

## Прогностичні маркери проліферації та апоптозу у хворих на вузлові форми зоба на фоні аутоімунного тиреоїдиту

**Мета роботи:** вивчити процеси апоптозу та проліферації в пункційному матеріалі щитоподібної залози (ЩЗ) при вузловому зобі на фоні аутоімунного тиреоїдиту (ВЗАІТ) з використанням імуногістохімічного методу дослідження, а також визначити індекс проліферативної активності.

**Матеріали і методи.** На пункційному матеріалі ЩЗ, отриманому від 75 хворих із гістологічно верифікованим діагнозом ВЗАІТ, проведено імуногістохімічне дослідження шляхом використання моноклональних антитіл проти Fas, FasL, Bcl-2, P53 та Ki67 антигенів.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Результати показали ступінь проліферативної активності тканини ЩЗ при ВЗАІТ. Виявлено високу проліферативну активність лімфоїдної тканини, помірну проліферативну активність тиреоцитів у ділянці лімфоїдної інфільтрації і низьку – поза нею. Виражена експресія Fas та FasL на тиреоцитах, у ділянках лімфоїдної інфільтрації побічно свідчить про те, що при ВЗАІТ відбуваються імунологічно зумовлені процеси апоптозу тиреоцитів. Збільшення кількості імунореактивних клітин, що експресують Ki67 у ділянці лімфоїдної інфільтрації і деструкції тиреоцитів, свідчить про регенерацію фолікулярного епітелію як компенсаторно-приспосувальну реакцію органа. Виражена експресія bcl-2 у лімфоцитах запобігає входу клітин в апоптоз і подовжує час виживання клітин. Спостерігалася висока експресія протеїну p53 в ядрах тиреоцитів та фолікулярних просвітах, яку можна пояснити мутаціями гена p53, що дозволяє клітинам знайти толерантність до апоптичної дії ефекторів імунної системи.

**Ключові слова:** вузловий зоб на фоні аутоімунного тиреоїдиту; пункційна біопсія; апоптоз; проліферація; щитоподібна залоза.

**Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень та публікацій.** Сукупна точність клінічних, інструментальних та лабораторних методів діагностики щодо встановлення морфологічного походження вузлових новоутворень ЩЗ навіть за найсміливішими висновками не перевищує 80 % [1–8]. Такий результат не може задовольнити ні хірургів (невиправдана гіпердіагностика раку щитоподібної залози, ні ендокринологів (неадекватний і несвоєчасний відбір пацієнтів для хірургічного лікування) [10, 11].

На жаль, хімічні реагенти, що застосовуються при підготовці препаратів до морфологічних досліджень стандартним методом, блокують більшість антигенних детермінант. Тому імуноцитохімічні та морфологічні дослідження пункційного матеріалу проводять на окремих препаратах, що призводить до додаткових пункційних біопсій та унеможливує морфологічну ідентифікацію реагуючих з антитілами клітин. Натомість, оптимальним для доопераційної цитологічної діагностики (ДЦД) є такий варіант, коли цитоморфологічне й імуноцитохімічне дослідження робиться послідовно на одному й тому ж мазку пункційного матеріалу [12–13].

Одним із механізмів пухлинної трансформації та прогресії є порушення регуляції клітинного циклу з пригніченням апоптозу та активацією проліферації [14–19].

До маркерів регуляції апоптозу в даний час прийнято відносити мембранні рецептори Fas і Fas-L, білки Bcl-2; причому деякі дослідники відводять ключову роль протоонкогену Bcl-2 у регуляції апоптозу [14–15]. Крім білків сімейства bcl-2, регулятором апоптозу є ген-супресор ядерний фосфопротеїн p53 [14, 17, 18]. Даний ген буває двох типів: p53 "дикого" типу, як вважають, стимулює апоптоз, тоді як мутантний p53 має аналогічний ефект на апоптоз, як білок Bcl-2, який пригнічує запрограмовану клітинну загибель. Існує близько 500 мутацій даного гена [18]. Мутації цього білка у хворих із злоякісними, доброякісними й аутоімунними захворюваннями ЩЗ досліджені недостатньо [11, 18].

