

ОСОБЛИВОСТІ ЕКСПРЕСІЇ КОЛАГЕНІВ У ВУЗЛОВИХ НОВОУТВОРЕННЯХ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

Хазієв В. В.

*ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України», м. Харків
admin@iper.com.ua*

Вузловий нетоксичний або еутиреоїдний зоб (ВЗ) — збірне клінічне поняття, яке поєднує в собі всі осередкові новоутворення щитоподібної залози (ЩЗ), що виявляються загальноклінічними і спеціальними методами дослідження, мають різні морфологічні характеристики і перебігають на фоні нормальної тиреоїдної функції [1–3].

За прогнозами фахівців, передбачуване зростання числа захворювань ЩЗ значною мірою відбуватиметься за рахунок вузлових форм зоба та рака щитоподібної залози (РЩЗ) [4–6]. Основною причиною зростання захворюваності на ВЗ та РЩЗ вважається погіршення екологічних умов і канцерогенний вплив зовнішнього опромінювання.

В сучасних радіаційних екологічних умовах України, як промислово розвинуеного регіону центральної Європи і, особливо, після катастрофи на Чорнобильській АЕС, проблема зростання онкологічної патології ЩЗ постає дуже гостро. За популяційними даними різних дослідників, частота ВЗ становить від 25 до 62 %, а вірогідність присутності РЩЗ у вузловому утворенні ЩЗ варіює від 0,45 до 13 %. Необхідно прийняти до уваги і той факт, що в Україні тільки з 2000 по 2009 рік частота РЩЗ зросла на 86,1 % і складає 65,9 на 100 000 населення [7–9].

Відсоток вчасно недиагностованих випадків РЩЗ залишається високим, що пов'язується із труднощами діагностики

його на ранніх стадіях та низьким рівнем диференціювання гістологічної структури пухлин на догоспітальному етапі. Питання диференціальної діагностики вузлових новоутворень ЩЗ залишається важливою проблемою сучасної ендокринології, актуальність якої обумовлена як збільшенням числа пацієнтів, так і відсутністю єдиних підходів до діагностики.

Відомо, що важливим структурним компонентом пухлин є їх строма, яка виконує трофічну, модулюючу та опорну функції. Стромальні елементи пухлини представлені клітинами, екстрацелюлярним сполучнотканинним матриксом, судинами і нервовими закінченнями. Матрикс пухлин представлений двома структурними компонентами: базальними мембранами і інтерстиціальним сполучнотканинним матриксом. До складу базальних мембран входять колагени IV, VI та VII типів, глікопротеїди (ламінін, фібронектин, вітронектин), протеоглікани. Інтерстиціальний сполучнотканинний матрикс містить колагени I і III типів, фібронектин, протеоглікани і глікозаміноглікани [10–12].

Пухлинні клітини продукують ферменти (колагенази та інші), їх інгібітори і активатори, що сприяють або, навпаки, перешкоджають інфільтруючому та інвазійному росту злоякісних пухлин. Динамічна рівновага між активаторами колагеназ і їх інгібіто-

рами забезпечує стабільний стан пухлини і перешкоджає проростанню в прилеглі тканини [13–14]. У момент зростання пухлинні клітини активно синтезують колагенази, еластази та їх інгібітори. Злоякісні пухлини часто формують строму, в якій домінує тип колагену строми відповідного органу на стадії ембріонального розвитку. Так, наприклад, в стромі раку легенів переважаючим є колаген III типу, характерний для ембріональних легенів. Різні пухлини можуть відрізнятися за складом колагенів строми. У карциномах, як правило, домінують колагени III типу (рак легенів), IV типу (нірко-

во-клітинний рак і нефробластоми), в саркомах — інтерстиціальні колагени. Проте, вміст колагенів у вузлових новоутвореннях ЩЗ вивчено недостатньо, а інформація щодо застосування їх у діагностиці тиреоїдної патології відсутня.

Метою роботи, що подається, було вивчення особливостей експресії різних типів колагену при колоїдному зобі, фолікулярних аденомах та злоякісних пухлинах ЩЗ із визначенням їх діагностичної цінності як критеріїв диференціальної діагностики вузлових тиреоїдних новоутворень.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для імуногістохімічного дослідження був проаналізований операційний матеріал 124 хворих, прооперованих у хірургічному відділенні клініки ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України». Число вузлового колоїдного зоба складало 18 спостережень, з них багатовузловий зоб (БВЗ) мав місце у 9 (50%) і одновузловий зоб (ОВЗ) — у 9 (50%) спостереженнях. Фолікулярні аденоми були досліджені у 60 препаратах, з них нормофолікулярних — 14, макрофолікулярних — 16, мікрофолікулярних — 15, трабекулярних та солідних — 15. Злоякісні пухлини ЩЗ були представлені фолікулярним РЩЗ (16 препаратів), папілярним РЩЗ (19 препаратів), медулярним РЩЗ (11 препаратів).

