

**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА  
«ІНСТИТУТ ЕНДОКРИНОЛОГІЇ ТА ОБМІНУ РЕЧОВИН  
ІМ. В.П. КОМІСАРЕНКА НАМН УКРАЇНИ»**

**Зелінська Ганна Володимирівна**

УДК 616.441-006.6-033.2-037:616-076:615.849.2:615.015.21

**ЦИТОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ РАДІОЙОДРЕЗИСТЕНТНОСТІ  
МЕТАСТАЗІВ ПАПІЛЯРНОГО РАКУ ЩИТОПОДІБНОЇ  
ЗАЛОЗИ ТА АЛГОРИТМ ЇХ ПЕРЕДОПЕРАЦІЙНОГО  
ПРОГНОЗУВАННЯ**

14.01.14 – ендокринологія

**АВТОРЕФЕРАТ**  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
доктора біологічних наук

**Київ – 2020**

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»

**Науковий консультант**

доктор біологічних наук, старший науковий співробітник  
**Божок Юрій Михайлович,**  
ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин  
ім. В.П. Комісаренка НАМН України»,  
провідний науковий співробітник лабораторії  
ультразвукової та функціональної діагностики

**Офіційні опоненти:**

доктор біологічних наук, старший науковий співробітник  
**Малова Наталія Георгіївна,**  
ДУ «Інститут проблем ендокринної патології  
ім. В.Я. Данилевського»,  
завідувачка лабораторії фармакології

доктор медичних наук, професор  
**Власенко Марина Володимирівна,**  
Вінницький національний медичний  
університет ім. М.І. Пирогова,  
завідувачка кафедри ендокринології

доктор медичних наук, старший науковий співробітник  
**Хоперія Вікторія Геннадіївна,**  
ННЦ «Інститут біології і медицини» Київського  
університету ім. Т.Г. Шевченка,  
завідувачка кафедри фундаментальної медицини

Захист відбудеться « 15 » грудня 2020 року о 13.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.558.01 у ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України» за адресою: 04114, м. Київ, вул. Вишгородська, 69

З дисертацією можна ознайомитись в бібліотеці ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України» за адресою: 04114, м. Київ, вул. Вишгородська, 69

Автореферат розісланий « 12 » листопада 2020 року

**Вчений секретар**  
спеціалізованої вченої ради,  
кандидат біологічних наук



**І.В. Гончар**

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** Актуальність проблеми визначається тим, що попри сприятливий прогноз для більшості хворих на диференційований рак щитоподібної залози (ЩЗ), в 4-20% випадків з'являються радіоїодрезистентні метастази (РЙРМ), клітини яких не здатні до накопичення радіоїоду (РЙ), і радіоїодтерапія (РЙТ) для них є неефективною (Haugen B et al., 2016; Pacini F et al., 2012). Втрата раками ЩЗ здатності до накопичення РЙ корелює з виживанням хворих, середня медіана виживання знижується до 2,5-3,5 року в пацієнтів із віддаленими РЙРМ (Worden F et al., 2014; Vaisman F et al., 2015). Відомо, що пізнє виявлення метастазів різко погіршує показники виживання хворих на рак ЩЗ (Эпштейн ЕВ і соавт., 2000). Тому актуальними залишаються питання прогнозування, вчасної діагностики та лікування РЙРМ раку ЩЗ. Стандартними способами діагностики РЙРМ диференційованого раку ЩЗ є визначення рівня тиреоглобуліну, ультразвукове дослідження та сцинтиграфія з радіофармпрепаратом Тс-МІВІ (Rubello D, 2000). Найбільш раннє прогнозування та діагностику РЙРМ папілярного раку щитоподібної залози (ПРЩЗ) можна здійснювати на передопераційному етапі за умови виявлення характерних цитологічних ознак на підставі комплексного вивчення клініко-біологічних особливостей цих метастазів. Проте шляхів вирішення цієї проблеми на передопераційному рівні сьогодні ще не знайдено.

Існують суперечливі дані щодо кореляції деяких морфологічних та імуногістохімічних показників із радіоїодрезистентністю. За даними низки авторів із радіоїодрезистентністю та несприятливим прогнозом карцином ЩЗ корелюють такі патоморфологічні особливості, як певна архітектура пухлини, оксифілія клітин, некротичні зміни, високий мітотичний індекс (Deandreis D et al., 2011; Rivera M et al., 2008; Worden F et al., 2014). Існує безліч систем прогнозування поведінки раку ЩЗ, що ґрунтуються на загальноклінічних (вік і стать пацієнта, розмір пухлини) та гістологічних (наявність і розповсюдженість інвазійного росту пухлини, кількість метастазів, гістологічна архітектура пухлини тощо) характеристиках (Jatin P et al., 2015; Wassermann J et al., 2015).

Останнім часом дослідники приділяють дедалі більше уваги розробці методів прогнозування поведінки раку ЩЗ, вивчаючи морфологічні, імуногістохімічні та молекулярні особливості клітин ПРЩЗ (Antonelli A et al., 2010; Mian C et al., 2008). Прикладом використання імуногістохімічного маркера для прогнозування радіоїодрезистентності є виявлення антигену натрій-йод-симпортеру (NIS) на гістологічних препаратах ПРЩЗ (Min J et al., 2001; Chung JK et al., 2010). Водночас у третини пацієнтів тканина метастазів накопичувала РЙ попри відсутність експресії NIS. Крім того показано, що РЙТ була ефективною лише для 80,0% пацієнтів із наявністю експресії NIS (Hyun-Joo Park et al., 2009; Chung JK et al., 2010). Описані методи застосовують для дослідження поопераційного гістологічного матеріалу, коли вплинути на хід оперативного втручання вже неможливо. За цими методами неможливо передбачення статусу щодо чутливості або резистентності до РЙ поопераційних метастазів без їх

видалення. Водночас велику зацікавленість вчених і клініцистів викликає можливість передбачення поведінки пухлин саме на передопераційному етапі. Для прогнозування агресивної клінічної поведінки, появи рецидивів і радіоїодрезистентності ПРЦЗ запропоновано використання такого молекулярного маркера, як мутація гена  $BRAF^{V600E}$  у пункційному матеріалі первинних ПРЦЗ (Czarniecka A et al., 2016; Changjiao Yan et al., 2019). Є дані, що 79,0% РЙРМ мають мутацію  $BRAF^{V600E}$ , водночас така мутація відсутня в 82,0% метастазів, які накопичують РЙ. Висока частота даної мутації у РЙРМ робить  $BRAF^{V600E}$  привабливою мішенню для індукції загибелі трансформованих клітин та/або відновлення поглинання РЙ (Rothenberg SM et al., 2015; Honglai Zhang et al., 2018). З іншого боку, результати деяких мультиваріантних аналізів не підтвердили прогностичної цінності статусу  $BRAF^{V600E}$ , тобто існують досить суперечливі результати щодо можливості використання цього маркера як прогностичного чинника радіоїодрезистентності раку ЩЗ (Xing M et al., 2009; Barollo S et al., 2010). Наразі методи молекулярної біології не вирішують проблеми прогнозування радіоїодрезистентності раку ЩЗ, вимагають вартісного обладнання й навряд чи можуть бути використаними в практичній поточній діяльності українських клінік.