Крім чинників апоптозу, проліферативна активність становить дуже важливу інформацію для визначення сутності передпухлинного стану і її прогнозу в плані малігнізації. Одним з імуногістохімічних маркерів проліферації є антиген Ki-67. Було показано, що Ki-67 присутній на ядрах клітин всіх стадій життєвого циклу, за винятком G0 і G1 початкової стадії. Після виходу клітини з мітотичного циклу антиген не виявляється [14–17, 19, 20]. Експресія цих молекул може виявлятися стандартними імуноцитохімічними методами, які досить просто інтегрувати в процес тонкогілкової аспіраційної пункційної біопсії (ТАПБ). Використання додаткових діагностичних методик, та-

ких як імуногістохімія, може надати допомогу в інтерпретації “невизначених” змін, проте загальноприйняті стандартні молекулярні маркери в даний час відсутні [10, 11, 13, 15].

Вирішити ці проблеми конче необхідно, адже від точності ДЦД багато в чому залежить правильний вибір тактики лікування, своєчасність хірургічного лікування, а в результаті й виживання хворого [11, 12].

**Мета роботи:** вивчити процеси апоптозу та проліферації в пункційному матеріалі ЩЗ при ВЗАІТ з використанням імуногістохімічного методу дослідження, а також визначити індекс проліферативної активності.

**Матеріали і методи.** На базі Чернівецького обласного ендокринологічного диспансеру обстежили 75 жінок з вузловими ВЗАІТ. Вік пацієнтів коливався від 23 до 72 років. Діагноз був встановлений клінічно, лабораторно (антитіла до тиреопероксидази (АТПО) – 60–250 ОД/мл; антитіла до тиреоглобуліну (АТТГ) – 60–500 ОД/мл; тиреотропний гормон (ТТГ) – 4–10 мОД/л) за допомогою УЗД та підтверджений гістологічно після хірургічного лікування.

У дослідження не включали пацієнок з гіпертиреозом, маніфестним гіпотиреозом, артеріальною гіпертензією та серцево-судинними захворюваннями, тяжкою соматичною патологією і після настання менопаузи.

Всім пацієнтам проводили УЗ контрольовану ТАПБ вузлів ЩЗ, при цьому виконували не менш ніж 3 пункції одного вузла, виходячи з того, що відсоток неадекватних пунктів зменшується залежно від кількості пункцій вузла в такій пропорції: 1 пункція – 16 %, 2 пункції – 5,3 %, 3 пункції – 4 %, 4 пункції – 2,6 % [10].

Під час приготування мазків використовували розроблений і запатентований у лабораторії Інституту ендокринології ім. В. І. Комісаренка спосіб відновлення активності антигенних детермінант, який дозволяє поєднати цитоморфологічні та імуноцитохімічні дослідження на одному цитологічному препараті і забезпечує можливість зіставлення морфологічних та імуноцитохімічних характеристик окремих клітинних елементів [9].

Цей метод дає добрі результати на препаратах, що зберігались після фарбування не більше трьох діб. Після цього терміну результати нестабільні, що зумовлено процесами окиснення деяких хімічних сполук на повітрі [9, 12, 13]. Для постановки імуногістохімічної реакції використовували моноклональні антитіла проти таких антигенів: Mouse Human Ki-67 FITC Clone MIB-1; Anti-p53 Protein Monoclonal Antibody, FITC Conjugated,

