаки повышенной функциональной активности тиреоцитов (большое количество крупных пролиферирующих тиреоцитов, “голые” ядра, розовые капли секрета в апикальной части фолликулярных клеток или внеклеточно, жидкий вакуолизированный коллоид). Вышеуказанные морфологические признаки, судя по всему, характеризуют развитие ФА в узле.

При иммуногистохимическом исследовании в УКЭЗ положительное окрашивание с маркером клеточной пролиферации Ki-67 существенно возрастает пропорционально увеличению степени пролиферации ($r = 0,75$; $p = 0,003$) (рисунок 1), а степень выраженности апоптоза уменьшается пропорционально увеличению степени пролиферации тиреоцитов в узле ($R = 0,27$; $p = 0,037$) (рисунок 2). В УКЗ с ФА выраженная экспрессия Ki-67 возрастает пропорционально стадии ФА ($r = 0,607$; $p < 0,001$). Самой высокой степенью апоптоза обладает УКЗ с ФА в стадии компенсации (47,6%). В образцах ткани больных с УКЗ с ФА в стадии суб- и декомпенсации апоптоз не выражен ($r = 0,27$; $p = 0,02$). Таким образом, Ki-67 и апо-тест могут быть расценены как индикаторы пролиферативной активности ткани и быстрого роста паренхиматозного компонента узла.

Выраженность экспрессии рецептора ТТГ в ткани УКЗ ослабевает с увеличением степени пролиферации тиреоцитов в узле ($R = 0,5$; $p = 0,005$). Интенсивная и умеренно интенсивная экспрессия рецептора ТТГ в ткани узлов УКЗ, возможно, является признаком ее чувствительности к воздействию ТТГ, другими словами, такие узлы, вероятно, не обладают ФА и находятся под контролем ТТГ гипофиза (рисунок 3). Это подтверждает отсутствие экспрессии рецептора ТТГ в образцах ткани УКЗ с ФА в стадии суб- и декомпенсации ($U = 2,06$; $p = 0,039$ и $U = 1,8$; $p = 0,071$ соответственно).

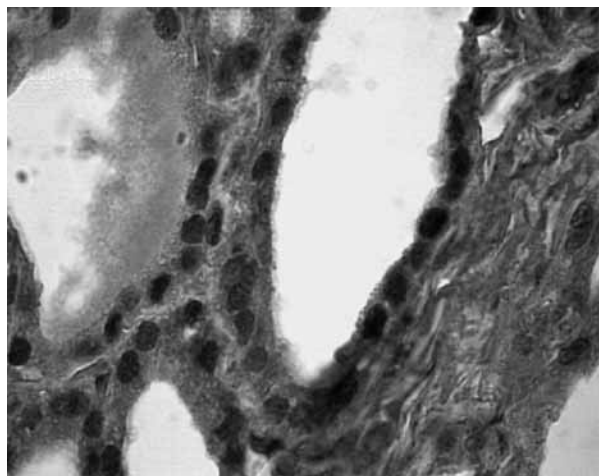


Рис. 1. Микрофото. $\times 700$. Выраженная экспрессия Ki-67 в ядрах тиреоцитов узлового коллоидного активнопролиферирующего зоба с явлениями аденоматоза. ПАП-метод.

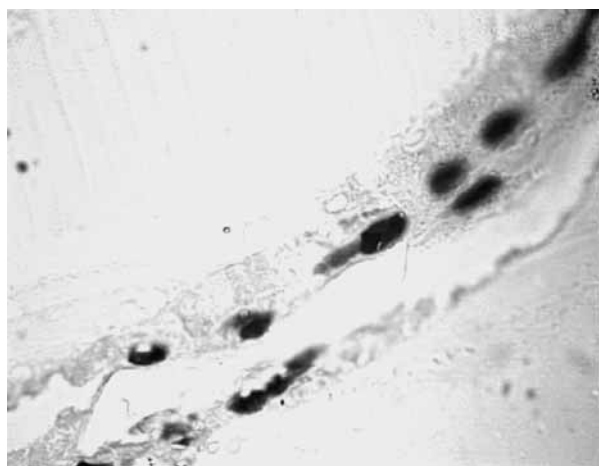


Рис. 2. Микрофото. $\times 700$. Апоптоз (апо-тест) в ткани узлового коллоидного, частично пролиферирующего зоба. ПАП-метод.