Нечисленні імуногістохімічні дослідження гістологічного матеріалу РЙРМ демонструють значну редукцію в їх тканині вмісту тиреоглобуліну (Тг) і тиреоїдної пероксидази (ТПО) та їх мРНК (Mian C et al., 2008; Chen Wang et al., 2017; Boris Bätge et al., 1992). Суперечливість літературних даних щодо кореляції рівня експресії ТПО та Тг із йоднакопичувальною здатністю метастазів тиреоїдних карцином, відсутність результатів наукових досліджень експресії цих антигенів у матеріалі пункційних біопсій метастазів ПРЦЗ обумовлюють необхідність проведення такого дослідження.

Водночас описано багато прикладів успішного передопераційного прогнозування поведінки пухлин для вибору адекватної терапії з використанням матеріалу, отриманого за допомогою тонкоголкової аспіраційної пункційної біопсії (ТАПБ) злоякісних новоутворень різної локалізації (визначення гормонального статусу пухлин молочної залози, диференційна діагностика лімфом тощо) (Eckhardt S et al., 2016; Gonzalo Jr Recond et al., 2014; Balázs Ács et al., 2017; Зелінська ГВ, 2018). Саме дослідження, проведені на матеріалі ТАПБ РЙРМ ПРЦЗ, можуть виявити цитологічні особливості їх клітин і дозволять розробити нові ефективні методи передопераційного прогнозування радіоїодрезистентності. Такі методи можуть дати клініцистам інструменти раннього прогнозування поведінки пухлин і можливого розвитку радіоїодрезистентності та допомогти визначити адекватну тактику лікування. Відсутність наукових даних про особливості клітин РЙРМ ПРЦЗ спонукала до проведення комплексного дослідження з метою виявлення їх цитологічного, імуноцитохімічного та цитохімічного профілю, на підставі чого можливо розробляти методи передопераційного прогнозування радіоїодрезистентності.

**Зв'язок роботи з науковими програмами і темами.** Дисертаційну роботу виконано в Державній установі «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка» НАМН України згідно з планом науково-дослідних робіт.

Вона є фрагментом науково-дослідних робіт: «Діагностика і клінічна оцінка лікування регіонарних та віддалених метастазів диференційованого раку щитоподібної залози у хворих, які були дітьми або підлітками на момент аварії на ЧАЕС», (2014-2016 рр., номер державної реєстрації 0114U002153), «Удосконалення методів діагностики папілярних карцином щитоподібної залози та прогнозування розвитку метастатичного процесу для вибору тактики адекватного його лікування» (2017-2019 рр., номер державної реєстрації 0117U000476).

**Мета та завдання дослідження.** Метою роботи було з'ясування ролі порушень експресії та активності антигенів клітин папілярного раку щитоподібної залози та його метастазів у розвитку первинної і вторинної радіоїодрезистентності та розробка методів передопераційного прогнозування радіоїодрезистентності і ефективності радіоїодтерапії метастазів папілярного раку щитоподібної залози на підставі виявлення цитологічних, цитохімічних, а також імуноцитохімічних особливостей їх клітин у матеріалі тонкоголкових аспіраційних пункційних біопсій.

Для досягнення цієї мети було поставлено такі завдання:

- Виявити взаємозв'язки між морфологічними характеристиками ПРЦЗ та їх радіоїодрезистентністю.
- Провести порівняльне цитологічне дослідження популяцій тиреоцитів пунктатів РЙРМ, радіоїодчутливих метастазів (РЙЧМ) і первинних ПРЦЗ.
- Провести аналіз експресії ТПО в пунктатах первинних ПРЦЗ залежно від їх метастазування в поопераційний період.
- Провести співставлення вмісту ТПО-позитивних клітин в пунктатах первинних папілярних раків ЩЗ та їх метастазів, виявлених до проведення тиреодектомії.
- Провести порівняльний аналіз експресії ТПО в пунктатах поопераційних РЙРМ і РЙЧМ ПРЦЗ, використовуючи імуноцитохімічні та цитохімічні методи.
- Дослідити взаємозв'язок між експресією ТПО та ефективністю радіоїодтерапії ПРЦЗ.
- Дослідити експресію Тг у клітинах пунктатів поопераційних метастазів ПРЦЗ залежно від їх радіоїодрезистентності.
- Визначити особливості проліферативної активності епітелію РЙРМ порівняно з такою РЙЧМ і загальної популяції метастазів ПРЦЗ за допомогою моноклональних антитіл Ki-67.
- Проаналізувати експресію цитокератину-17 (ЦК-17) у пунктатах поопераційних метастазів ПРЦЗ залежно від їх радіоїодрезистентності.
- Визначити цитологічні та імуноцитохімічні особливості рецидивуючих ПРЦЗ із багаторазовим метастазуванням.
- Дослідити цитологічні зміни та зміни експресії ТПО, Тг і ЦК-17 у матеріалі ТАПБ за умов втрати чутливості до радіоїоду поопераційних метастазів ПРЦЗ у динаміці розвитку його вторинної радіоїодрезистентності.

- На підставі отриманих даних розробити методи передопераційного прогнозування радіюдрезистентності ПРЦЗ та ефективності радіюдтерапії.

*Об'єкт дослідження* – радіюдрезистентність папілярного раку щитоподібної залози.

*Предмет дослідження* – цитологічні, цитохімічні, імуноцитохімічні характеристики метастазів папілярного раку щитоподібної залози в залежності від їх здатності до накопичення радіюду, зміни цих характеристик в процесі розвитку первинної, вторинної радіюдрезистентності та багаторазового метастазування, цитологічні та імуноцитохімічні характеристики первинного папілярного раку щитоподібної залози в залежності від метастазування в поопераційний період.

*Методи дослідження:* цитологічні – для дослідження субклональної структури популяцій тиреоцитів матеріалу ТАПБ папілярного раку щитоподібної залози та їх метастазів (РЙРМ і РЙЧМ); імуноцитохімічні (ІЦХ) – для дослідження змін експресії певних антигенів за умов розвитку первинної та вторинної радіюдрезистентності папілярного раку щитоподібної залози, а також багаторазового метастазування папілярного раку щитоподібної залози; цитохімічні (ЦХ) – для дослідження активності тиреоїдної пероксидази за умов розвитку радіюдрезистентності, для перетравлення РНК; математичні – для статистичної обробки отриманих результатів.