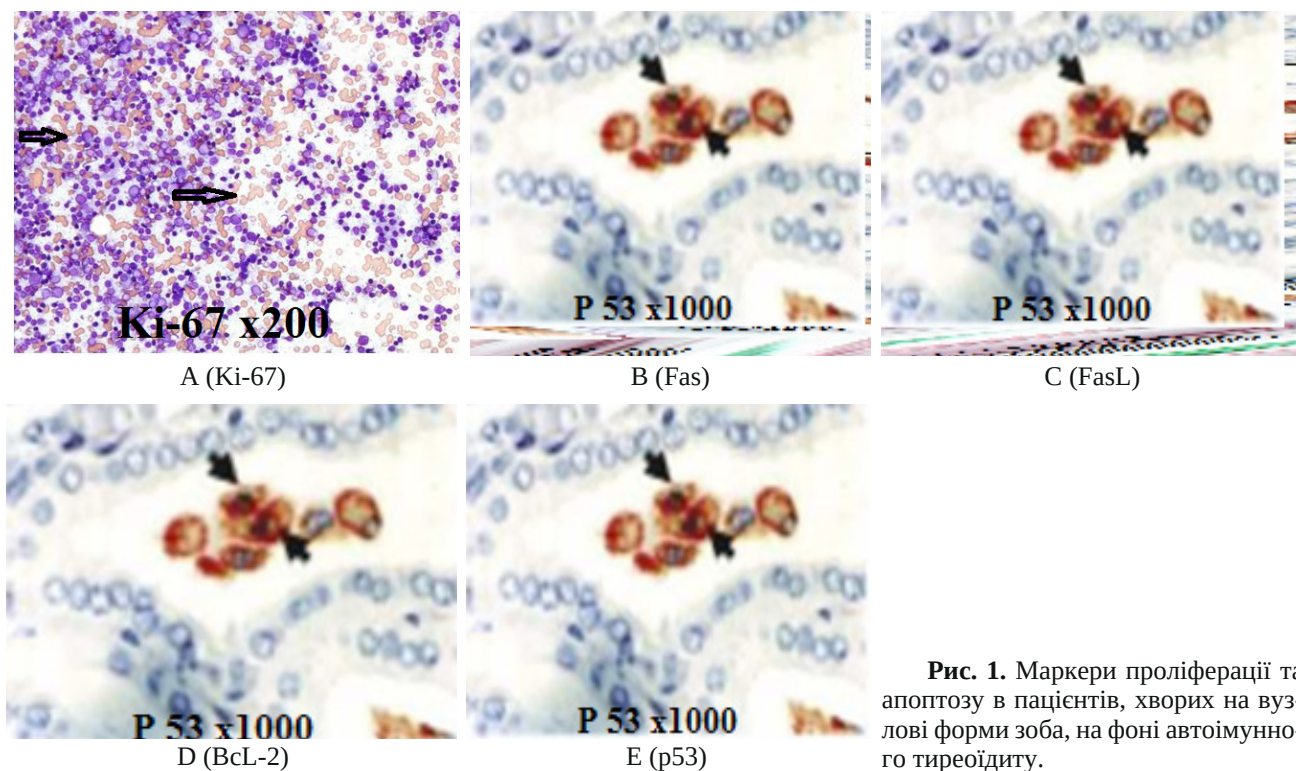
Clone DO-7; Mouse Anti-Human Apoptosis Regulator Bcl-2 (BCL2) Monoclonal, Unconjugated, Clone 124 antibody; Mouse Anti-Human CD95 Monoclonal Antibody, Unconjugated, Clone FAS 18; Mouse Anti-Human CD95L Monoclonal Antibody, Unconjugated, Clone NOK-1 фірми Dako Denmark A/S (Данія).

Результати імуногістохімічної реакції оцінювали методом напівкількісного аналізу, запропонованим О. К. Хмельницьким, за інтенсивністю забарвлення: “+ -” – незначна, “+” – слабка, “++” – помірна, “+++” – виражена [13]. Оцінку імунореактивних клітин вираховували за формулою I (Fas, FasL, Bcl-2, P53) =  $N1 / N2 \times 100 \%$ , де N1 – число клітин імунопозитивних до Fas, FasL, Bcl-2, P53 рецепторів, N2 – загальне число ядер клітин на 1 квадратному міліметрі. Оцінку ІПА вираховували за формулою ІПА =  $NKi67 / N \text{ заг.} \times 100 \%$ , де NKi67 – загальна кількість ядер, імунопозитивних до білка Ki67, N заг. – загальна кількість ядер клітин на 1 мм<sup>2</sup>. Морфометричний аналіз проводився на мікроскопі Bresser BioScience Vino (Німеччина) з цифровою камерою Nikon DS-Філь, персональному комп’ютері зі встановленим програмним забезпеченням NIS-Elements F 3.2.

#### Результати досліджень та їх обговорення.

При імуногістохімічному дослідженні було виявлено, що у всіх 75 випадках (100 %) експресія Ki67 на тиреоцитах мала слабкий “+” і помірний “++” характер, що виявлялося у вигляді коричневого або світло-коричневого фарбування ядер тиреоцитів. Кількість імунореактивних клітин у препараті розподілялася нерівномірно. У тиреоцитах, біля осередків деструкції тиреоїдного епітелію, поблизу лімфоїдної інфільтрації відзначалася підвищена експресія Ki67, ІПА змінювався від 9,75 до 11,37 % (медіана 10,56 %). При підрахунку кількості імунореактивних тиреоцитів, які перебували поза лімфоїдною інфільтрацією, відзначалося зменшення індексу проліферації від 2,5 до 3,7 % (медіана 3,15 %). Лімфоїдна тканина мала коричневий колір і високий відсоток імунореактивних клітин – від 93 до 95 % (медіана 94 %) (рис. 1, А).

