

Література

1. Смольнова Т.Ю., Адамьян Л.В. Критерии постановки диагноза дисплазии соединительной ткани женщин // *Актуал. вопр. внутр. патол. Дисплазия соединит. ткани: Матер. науч.-практ. конф.* – Омск, 2006. – С. 75–78.
2. Смольникова Т.Ю., Буянова С.Н., Савельев С.В. и др. // *Клин. мед.* – 2003. – № 8. – С. 42–48.
3. Уварова Е.В., Хащенко Е.П. // *Репрод. здор. детей и подрост.* – 2010. – № 3. – С. 57–71.
4. Oelkers W.K. // *Steroids.* – 1996. – № 61. – P. 77–100.
5. Долженко М.М., Поташев С.В. *Ехокардиографія у хворих на серцеву недостатність.* – Донецьк: Видав. Заславський О.Ю., 2011. – 160 с.

¹Г. А. Замотаева, ¹Н.М. Степура, ²Д.О. Джужа,
¹С.В. Гулеватий, ¹М.Д. Тронько

¹ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН України», Київ,

²ДУ «Національний інститут раку», Київ

Стан імунної системи хворих на рак щитоподібної залози з метастазами в легені після лікування радіоїодом

The state of immune system in thyroid cancer with metastases to the lungs after radioiodine therapy

Summary. The purpose of the work was to investigate the influence of radioiodine therapy on immunological indices of the patients with thyroid cancer and metastases to the lungs. Phenotypic profile of the cells of peripheral blood was determined in 36 donors and 82 patients with differentiated thyroid carcinoma (46 with metastases to the lungs, 36 without distant metastases) before and on day 6 after radioiodine therapy. Significant changes of lymphocyte phenotype in the blood were revealed in early terms after administration of therapeutic activities of ¹³¹I (4130–4730 MBq): decreased amount of CD19+, CD3+ and activated HLA-DR+ cells, disbalance of T-lymphocyte population (CD4+, CD8+), increase of CD95+ cells. In patients with lung metastases, the degree of immune disorders was significantly higher. Radioiodine therapy caused the changes in peripheral blood lymphocyte population and expression of markers of activation and apoptosis. Great radiation load on the blood cells can increase the disorders in the immune system of the patients with diffuse lung metastases.

Key words: radioiodine therapy, thyroid cancer, blood lymphocyte immune phenotype, lung metastases.

Резюме. Цель работы состояла в исследовании влияния радиойодтерапии на иммунологические показатели больных раком щитовидной железы с метастазами в легкие.

Определяли фенотипический профиль клеток периферической крови у 36 доноров и 82 больных дифференцированным раком щитовидной железы (46 — с метастазами в легкие, 36 — без отдаленных метастазов), до и на 6-е сутки после радиойодтерапии.

Выявлены достоверные изменения фенотипа лимфоцитов крови в ранние сроки после приема терапевтических активностей ¹³¹I (4130–4730 МБк): уменьшение содержания CD19+, CD3+ и активированных HLA-DR+ клеток, дисбаланс субпопуляций Т-лимфоцитов (CD4+, CD8+), увеличение CD95+ клеток. У больных с метастазами в легкие степень иммунологических нарушений была достоверно большей.

Радиойодтерапия вызывает изменения популяционного состава лимфоцитов периферической крови и экспрессии маркеров активации и апоптоза. Большая лучевая нагрузка на клетки крови при наличии диффузных легочных метастазов может усилить нарушения в иммунной системе больных.

Ключевые слова: радиойодтерапия, рак щитовидной железы, иммунофенотип лимфоцитов крови, легочные метастазы.

Ключові слова: радіойодотерапія, рак щитоподібної залози, імуннофенотип лімфоцитів крові, легеневі метастази.

Стандартом лікування диференційованих форм раку щитоподібної залози (ДРЩЗ) є тиреоїдектомія, радіойодотерапія (РІТ) і супресивна гормонотерапія [1]. Застосування радіоїоду показане як для післяопераційної абляції залишкової тканини щитоподібної залози (ЩЗ), так і для девіталізації регіонарних та віддалених метастазів, а за наявності останніх РІТ найчастіше виявляється єдиним методом їх лікування [1, 2].

