

Л. В. Полякова, Е. А. Калашникова, А. В. Фогель, С. А. Калашникова

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ,
кафедра морфологии

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ ЦИТОКЕРАТИНОВ 7, 8, 18 ТИРОЦИТОВ В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ

УДК616-091.88

Диагностика, лечение и ранняя профилактика заболеваний щитовидной железы являются ключевой проблемой современной эндокринологии. Нами было проведено иммуногистохимическое исследование ткани щитовидной железы в норме и патологии (при наличии узловых образований) с использованием СК7, СК8, СК18. Установлено, что в норме иммунопозитивными к СК7 являются клетки интрафолликулярного эпителия, а СК8 и СК18 позитивные клетки выявляются только при патологии, сопровождающейся пролиферативными изменениями.

Ключевые слова: иммуногистохимия, цитокератины, щитовидная железа, тироциты, узловые образования.

L. V. Polyakova, E. A. Kalashnikova, A. V. Fogel, S. A. Kalashnikova

MORPHOLOGICAL FEATURES OF CYTOKERATIN EXPRESSION TYPES 7, 8, 18 IN NORMAL TYROCYTES AND AT PATHOLOGY

Diagnosis, treatment and early prevention of thyroid disease is a key problem in modern endocrinology. We conducted an immunohistochemical study of thyroid tissue in normal and pathological conditions (in the presence of nodular formations) using CK7, CK8, CK18. It was found that intrafollicular epithelial cells are normally immunopositive to CK7, while CK8 and CK18 positive cells are detected only in pathology accompanied by proliferative changes.

Key words: immunohistochemistry, cytokeratins, thyroid gland, thyrocytes, nodular formations.

Актуальной проблемой современной эндокринологии является патология щитовидной железы (ЩЖ), связанная с нарушением клеточного состава тиреоидной паренхимы и наличием патологически измененных клеток [1]. В настоящее время методы молекулярной биологии позволяют выявить различные компоненты как ядерного, так и цитоплазматического матрикса. При изменении клеточной популяции ткани ЩЖ, преимущественно при злокачественных новообразованиях, определяются тканеспецифичные белки промежуточных филаментов, основными из которых являются цитокератины (СК). В настоящее время существует 20 различных типов СК, которые находятся в различных клетках эпителиального происхождения. Следует отметить, что метод идентификации СК включает в себя иммуногистохимическое исследование, при котором, в отличие от промежуточных филаментов, СК остаются стабильны и сохраняют свою структуру, позволяя достоверно установить степень выраженности патологического процесса [2]. Однако существует ряд эпителиальных клеток, которые в норме содержат СК, где исключением не является и эпителий ЩЖ. Так, однослойный эпителий фолликулов ЩЖ является иммунопозитивным к СК7, в то время как отсутствуют данные об экспрессии данного маркера

в экстрафолликулярном эпителии. В литературе имеются противоречивые данные о гистопографическом распределении СК8/18 и их роли в диагностике заболеваний ЩЖ. Установлено, что, кроме этого, СК8/18 определяются в секреторном эпителии, мезотелии, переходном эпителии и др. В диагностическом плане разработаны линейки цитокератиновых иммуногистохимических маркеров, где происходит сопоставление СК7, СК8 и СК18 с другими тканеспецифичными белками]. Известно, что изолированная экспрессия СК7 характерна для злокачественных новообразований ЩЖ, как и экспрессия СК8/18, характерных для секреторного эпителия [3, 4]. Основываясь на этих данных, актуальным представляется исследование распределения СК7, СК8 и СК18 в ткани ЩЖ.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Выявить закономерность распределения СК7, СК8 и СК18 эпителия ЩЖ в норме и патологии.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Для иммуногистохимического исследования нами был отобран аутопсийный материал от 30 лиц мужского пола в возрасте 45–50 лет в рамках стандартного патологоанатомического исследования. Критериями исключения были:

перенесенные в анамнезе и существующие заболевания ЩЖ, а также оперативные вмешательства на органах шеи, которые могли повлиять на кровоснабжение ЩЖ. Иммунопозитивным контролем для СК7 были взяты образцы рака легкого, для СК8/18 – рак молочной железы. Иммуногистохимическое исследование проводилось непрямым иммунопероксидазным методом с использованием антител к СК7 (clone:OV-TL 12/30, фирмы DCS ImmunoLine, Hamburg); кроличьи моноклональные антитела к СК8 (clone: SP102, фирмы Spring Bioscience, США); кроличьи моноклональные антитела к СК18 (clone:SP69, фирмы Spring Bioscience, США). В качестве раствора для промывки использовали раствор цитратного буфера с pH6. Для визуализации иммунопозитивных клеток применяли систему детекции на основе диаминобензида (DAB, фирмы Spring Bioscience, США). Протоколы окраски использовали согласно рекомендациям фирмы-производителя.