Було виявлено значну кількість тиреоцитів, що експресують Fas. Цитоплазматична мембрана тиреоцитів характеризувалася коричневим “++” і темно-коричневим “+++” забарвленням. Кількість імунореактивних клітин коливалась від 47 до 63 % (медіана 55 %). Примітно, що значна експресія “+++” спостерігалася в місцях із вираженою лімфоїдною інфільтрацією. Експресія FasL була вищою “+++” у фолікулах та прилеглих до них ділянках лімфоїдної інфільтрації “++”, що у співвідношенні клітин склала в середньому



**Рис. 1.** Маркери проліферації та апоптозу в пацієнтів, хворих на вузлові форми зоба, на фоні аутоімунного тиреоїдиту.

46,10 % (рис. 1, B, C). Коекспресія Fas і FasL у ділянках лімфоїдної інфільтрації фолікулів навколо тиреоцитів свідчить про те, що безпосередньо Fas та FasL не беруть участі в апоптозі тиреоцитів, а індукують цей процес шляхом вироблення проапоптичних цитокінів.

Bcl-2 незначно “-” експресувалися тиреоїдним епітелієм на відміну від лімфоїдної тканини, цитоплазма якої фарбувалася в коричневий колір “+++”. При утворенні лімфоїдних фолікулів без чітких меж у щитоподібній залозі спостерігали рівномірне забарвлення лімфоїдної тканини в центрі і по периферії фолікулів. При сформованих зрілих фолікулах відзначалися відсутність забарвлення в центрі й інтенсивне забарвлення мантийної зони лімфоїдного фолікула (рис. 1, D). Лімфоїдна тканина поза вузликами інтенсивно експресувалась bcl-2 в ділянці тиреоїдних фолікулів і в стромі залози. При аналізі кількості клітин, які експресують bcl-2, виявлено від 87 до 93 % імунореактивних клітин (медіана 90 %).

Висока експресія протеїну p53 спостерігалася в ядрах тиреоцитів та фолікулярних просвітах, при цьому виявлено яскраву позитивну реакцію із забарвленням ядер у темно-коричневий колір (рис. 1, E). Забарвлення на цей маркер мало локальний характер, причому в одному полі зору визначали не більше 7–9 ядер. Концентрація імунореактивних клітин складала від 64 до 71 % (медіана 65,5 %). Підвищену щільність p53-позитивних

клітин можна пояснити мутаціями гена p53, що дозволяє клітинам знайти толерантність до апоптичної дії ефektorів імунної системи [14, 15, 18, 20].

**Висновки.** 1. Виражена експресія Fas та FasL на тиреоцитах, у ділянках лімфоїдної інфільтрації свідчить про те, що при ВЗАІТ відбуваються імунологічно зумовлені процеси апоптозу тиреоцитів.

2. Коекспресія Fas і FasL у ділянках лімфоїдної інфільтрації навколо тиреоцитів свідчить про те, що безпосередньо Fas та FasL не беруть участі в апоптозі тиреоцитів, а індукують цей процес шляхом вироблення проапоптичних цитокінів.

3. Збільшення кількості імунореактивних клітин, що експресують Ki67 у ділянці лімфоїдної інфільтрації і деструкції тиреоцитів, свідчить про регенерацію фолікулярного епітелію як компенсаторно-приспосувальну реакцію органа.

4. Виражена експресія bcl-2 у лімфоцитах запобігає входу клітин в апоптоз і подовжує час виживання клітин, що, безсумнівно, відіграє важливу роль у морфогенезі пухлинних захворювань лімфоїдної тканини, а тривало перебігаючі процеси апоптозу і регенерації тиреоїдного епітелію також можуть сприяти канцерогенезу.

5. Підвищену щільність p53-позитивних клітин можна пояснити мутаціями гена p53, що дозволяє клітинам знайти толерантність до апоптичної дії ефektorів імунної системи.