Вивчення, фотографування мікропрепаратів, оцінка проліферативної і функціональної активності гіперпластичних і пухлинних процесів ЩЗ здійснювались за допомогою мікроскопа «Olympus-BX-41» та програми Olympus DP-Soft (Version 3:1).

Для вивчення строמוутворення в пу-

хлині і прилеглих судинах колаген типували наборами МКА до колагену I, IV типів (Novocastra Laboratories Ltd.), колаген III визначали наборами МКА до колагену III типу (IMTEK, Ltd, Росія). В якості люмінесцентних міток використовували F(ab)-2 — фрагменти кролячих антитіл проти імуноглобулінів миші. Інтенсивність світіння колагенів визначали на мікрофлюориметрі ФЕУ-35 і виражали в умовних одиницях, рівних струму, що протікає через вимірювальний прилад, виражених в мікроамперах (мка). Отримані дані наведено у таблиці.

Дані статистично оброблені із застосуванням програмного забезпечення Microsoft® Excel 2000, програм «AtteStat» (Version 8.0) і представлені у вигляді середніх величин та статистичної похибки середнього ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$). Для оцінки значущості отриманих даних використовувались критерій дисперсійного аналізу t (Ст'юдента). Розбіжності вважали статистично значущими при значенні $p < 0,005$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У складі стромального компоненту ВЗ переважав зрілий інтерстиціальний колаген I типу (рис. 1). Останній виявлявся у вигляді лінійного переривчастого інтенсивного світіння. Крім того, визначався молодий інтерстиціальний колаген III типу. У складі

строми ВЗ колаген IV типу не виявлявся, виняток становили зони, що були підозрілими на РЩЗ. У цих ділянках виявлялося дуже слабке осередкове світіння колагену IV типу, так звані «сліди». Колаген IV типу визначався у складі епітеліальних базальних

Інтенсивність світіння колагену у вузловому зобі та пухлинах щитоподібної залози (мка)

Група спостереження	Тип колагену			
	I	III	IV в стромі	IV в епітеліальних базальних мембранах
Вузловий колоїдний зоб (n = 18)	35,1 ± 2,5	26,3 ± 2,4	«Сліди» в зоні рака ЩЗ	7,3 ± 0,3
Фолікулярна аденома				
Нормофолікулярна (n = 14)	23,4 ± 4,1*	31,3 ± 1,7*	«Сліди» в зоні папілярного рака ЩЗ	8,1 ± 0,4*
Макрофолікулярна (n = 16)	24,5 ± 3,4*	37,2 ± 1,9*	—	8,7 ± 0,4*
Мікрофолікулярна (n = 15)	22,4 ± 3,1*	33,3 ± 1,8*	—	9,1 ± 0,9*
Трабекулярна та солідна (n = 15)	26,1 ± 2,5*	30,4 ± 2,0*	«Сліди»	8,6 ± 0,6*
Рак щитоподібної залози				
Фолікулярний (n = 16)	4,1 ± 1,2**	14,2 ± 2,1**	6,3 ± 0,7	3,1 ± 0,2**
Папілярний (n = 19)	3,3 ± 1,8**	15,1 ± 2,5**	7,7 ± 0,9	4,0 ± 0,3**
Медулярний (n = 11)	5,4 ± 1,3**	12,4 ± 1,1**	8,4 ± 0,8	3,6 ± 0,5**

П р и м і т к а. * — $p < 0,05$ у порівнянні з вузловим колоїдним зобом; ** — $p < 0,05$ у порівнянні з трабекулярною і солідною аденомою.

мембран. У міжфолікулярній сполучній тканині розташовувалися помірно повнокровні кровоносні судини.