Оценку гистологических препаратов производили с помощью компьютерного комплекса LAS (Leica Application Suite) и микроскопа Leica DM1000. Статистическую обработку результатов производили с помощью программы Statistica 7.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При оценке результатов иммуногистохимического исследования учитывалась зональность ЩЖ, которая была подразделена на верхнюю, среднюю и нижнюю части каждой до-

ли. При скрининговом исследовании ткани ЩЖ при окраске гематоксилином и эозином было установлено, что в ряде случаев отмечались недиагностированные узловые образования в нижнем полюсе долей. Для проведения сравнительного анализа с оценкой степени и направленности дифференцировки эпителиоцитов было проведено иммуногистохимическое исследование. Было установлено, что в верхнем полюсе долей ЩЖ определялись тканеспецифические белки для однослойного кубического эпителия фолликулов, которые давали иммунопозитивное окрашивание к СК7 по всему полю зрения (рис. 1). Гистологически ткань сохраняла типичное нормофолликулярное строение с наличием округлых фолликулов, выстланных кубическим эпителием, что косвенно свидетельствовало об эутиреозе. Следует отметить, что клетки экстрафолликулярного эпителия являлись иммунонегативными по отношению к СК7, а также клетки стромы и эндотелия сосудов. При сопоставлении этого же образца с окрашиванием структур чувствительных к СК8/18 был выявлен незначительный процент иммунопозитивных клеток, что не имело клинической значимости (см. табл.). Количество иммунопозитивных клеток определялось по отношению ко всему полю зрения, включая тироциты экстрафолликулярного эпителия, клетки стромы и эндотелия сосудов. Было выявлено, что клетки стромы и эндотелия сосудов имели иммунонегативное окрашивание, в результате чего нами был представлен суммарный процент ткани не реагирующей с антителами к СК7, 8, 18.

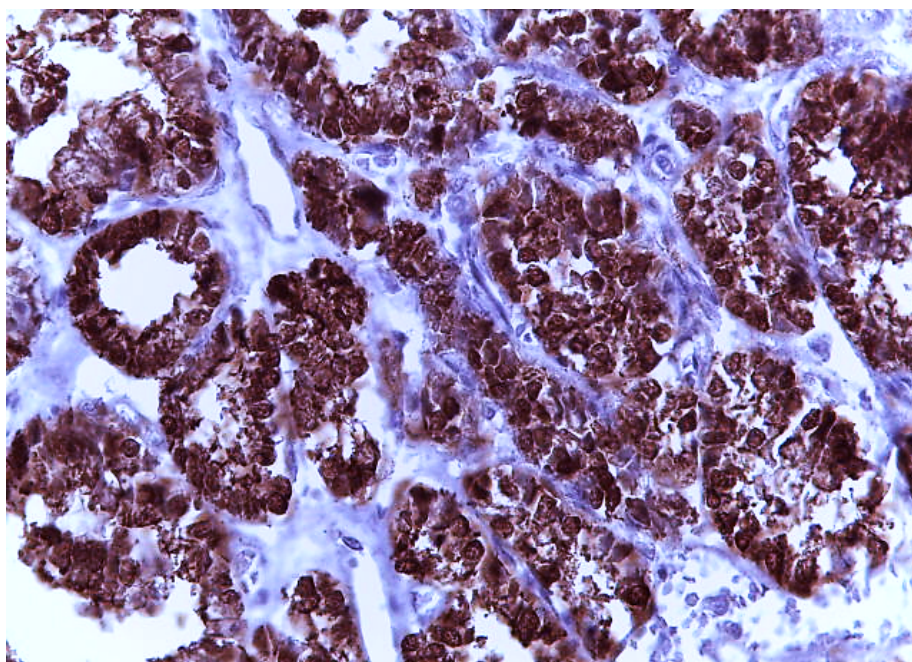


Рис. 1. Экспрессия СК7 в тироцитах интрафолликулярного эпителия верхнего полюса доли ЩЖ. Ув. x200

Сравнительная характеристика распределения иммунопозитивных клеток к цитокератинам 7, 8, 18 в ткани ЩЖ