**Наукова новизна отриманих результатів.** Вперше виявлено зміни, які відбуваються в процесі розвитку первинної та вторинної радіюдрезистентності та багаторазового метастазування ПРЦЗ, що дозволило вирішити актуальну проблему сучасної ендокринології – розробити новий підхід до передопераційного прогнозування радіюдрезистентності та передопераційного прогнозування ефективності радіюдтерапії ПРЦЗ.

Вперше продемонстровано фенотипову гетерогенність популяції тиреоцитів в матеріалі ТАПБ РЙРМ, що відрізняє їх від РЙЧМ ПРЦЗ. Вперше виявлено клітинні субпопуляції, які відрізняються від інших тиреоцитів за ІЦХ і цитологічними характеристиками. Показано, що їх наявність у пунктатах ПРЦЗ корелює з частотою появи регіонарних метастазів у поопераційний період, що може бути використано для передопераційного прогнозування поведінки ПРЦЗ.

Вперше показано, що частота мікроядер в епітелії пунктів метастазів ПРЦЗ не залежить від їх здатності накопичувати радіюд та його активності. Показано, що мікроядра трапляються в епітелії пунктів РЙРМ вірогідно частіше, ніж у загальній групі ПРЦЗ.

Вперше показано, що радіюдрезистентність метастазів ПРЦЗ корелює з наявністю цитологічних ознак кістозної дегенерації в метастазах, виявлених у поопераційний період, що може використовуватись як новий метод передопераційного прогнозування радіюдрезистентності та ефективності радіюдтерапії (отримано патент на корисну модель).

Виявлено кореляційний зв'язок між вмістом тиреоцитів із ТПО в пунктатах первинного ПРЦЗ і наявністю метастазів в обстежених у поопераційний період,

що може бути використано для прогнозування поведінки ПРЩЗ у поопераційний період.

Співставлення вмісту ТПО-позитивних клітин в пунктатах первинних ПРЩЗ та їх регіонарних метастазів, виявлених перед проведенням тиреодектомії, продемонструвало відсутність збігів їх відсотків у більшості випадків. При прогнозуванні поопераційної поведінки ПРЩЗ, має сенс враховувати вміст ТПО-позитивних клітин в пунктатах ПРЩЗ або відсутність антигену в пунктатах як ПРЩЗ, так їх метастазів.

Вперше продемонстровано значущу різницю між експресією ТПО та Тг у пунктатах радіоїодрезистентних і радіоїодчутливих метастазів ПРЩЗ. Показано, що ефективність радіоїодтерапії залежить від експресії ТПО в пунктатах метастазів ПРЩЗ, на підставі чого розроблено новий метод передопераційного прогнозування радіоїодрезистентності метастазів ПРЩЗ (отримано патент на корисну модель). Вперше проведено визначення експресії ТПО в пунктатах метастазів ПРЩЗ за допомогою як імуноцитохімічних, так і цитохімічних методів, продемонстровано можливість використання обох методів для передопераційного прогнозування радіоїодрезистентності метастазів.

Вперше показано, що проліферативна активність клітин РЙРМ не відрізняється від такої клітин РЙЧМ і загальної групи ПРЩЗ. Показано, що на відміну від первинних ПРЩЗ, для метастазів, виявлених у поопераційний період, відсутня кореляція між радіоїодрезистентністю та експресією ЦК-17.

Вперше продемонстровано зміни цитологічних та імуноцитохімічних характеристик тиреоцитів, які відбуваються в процесі повторного метастазування рецидивуючих ПРЩЗ, та виявлено тенденцію до втрати ними ознак диференціації (достовірне зниження експресії ТПО та Тг, поява фенотипової гетерогенності популяції тиреоцитів у пунктатах вторинних метастазів порівняно з первинними).

Вперше виявлено цитологічні та імуноцитохімічні зміни в динаміці розвитку вторинної радіоїодрезистентності метастазів ПРЩЗ. Продемонстровано значущу редукцію експресії ТПО та Тг, а також появу певних фенотипів і клітинних структур за умов втрати здатності до накопичення радіоїоду у процесі розвитку вторинної радіоїодрезистентності метастазів ПРЩЗ.

За результатами роботи розроблено алгоритм передопераційного прогнозування радіоїодрезистентності ПРЩЗ.

**Практичне значення отриманих результатів.** Виявлення особливостей антигенного профілю клітин РЙРМ ПРЩЗ дозволило вперше розробити методи передопераційного прогнозування радіоїодрезистентності та ефективності радіоїодтерапії ПРЩЗ, які можна впровадити в роботу спеціалізованих ендокринологічних закладів і відділень. Розроблені методи є швидкими, простими у використанні та дозволяють визначити персоніфіковану тактику моніторингу та лікування пацієнтів із ПРЩЗ – позбавити пацієнтів із РЙРМ зайвих курсів радіоїодтерапії, а для пацієнтів із метастазами, які накопичують радіоїод, застосувати радіоїодтерапію замість операції.

Результати досліджень впроваджено в практику та використовуються в роботі ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка

НАМН України», ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України», Національного Інституту раку.

**Особистий внесок здобувача.** Безпосередньо автором здійснено інформаційно-патентний пошук та аналіз даних наукової літератури за темою дисертації, самостійно визначено тему, мету та завдання дослідження, вивчено та узагальнено матеріали вітчизняної й зарубіжної літератури щодо означеної тематики. Автор самостійно здійснила відбір хворих і розподіл їх по групах. Автор самостійно проводила нативний аналіз цитологічних препаратів пацієнтів, виконала цитологічні, ЦХ та ІЦХ дослідження. Дослідження субклональної структури популяції епітелію ПРЦЗ проведено автором за участю д. б. н. Ю.М. Божка та д. б. н. А.Г. Ніконенко. Дисертант особисто досліджувала субклональну структуру популяції епітелію пунктів поопераційних метастазів (РЙРМ і РЙЧМ) і ПРЦЗ. Автор самостійно проводила визначення експресії Тг, антигенів проліферуючих клітин і ЦК-17 у матеріалі пунктів РЙРМ ПРЦЗ та особисто досліджувала особливості цитологічного та ІЦХ профілю багаторазово метастазуючих ПРЦЗ. Дисертант самостійно визначала цитологічні зміни та зміни експресії антигенів у процесі розвитку вторинної радіоодрезистентності метастазів.

Дисертант особисто виконала статистичну обробку отриманих даних із застосуванням сучасних статистичних програм, проаналізувала та узагальнила отримані результати, оформила дані власних досліджень у вигляді таблиць і рисунків, здійснила підготовку матеріалів для наукових публікацій. Сформулювала висновки, обґрунтувала практичні рекомендації, підготувала до друку наукові праці, матеріали для виступів на науково-практичних конференціях. Усі наукові узагальнення, положення, результати, висновки та рекомендації, викладені в дисертації, виконано автором особисто.

Дисертантом самостійно розроблено та втілено в практичну діяльність метод передопераційного прогнозування РЙРМ ПРЦЗ, виявлених у поопераційний період, на підставі визначення в матеріалі їх пунктів експресії ТПО та Тг, а також метод передопераційного прогнозування радіоодрезистентності ПРЦЗ на підставі виявлення в пунктах поопераційних метастазів цитологічної ознаки кістозної дегенерації.