#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Калоева А. А. Характер морфологических изменений при эндемическом зобе / А. А. Калоева, В. С. Боташева, Л. Д. Эркенова // *Фундаментальные исследования*. – 2015. – № 1, ч. 1. – С. 30–40.
2. Tsyganenko O. S. Immunomorphological reaction in the thyroid tissue in patients with autoimmune thyroiditis in combination with nodular goiter / O. S. Tsyganenko R. S. Voroschuk // *Acta Medica. Nicholas Anestiadi, Tenth Congress of the Association of Surgeons of Moldova: Chisinau*. – 2007, October; 4 (25). – P. 51–52.
3. Орлинская Н. Ю. Возможности гистологического и цитологического методов в диагностике различных состояний щитовидной железы / Н. Ю. Орлинская, П. С. Зубеев, Б. В. Саранцев // *Сборник материалов Всероссийской конференции с международным участием “Клиническая морфология щитовидной железы”*. – Белгород, 2004. – С. 42–43.
4. Возможности традиционной и жидкостной цитологии в сочетании с иммуноцитохимической детекцией некоторых молекулярных маркеров в дооперационной диагностике высокодифференцированного рака щитовидной железы / И. С. Берёзкина, Т. В. Саприна, А. П. Зима [и др.] // *Клиническая и экспериментальная тиреоидология*. – 2016. – Т. 12, № 1. – С. 38–45.
5. Рак щитоподібної залози у поєднанні з іншою тиреоїдною патологією: особливості клініки, діагностики та лікування : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра мед. наук / М. В. Гульчій. – К., 2008. – 36 с.
6. Kim H. S. Features of papillary thyroid microcarcinoma in the presence and absence of lymphocytic thyroiditis / H. S. Kim, Y. J. Choi, K. S. Yun // *Endocrine Pathology*. – Vol. 21 (3). – P. 149–153.
7. Di Pasquale H. M. Pathologic features of Hashimoto’s associated papillary thyroid carcinoma / H. M. Di Pasquale, J. P. Palazzo, J. L. Rothstein // *Hum. Pathol.* – 2001. – Vol. 32 (1). – P. 24–30.
8. Бондаренко О. О. Использование онкомаркеров в морфологической диагностике эпителиальных опухолей щитовидной железы / О. О. Бондаренко, И. С. Шпонька, П. А. Гриценко // *Морфология*. – 2010. – Т. 3, № 2 – С. 12–16.
9. Пат. № 23098 А UA МПК6 G01N33/50. Спосіб приготування морфологічних препаратів для імуноцитохімічного дослідження / Божок Ю. М., Тавокина Л. В., Абраменко І. В., Белоус Н. І., опубл. 30.06.98, Бюл. № 3.
10. Sheremet M. I. Analysis of a process of peroxidation, caspase-3 and caspase-8 in patients with autoimmune thyroiditis / M. I. Sheremet, V. O. Shidlovskyy, L. P. Sydorhchuk // *Journal of Education, Health and Sport*. – 2015. – Vol. 5(11). – P. 117–125.
11. Sheremet M. I. Assessment of proliferation and apoptosis markers in patients with autoimmune thyroiditis / M. I. Sheremet, V. O. Shidlovskyy, L. P. Sydorhchuk // *Journal of Education, Health and Sport*. – 2016. – Vol. 6 (1). – P. 179–188.
12. Место тонкоигольной аспирационной биопсии в определении показаний к операции при узловом коллоидном зобе / П. С. Зубеев, Н. Ю. Орлинская, М. В. Матянин, Н. И. Тарасова // *Ремедиум*. – 2005. – Спецвыпуск “Эндокринология”. – С. 93–94.
13. Хмельницький О. К. Цитологическая и гистологическая диагностика заболеваний щитовидной железы : руководство / О. К. Хмельницький. – СПб. : СОТИС, 2002. – 286 с.
14. Kazakov S. P. The investigation of CD 95, p53, bcl-2 and Ki-67 markers in autoimmune thyroid pathology patients / S. P. Kazakov, N. Ye. Kushlinsky. – First Joint Meeting of European National Societies of Immunology Under the auspices of EFIS and 16th European Congress of Immunology: ECI. 2006 Sept. 6–9; Paris, France. – 547p.
15. Ganchevska P. Expression of proliferative antigens in human thyroid diseases / P. Ganchevska, K. Murdjev, V. Sarafian // *Trakia Journal of Sciences*. – 2004. – Vol. 2(1). – P. 16–20.
16. Chen Expression of Ki67 in Papillary Thyroid Microcarcinoma and its Clinical Significance / Yuan Zhou, Hong-Gang Jiang, Ning Lu [et. al.] // *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. – 2015. – Vol. 16 (4). – P. 1605–1608.
17. Choudhury M. Diagnostic utility of Ki67 and p53 immunostaining on solitary thyroid nodule – a cytohistological and radionuclide scintigraphic study / M. Choudhury, S. Singh, S. Agarwal // *Indian J. Pathol. Microbiol.* – 2011. – Vol. 54 (3). – P. 472–475.
18. Chumakov P. M. The function of the p53 gene: the choice between life and death / P. M. Chumakov // *Biochemistry*. – 2000. – Vol. 65. – P. 34–47.
19. Role of Ki-67 as a proliferative marker in lesions of thyroid / M. Pujani, B. Arora, M. Pujani [et al.] // *Indian J. Cancer*. – 2010. – Vol. 47 (3). – P. 304–307.
20. Хазієв І. В. Експресія онкомаркерів Ki-67 і p53 у фолікулярних неоплазіях щитоподібної залози / І. В. Хазієв, В. В. Сорокіна // *Експериментальна і клінічна медицина*. – 2013. – Т. 59, № 2. – С. 77–81.