Зоны доли ЩЖ	Иммуногистохимические маркеры			
	ОД стромы, ОД эндотелия сосудов, %	Клетки СК7+, %	Клетки СК8+, %	Клетки СК18+, %
Верхний полюс	15,1 ± 0,7	80,6 ± 3,3	4,2 ± 0,2	0,1 ± 0,01
Средняя зона	18,3 ± 0,9*	79,8 ± 5,8	1,7 ± 0,08**	0,2 ± 0,01***
Нижний полюс (ткань в норме)	16,4 ± 0,8	80,8 ± 3,8	1,9 ± 0,13**	0,3 ± 0,06***
Нижний полюс (узловые образования)	15,7 ± 1,3	71,6 ± 5,7	12,5 ± 1,1**	0,2 ± 0,01***

* Достоверность показателей по отношению к зонам ЩЖ при определении ОД стромы, ОД эндотелия сосудов ($p \leq 0,05$);

** достоверность показателей по отношению к зонам ЩЖ при использовании антител к СК8 ($p \leq 0,05$);

*** достоверность показателей по отношению к зонам ЩЖ при использовании антител к СК18 ($p \leq 0,05$).

Достоверные отличия были получены только в группе с наличием узловых образований нижнего полюса ЩЖ, когда происходило перераспределение иммунопозитивных клеток за счет наличия СК 8/18. Присутствие клеток иммунопозитивных к СК18 в нормальной ткани ЩЖ объясняется, по-видимому, ложноположительными результатами, т. к. численность клеток во всех случаях была до 1 %, что нельзя расценивать как диагностический критерий. Кроме этого, было выявлено, что достоверных отличий при норме и патологии в ОД стромы и ОД сосудов выявлено не было, ввиду того, что узловые образования сопровождалось участками пролиферации эпителия и изменением размера фолликулов (макрофолликулярное строение).

Гистологическое исследование выявленных узловых образований нижнего полюса ЩЖ выявило наличие крупных фолликулов (макрофолликулярный тип строения), заполненных гомогенным коллоидом с уплощенным однослойным эпителием, а также участки пролиферации эпителия с новообразованием мелких фолликулов.

При иммуногистохимическом исследовании выявлены иммунопозитивные участки к СК8 и СК7, что свидетельствовало о нарушении дифференцировки клеток (рис. 2). Известно, что СК7 позитивные клетки присутствуют в норме, где прокрашивается цитоплазма и промежуточные филаменты, связанные с ядром. Однако СК8 позитивные клетки характерны для секреторного эпителия, что может привести к трансформации данного новообразования.

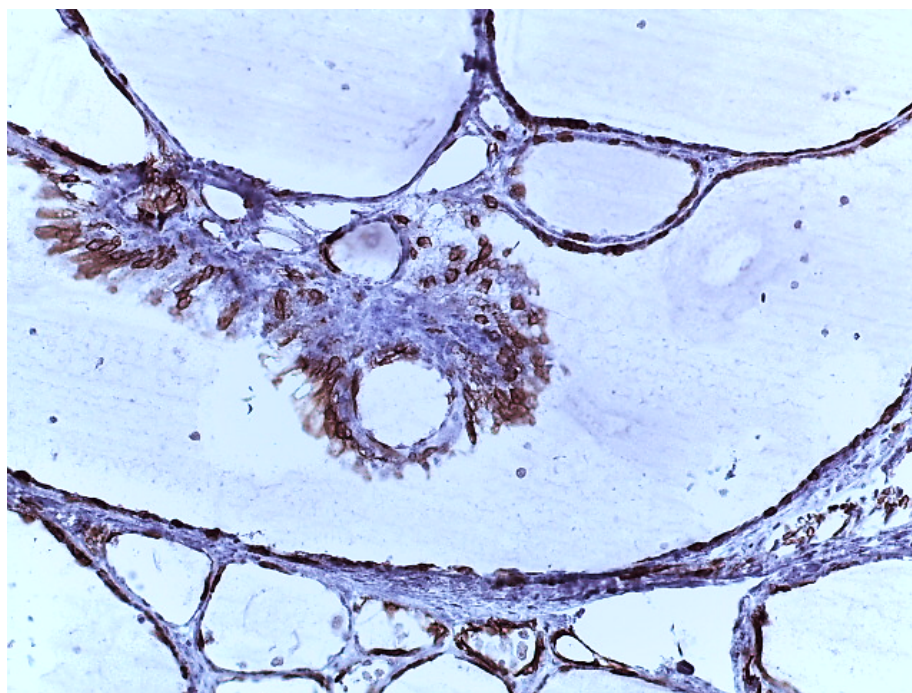


Рис. 2. Экспрессия СК8 в тироцитах узлового образования нижней доли ЩЖ. Ув. x100

Кроме этого, нами было проведено исследование различных участков к СК18, которое выявило иммунонегативное окрашивание эпителия, несмотря на активную пролиферацию тироцитов, что свидетельствовало о наличии доброкачественного узлового образования (рис. 3). В остальных участках ткань ЩЖ сохраняла нормофолликулярный