Патогістологічний діагноз досліджених новоутворень встановлено в лабораторії морфології ендокринної системи (завідувач – д. б. н., проф. Т.І. Богданова). Статистичний аналіз проведено за допомогою к. мат. н. Н.Б. Білоусової.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертаційної роботи доповідалися та обговорювалися на науково-практичних форумах і конференціях різного рівня: науково-практичних конференціях із міжнародною участю «Сучасні досягнення ядерної медицини» (Дніпро, 2009 р., Київ, 2010 р., Одеса, 2011 р., Вінниця, 2012 р., Львів, 2012 р., Івано-Франківськ, 2014 р., Ужгород, 2015 р., Полтава, 2016 р., Кропивницький, 2017 р., Чернівці, 2018 р., Хмельницький, 2019 р., Кам'янець-Подільський, 2020 р.; форма участі – усна доповідь і публікація тез), II конгресі асоціації ендокринологів України (Київ, 2012 р.; форма участі – усна доповідь, публікація тез), науково-практичній



конференції «Новоутворення щитоподібної залози: проблеми діагностики, лікування, диспансеризації» (Яремча, 2013 р.; форма участі – усна доповідь), VIII з'їзді Асоціації ендокринологів України (Київ, 2014 р.; форма участі – публікація тез, усна доповідь), науково-практичному семінарі «Актуальні питання цитологічної діагностики пухлин» (Київ, 2014 р., форма участі – усна доповідь), міжнародній конференції «Радіологічні та медичні наслідки Чорнобильської катастрофи – тридцять років потому» (Київ, 2016 р., форма участі – публікація тез), III, IV Прикарпатських хірургічних форумах (Яремча, 2016, 2017 рр., форма участі – усна доповідь), I з'їзді Української асоціації цитопатологів (Київ, 2017 р.; форма участі – усна доповідь), науково-практичному міждисциплінарному семінарі (Київ, 2018 р.; форма участі – усна доповідь), XXIV з'їзді хірургів України (Київ, 2018 р., форма участі – усна доповідь), науково-практичній конференції «Сьогодення та майбутнє лабораторної медицини» (Київ, 2014, 2017, 2018 рр.; форма участі – усна доповідь), науково-практичній конференції «Сучасні досягнення науки в медичній практиці» (Київ, 2019 р.; форма участі – усна доповідь), науково-практичній конференції з міжнародною участю «Морфологічна (цитологічна та гістологічна) діагностика пухлин основних локалізацій із використанням сучасних методів досліджень» (Київ, 2019 р., форма участі – усна доповідь), IX з'їзді Асоціації ендокринологів України (Харків, 2019 р.; форма участі – усна доповідь, публікація тез), науково-практичній конференції в рамках освітнього проекту «Школа ендокринолога» (Київ, 2020 р.; форма участі – усна доповідь).

**Публікації.** За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 45 наукових праць: 21 стаття (13 – одноосібно, 8 – у співавторстві), з них 18 – у фахових наукових виданнях України, 3 – у наукометричних виданнях інших держав, із 21 статті 3 включено до наукометричної бази SCOPUS, 12 – до інших міжнародних наукометричних баз; 5 праць опубліковано в наукових збірниках і матеріалах міжнародних та українських наукових конференцій, з'їздів, конгресів, отримано 2 патенти на корисну модель, видано 1 інформаційний лист.

**Обсяг і структура дисертації.** Роботу викладено на 370 сторінках машинописного тексту. Дисертація містить анотації (двома мовами), список публікацій здобувача, основну частину (вступ, огляд літератури, розділ матеріалів і методів, 6 розділів власних спостережень, аналіз та узагальнення результатів дослідження, висновки, практичні рекомендації), додатки та список використаних джерел. Обсяг основного тексту дисертації складає 272 сторінки друкованого тексту. Роботу ілюстровано 21 таблицями та 80 рисунками. Список використаних джерел містить 331 посилання, з яких 35 кирилицею та 296 латиницею.

## **ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

**Матеріали та основні методи дослідження.** У роботі використано матеріал, отриманий шляхом ТАПБ новоутворень ЩЗ та їх метастазів під контролем сонографії у 520 пацієнтів чоловічої та жіночої статі віком від 8 до 71 років, які проходили обстеження, хірургічне лікування та РЙТ у клініці ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України» в період

із 2003 до 2020 року. До дослідної групи включено матеріал карцином та їх метастазів від 488 хворих із верифікованим діагнозом ПРЩЗ, яким виконували тиреоїдектомію з дисекцією лімфовузлів шиї, поопераційну РЙТ і супресивну гормональну терапію L-тироксинам, а також 12 медулярних карцином і 20 доброякісних новоутворень ЩЗ, які використовували як контрольні групи. Після планової РЙТ проводили ТАПБ підозрілих за ультразвуковими характеристиками на метастатичні лімфатичних вузлів шиї з наступним цитологічним дослідженням на предмет підтвердження наявності метастазів ПРЩЗ.

Серед 3 614 ПРЩЗ, виявлених за 17 років спостереження в клініці ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», цитологічно встановлено 166 РЙРМ, підтверджених гістологічно, питома вага яких склала 4,6% від загальної кількості ПРЩЗ. В даній роботі був використаний матеріал 147-ми з цих РЙРМ. Загальну характеристику дослідженого матеріалу наведено в таблицях 1 і 2.

Таблиця 1

**Загальна характеристика матеріалу дослідження, n (%)**

Показник	Доброякісні новоутворення	ПРЩЗ	Метастази доопераційні	Метастази поопераційні	Медулярні карциноми
Кількість пацієнтів, n	20	488	129	193	12
Вік, роки	49,2±14,7	33,7±13,2	33,2±12,8	33,1±12,0	50,0±12,8
Жінки, n (%)	15 (75,0)	390 (80,0)	92 (71,4)	149 (77,2)	8 (66,7)
Чоловіки, n (%)	5 (25,0)	98 (20,0)	37 (28,6)	44 (22,8)	4 (33,3)
Цитологічне дослідження тиреоцитів, n	20	149	42	126	12
Аналіз морфологічних ознак, n	-	287	129	55	12
Імуноцитохімічне дослідження, n	20	281	66	126	12

Цитологічні дослідження проводили на матеріалі пунктатів, отриманих шляхом ТАПБ, які висушували на повітрі та фіксували метанолом впродовж 5 хвилин і забарвлювали впродовж 30 хвилин за методом Романовського.

Цитогенетичні дослідження мікроядер проводили на цитологічних препаратах, забарвлених за Романовським, підраховуючи від 500 до 1000

епітеліоцитів у пунктаті. Підраховували відсоток тиреоцитів, що містили мікроядра, які визначали відповідно до загальноприйнятих критеріїв.

