

Д. І. Кебало¹, Н. П. Мірошникова¹, К. Н. Юрченко¹, С. М. Пащенко², О. Д. Званцева³, Л. М. Фудашкіна³

Використання галектину-3 в діагностиці вузлових форм захворювань щитоподібної залози

¹КРДЦ «КОМПЕЦЬ»,

²ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України»,

³Запорізький обласний клінічний онкологічний диспансер

Ключові слова: щитоподібної залози новоутворення, імуногістохімія, галектин-3.

З метою вдосконалення діагностики вузлових форм захворювань щитоподібної залози виконали дослідження використання галектину-3. У 230 хворих взяли зразки методом аспіраційної пункційної біопсії вузлів щитоподібної залози. Здійснили дослідження експресії онкомаркера галектину-3 в зразках, що отримали, імуноцитохімічним методом. Встановили, що при імуноцитохімічному методі обстеження в матеріалах злоякісних пухлин щитоподібної залози у 90–95% випадків спостерігалась яскрава реакція на галектин-3 при фолікулярному та папілярному раку щитоподібної залози. При доброякісних пухлинах ця реакція була слабкою або відсутньою. Це свідчить про доцільність запровадження цього імуноцитохімічного методу для виявлення злоякісного утворення в щитоподібній залозі або при диференційній діагностиці між злоякісними й доброякісними пухлинами щитоподібної залози.

Использование галектина-3 в диагностике узловых форм заболеваний щитовидной железы

Д. И. Кебало, Н. П. Мирошникова, К. Н. Юрченко, С. Н. Пащенко, Е. Д. Званцева, Л. М. Фудашкина

С целью усовершенствования диагностики узловых форм заболеваний щитовидной железы проведено исследование использования галектина-3. У 230 больных взяты образцы методом аспирационной пункционной биопсии узлов щитовидной железы. Проведено исследование экспрессии онкомаркера галектина-3 в полученных образцах иммуноцитохимическим методом. Установлено, что при иммуноцитохимическом методе исследования в материалах злокачественных опухолей щитовидной железы в 90–95% случаев наблюдалась ярко выраженная реакция на галектин-3 при фолликулярном и папиллярном раке щитовидной железы. При доброкачественных опухолях эта реакция была слабой или отсутствовала. Это свидетельствует о целесообразности применения данного иммуноцитохимического метода для выявления злокачественного образования в щитовидной железе или при дифференциальной диагностике злокачественных и доброкачественных опухолей щитовидной железы.

Ключевые слова: щитовидной железы новообразования, иммуногистохимия, галектин-3.

Запорожский медицинский журнал. – 2015. – №6 (93). – С. 33–37

Diagnostic usefulness of Galectin-3 in thyroid gland nodular lesions

D. I. Kebalo, N. P. Miroshnykova, K. N. Yurchenko, S. M. Pashchenko, O. D. Zvantseva, L. M. Fudashkina

Aim. The objective of this study was to evaluate the diagnostic usefulness of Galectin-3 marker in the diagnosis of thyroid nodules.

Methods and results. results of immunocytochemical method for the expression of a tumor marker of galectin-3 in samples taken with the suction puncture biopsy of the thyroid gland in 230 patients were studied. It was established that immunocytochemical method of survey in material malignation of thyroid tumors in 90–95% of cases observed bright reaction to galectin-3 in foliculy and papillary thyroid cancer. In benign tumors this reaction was weak or was absent.

Conclusion. This gives rise to the application of this method to identify malignant tumors of the thyroid gland or in the differential diagnostics of malignant and benign tumors of the thyroid gland.

Key words: Thyroid Neoplasms, Galectin-3, Immunohistochemistry.

Zaporozhye medical journal 2015; №6 (93): 33–37

Згідно з даними Національного канцер-реєстру показники захворюваності від злоякісних новоутворень (ЗН) в Україні з 1999 по 2013 рік зросли від 321,4 до 384,9 випадка на 100 тисяч населення, тобто на 16,5%.