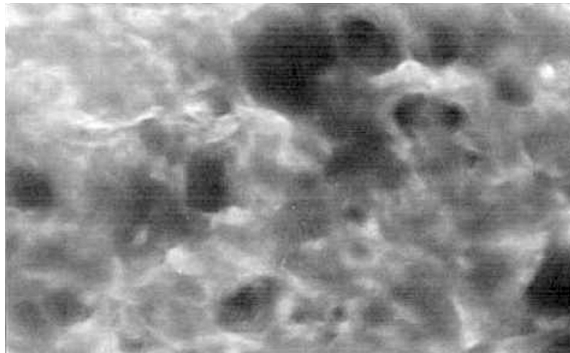


Рис. 1. Зрілий інтерстиціальний колаген в стромі вузлового зоба. Непрямий метод Кунса з МКА до колагену I типу, $\times 400$.

У складі стромального компоненту нормофолікулярних аденом переважав молодий інтерстиціальний колаген III типу (рис. 2), який виявлявся у вигляді лінійного переривчастого інтенсивного світіння. Крім того визначався зрілий інтерстиціальний колаген I типу. У складі стромі нормофолікулярних аденом колаген IV типу не

визначався, за винятком зон папілярного РЩЗ. У цих ділянках виявлялися «сліди» колагену IV типу, який також реєструвався у складі епітеліальних базальних мембран. Інтенсивність його світіння значуще перевищувала інтенсивність при ВЗ.

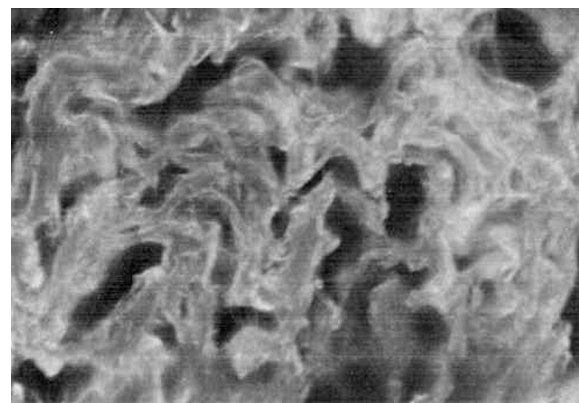


Рис. 2. Колаген III типу в стромі нормофолікулярної аденоми щитоподібної залози. Непрямий метод Кунса з МКА до колагену III типу, $\times 600$.

У стромі макрофолікулярних аденом також, як і в нормофолікулярних аденомах,

переважав молодий інтерстиціальний колаген III типу, інтенсивність світіння якого перевищувала показник у вузловому колоїдному зобі. Інтенсивність світіння зрілого інтерстиціального колагену I типу, навпаки, була значуще нижчою. У складі строми макрофолікулярних аденом колаген IV типу не виявлявся. У складі базальних епітеліальних мембран колаген IV типу виявлявся у вигляді нерівномірного світіння лінійного переривчастого характеру (рис. 3). Інтенсивність його світіння практично не відрізнялася від такої в нормофолікулярних аденомах і перевищувала цей показник в колоїдних вузлах.

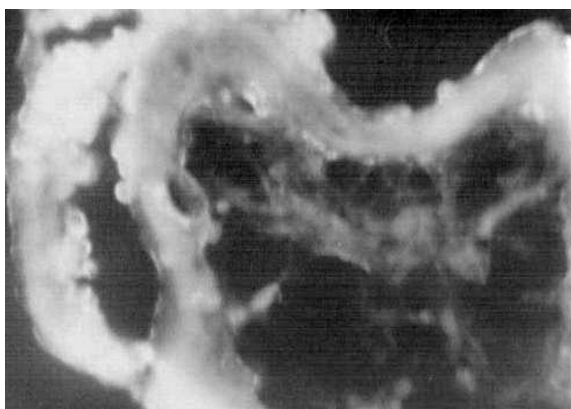


Рис. 3. Колаген IV типу у складі епітеліальних базальних мембран в макрофолікулярній аденомі щитоподібної залози. Непрямий метод Кунса з МКА до колагену IV типу, $\times 600$.

В групі мікрофолікулярних аденом імуністохімічна характеристика інтерстиціального колагену I і III типів, а також колагену базальних мембран IV типу практично не відрізнялася від такої в групі макрофолікулярних аденом.

Аденоми солідної або трабекулярної будови завжди мали чіткі межі. Даний тип аденом нерідко називають аденомами атипій, хоча правильніше було б називати їх клітинними або гіперцелюлярними. У стромі трабекулярних і солідних аденом також переважав молодий інтерстиціальний колаген III типу, інтенсивність світіння якого була вищою, ніж при ВЗ і практично не відрізнялася від такої в інших типах аденом. Інтенсивність світіння зрілого інтерстиціального колагену I типу була вірогідно нижчою. Звертала на себе увагу поява у складі строми цих аденом «слідів» колагену IV типу

(рис. 4). У складі базальних епітеліальних мембран колаген IV типу виявлявся у вигляді нерівномірного світіння лінійного переривчастого характеру. Його інтенсивність практично не відрізнялася від такої в інших типах аденом і перевищувала цей показник при вузловому колоїдному зобі.