Донедавна панувала думка, що через високу органотропність і селективне накопичення ¹³¹I у ЩЗ, його радіаційний вплив на організм загалом незначний. Ґрунтовних досліджень дії ¹³¹I на інші органи та системи майже не проводилось, а наявні наукові праці, що стосуються розгляду гематологічних та імунологічних наслідків РІТ, є поодинокими і досить суперечливими. Проте застосування цитогенетичних методів виявило значний генотоксичний ефект радіоїоду: в лімфоцитах крові хворих після РІТ виявлені різноманітні хромосомні пошкодження, що зберігаються протягом багатьох років [3, 4]. Підраховано, що середні еквівалентні дози опромінення клітин кісткового мозку і периферичної крові при введенні лікувальних активностей ¹³¹I становлять 0,32–0,54 Гр, при цьому з кожним наступним курсом відбувається акумуляція поглинутих доз [5]. За таких рівнів радіаційного навантаження цілком імовірно структурні і функціональні пошкодження клітин системи імунітету, оскільки лімфоцити, попри невеликі темпи проліферації, мають дуже високу радіочутливість [6].

Розподілення радіоактивного йоду в організмі хворого і, відповідно, доза опромінення периферичної крові, кровотворної тканини кісткового мозку та лімфоїдних органів залежать не тільки від введеної активності радіофармпрепарату, але й від багатьох інших чинників, насамперед, маси залишкової тканини ЩЗ і наявності метастазів. Узв'язку з цим виникає питання, чи має певні особливості ефект радіоїоду на стан імунної системи хворих за умов наявності віддалених метастазів у легені.

З огляду на це, за мету було поставлено дослідження впливу ¹³¹I, застосованого в терапевтичних дозах, на фенотипічний склад лімфоцитів периферичної крові у хворих на РЩЗ з віддаленими метастазами.

Нами були обстежені дві групи хворих на ДРЩЗ, які проходили РІТ у відділенні радіонуклідної терапії та лікування радіофармпрепаратами ДУ «Національний інститут раку МОЗ України» та у відділенні променевої терапії відкритими джерелами випромінювання в ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка АМН України». Прийом лікувальних активностей ¹³¹I (4130–4730 МБк) проводився перорально натще у вигляді 20–30 мл ізотонічного розчину натрію йодиду (підприємство «Радіофармпрепарат», Узбекистан) або у формі капсул виробництва фірми Polatom (Польща). Перша група (І гр.) включала 36 хворих на РЩЗ без віддалених метастазів (29 жінок, 7 чоловіків) віком 38–70 років (52,4 ± 1,5). Папілярний рак було діагностовано у 32, фолікулярний — у 4 хворих. У 13 пацієнтів виявлені метастази в регіонарні лімфовузли, інші — метастатичного ураження не мали. Другу групу (ІІ гр.) склали 46 (33 жінки, 13 чоловіків) хворих на ДРЩЗ віком 45–75 років (53,7 ± 1,3) з наявністю віддалених метастазів у легені, з них 27 (58,7%) — зверифікованим діагнозом папілярна карцинома і 19 (41,3%) — фолікулярна карцинома. Контролем була група з 32 донорів відповідної вікової категорії.

Імунологічні показники досліджували до прийому радіоїоду та через 6 днів після РІТ. Ідентифікацію популяційного та субпопуляційного складу лімфоцитів пе-

риферичної крові проводили за допомогою методу проточної цитометрії. Для імунофенотипування лімфоцитів використовували моноклональні антитіла (виробництва BD Pharmingen, США та «Сорбент», Москва): CD19 (В-лімфоцити); CD3 (загальна популяція Т-лімфоцитів); CD4 (хелпери/індуктори); CD8 (цитотоксичні/супресори); CD16 і CD56 (природні клітини-кілери), а також маркери активації лімфоцитів HLA-DR та CD95. Моноклональні антитіла проти CD56 мічені фікоеритрином, всі інші — флуоресцеїнізотіоціанатом. Підготування проб виконували за стандартним протоколом [7]. Вимірювання здійснювали на проточному цитофлуориметрі FACScan, оснащеному аргонним лазером з довжиною хвилі 488 нм, з використанням комерційної програми CellQuest. Для вимірювання флуоресценції за ФІТЦ використовували вузькосмугові фільтри розміром 530/30 нм, ФЕ — 650/30 нм, потужність лазера складала 100 мВт. Аналіз клітин у зразку крові проводили в гейті лімфоцитів.