Рак ЩЗ становить від 1 до 4% усіх злоякісних пухлин і має тенденцію до збільшення. Захворюваність раком ЩЗ зросла у 2013 році в порівнянні з 2012 на 14,1%. Діагностика раку ЩЗ є одним з актуальних питань сучасної тиреоїдології. При УЗД вузлові утворення ЩЗ виявляють у 13–67% дорослих, а виявлення раку серед них становить 5–10%. Приблизно в одному з 10–15 випадків фолікулярна неоплазія буває злоякісним новоутворенням [15]. Тонкогольна аспіраційна біопсія (ТАБ) під ультразвуковим контролем із цитологічним дослідженням препарату є основним методом передопераційної діагностики захворювань ЩЗ. Однак діагностика фолікулярних пухлин ЩЗ викликає певні складнощі, що пов'язані з відсутністю точних цитологічних критеріїв для

диференційної діагностики доброякісних і злоякісних захворювань ЩЗ. Частка таких невизначених аспіратів може сягати 30% [7]. За іншими даними, у пацієнтів із цитологічними ознаками фолікулярної неоплазії, яких направили на оперативне лікування, при гістологічному дослідженні не більше ніж 8–17% вузлів виявляються злоякісними [8]. Цитологічна діагностика фолікулярних пухлин ЩЗ на доопераційному етапі також викликає особливі складнощі, що пов'язано з відсутністю точних цитологічних ознак злоякісного переродження клітин. Експерти ВООЗ розробляють нові підходи щодо діагностики раку ЩЗ, у котрих рекомендується використовувати морфологічний метод разом із застосуванням біомолекулярних маркерів пухлини, що дає змогу визначити злоякісний потенціал пухлини та вибір терапії. Особливо важливою є імуноцитохімічна діагностика на її доопераційному етапі [1,2,4].

Отже, пошук нових методів доопераційної діагностики

дає надію на вирішення питання покращення діагностики раку ЩЗ і зменшення кількості невиправданих операцій.

Один з онкомаркерів, що активно вивчається, дає можливість диференціювати доброякісні та злоякісні пухлини ЩЗ, це – галектин-3, глікопротеїн із сімейства лектинів, котрий є маркером розвитку неопластичного процесу. Галектин експресується багатьма епітеліальними та імунними клітинами. Він бере участь у пухлинній прогресії: клітинній адгезії, процесах проліферації, диференціювання та апоптозу клітин, стимулює ангиогенез, залучений у процеси злоякісної трансформації та метастазування, а також має імуносупресивну дію. Галектини локалізуються в цитоплазмі та ядрі, на поверхні клітин і в міжклітинному просторі. Багато досліджень свідчать, що галектин-3 є корисним маркером для діагностики карцином щитоподібної залози [3,5,6].

За даними різних авторів, експресія галектину-3 при імуноцитохімічних дослідженнях у тканинах ЩЗ із різними патологіями спостерігалась у 92–100% випадків при папілярному раку ЩЗ, в 45–90% – при фолікулярному, в 3–45% – при аденомах і в 28–57% – при багатовузловому зобі ЩЗ [2,8,9,10,13]. Порівняння результатів імуногістохімічного та імуноцитохімічного досліджень після оперативних втручань дає змогу стверджувати, що експресія галектину-3 може успішно визначатися в цитологічному матеріалі. Він є надійним маркером передопераційної діагностики фолікулярних карцином, підвищує діагностичну цінність звичайної аспіраційної тонкогільної біопсії [8,12,14,15].

Мета роботи

Вивчити можливості використання галектину-3 в діагностиці вузлових форм захворювань щитоподібної залози.

Матеріали і методи дослідження

Обстежили 230 хворих, які звернулись із вузловими вадами ЩЗ протягом 2010–2015 років.

До стандарту обстеження входили: вивчення анамнезу, клінічне обстеження, ультразвукові обстеження, тонкогільні аспіраційні біопсії (ТАБ) вузлів ЩЗ, цитологічне та імуноцитохімічне дослідження, вивчення гормонального стану людини. Усім хворим із вузловими вадами щитоподібної залози зробили ТАБ. При цитологічному підтвердженні раку ЩЗ хворих направляли на хірургічне лікування. Пацієнти з доброякісними пухлинами ЩЗ і дифузними колоїдними зобами спостерігались у лікарів-ендокринологів.

Цитологічну діагностику вузлових вад ЩЗ доповнили імуноцитохімічним методом діагностики з первинними моноклональними антитілами до галектину-3 (клон 9C4, Novocastra, Велика Британія). Реакцію візуалізації виконували за допомогою високочутливої системи візуалізації EnVision (ДакоCytomation, Данія). Ідентифікацію реакції здійснювали за допомогою хромогена DAB.