#### REFERENS

1. Kaloyeva, A.A. Botasheva, V.S. & Erkenova, L.D. (2015). Karakter morfologicheskikh izmeneniy pri endemicheskomo zobe [Character of morphological changes during endemic goiter]. *Fundamentalnyye issledovaniya – Basic Research*, 1, (1), 30-40 [in Russian].
2. Tsyganenko, O.S. & Voroschuk, R.S. (2007). Immunomorphological reaction in the thyroid tissue in patients with autoimmune thyroiditis in combination with nodular goiter. *Acta Medica. Nicholas Anestiadi, Tenth Congress of the Association of Surgeons of Moldova: Chisinau*. 2007 October; 4 (25), 51-52.
3. Orlynskaaya, N.Yu., Zubeyev, P.S. & Sarantsev, B.V. (2004). Vozmozhnosti gistologicheskogo i tsitologicheskogo metodov v diagnostike razlichnykh sostoyaniy shchitovidnoy zhelezy [Features of histological and cytological methods using in the diagnosis of various cancer states of thyroid]. *Sbornik materialov Vserossiyskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiyem «Klinicheskaya morfologiya shchitovidnoy zhelezy» – Collection of materials of the All-Russian conference with international participation «Clinical morphology of thyroid cancer»*. (pp. 42-43). Belgorod [in Russian].
4. Berozkina, I.S., Saprina, T.V. & Zima, A.P., Isaeva, A.V., Latypova, V.N., Mukhamedov, M.R... Brasovskaya N.G. (2016). Vozmozhnosti traditsionnoy i zhidkostnoy tsitologii v sochetanii s immunotsitokhimicheskoy detektsiyey nekotorykh molekulyarnykh markerov v dooperatsionnoy diagnostike vysokodifferentsirovannogo raka shchitovidnoy zhelezy [The problem of molecular diagnostic test value in the differential diagnosis of a thyroid gland nodule]. *Klinicheskaya i eksperimentalnaya tireoidologiya – Clinical and Experimental Thyroidology*, 12, (1), 38-45 [in Russian].
5. Gulichiy, M.V. Rak shchitopodibnoi zalozhi u poednanni z inshoyu tireoidnoyu patologiyu: osoblivosti kliniki, diagnostiki