Отримані дані статистично опрацьовували методом варіаційної статистики з обчисленням t-критерію Стьюдента. Різницю вважали вірогідною при $p < 0,05$.

У таблиці представлено результати визначення відносної кількості лімфоцитів основних субпопуляцій у периферичній крові хворих на РЩЗ напередодні проведення РІТ та на 6-ту добу після прийому ^{131}I .

Як свідчать наведені дані, загальний напрямок змін фенотипу лімфоцитів під впливом радіоїоду не залежить від наявності метастазів. Але виявлено деякі відмінності. У хворих на РЩЗ з віддаленими метастазами (II гр.) вміст загальної популяції Т-лімфоцитів (CD3+) ще до лікування радіоїодом вірогідно нижчий порівняно з донорами. Через тиждень після РІТ кількість CD3+-лімфоцитів у цих хворих зменшується ($p < 0,05$ — відносно вихідних даних показників, $p < 0,001$ — норми). У хворих I гр. статистично значущих відмінностей між CD3+ до і після прийому радіоїоду не відзначено.

Аналіз вмісту основних Т-клітинних субпопуляцій — CD4+- і CD8+-клітин у периферичній крові хворих у ранній термін після прийому радіоїоду виявив кількісний перерозподіл субпопуляційного складу Т-лімфоцитів. Слід зазначити, що у хворих з метастазами зазнають змін і хелперні, і супресорні лімфоцити. Так, вміст CD8+-клітин до лікування в цієї групи хворих перевищує показники донорів, а після РІТ ще збільшується. Через тиждень після

РІТ кількість CD8+-лімфоцитів на 30% вища за норму. Навпаки, введення радіоїоду знижує вміст хелперних клітин ($p < 0,01$). Зменшення загальної кількості Т-лімфоцитів у периферичній крові хворих на РЩЗ з метастазами в легені в поєднанні зі значним зниженням вмісту CD4+-клітин може свідчити про функціональну недостатність Т-клітинної ланки імунітету.

У хворих I гр. субпопуляційний склад Т-лімфоцитів під впливом радіоїоду змінюється незначно відносно значень вихідних показників. Виявлено дещо підвищений вміст CD8+-лімфоцитів до лікування, який ще збільшується після РІТ, і різниця в порівнянні з контрольними значеннями показників стає статистично значущою ($p < 0,01$). Вміст Т-хелперів до і після РІТ залишається в межах нормальних значень.

Унаслідок дисбалансу субпопуляційного складу лімфоцитів виникають порушення імунорегуляторного індексу (ІРІ) — співвідношення CD4/CD8. У всіх обстежених виявлено помірне зменшення ІРІ. Слід зазначити, що хоча показники ІРІ після РІТ нижчі за вихідні в обох групах, різниця є вірогідною лише по відношенню до контрольних значень. При цьому ІРІ у хворих з метастазами в легені знижується більшою мірою при майже однакових вихідних рівнях показника в обох групах.

Вміст природних клітин-кілерів (ПКК) визначали за експресією маркерів CD16 і CD56. У більшості хворих в обох групах кількість CD16+- і CD56+- клітин вища за норму. Попри тенденцію до збільшення ПКК у ранні строки після РІТ, не відзначено вірогідного впливу радіоїоду на вміст ПКК у жодній з груп. Найвищі значення показників CD56+-клітин виявлені у хворих без віддалених метастазів після РІТ, але через значні коливання індивідуальних значень статистично значущих відмінностей не встановлено.

Найбільших змін зазнали В-лімфоцити (CD19+), що підтверджують дані наукової літератури про високу радіочутливість цієї популяції. Після РІТ відносна кількість CD19+-лімфоцитів знижувалась майже однаково в обох групах (приблизно в 1,4 разу) і спостерігалась у 80% хворих, а в деяких із них вміст цих клітин падав у 2–3 рази.