Усі числові результати досліджень опрацьовували методами варіаційної статистики. Порівняння кількісних результатів здійснювали по Фішеру-Стьюденту. Вірогідними вважали результати при $p < 0,05$. Для оцінювання ступеня взаємозв'язку між парами незалежних ознак використовували коефіцієнт вибіркової кореляції. Статистично матеріал опрацьовували за стандартною методикою у програмі Microsoft Excel.

Результати та їх обговорення

Оцінили результати клінічних, цитологічних та імуноцитохімічних досліджень із застосуванням моноклональних антитіл до галектину-3.

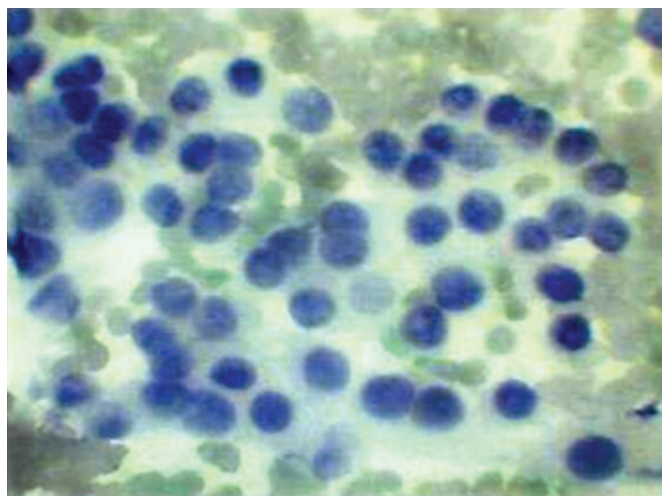


Рис. 1. Реакція на галектин відсутня.

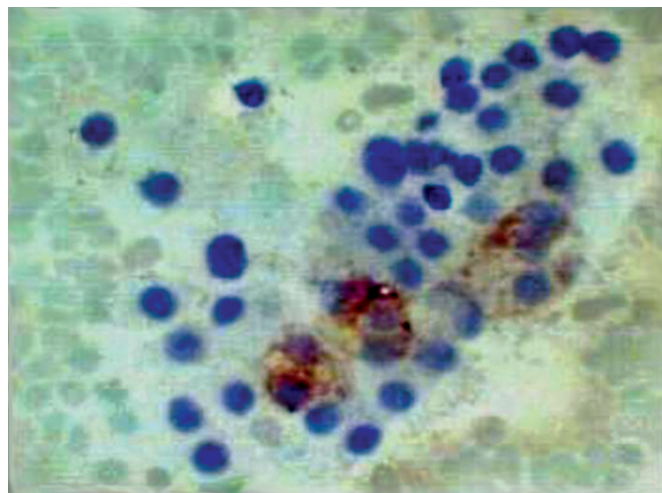


Рис. 2. Дифузна реакція на галектин.

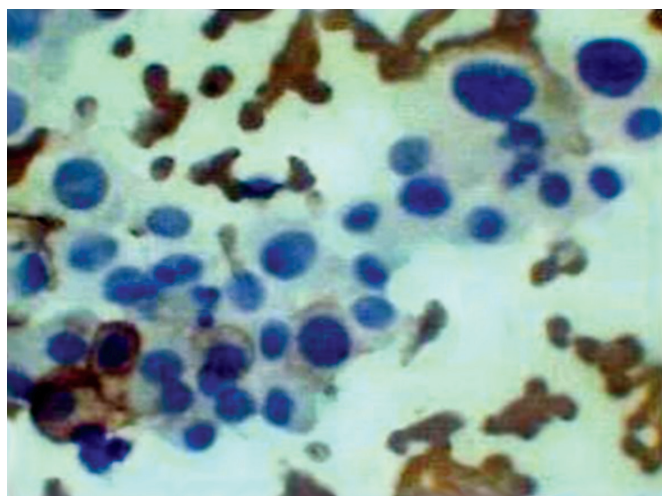


Рис. 3. Локальна реакція на галектин.