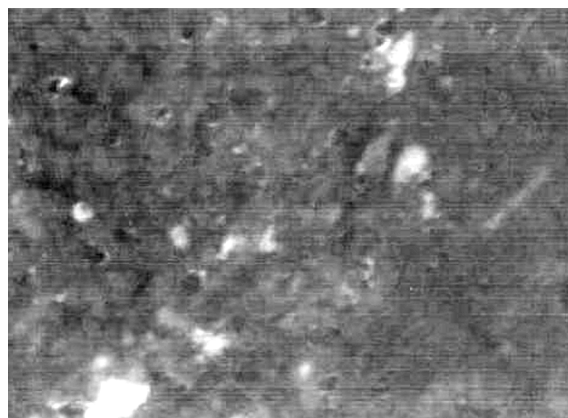


Рис. 4. Слабке світіння колагену IV типу в стромі трабекулярної аденоми щитоподібної залози. Непрямий метод Кунса з МКА до колагену IV типу, $\times 600$.

Морфологічна верифікація злоякісних новоутворень ЩЗ здійснювалась відповідно до Міжнародної гістологічної класифікації ВООЗ другого перегляду.

Морфологічно фолікулярний РЩЗ є високодиференційованою інкапсульованою пухлиною. Мікроскопічно він складався з фолікулів різної величини і форми. Так само як і у фолікулярних аденомах, виявлялася нормофолікулярна, мікрофолікулярна, а також солідна або мікрофолікулярно-солідна будова. Найчастіше у спостереженнях зустрічалися пухлини мікрофолікулярно-солідної будови.

У стромі фолікулярного РЩЗ виявлялося різке (у порівнянні з аденомами) збіднення інтерстиціальним колагеном I і III типів, а також поява невластивого для нормальної строми колагену IV типу. Увесь колаген виявлявся у вигляді осередкового світіння помірної або слабкої інтенсивності (рис. 5). У складі базальних епітеліальних мембран визначався виражений дефіцит колагену IV типу.

Серед папілярних РЩЗ мікроскопічно визначалися три основні підтипи: типовий папілярний, фолікулярний і солідний варі-

анти. Папілярний РЩЗ характеризувався вираженим інфільтративним ростом: папілярно-кістозні елементи пухлини, як правило, проростали вал сполучної тканини, що оточувала пухлину. Як і при фолікулярному РЩЗ, у складі стромального компоненту, у порівнянні з аденомами, виявлявся дефіцит інтерстиціального колагену I і IV типів, а також поява невластивого для строми колагену IV типу. Увесь колаген виявлявся у вигляді осередкового світіння помірної або слабкої інтенсивності. Вірогідним було зниження накопичення колагену IV типу у складі базальних епітеліальних мембран (рис. 6).

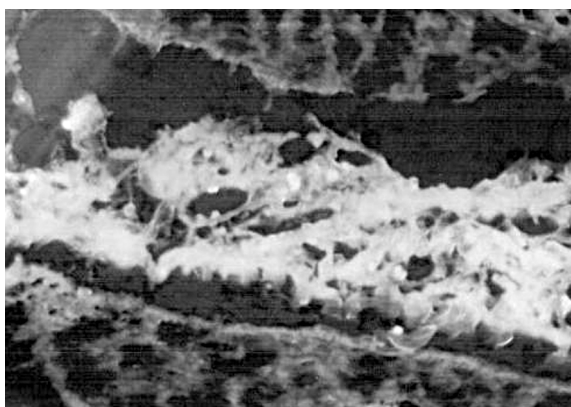


Рис. 5. Яскраве світіння колагену IV типу в стромі фолікулярного раку щитоподібної залози. Непрямий метод Кунса з МКА до колагену IV типу, $\times 600$.



Рис. 6. Слабке переривчасте світіння колагену IV типу в епітеліальних базальних мембранах папілярного раку щитоподібної залози. Непрямий метод Кунса з МКА до колагену IV типу, $\times 600$.