Наслідком раннього ефекту радіоїоду було також суттєве зменшення кількості клітин, експресуючих маркер активації — HLA-DR-білок, що належить до молекул гістосумісності II класу. Зниження експресії цієї молекули

Кількість лімфоцитів (%) різного фенотипу в периферичній крові хворих на диференційований рак щитоподібної залози до та на 6-ту добу після радіоїодотерапії (M ± m)

Фенотип лімфоцитів	Здорові донори	Хворі на РЩЗ			
		без віддалених метастазів (I гр.)		з метастазами у легені (II гр.)	
		До РІТ	Після РІТ	До РІТ	Після РІТ
CD3+	73,67 ± 2,07	69,67 ± 1,61	67,85 ± 2,04 ^a	68,54 ± 1,50 ^a	64,22 ± 1,30 ^{ab}
CD4+	42,64 ± 2,20	42,29 ± 1,46	41,46 ± 1,34	40,29 ± 1,46	34,83 ± 1,41 ^{abc}
CD8+	24,09 ± 1,61	27,91 ± 1,24	29,79 ± 1,60 ^a	29,42 ± 2,01 ^a	32,17 ± 2,07 ^a
IPI	1,88 ± 0,10	1,64 ± 0,11	1,50 ± 0,11 ^a	1,65 ± 0,20	1,27 ± 0,15 ^a
CD19+	10,42 ± 1,18	8,91 ± 0,73	6,27 ± 0,50 ^{ab}	9,04 ± 0,96	6,25 ± 0,68 ^{ab}
CD16+	16,97 ± 1,07	20,56 ± 1,90	24,31 ± 1,77 ^a	19,67 ± 3,27	20,47 ± 3,11
CD56+	17,61 ± 1,43	24,88 ± 4,06	36,00 ± 6,29 ^a	22,72 ± 2,43	23,17 ± 6,29 ^{ac}
HLA-DR+	13,09 ± 0,79	11,65 ± 0,94	9,06 ± 0,82 ^{ab}	12,79 ± 1,17	9,00 ± 0,88 ^{ab}
CD95+	43,26 ± 3,65	52,47 ± 2,83 ^a	64,73 ± 2,71 ^{ab}	54,78 ± 3,64 ^a	75,34 ± 2,62 ^{abc}

Примітка. $p < 0,05$ відносно: а — групи донорів; б — показників до проведення радіоїодотерапії; с — показників хворих без віддалених метастазів.

на 25–30% відносно контрольних і вихідних значень показників виявлено у хворих обох груп. Встановлено, що ^{131}I спричиняє значне підвищення вмісту CD95+-лімфоцитів, принаймні в перші дні після опромінення. Вірогідне збільшення спостерігається в обох групах (на 23 і 38% відповідно), але за наявності метастазів показники суттєво вищі ($p < 0,001$). Високий рівень експресії Fas-рецептора (CD95) на мембрані лімфоцитів свідчить про збільшення імовірності апоптозу цих клітин.

Різниця значень імунологічних показників між групами, на наш погляд, може бути пов'язана з особливостями опромінення клітин крові за умов відсутності чи наявності легеневих метастазів. Так, при проведенні РІТ у хворих на ДРЩЗ після хірургічного лікування променеве навантаження на клітини периферичної крові, зумовлене, головним чином, бета-опроміненням ^{131}I , що циркулює в крові. Додаткове опромінення лімфоцитів крові за рахунок циркуляції в осередках гіперфіксації радіоїоду у тиреоїдному залишку вкрай мале, оскільки сумарні об'єми залишкової тканини ЩЗ після тиреоїдектомії незначні і складають у середньому $(4,9 \pm 0,2) \text{ см}^3$. Втім, при наявності дифузних легеневих метастазів ДРЩЗ із залученням більшої частини паренхіми, внесок променевого навантаження на клітини крові, яке відбувається під час їх циркуляції у малому колі кровообігу, в сумарну поглинуту дозу на кров, може бути досить значним. Осередки гіперфіксації радіоїоду, зумовлені віддаленими метастазами, також можуть збільшувати променеве навантаження за рахунок гамма-опромінення. Додатковими факторами, що пояснюють більшість імунологічних порушень у хворих з віддаленими метастазами, можуть також бути загальний стан хворих та більш тривалий перебіг захворювання.

Таким чином, проведеними дослідженнями встановлено, що вже на 6-ту добу після введення радіоїоду в лікувальних дозах спостерігаються значущі зміни в імунній системі пацієнтів. У хворих з метастазами у легені ступінь імунологічних порушень суттєво більший. Подальший імунологічний моніторинг хворих на РЩЗ, яким проведено лікування радіоактивним йодом, дасть можливість визначити тривалість порушень, терміни та повноту відновлення системи імунітету.

Отже, радіоїодотерапія призводить до суттєвих змін популяційного складу лімфоцитів периферичної крові хворих на рак щитоподібної залози обох груп (з метастазами у легені і без віддалених метастазів).