ІЦХ дослідження проводили на пунктатах, фіксованих метанолом і забарвлених за методом Романовського, після проведення реакції відновлення активності антигенів. Пунктати обробляли 0,1% розчином трипсину, виготовленим на PBS (рН=7,4) впродовж 60 секунд, після чого промивали та обробляли 1% оцтовою кислотою впродовж 10 хвилин, після чого промивали дистильованою водою. Для пригнічення ендогенної пероксидази пунктату препарати обробляли 1% розчином  $H_2O_2$  у PBS впродовж 30 хвилин, після чого промивали.

Таблиця 2

### Характеристика матеріалу дослідження, n (%)

Показник	ПРЦЗ без метастазування	РЙРМ	РЙЧМ	Вторинно РЙРМ	Багато-разове метастазування
n	155	147	46	15*	12**
Вік (на момент операції)	34,15± 12,6	34,59± 12,54	31,38 ± 11,48	34,6± 11,8	45,4± 18,8
Жінки	119 (76,8)	114 (77,6)	35 (86,1)	11 (73,3)	8 (66,7)
Чоловіки	36 (23,2)	33 (22,4)	11 (23,9)	4 (26,7)	4 (33,3)
Цитол. дослідж. тиреоцитів	149	94	32	15	12
ІЦХ визначення ТПО	38	94	32	15	12
ІЦХ визначення ТПО	25	20	15		
ІЦХ визначення Тг	30	59	22	15	12
ІЦХ визначення Ki-67	29	27	11	10	10
ІЦХ визначення ЦК-17	35	25	13	10	10

Примітки: \* – 30 досліджень (стадії накопичення РЙ і стадії втрати здатності до накопичення РЙ кожного метастазу); \*\* – 26 досліджень (первинних і повторних метастазів кожного пацієнта даної групи).

На наступному етапі проводили ІЦХ реакцію виявлення антигенів непрямим імунопероксидазним методом за допомогою моноклональних антитіл (МКАТ) миші проти досліджуваних антигенів. Робоче розведення антитіл у співвідношенні від 1:50 до 1:100 готували на розчині PBS, інкубацію проводили впродовж 40 хвилин за температури 30°C. Як антитіла другого шару використовували МКАТ проти гамма-глобулінів миші (DakoCytomation, Данія) та МКАТ проти гамма-глобулінів кроля, мічені пероксидазою хрому (DakoCytomation, Данія). Робоче розведення мічених антитіл робили на PBS із 1% сироватки людини. В роботі

використано МКАТ до Тг – клон RBU/01 (Sigma, США) та клон DAK-Tg 6 (DakoCytomation, Данія); до ТПО (MoAb47, DakoCytomation, Данія); до Pan Cytokeratin (ЦК- 1, 4, 5, 6, 8, 10, 13, 18, 19) (Sigma, США); до ЦК-8 – клон H1 (DakoCytomation, Данія), клон M20, Sigma, США); до ЦК-17 – клон E3 (DakoCytomation, Данія); до ядерного протеїну проліферуючих клітин Ki-67 (Clone MIB-1, DakoCytomation, Данія); до ЦК-7 – клон OV-TL 12/30, DakoCytomation, Данія); до ЦК-20 – клон K20.8, DBS, США); до антигенів епітеліальних клітин – клон Ber-EP4, DakoCytomation, Данія); до макрофагальних антигенів (CD68) – клон EBM11, DakoCytomation, Данія). Для визначення кальцитоніну використовували поліклональні антитіла кроля (DakoCytomation, Данія).

Візуалізацію локалізації антигенів проводили за допомогою розчину хромогену – 3,3-діамінобензидину (Sigma, США), 1 мг реагенту розчиняли в 3 мл PBS, до якого додавали 10 мкл 6% розчину  $H_2O_2$ . Після проведення ІЦХ реакції ядра клітин забарвлювали розчином гематоксиліну. Для визначення вмісту антигенів підраховували щонайменше 1000 тиреоцитів у пунктаті та визначали відсоткове співвідношення антиген-позитивних та антиген-негативних тиреоцитів. Як позитивний контроль ІЦХ реакції використовували пунктати вузлового зоба ЩЗ, як негативний контроль – інші ділянки препаратів, на яких проводили дослідження, не наносячи перші антитіла, або антитіла проти антигену, який не міститься в досліджуваних клітинах.

ІЦХ виявлення активності ТПО в епітелії матеріалу ТАПБ проводили за допомогою модифікованого нами бензидинового методу. Для цього нефіксований пунктат із достатньою кількістю епітелію висушували на повітрі, обробляли буфером Трис-НСІ (рН 6-6,15) протягом декількох секунд, після чого буфер зливали, пунктат висушували. Наносили розчин 0,1%  $NH_4Mo$ , (на 0,85% фізіологічному розчині) на 10 хвилин у холодильнику, після чого розчин зливали. Наносили реакційну суміш такого складу: 1 мг бензидину розчиняли в 0,3 мл диметилформаміду або ацетону, 1,5 мл буферу Трис-НСІ (рН 6-6,15), 1,9 мкл  $H_2O_2$ , 10 мкл EDTA і 10 мкл насиченого розчину  $NH_4Cl$ . Через 5 хвилин пунктат промивали дистильованою водою та висушували. В результаті проведеної реакції активність ТПО виявлялася в цитоплазмі тиреоцитів у вигляді яскравого зелено-синього гранульованого забарвлення, причому ядра клітин залишалися незабарвленими. Для запобігання знебарвленню з часом препарати зберігали в морозильній камері за температури  $-20^{\circ}C$ . Як позитивний контроль реакції використовували відбитки тканини дифузного токсичного зоба. Як негативний контроль використовували відбитки тканини медулярної карциноми, в клітинах якої активність ТПО відсутня, або пунктати, фіксовані метанолом, який пригнічує активність ферменту. Визначення локалізації РНК у клітинах ПРЩЗ і його метастазів проводили на забарвлених за Романовським пунктатах за допомогою перетравлення РНК-азою (SIGMA, 1 мг/10 мл, 1 год. за  $37^{\circ}C$ ), після обробки пунктатів 5% оцтовою кислотою для екстракції з препаратів барвників. Після перетравлення РНК-азою пунктати знов забарвлювали за Романовським. Частина цитологічних, ІЦХ і ЦХ досліджень (15 досліджень) проводили на відбитках тканини ПРЩЗ та їх метастазів.