Медулярний РЩЗ має походження з парафолікулярних С-клітин. Мікроскопічно він складався з безладно розташованих

острівців полігональних і веретеноподібних пухлинних клітин різної величини, згрупованих в солідні структури, гнізда і тяжи.

В тканинах медулярного РЩЗ, так само як і при вищеописаних гістологічних формах РЩЗ, у складі строми виявлявся дефіцит інтерстиціального колагену I і III типів. Крім того визначалося осередкове світіння колагену IV типу (рис. 7). Базальні епітеліальні мембрани були збіднені на колаген IV типу.

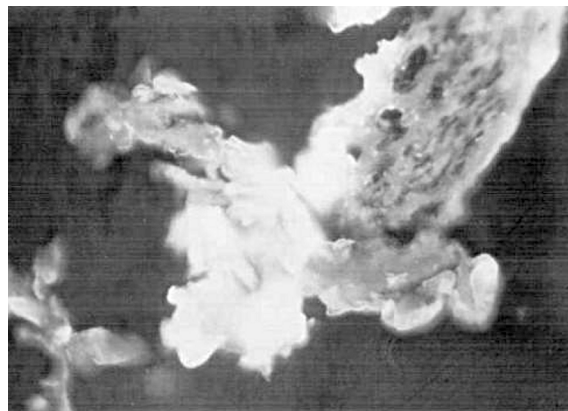


Рис. 7. Колаген IV типу в стромі медулярного раку щитоподібної залози. Непрямий метод Кунса з МКА до колагену IV типу, $\times 600$.

Відомо, що злоякісні пухлини характеризуються інвазивним ростом і здатністю до метастазування, а деградація базальної мембрани і строми є пусковим фактором початку цих процесів. У свій час пошук ферментів, здатних до розкладання базальних мембранних колагенів, призвів до ідентифікації матричної металопротеази-2, відомої як колагеназа IV типу [15, 16]. Значною мірою прогноз результату лікування хворих з вузловою патологією ЩЗ залежить від оцінки ймовірності злоякісності новоутворень, а у разі наявності РЩЗ — розвитку метастазів. Отримані нами дані узгоджуються із даними щодо експресії колагенів в пухлинах інших органів і тканин [17, 18] і свідчать про високий потенціал злоякісних пухлин ЩЗ до метастазування, що вимагає проведення розширених за обсягом операцій на ЩЗ з обов'язковою ревізією шляхів лімфодітоку. Наявність «слідів» колагену IV типу в окремих зонах строми фолікулярних аденом ЩЗ вказує на їх здатність до малігнізації та розвитку фолікулярного РЩЗ, що

свідчить про недоцільність довготривалого спостереження та медикаментозної терапії вузлової патології ЩЗ.

Таким чином, при порівняльному дослідженні вмісту колагену різних типів в тканинах доброякісних та злоякісних новоутво-

рень ЩЗ нами було виявлено унікальні значущі відмінності, що можуть використовуватися з метою диференціальної діагностики та планування адекватного радикального лікування.

ВИСНОВКИ

1. Злоякісні новоутворення щитоподібної залози характеризуються низьким вмістом інтерстиціального колагену I і III типів у стромі пухлин, появою невластивого для нормальної стромы колагену IV типу і виразного дефіциту колагену IV типу у складі базальних епітеліальних мембран.
2. «Сліди» колагену IV у стромі фолікулярних аденем свідчать про їх малігнізацію і є характерними для розвитку фолікулярного РЩЗ, що може використовуватися в якості маркера при диференціальній діагностиці вузлових новоутворень щитоподібної залози.

ЛІТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. *Endocrine Practice* 2006; 2(1):78–84.
2. Rojas MT, Gharib H. *N Engl J Med* 1985; 313:428–436.
3. Dedov II, Troshina EA, Aleksandrova GF, *Moskva*, 1999:48 p.
4. Larin AS, Cheren'ko SM. *Vestnik Khirurgii im. II. Grekova* 2008; 3:54–58.
5. Tron'ko M, Bogdanova T, Likhtarev I, et al. *Radiation Health Risk Sciences, Tokio, Berlin, Heidelberg, New-York*, 2009:305–316.
6. Gul'chij MV. *Visnyk Naukovykh Doslidzen'* 2005; 1:161–165.
7. Bogdanova TI, Zurnadzhy LYu, Tomas Dzh, et al. *Svit Medytsyny ta Biologiyi* 2008; 2:17–19.
8. Tron'ko M, Bogdanova T, Lihtar'ov I, et al. *Tezy dop. mizhnar. nauk.-prakt. konf. z pytan' sotsial'nogo zahystu gromadyan, yaki postrazhdaly vnaslidok Chornobyl's'koyi katastrofy, Kyiv*, 2008:83–84.
9. Cherenko S, Larin A, Gorobeyko M, Sichinava R. *World J Surg* 2004; 28:1071–1074.
10. Kogan EA. *Mezhkletochnye vzaimodeystviya, Moskva*, 1995:127–189.
11. Kogan EA. *Patologicheskaya anatomiya: Kurs lekt-siy, Moskva*, 1998:247–262.
12. Kogan E.A. *Patologicheskaya anatomiya: Kurs lek-tsiy, Moskva*, 1998:224–247.
13. McKinnell, et al. *Biological Basis of Cancer, USA*, 1998.
14. *Cancer Medicine, Baltimor*, 1997; 1,2.
15. Kopnin BP, available at: www.rosoncweb.ru/library/01/02.htm.
16. Dabbs DJ. *Diagnostic Immunohistochemistry, Elsevier*, 2006:828 p.
17. Raykhlin NT, Petrov SV, Chairkin IN. *Rukovodstvo po immunogistokhimicheskoy diagnostike opukholey cheloveka, Kazan'*, 2000:12–14.
18. Petrov SV, Raykhlin NT. *Rukovodstvo po immuno-gistokhimicheskoy diagnostike opukholi, Kazan'*, 2004:110–117.

ОСОБЛИВОСТІ ЕКСПРЕСІЇ КОЛАГЕНІВ У ВУЗЛОВИХ НОВОУТВОРЕННЯХ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

Хазієв В. В.

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України», м. Харків
admin@ipep.com.ua

Визначено особливості експресії різних типів колагену при колоїдному зобі, фолікулярних аденомах та злоякісних пухлинах. Виявлено, що злоякісні новоутворення щитоподібної залози характеризуються низьким вмістом інтерстиціального колагену I і III типів у стромі пухлин, появою невластивого для нормальної строми колагену IV типу і виразним дефіцитом колагену IV типу у складі базальних епітеліальних мембран. У зонах малігнізації фолікулярних аденом виявляються «сліди» колагену IV типу, що є характерним для злоякісних новоутворень щитоподібної залози і може використовуватися в якості маркера рака при диференціальній діагностиці вузлових тиреоїдних новоутворень.

К л ю ч о в і с л о в а: вузловий зоб, рак щитоподібної залози, імуногістохімічне дослідження, колагени.

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ КОЛЛАГЕНОВ В УЗЛОВЫХ НОВООБРАЗОВАНИЯХ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Хазиев В. В.

ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины»,
г. Харьков
admin@ipep.com.ua

Определены особенности экспрессии различных типов коллагена при коллоидном зобе, фолликулярных аденомах и злокачественных опухолях щитовидной железы. Выявлено, что злокачественные новообразования щитовидной железы характеризуются низким содержанием интерстициального коллагена I и III типов в строме опухолей, появлением несвойственного для нормальной строми коллагена IV типа и выраженным дефицитом коллагена IV типа в составе базальных эпителиальных мембран. В зонах малигнизации фолликулярных аденом определяются «следы» коллагена IV типа, что характерно для злокачественных новообразований щитовидной железы и может использоваться в качестве маркера при дифференциальной диагностике узловых тиреоидных новообразований.

К л ю ч е в ы е с л о в а: узловой зоб, рак щитовидной железы, иммуногистохимическое исследование, коллагены.

FEATURES OF THE COLLAGEN EXPRESSION IN NODAL NEOPLASM OF THE THYROID GLAND

V. V. Khaziev

SI «V. Danilevsky Institute of Endocrine Pathology Problems of the NAMS of Ukraine», Kharkiv
admin@ipep.com.ua

It was determined features of the collagen expression for different types of colloid goiter, follicular adenomas and malignant thyroid tumos. The data was obtained that malignant thyroid tumos were characterized by the low content of types I and III interstitial collagen in the stroma of tumor, the appearance of is unusual for normal stroma type IV collagen and the marked shortage of type IV collagen in the epithelial basement membrane. The "footprints" of type IV collagen were determined in the malignancy areas of follicular adenomas, which are typical for malignant thyroid tumos and can be used as a marker in the differential diagnosis of nodal neoplasm of the thyroid gland.

К e y w o r d s: nodular goiter, thyroid cancer, immunohistochemistry, collagens.