тип строения, где фолликулы были выстланы кубическим эпителием и заполнены гомогенным коллоидом. Для сопоставления гистологической картины нами было выполнено окрашивание ткани с использованием антител к СК18, где были выявлены единичные иммунопозитивные клетки, что не имело диагностического значения.

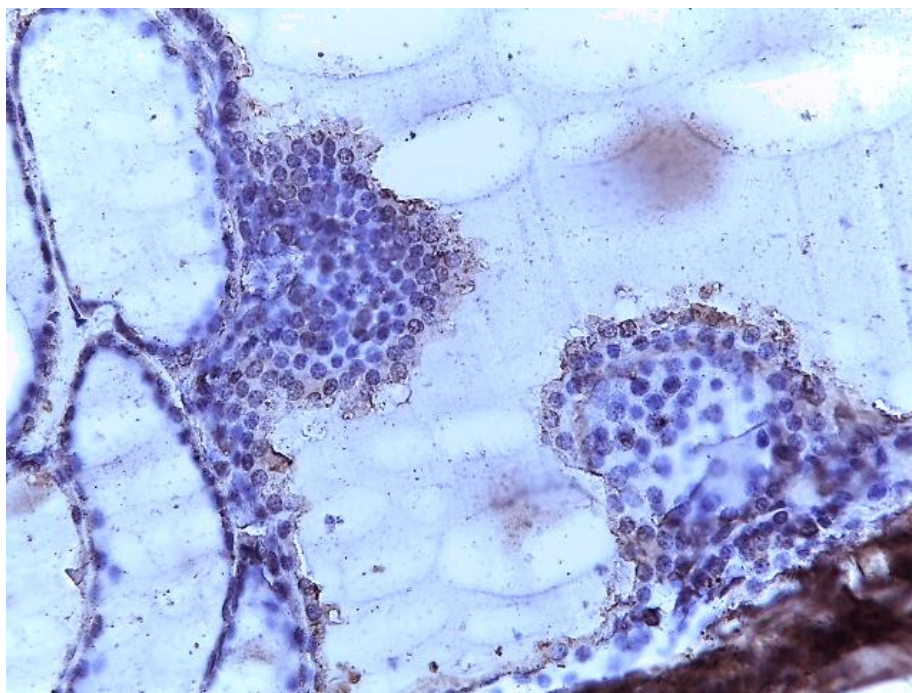


Рис. 3. Иммунонегативные клетки к СК18 в узловом образовании нижнего полюса доли ЩЖ. Ув. x200

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное иммуногистохимическое исследование выявило необходимость использования цитокератинов 8, 18 в диагностике пролиферативных заболеваний ЩЖ.

Использование иммуногистохимических маркеров к СК7 не получило должного морфологического подтверждения, так как иммунопозитивные клетки присутствовали во всех образцах нормальной ткани независимо от зональности исследуемых долей.

Также можно сказать, что экстрафолликулярный эпителий является иммунонегативным к данным маркерам, что предполагает поиск новых диагностических иммуногистохимических критериев при наличии морфологических изменений, выходящих за пределы фолликулы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Эффективность стратификационных систем в диагностике узловых заболеваний щитовидной железы / Ю. К. Александров [и др.] // Проблемы эндокринологии. – 2019. – № 65 (4). – С. 216–226.
2. Прогностическое и дифференциально-диагностическое значение экспрессии цитокератинов 7 и 19 и тиреоидного фактора транскрипции-1 в нейроэндокринных опухолях легких разной степени злокачественности / Л. Е. Гуревич [и др.] // Альманах клинической медицины. – 2016. – № 5. – С. 613–623.
3. Калмин, О. В. Иммуногистохимическое исследование фолликулярных опухолей щитовидной железы / О. В. Калмин, И. Н. Чаиркин, О. О. Калмин // Известия высших учебных заведений. – 2017. – Т. 41, № 1. – С. 28–38.
4. Expression of CK7 and CDKN2 in Cervical Intraepithelial Neoplasia and Correlation with Clinical Outcome / D. E. Lima [et al.] // Anticancer Res. – 2018. – Vol. 38, № 12. – P. 6673–6681.