Результати, отримані впродовж дослідження, обробляли статистично за допомогою методів варіаційної статистики. Статистичне опрацювання даних виконували, використовуючи непараметричний метод Манна-Уїтні, критерій Вілкоксона, критерій знаків, критерій  $\chi^2$ , метод кореляційного аналізу. Розрахунки виконано в пакеті Statistica 10. Порівняння частотних характеристик якісних параметрів між дослідженими групами ґрунтувалося на можливості використання непараметричного критерію Хі-квадрат ( $\chi^2$ ). Якщо ознака виявлялася в будь-якій із груп порівняння у менше ніж 10 випадках, використовували поправку Йетса на безперервність. Критерій знаків дозволяє здійснити статистичне порівняння якісних ознак в одних і тих самих пацієнтів. Оскільки вибірки мали характер ненормального розподілу, статистичну вірогідність оцінювали за допомогою непараметричного рангового критерію Мана-Уїтні, який дозволяє порівняти дві незалежні вибірки. Різницю в результатах вважали вірогідною за  $p < 0,05$ . Визначали медіану як міру середньої тенденції, квартильний розмах (діапазон, куди потрапляють 50% значень навколо медіани) та розмах варіації як міру неоднорідності по кожній із досліджених груп. Результати досліджень наведено у вигляді діаграм розмаху. Критерій Вілкоксона використовували для статистичного порівняння кількісних ознак в одних і тих самих пацієнтів. Для здійснення кореляційного аналізу між досліджуваними параметрами застосовували рангові коефіцієнти кореляції Спірмена або гама-кореляції для порядкових або ненормально розподілених даних.

Дослідження виконано з дотриманням основних принципів Гельсінської декларації 1964 року з поправками щодо біомедичних досліджень і положень GCHICH із дотриманням етичних принципів і рекомендацій із залученням людей як суб'єктів, викладених у Белмонтській доповіді. Протоколи дослідження погоджено Локальним етичним комітетом для всіх учасників. Дизайн дослідження передбачав дотримання принципів конфіденційності та поваги особистості хворого, концепції інформованої згоди, врахування переваг користі над ризиком шкоди й інших етичних принципів щодо людей, які виступають суб'єктами досліджень.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Попри існуючі літературні дані щодо кореляції деяких гістологічних особливостей тиреоїдних карцином з їх агресивною поведінкою не отримано чіткої уяви про морфологічні особливості ПРЦЗ у хворих із наявністю РЙРМ. Тому в даній роботі проведено порівняльне дослідження наявності певних гістологічних характеристик у патоморфологічних висновках для таких груп пухлин – первинного папілярного раку (ППР) ЩЗ пацієнтів, у яких розвивалися з часом РЙРМ (102 випадки), ППРЩЗ пацієнтів, у яких з'являлися РЙЧМ (30 випадків), загальної групи ПРЦЗ без розвитку метастазів у поопераційний період (155 випадків), груп метастазів, виявлених під час проведення операції (129 випадків), і РЙРМ (55 випадків). Проаналізовано наявність гістологічних ознак, які, за даними літератури, мали відношення до агресивної поведінки ПРЦЗ – фолікулярних структур, некротичних та оксифільноклітинних змін (Deandreis D et al., 2011; Rivera M et al., 2008). У даному дослідженні не виявлено достовірної різниці в частоті виявлення в гістологічному

матеріалі таких ознак, як некротичні та оксифільноклітинні зміни, а також наявності фолікулярних структур, між досліджуваними групами ППРЩЗ. Отже, ці ознаки неможливо розглядати як асоційовані з розвитком радіоїодрезистентності ПРЩЗ. Водночас фолікулярні структури траплялися вірогідно рідше, а оксифільні зміни – частіше в групі РЙРМ порівняно з показниками метастазів цих пацієнтів, виявлених під час операції ( $p < 0,05$ ). Факт втрати фолікулярних структур метастазами з розвитком радіоїодрезистентності ПРЩЗ можна розцінювати як прояв зниження ступеня диференціювання внаслідок прогресії пухлини. Такі дані знаходять підтвердження в літературі та свідчать, що карциноми ЩЗ, тканини яких втрачають фолікулярні структури, втрачають і здатність ефективно концентрувати та зберігати йод протягом тривалого часу (наприклад, метастази солідної будови) (Boris Bätge et al., 1992).

Незважаючи на численні дослідження, питання кореляції ознак агресивності ПРЩЗ з їх радіоїодрезистентністю висвітлено недостатньо. Тому завданням даного фрагменту роботи було дослідження кореляції розвитку радіоїодрезистентності та наявності таких ознак агресивності ППРЩЗ, як інвазія в капсулу залози, інвазія в капсулу пухлини, інвазія в судини (лімфатичні та кровоносні), інтратиреоїдне та екстратиреоїдне розповсюдження пухлинного росту, наявність метастазів на момент проведення операції, наявність багатофокусного росту й інтра- та перитуморального тиреоїдиту. Проведено порівняння груп пацієнтів із ПРЩЗ, у яких із часом було виявлено РЙРМ (102 випадки) з групою пацієнтів, у яких не було зафіксовано рецидивів або метастазів (155 випадків) у поопераційний період після тиреоїдектомії та РЙТ протягом 5-10 років спостереження за частотою характеристик агресивності ППРЩЗ. Всі РЙРМ пропунктовано та досліджено цитологічно.

За результатами статистичного аналізу за непараметричним критерієм  $\chi^2$  виявлено вірогідну різницю між групами порівняння за такими показниками, як наявність інвазійного росту карциноми в капсулу пухлини ( $p = 0,0009$ ), наявність інвазійного росту карциноми в капсулу залози ( $p = 0,0$ ), наявність інвазійного росту у судини ( $p = 0,0013$ ). Крім того, виявлено значущу різницю між групами порівняння за показником екстратиреоїдного розповсюдження карциноми ( $p = 0,0$ ). Ознаку екстратиреоїдного розповсюдження пухлини виявлено в 39,2% (40 із 102 випадків) ППРЩЗ пацієнтів із наявністю РЙРМ у поопераційний період і лише в 9,7% (15 з 155 випадків) у ППР пацієнтів без ознак метастазування в поопераційний період. За даними літератури, екстратиреоїдне розповсюдження пухлини вважається чинником агресії та несприятливої поведінки ПРЩЗ, що підтверджено результатами даного дослідження (Ito Y et al., 2006; Ortiz S et al., 2001; Shah JP, 2015). Виявлено вірогідну різницю між групами порівняння за наявністю регіонарних метастазів на момент встановлення гістологічного діагнозу ( $p = 0,0$ ). Отримані результати про кореляцію наявності регіонарних метастазів із розвитком радіоїодрезистентності не суперечать літературним даним, що наявність множинних метастатичних лімфовузлів є незалежним прогностичним чинником рецидивування ПРЩЗ (Barbosa MP et al., 2017). Водночас інші дослідження свідчать як про підвищення, так і про зниження частоти рецидивів

ПРЦЗ за наявності подібного метастазування на момент встановлення діагнозу (Roti E et al., 2006; Wada N et al., 2003). Крім того, знайдено значущу різницю між групами порівняння за наявністю пери- та інтратуморального тиреоїдиту ( $p=0,0068$ ), який було виявлено в 31,0% випадків у групі пацієнтів із розвитком РЙРМ порівняно з групою пацієнтів без метастазування в поопераційний період (48,3%). Отримані дані відносно зв'язку наявності тиреоїдиту в тканині ППРЦЗ із редукцією метастазування в поопераційний період знаходять підтвердження в літературі (Szekanecz Z et al., 2011; Marotta V et al., 2009; Kim W et al., 2018; Csaba Molnár et al., 2019). ПРЦЗ із супутнім аутоімунним тиреоїдитом демонструють вищу експресію NIS, який має відношення до накопичення РЙ тиреоцитами, порівняно з ПРЦЗ без ознак тиреоїдиту, що може пояснити отриману нами кореляцію відсутності тиреоїдиту та розвитку радіоїодрезистентності ПРЦЗ (Deligiorgi M et al., 2018; Young Shin Song et al., 2018). Водночас не виявлено значущої різниці між групами порівняння за наявністю інтратиреоїдного розповсюдження ПРЦЗ ( $p=0,0963$ ) і багатофокусного росту ( $p=0,0536$ ) (табл. 3).