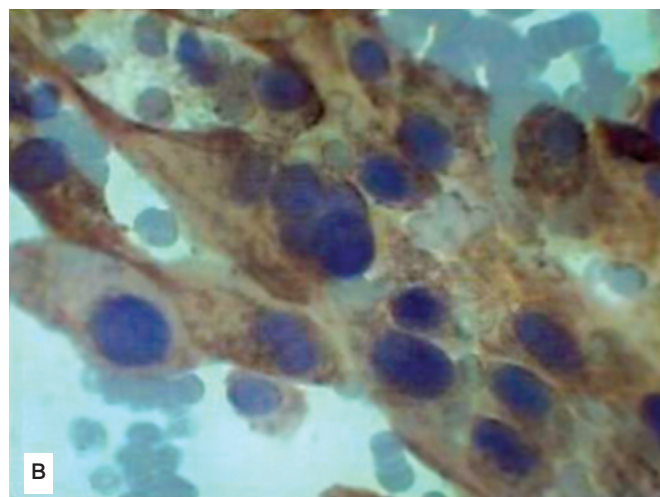
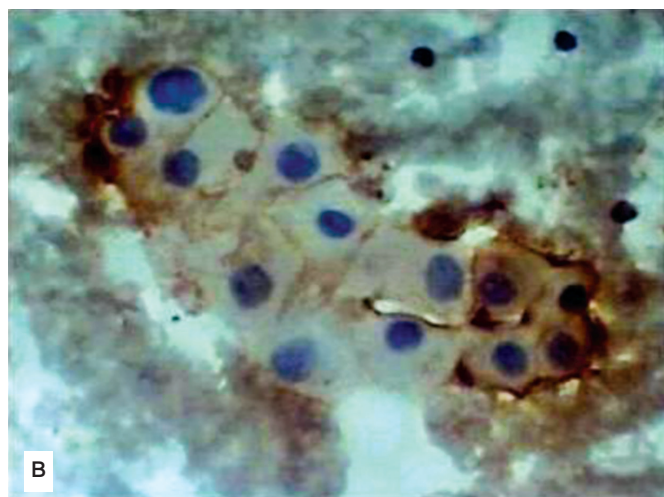
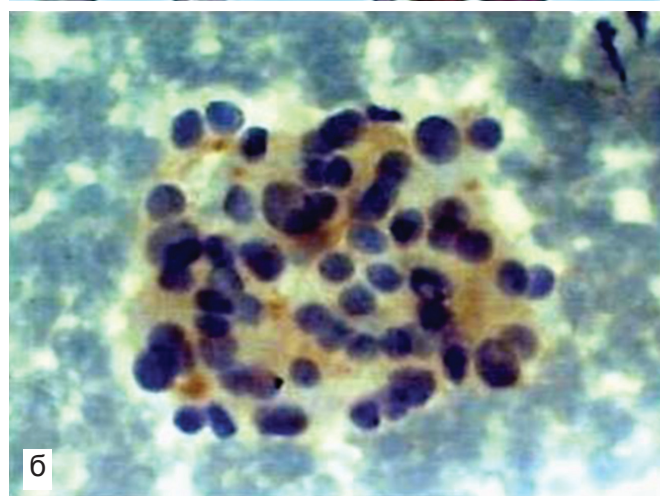
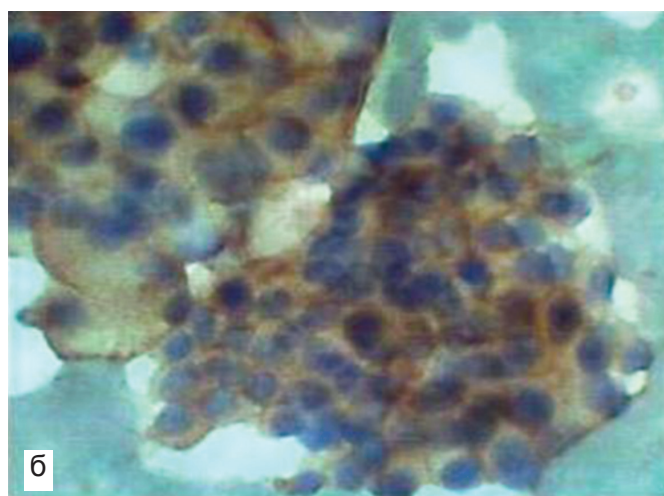
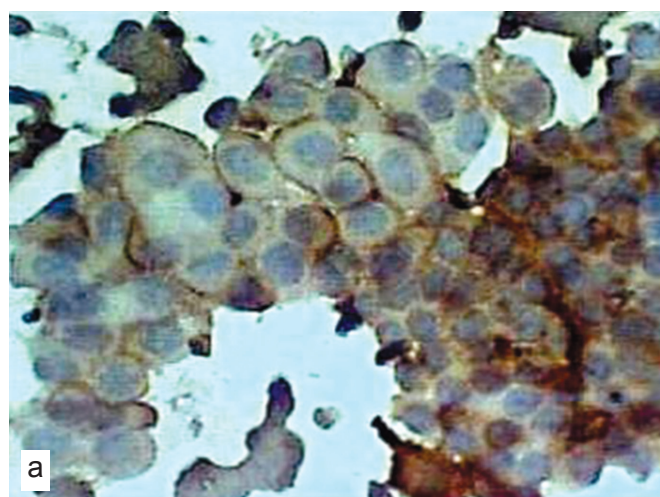
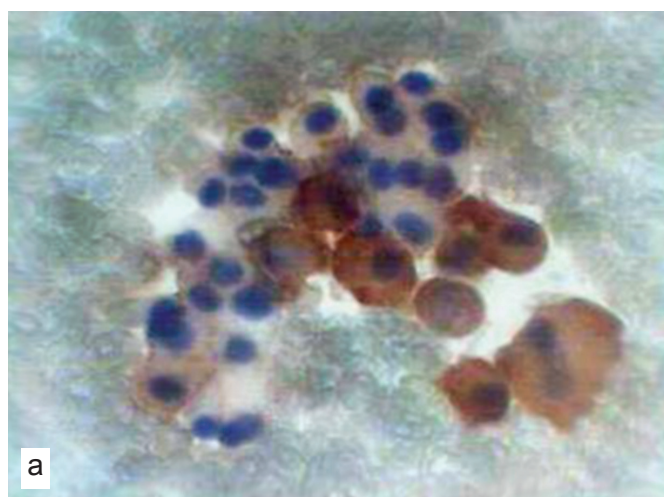
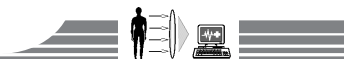