У хворих з метастазами в легені ступінь імунологічних порушень істотно більший.

Література

1. Cooper D.S., Doherty G.M., Haugen B.R. et al. // *Thyroid.* – 2009. – 19, № 11. – P. 1167–1214.
2. Robbins M. J., Pacini F., Schlumberger M. et al. // *Eur. J. Endocrin.* – 2005. – Vol. 153. – P. 651–659.
3. Gutierrez S., Carbonell E., Galofre P. et al. // *Eur. J. Nucl. Med.* – 1999. – Vol. 26, № 12. – P. 1589–1596.
4. Erselcan T., Sungu S., Ozdemir S. et al. // *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* – 2004. – Vol. 31, № 5. – P. 676–684.
5. M'Kacher R., Legal J., Schlumberger M. et al. // *J. Nucl. Med.* – 1996. – Vol. 37. – P. 1860–1864.
6. Ярилин А.А. *Основы иммунологии.* – М.: Медицина, 1999. – С. 479–486.
7. *Применение проточной цитометрии для оценки функциональной активности иммунной системы человека.* – М., 2001. – 53 с.

Г.В. Зелінська, Г.М. Кулініченко, Г.Я. Устименко
ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка АМН України», Київ

Цитоморфологічні особливості радіоїодорезистентних метастазів папілярного раку щитоподібної залози

Cytomorphological peculiarities of radioiodine-resistant metastases of papillary thyroid cancer

Summary. Cytomorphological study of the punctates from radioiodine-resistant metastases of papillary carcinoma (PC) of the thyroid gland (TG) obtained from 35 patients was performed. Cytomorphological picture of these punctates did not differ significantly from total PC population. Specific morphological structures, occurring in the punctates of radioiodine-resistant (RIR) metastases 2.6 times more frequently than in the general population of TG PC, were revealed. Comparative analysis of pathohistological conclusions of primary tumors and RIR metastases of TG PC was performed. It was shown that presence of necrotic changes in the primary tumor can be a prognostic factor of radioiodine resistance, while loss of follicular structures by RIR metastasis when compared with an ordinary tumor is a pathomorphological but not a cytomorphological manifestation of radioiodine resistance.

Key words: papillary carcinoma of thyroid gland, cytology diagnosis, radioiodine-resistant metastases.

Резюме. Проведено цитоморфологічне дослідження пунктатів радіоїодорезистентних метастазів папілярної карциноми (ПК) щитовидної залози (ЩЗ), отриманих від 35 пацієнтів. Цитоморфологічна картина таких пунктатів суттєво не отличалась від загальної популяції ПК. Заслуживают внимания специфические морфологические структуры, которые встречаются в пунктатах радиоїодорезистентных (РІР) метастазов в 2,6 раза чаще, чем в общей популяции ПК ЩЗ. Проведен сравнительный анализ патогистологических заключений первичных опухолей и РІР метастазов ПК ЩЗ. Показано, что наличие некротических изменений в первичной опухоли может быть прогностическим фактором радиоїодорезистентности. В то же время утрата РІР метастазом фолликулярных структур, по сравнению с первичной опухолью, является патоморфологическим, но не цитоморфологическим проявлением радиоїодорезистентности.

Ключевые слова: папілярная карцинома щитовидной железы, цитологическая диагностика, радиоїодорезистентные метастазы.

Ключові слова: папілярна карцинома щитоподібної залози, цитологічна діагностика, радіоїодорезистентні метастазы.

Головною проблемою в боротьбі з диференційованим раком щитоподібної залози (ЩЗ) є радіоїодорезистентні метастазы (РІРМ), які виникають в 2–25% випадків. Саме такі метастазы, клітини яких втрачають здатність до накопичення радіоїоду, не піддаються лікуванню цим радіофармпрепаратом, можуть неконтрольовано розповсюджуватися в організмі хворого та бути причиною смерті [1–3]. Тому актуальним є питання вивчення імуноцитохімічних, генетичних та морфологічних особливостей таких метастазів [4].

Існують певні уявлення про патоморфологічні прояви радіоїодорезистентності [5, 6]. Разом з тим немає інформації щодо цитоморфологічних досліджень РІРМ папілярної карциноми (ПК) ЩЗ. Ми провели такі дослідження і виявили деякі цитоморфологічні особливості цих метастазів.