Таблиця 3

**Частота гістологічних ознак агресивності первинних папілярних карцином щитоподібної залози з наявністю радіоїодрезистентних метастазів і без ознак метастазування в поопераційний період після тиреоїдектомії та радіоїодтерапії (%)**

Ознака	Пацієнти з РЙРМ n=102	Пацієнти без метастазування n=155
Інвазія в капсулу пухлини	7,8*	23,8
Інвазія в капсулу залози	54,9*	23,2
Інвазія в судини	50,9*	30,9
Інтратиреоїдне розповсюдження пухлини	43,1	32,9
Екстратиреоїдне розповсюдження пухлини	39,2*	9,7
Наявність регіонарних метастазів	69,6*	22,6
Наявність тиреоїдиту	31,0*	48,3
Багатофокусний ріст	19,6	10,96

Примітка. \* – вірогідна різниця ( $p<0,05$ ) за критерієм  $\chi^2$ .

Отже, виявлено, що наявність інвазійного росту в судини, капсулу залози, екстратиреоїдної інвазії, регіонарних метастазів на момент проведення операції та відсутність тиреоїдиту в матеріалі ППРЦЗ можна розглядати як несприятливі гістологічні характеристики агресивності раку ЩЗ, асоційовані з розвитком радіоїодрезистентності.

Проведений бібліографічний аналіз не виявив даних щодо будь-яких цитологічних досліджень РЙРМ тиреоїдних карцином. Тому завданням даного етапу роботи було порівняльне цитологічне дослідження популяцій тиреоцитів у

пунктатах 94 РЙРМ, 32 РЙЧМ і 149 ППРЦЗ для виявлення цитологічних особливостей тиреоцитів, які корелюють із радіоодрезистентністю. За результатами проведеного дослідження виявлено фенотипову гетерогенність епітелію РЙРМ порівняно з РЙЧМ. Першим проявом фенотипової гетерогенності епітелію була наявність двох типів епітеліальних пластів – регулярної та нерегулярної архітектури. Пласти регулярної архітектури характеризувалися відносно регулярним розташуванням помірно поліморфних тиреоцитів розміром 12-20 мкм у межах пласта, з амфотильною або слабко базотильною цитоплазмою та нагадували стільникоподібну структуру нормального фолікулярного епітелію. Пласти нерегулярної архітектури відрізнялися нерегулярною структурою та були сформовані гетерогенними за розмірами та формою тиреоцитами з базотильною цитоплазмою розміром 24-48 мкм. У межах нерегулярних епітеліальних пластів виявлено 2 особливі фенотипи тиреоцитів, які відрізнялися за цитологічними та ІЦХ характеристиками від загальної популяції фолікулярного епітелію. Клітини першого фенотипу розміром 18-40 мкм мали округлу форму та чіткі межі, відрізнялися вираженим світлоломленням добре збереженої поверхні. На препаратах, забарвлених за Романовським, їх цитоплазма була помірно базотильною в центральній частині та безбарвною на периферії, тому вони виглядали світлішими за оточуючі їх тиреоцити й отримали назву «світлі клітини», або клітини субпопуляції S. Клітини другого фенотипу відрізнялись від інших тиреоцитів наявністю в їх цитоплазмі округлої базотильної структури розміром 4,5-18,0 мкм, яка була розташована в центральній частині цитоплазми або біля ядра. Після перетравлення пунктатів рибонуклеазою ця структура втрачала здатність забарвлюватися азуром, що свідчить про вміст у ній РНК. Такі клітини отримали назву М-клітини – Macula-cells, або клітини зі сферичною структурою – так званою макулою. Незважаючи на деяку цитологічну схожість описаних фенотипів тиреоцитів із макрофагами, епітеліальну природу клітин обох фенотипів підтверджено за допомогою позитивної ІЦХ реакції з МКАТ проти ЦК-7, -8 (наявність яких є характерною ознакою клітин простих одношарових епітеліїв, у тому числі фолікулярного епітелію ІЦЗ) і проти панцитокератину, а також відсутністю реакції з МКАТ проти антигенів CD68 і CD45, притаманних клітинам макрофагального ряду. Якщо цитоплазма М-клітин реагувала з МКАТ проти Тг, клітини субпопуляції S не містили Тг. Клітини субпопуляції S не реагували з МКАТ проти епітеліальних глікопротеїнів Ber-Ep4, хоча цей антиген завжди присутній в А-, Б- і С-епітелії паренхіми ІЦЗ – як нормальної, так і малігнізованої (Latzka U et al., 1990). М-клітини відрізнялись від інших клітин фолікулярного епітелію характером розташування реакції з МКАТ проти антигенів епітеліальних клітин клону Ber-Ep4. Якщо в інших тиреоцитах МКАТ проти цих антигенів демонстрували чітку реакцію на поверхні та в цитоплазмі клітин, то в М-клітинах реакція цитоплазми була слабкою або цілком відсутньою, часом можна було спостерігати локальну реакцію ламінарно-подібних структур, локалізованих між поверхнями контактуючих епітеліальних клітин.

Отже, ключовими характеристиками S-клітин тиреоїдного епітелію виявилися чіткий контур, світла цитоплазма, відсутність експресії Тг і



глікопротеїнів епітеліальних клітин. Відзначальними характеристиками М-клітин слід вважати наявність базофільної сферичної структури в цитоплазмі, яка містить РНК, позитивну реакцію з антитілами проти Тг і специфічну локалізацію епітеліальних глікопротеїнів на поверхні клітин. Основні ІЦХ характеристики описаних популяцій тиреоцитів наведено в таблиці 4.