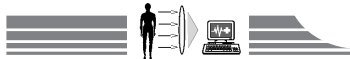
Рис. 4 (а, б, в). Помірно виражена реакція на галектин-3.

Рис. 5 (а, б, в). Яскраво виражена реакція на галектин-3.

З 230 пацієнтів, яких обстежили, доброякісні вузлові форми захворювань ЩЗ цитологічно діагностували у 198 випадках. Вузловий колоїдний та аденоматозний зоб діагностували у 165 осіб, аденому – в 6, тиреоїдит – у 27 пацієнтів. У них антитіла до галектину-3 виявили у 80 випадках, що становить 41% й узгоджується з даними, згідно з якими експресію галектину-3 виявляли у 28–55% випадків вузлових зобів [1]. У 59% випадків реакція була негативною

(рис. 1). В інших випадках реакція була слабо вираженою дифузною або локальною (рис. 2, 3).

Рак ЩЗ гістологічно встановили у 32 осіб. Папілярний рак виявили у 20, з них у 4 при цитологічному дослідженні ознак злоякісності не виявили; у 19 (95%) була вираженою реакція на галектин-3, в 1 реакція – відсутня, що узгоджується зі згаданими вище науковими літературними даними



(92–100%). Фоликулярну аденокарциному виявили в 9 осіб, із них у 8 рак виявили цитологічно, та у 8 (89%) реакція на галектин-3 була помірно (рис. 4 а, б, в) або яскраво вираженою в цитоплазмі (рис. 5 а, б, в), зрідка – в ядрі, в 1 – реакція негативна (за даними фахової літератури 45–90%). З 3 осіб із медулярною аденокарциною цитологічний діагноз раку встановили 2, у всіх реакція на галектин-3 була негативною (рис. 1)

Експресію галектину-3 при імуноцитохімічних дослідженнях спостерігали здебільшого в цитоплазмі злویкісних пухлинних клітин, у поодиноких випадках спостерігали ядерне фарбування. У всіх хворих з аденоматозом, проліферативними процесами, поліморфізмом та атипією клітин реакція була слабкою або відсутньою.

У 27 хворих після ТАБ поставлений лікарями-цитологами діагноз «рак» підтверджений патоморфологічним дослідженням після оперативного втручання.