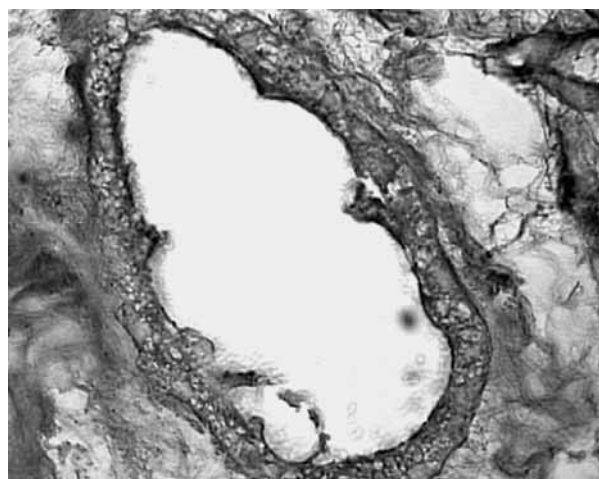


Рис. 3. Микрофото. $\times 250$. Экспрессия рецептора ТТГ на мембранах тиреоцитов в ткани УКЗ.

Следует отметить, что вышеуказанные данные на гистологическом уровне совпадают с полученными результатами на цитологическом уровне, то есть дооперационном этапе. При проведении иммуноцитохимической реакции с Ki-67, рецептором ТТГ и А(а)по-теста в УКЭЗ и УКЗ с ФА намечаются такие же тенденции, как и на гистологическом материале.

Выводы

1. В УКЗ экспрессия маркера клеточной пролиферации Ki-67 возрастает пропорционально увеличению степени пролиферации, а также характеризует процесс декомпенсации ФА ЩЖ. Степень выраженности апоптоза в УКЭЗ уменьшается пропорционально увеличению степени пролиферации тиреоцитов в узле, а в УКЗ с ФА – возрастанию стадии ФА соответственно.

2. Интенсивная и умеренно интенсивная экспрессия рецептора ТТГ в ткани УКЗ является признаком ее чувствительности к воздействию ТТГ. Отсутствие экспрессии рецептора ТТГ в образцах ткани УКЗ свидетельствует о возможном развитии ФА в таких узлах.

3. Клинико-морфологическими критериями прогрессирования роста паренхиматозного компонента УКЗ являются: увеличение узлового образования ЩЖ (по данным УЗИ), цитологические признаки узлового коллоидного активно-пролиферирующего аденоматозного зоба, выраженная экспрессия Ki-67 и низкий апоптоз при иммуноморфологическом исследовании.

4. Клинико-морфологическими критериями формирования ФА в УКЗ являются возникновение и прогрессирование клинико-лабораторного тиреотоксикоза, “горячие” узлы при сцинтиграфии, признаки активной пролиферации в узле и наличие очагов резорбции коллоида в пункционном материале, интенсивная экспрессия Ki-67, низкая распространенность апоптоза, отрицательное иммуноморфологическое окрашивание с антителами к рецептору ТТГ.

Список литературы

1. Дедов И.И., Трошина Е.А., Александрова Г.Ф. Диагностика, лечение и профилактика узловых форм заболеваний щитовидной железы. М., 1999.
2. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. М.: Медиа Сфера, 2002.
3. Угрюмов М.В. Современные методы иммуноцитохимии и гистохимии // Итоги науки и техники: Серия “Морфология”. М.: ВИНТИ, 1991. Т. 15.
4. Фадеев В.В. Эутиреоидный зоб: патогенез, диагностика, лечение // Клиническая тиреология. 2003. № 1. С. 3–13.
5. Ross DS. Thyroid biopsy. In: Thyroid biopsy. In: Rose BD (Ed.) Wellesley. 2002. V. 10.