- ta likuvannya [Cancer of the thyroid gland in the affected area of the thyroid pathology: especially of clinic, the diagnostic and treatment]. *Extended abstract of Doctor's thesis*. Kyiv: Derzh. ustanova «In-t endokrinologii ta obminu rechovin im. V.P.Komisarenka AMN Ukrainy [in Ukrainian].
6. Kim, H.S., Choi, Y.J. & Yun, K.S. (2010). Features of papillary thyroid microcarcinoma in the presence and absence of lymphocytic thyroiditis. *Endocrine Pathology*, 21 (3), 149-153.
  7. Di Pasquale, H.M., Palazzo, J.P. & Rothstein, J.L. (2001). Pathologic features of Hashimoto's associated papillary thyroid carcinoma. *Hum. Pathol.* 32 (1), 24-30.
  8. Bondarenko, O.O., Shponika, I.S. & Gritsenko, P.A. (2010). Ispolzovaniye onko-markerov v morfologicheskoy diagnostike epiteliialnykh opukholey shchitovidnoy zhelezy [The use of tumor markers in the diagnosis of morphological epithelial tumors of thyroid gland]. *Morfologiya – Morphology*, 3 (2), 12-16. [in Ukrainian].
  9. Bozhok, Yu.M., Tavokina, L.V., Abramenko, I.V., Byelous, N.I. (1998). Pat. № 23098 A UA MPK6 G01N33/50. Sposib pryhotuvannya morfologichnykh preparativ dlya imunotsytokhimichnoho doslidzhennya / Opubl. 30. 06. 98, Byul. № 3. [Preparation of morphological preparations for immunohistochemical study]. UA. Patent UA 23098;1998. [in Ukrainian].
  10. Sheremet, M.I., Shidlovskyy, V.O. & Sydoruk, L.P. (2015). Analysis of a process of peroxidation, caspase-3 and caspase-8 in patients with autoimmune thyroiditis. *Journal of Education, Health and Sport*, 5 (11), 117-125.
  11. Sheremet, M.I., Shidlovskyy, V.O. & Sydoruk, L.P. (2016). Assessment of proliferation and apoptosis markers in patients with autoimmune thyroiditis. *Journal of Education, Health and Sport*, 6 (1), 179-188.
  12. Zubeev, P.S., Orlynska, N.Yu., Matyanyn, M.V. & Tarasova, N.Y. (2005). Mesto tonkoigolnoy aspyratsyonnoy biopsii v opredelenii pokazaniy k operatsyi pri uzlovom kolloidnom zobe [Place of fine-needle aspiration biopsy in determining the indications for surgery in nodular colloid goiter.]. *Remedyum, Spetsvyypusk Endokrynolohyya – Remedium. Endocrinology Special Edition*, 93-94 [in Russian].
  13. Khmel'nitskiy, O.K. (2002). *Tsyatologicheskaya i gystologicheskaya diagnostika zabolevaniy shchitovidnoy zhelezy: Rukovodstvo [Cytological and histological diagnosis of thyroid diseases: guide]*. St. Petersburg: SOTYS [in Russian].
  14. Kazakov, S.P., Kushlinsky, N.Ye. (2006). The investigation of CD 95, p53, bcl-2 and Ki-67 markers in autoimmune thyroid pathology patients. *First Joint Meeting of European National Societies of Immunology Under the auspices of EFIS and 16th European Congress of Immunology*: ECI. 2006 Sept. 6-9; Paris, France: 547.
  15. Ganchevska, P., Murdjev, K. & Sarafian, V. (2004). Expression of proliferative antigens in human thyroid diseases. *Trakia Journal of Sciences*, 2 (1), 16-20.
  16. Yuan Zhou, Hong-Gang Jiang & Ning Lu (2015). Chen Expression of Ki67 in Papillary Thyroid Microcarcinoma and its Clinical Significance. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 16 (4), 1605-1608.
  17. Choudhury, M., Singh, S. & Agarwal S. (2011). Diagnostic utility of Ki67 and p53 immunostaining on solitary thyroid nodule – a cytohistological and radionuclide scintigraphic study. *Indian J. Pathol. Microbiol.*, 54 (3), 472-475.
  18. Chumakov, P.M. (2000). The function of the p53 gene: the choice between life and death. *Biochemistry*, 65, 34-47.
  19. Pujani, M., Arora, B. & Pujani, M. (2010). Role of Ki-67 as a proliferative marker in lesions of thyroid. *Indian J. Cancer*, 47 (3), 304-307.
  20. Khaziye, I.V. & Sorokina, V.V. (2013). Ekspresiya onko-markeriv Ki-67 i p53 v folikulyarnykh neoplaziyakh shchytopodibnoi zalozy [Expression of tumor markers Ki-67 and p53 in follicular thyroid neoplasia]. *Eksperymentalna i klinichna medytsyna – Experimental and Clinical Medicine*, 59, (2), 77-81 [in Ukrainian].