Зі 198 хворих із доброякісними пухлинами ЩЗ у 80 було слабке фарбування клітин на галектин-3, а у 118 – відсутність експресії (чутливість – 88,9%, специфічність – 97%).

Висновки

Отже, диференційна діагностика фоликулярних пухлин ЩЗ залишається однією з актуальних проблем сучасної ендокринології та онкології.

1. Ключовим методом діагностики на цитологічному етапі є здійснення імуноцитохімічних досліджень маркера злویкісного росту у тканині ЩЗ-галектину-3.

2. Визначення експресії галектину-3 має важливе значення в передопераційній діагностиці новоутворень ЩЗ із метою диференційної діагностики доброякісних і злویкісних пухлин, фоликулярного й папілярного раку.

3. Визначення експресії галектину-3 дає можливість виділити групи пацієнтів, до котрих можуть бути застосовані органозберігаючі методи лікування.

4. Однак галектин-3 не може застосовуватися як єдиний маркер, необхідно додатково застосовувати в комплексі й інші онкомаркери, такі як мезотеліальний антиген НВМЕ-1, цитокератин 19, тиреоїдний транскрипційний фактор ТТФ-1, кальцитонін.

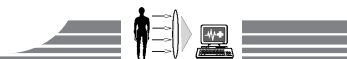
Список літератури

1. Абросимов А.Ю. Иммуноморфологические исследования в оценке потенциала злокачественности опухолей щитовидной железы / А.Ю. Абросимов, Н.Ю. Двинских // Вопросы онкологии. – 2009. – №6. – С. 684–691.
2. Атлас цитологической и иммуноцитохимической диагностики опухолей / Н.Н. Волченко, М.В. Савостикова. – М., 2010.
3. Бондаренко О.О. Використання онкомаркерів в морфологічній діагностиці епітеліальних пухлин щитовидної залози / О.О. Бондаренко, Ш.С. Шпонька, П.А. Гриценко // Морфология. – 2009. – Т. 3. – №2. – С. 12–16.
4. Иммуноцитохимическое исследование в цитологической диагностике папиллярного рака и доброкачественных образований щитовидной железы / Н.Н. Волченко, И.В. Решетов, Е.Н. Славнова и др. // Российский онкологический журнал. – 2008. – №6. – С. 17–21.
5. Рак щитовидной железы и методы его иммуногистохимической диагностики / В.Я. Гервальд, В.В. Климачев, А.М. Авдалян и др. // Фундаментальные исследования. – 2014. – №10. – С. 1911–1917.
6. Определение экспрессии галектина-3 в ткани фолликулярных опухолей щитовидной железы / Е.А. Коган, Н.А. Петунина, Т.В. Чернышова, Д.В. Лукьянченко // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. – 2011. – Т. 7. – №2. – С. 45–49.
7. Комбинированный анализ выявления мутации гена BRAF и экспрессии галектина-3 в дооперационной диагностике рака щитовидной железы / Д.Ю. Семенов, М.И. Зарайский, Л.Е. Колоскова и др. // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. – 2011. – Т. 7. – №2. – С. 49–56.
8. Роль молекулярных маркеров в дифференциальной диагностике фолликулярных опухолей щитовидной железы / Е.А. Трошина, Н.В. Мазурина, И.А. Абесадзе и др. // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. – 2006. – Т. 2. – №2. – С. 22–26.
9. Хазієв В.В. Експресія галектина-3 у фоликулярних пухлинах щитоподібної залози / В.В. Хазієв, Н.І. Гойденко // Харківська хірургічна школа. – 2013. – №4. – С. 124–127.
10. Чернухина Д.Ю. Роль галектина-3, НВМЕ и цитокератина-19 в иммуногистохимической диагностике папиллярного рака щитовидной железы / Д.Ю. Чернухина, А.С. Прилуцкий // Международный эндокринологический журнал. – 2012. – №5(45). – С. 121–125.