A. D. BEDENYUK<sup>1</sup>, M. I. SHEREMET, L. P. SYDORCHUK, V. O. SHIDLOVSKYY<sup>1</sup>

Bukovynian State Medical University  
I. Horbachevsky Ternopil State Medical University<sup>1</sup>

## THE PROGNOSTIC MARKERS OF PROLIFERATION AND APOPTOSIS IN PATIENTS WITH NODULAR GOITERS COMBINED WITH AUTOIMMUNE THYROIDITIS

**The aim of the work:** to study the processes of apoptosis and proliferation in paracentetic material of thyroid gland when nodular goiter combined with autoimmune thyroiditis using immunohistochemical method of the study and to determine proliferative activity index.

**Materials and Methods.** We carried out an immunohistochemical study by means of monoclonal antibodies against Fas, FasL, Bcl-2, P53 and Ki67 antigens using the TG puncture material.

**Results and Discussion.** The results showed the degree of proliferative activity in the thyroid tissue in NGAIT. We found a highly proliferative activity of lymphoid tissue, moderate proliferative activity of thyroid epithelial cells in the area of lymphoid infiltration and a low one – beyond the latter. The pronounced expression of Fas and FasL on the thyroid epithelial cells in the area of lymphoid infiltration indirectly indicates that NGAIT causes the processes of thyroid epithelial cells apoptosis due to the immunity. Increasing the number of immunoreactive cells expressing Ki67 in the area of lymphoid infiltration and destruction of thyroid epithelial cells, are indicator of follicular epithelial regeneration as a compensatory-adaptive response of the organ. A pronounced Bcl-2 expression in lymphocytes prevents the cells from apoptosis and prolongs the cell survival time. There was a high expression of p53 protein in the nuclei of thyroid epithelial cells and follicular lumen, which can be explained by mutations in the gene p53, which allows the cells to find tolerance to apoptotic action of the immune system effectors.

**Key words:** nodular goiter combined with autoimmune thyroiditis; needle biopsy; apoptosis; proliferation; thyroid gland.

© А. Д. БЕДЕНЮК<sup>1</sup>, М. И. ШЕРЕМЕТ, Л. П. СИДОРЧУК, В. А. ШИДЛОВСКИЙ<sup>1</sup>

Буковинский государственный медицинский университет  
ГВУЗ "Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского"<sup>1</sup>

#### ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПРОЛИФЕРАЦИИ И АПОПТОЗА У БОЛЬНЫХ УЗЛОВЫМИ ФОРМАМИ ЗОБА НА ФОНЕ АУТОИММУННОГО ТИРЕОИДИТА

**Цель работы:** изучить процессы апоптоза и пролиферации в пункционном материале щитовидной железы (ЩЖ) при узловом зобе на фоне аутоиммунного тиреоидита (УЗАИТ) с использованием иммуногистохимического метода исследования, а также определить индекс пролиферативной активности.

**Материалы и методы.** На пункционном материале щитовидной железы, полученном от 75 больных с гистологически верифицированным диагнозом ВЗАИТ, проведено иммуногистохимическое исследование путем использования моноклональных антител против Fas, FasL, Bcl-2, P53 и Ki67 антигенов.

**Результаты исследований и их обсуждение.** Результаты показали степень пролиферативной активности ткани щитовидной железы при УЗАИТ. Выявлена высокая пролиферативная активность лимфоидной ткани, умеренная пролиферативная активность тиреоцитов в области лимфоидной инфильтрации и низкая – вне ее. Выраженная экспрессия Fas и FasL на тиреоцитах, в участках лимфоидной инфильтрации косвенно свидетельствует о том, что при УЗАИТ происходят иммунологически обусловленные процессы апоптоза тиреоцитов. Увеличение количества иммунореактивных клеток, экспрессирующих Ki67 в области лимфоидной инфильтрации и деструкции тиреоцитов, свидетельствует о регенерации фолликулярного эпителия как компенсаторно-приспособительной реакции органа. Выраженная экспрессия bcl-2 в лимфоцитах предотвращает вход клеток в апоптоз и удлиняет время выживания клеток. Наблюдалась высокая экспрессия протеина p53 в ядрах тиреоцитов и фолликулярных просветах, которую можно объяснить мутациями гена p53, что позволяет клеткам найти толерантность к апоптотическому действию эффекторов иммунной системы.

**Ключевые слова:** узловый зоб на фоне аутоиммунного тиреоидита; пункционная биопсия; апоптоз; пролиферация; щитовидная железа.

Отримано 05.01.17