11. Galectin-3 - expression analysis in the surgical selection of follicular thyroid nodules with indeterminate fine-needle aspiration cytology: a prospective multicentre study / A. Bartolazzi, F. Orlandi, E. Saggiorato, et al. // Lancet Oncol. – 2008. – №9. – P. 543–549.
12. Belfiore A. Fine-needle aspiration biopsy of the thyroid / A. Belfiore, G.L. La Rosa // Endocrinol Metab Clin North Am. – 2001. – Vol. 30. – P. 361–400.
13. Galectin-3 messenger ribonucleic acid and protein are expressed in benign thyroid tumors / L. Martins, S.E. Matsuo et al. // J Clin. Endocrinol. Metab. – 2002. – Vol. 87. – Vol. 10. – 4806–4810.
14. Galectin-3 : presurgical marker of thyroid follicular epithelial cell-derived carcinomas / E. Saggiorato, S. Aversa et al. // J. Endocrinol. Invest. – 2004. – Vol. 27. – №24. – P. 311–317.
15. Differential expression of galectin-1 and galectin-3 in thyroid tumors. Potential diagnostic implications / X.C. Xu, F.R. el-Naggar, R. Lotan et al. // Am. J. Patol. – 1995. – Vol. 147. – P. 815–822.

References

1. Abrosimov, A. Yu., & Dvinskikh, N. Yu. (2009). Immunomorfologicheskie issledovaniya v ocenke potentsiala zlokachestvennosti opukholej shchitovidnoj zhelezy [Immunomorphological studies of malignancy potential of thyroid cancer]. *Voprosy onkologii*, 6, 684–691. [in Russian].
2. Volchenko, N. N., & Savostikova, M. V. (2010). Atlas citologicheskoy i immunocitokhimicheskoy diagnostiki opukholej [Atlas cytological and immunocytochemical diagnosis of tumors]. Moscow. [in Russian].
3. Bondarenko, O. O., Shponka, Sh. S., & Hrytsenko, P. A. (2009). Vykorystannya onkomarkeriv v morfolohichnii diahnostytsii epitelialnykh pukhlyn shchytovidnoi zalozy [Using of oncomarkers in morphological diagnostics of epithelial tumors of thyroid gland]. *Morfolohiia*, 3(2), 12–16. [in Ukrainian].
4. Volchenko, N. N., Reshetov, I. V., Stavnova, Ye. N., Borisova, O. V., & Golubtsov, A. K. (2008). Immunocitokhimicheskoe issledovanie v citologicheskoy diagnostike papillyarnogo raka i dobrokachestvennykh obrazovaniy shchitovidnoj zhelezy [Immunocytochemical study of papilliferous carcinoma and benign neoplasms of the thyroid]. *Rossiiskij onkologicheskij zhurnal*, 6, 17–21. [in Russian].
5. Gerval'd, V. J., Klimachev, V. V., Avdaljan, A. M., Ivanov, A. A., Bobrov, I. P., Lepilov, A. V., et al. (2014). Rak shchitovidnoj zhelezy i metody ego immunogistokhimicheskoy diagnostiki [The thyroid cancer and its immunohistochemical diagnosis]. *Fundamental'nye issledovaniya*, 10, 1911–1917. [in Russian].



6. Kogan, E. A., Petunina, N. A., Chernyshova, T. V., & Lukiyanenko, D. V. (2011). Opredelenie e'kspressii galektina-3 v tkani follikulyarnykh opukholej shchitovidnoj zhelezy [Determination of galectin-3 expression in the tissue of follicular thyroid tumors]. *Klinicheskaya i e'ksperimental'naya tireoidologiya*, 7(2), 45–49. [in Russian].
7. Semenov, D. Yu., Saraisky, M. I., Koloskova, L. E., Boriskova, M. E., Saburova, I. Yu., Pankova, P. A., et al. (2011). Kombinirovannyj analiz vyavleniya mutacii gena BRAF i e'kspressii galektina-3 v dooperacionnoj diagnostike raka shchitovidnoj zhelezy [Combined analysis of BRAF-gene mutation and galectin-3 expression in preoperative diagnostics of thyroid cancer]. *Klinicheskaya i e'ksperimental'naya tireoidologiya*, 7(2), 49–56. [in Russian].
8. Troshina, E., Masurina, N., Abesadse, I., Yushkov, P., & Garbusov, P. (2006). Rol' molekulyarnykh markerov v differencial'noj diagnostike follikulyarnykh opukholej shchitovidnoj zhelezy [Molecular Markers in Differential Diagnostics of Follicular Neoplasms of the Thyroid]. *Klinicheskaya i e'ksperimental'naya tireoidologiya*, 2(2), 22–26. [in Russian].
9. Khaziiev, V. V., & Hoidenko, N. I. (2013). Ekspresiiia halektyna-3 u folikuliarnykh pukhlynakh shchytopydibnoi zalozy [Galectin-3 expression in follicular thyroid tumors]. *Kharkivska khirurhichna shkola*, 4, 124–127. [in Ukrainian].
10. Chernukhina, D. Yu., & Prilutsky, A. S. (2012). Rol' galektina-3, HBME i citokeratina-19 v immunogistokhimicheskoy diagnostike papillyarnogo raka shchitovidnoj zhelezy [Role of Galectin-3, HBME-1 and Cytokeratin 19 in Immunohistochemical Diagnosis of Papillary Thyroid Cancer]. *Mezhdunarodnyj e'ndokrinologicheskij zhurnal*, 5(45), 121–125. [in Ukrainian].
11. Bartolazzi, A., Orlandi, F., Saggiorato, E., Volante, M., Arecco, F., Rossetto, R., et al. (2008). Galectin-3-expression analysis in the surgical selection of follicular thyroid nodules with indeterminate fine-needle aspiration cytology: a prospective multicentre study. *The Lancet Oncology*, 9(6), 543–549. doi: 10.1016/S1470-2045(08)70132-3.
12. Belfiore, A., & La Rosa, G. (2001). Fine-needle aspiration biopsy of the thyroid. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 30(2), 361–400.
13. Martins, L., Matsuo, S., Ebina, K., Kulcsar, M., Friguglietti, C., & Kimura, E. (2002). Galectin-3 messenger ribonucleic acid and protein are expressed in benign thyroid tumors. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 87(10), 4806–4810. doi: 10.1210/jc.2002-020094.
14. Saggiorato, E., Aversa, S., Deandrei, D., Arecco, F., Mussa, A., Puligheddu, B., et al. (2004). Galectin-3: Presurgical marker of thyroid follicular epithelial cell-derived carcinomas. *Journal of Endocrinological Investigation*, 27(4), 311–317. doi: 10.1007/BF03351054.
15. Xu, X., Sola Gallego, J., Lotan, R., & El-Naggar, A. (1995). Differential expression of galectin-1 and galectin-3 in thyroid tumors. Potential diagnostic implications. *Am. J. Patol.*, 147, 815–822.

Відомості про авторів:

Кебало Д. І., лікар, КРДЦ «КОМРЕЦЬ», E-mail: komrec@mail.ru.

Мірошникова Н. П., лікар-лаборант, КРДЦ «КОМРЕЦЬ».

Юрченко К. Н., лікар-цитолог, КРДЦ «КОМРЕЦЬ».

Пашенко С. М., д. мед. н., професор каф. онкології, ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України».

Званцева О. Д., лікар-онкогінеколог, Запорізький обласний клінічний онкологічний диспансер.

Фудашкіна Л. М., заст. гол. лікаря, Запорізький обласний клінічний онкологічний диспансер.

Сведения об авторах:

Кебало Д. И., врач, КРДЦ «КОМРЕЦЬ», E-mail: komrec@mail.ru.

Мирошникова Н. П., врач-лаборант, КРДЦ «КОМРЕЦЬ».

Юрченко К. Н., врач-цитолог, КРДЦ «КОМРЕЦЬ».

Пашенко С. Н., д. мед. н., профессор каф. онкологии, ГУ «Запорожская медицинская академия последипломного образования МЗ Украины».

Званцева Е. Д., врач-онкогинеколог, Запорожский областной клинический онкологический диспансер.

Фудашкина Л. М., зам. гл. врача, Запорожский областной клинический онкологический диспансер.

Information about the authors:

Kevalo D. I., Physician, CRDC COMREC, E-mail: komrec@mail.ru.

Miroshnykova N. P., Physician, CRDC COMREC.

Yurchenko K. N., Cytologist, CRDC COMREC.

Pashchenko S. M., MD, PhD., DSci., Professor, Department of Oncology, State Institution Zaporizhzhia Medical Academy of Post-graduate Education of MoH of Ukraine.

Zvantseva O. D., Oncogynecologist, Zaporizhzhia Regional Clinical Oncology Hospital.

Fudashkina L. M., Deputy Chief Physician, Zaporizhzhia Regional Clinical Oncology Hospital.

Поступила в редакцию 14.12.2015 г.