Таблиця 4

**Імуноцитохімічні характеристики популяцій тиреоцитів пунктів поопераційних метастазів папілярного раку щитоподібної залози**

Тип клітин	Pan ЦК	ЦК-7	ЦК-8	ЦК-20	ЦК-17	Вєr-EP4	Тг	CD-48	CD-45
Фолікулярний епітелій	+	+	+	-	+/-	+	+	-	-
S-клітини	+	+	+	-	+/-	-	-	-	-
М-клітини	+	+	+	-	+/-	+/-	+	-	-
Макрофаги	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Б-клітини	+	+	+	-	-	+	+/-	-	-

Проведене порівняльне дослідження продемонструвало наявність епітеліальних пластів нерегулярної архітектури та S- і М-клітин в пунктатах РЙРМ, на відміну від РЙЧМ ПРЦЗ, де вони зустрічалися лише в поодиноких випадках. Причому клітини субпопуляції S були відсутні також у відповідних ППРЦЗ (табл. 5).

Таблиця 5

**Поширеність різних цитологічних ознак у пунктатах радіоїодчутливих і радіоїодрезистентних метастазів папілярного раку щитоподібної залози та пунктатах відповідних первинних раків, n (%)**

Цитологічна ознака	Група з РЙРМ (n=30)		Група з РЙЧМ (n=30)	
	ППРЦЗ	РЙРМ	ППРЦЗ	РЙЧМ
S-клітини	0 (0)	9 (25,7)*#	0 (0)	1 (3,3)
М-клітини	8 (26,7)	9 (30,0)	0 (0)	2 (6,7)
Комплекси вакуоліз. клітин із псамомними тілами	0 (0)	6 (20,0)*	0 (0)	0 (0)
Кістозна дегенерація	7 (23,3)*	24 (80,0)*##	0 (0)	1 (3,3)
Оксифільні зміни	5 (16,7)	3 (10,0)	0 (0)	1 (3,3)

Примітки: \* –  $p < 0,05$  порівняно з показником групи РЙЧМ за критерієм  $\chi^2$ ; # –  $p < 0,05$ ; ## –  $p < 0,001$  порівняно з показником групи відповідного первинного ПРЦЗ за критерієм  $\chi^2$ .

Отримані результати засвідчили, що в низці випадків у пунктатах РЙРМ з'являлися субпопуляції клітин і структури, які не визначалися в пунктатах

ППРЦЗ – субпопуляція S, комплекси вакуолізованих клітин і псамомних тілець. Водночас цитологічні характеристики РЙЧМ не відрізнялися від таких ППРЦЗ, їх цитограми було представлено епітеліальними пластами регулярної архітектури з лише поодинокими випадками присутності S- і М-клітин, відсутністю комплексів вакуолізованих клітин із псамомними тільцями. Клітини пунктатів ППРЦЗ і РЙЧМ не мали ознак вираженої атипії, виявляли лише ознаки проліферації та інколи – поліморфізм фолікулярного епітелію.

Особливі комплекси, що складаються з центрально розташованого псамомного тільця, оточеного шаром макрофагів і вакуолізованих епітеліоцитів, виявляли в 20,0% РЙРМ ПРЦЗ і не знаходили ані в жодному РЙЧМ, ані в пунктатах доброякісних вузлів ЩЗ. Цитопатологи описують аналогічні даним комплексам множинні псамомні тільця, розташовані в тканинних фрагментах у пунктатах дифузно склерозуючих ПРЦЗ, які, за даними ВООЗ, вважаються агресивним варіантом (Lastra RR et al., 2014).

Епітеліальні клітини таких структур містять ЦК-17, який є передопераційним маркером прогнозування радіоїодрезистентності (Зелінська ГВ, 2019). Можливо, ми можемо розглядати ці комплекси як цитопатологічну ознаку радіоїодрезистентності метастазів ПРЦЗ. Описані комплекси вакуолізованих клітин із псамомними тільцями та оксифільноклітинні зміни виявлено в пунктатах РЙРМ, проте вони були відсутніми або траплялися вкрай зрідка в досліджених РЙЧМ ПРЦЗ.

Щодо участі клітинних субпопуляцій S і М у процесі метастазування й формування РЙРМ проведено відповідне дослідження, результати якого продемонстрували наявність кореляції між присутністю клітин субпопуляції S у пунктатах ППРЦЗ і частотою виникнення метастазів у поопераційний період, тобто після проведення стандартного лікування (тиреоїдектомія, супресивна гормональна терапія, РЙТ). У групі пацієнтів із наявністю в пунктатах ППРЦЗ клітин субпопуляції S метастази в поопераційний період виникали вірогідно частіше, ніж у пацієнтів із відсутністю цих клітин ( $p=0,0272$ ,  $p<0,05$ ). Крім того, РЙРМ ПРЦЗ виявляли лише у випадках наявності клітин субпопуляції S у матеріалі ТАПБ ППРЦЗ. Причому не виявлено вірогідної залежності частоти метастазування в поопераційний період від наявності в пунктатах ППРЦЗ клітин субпопуляції М ( $p=0,2448$ ).

Виявлення в матеріалі ТАПБ ПРЦЗ та їх РЙРМ різних фенотипів епітеліальних клітин відкриває нові можливості передопераційної діагностики та є новітнім цитологічним підходом, який дозволяє вивчати кореляцію радіоїодрезистентності та агресивної поведінки ПРЦЗ не з окремими характеристиками клітин, а з комплексом цитологічних та ІЦХ ознак, які об'єднані в різні клітинні субпопуляції (або фенотипи). Наразі не знайдено літературних даних щодо досліджень матеріалу ТАПБ ЩЗ у зазначеному аспекті. Лише в гістологічних зрізах тканин вузлового зоба продемонстровано гетерогенність популяції фолікулярного епітелію за ознакою проліферативної активності (Studer H et al., 1992). Крім того, в дослідах *in vitro* на культурах ліній

анапластичних тиреоїдних карцином показано, що невелика субпопуляція цих клітин має певні властивості стовбурових (Nagayama Y et al., 2016).

За результатами порівняльних цитологічних досліджень пунктатів метастазів ПРЦЗ, виявлених у поопераційний період, визначено, що «тлом» пунктатів РЙЧМ були лімфоїдні елементи різного ступеня зрілості, еозинофіли, базофіли, тобто цитологічна картина відповідала реактивній гіперплазії лімфатичного вузла. Водночас у 80,0% РЙРМ клітини метастазу було розташовано в кістозній рідині, тобто мали місце ознаки кістозної дегенерації (наявність кістозної рідини з гемосидерофагами). За критерієм  $\chi^2$  доказана статистично значуща різниця між частотою ознаки кістозної дегенерації в пунктатах РЙРМ та РЙЧМ ( $p=0,0$ ). На відміну від РЙРМ, у загальній популяції метастазів, виявлених перед проведенням тиреодектомії та РЙТ, ознаки кістозної дегенерації спостерігали лише в 23,3% випадків, що вірогідно відрізняється від їх частоти в групі РЙРМ ( $p<0,001$ ). Можна дати таке пояснення цьому феномену. Ферменти та антигени, які беруть участь в акумуляції клітинами РЙ (ТПО, Тг, NIS), присутні в мембранах тиреоцитів, а не в кістозній рідині (Nilsson M et al., 2001), а та частка маси лімфовузла, яка безпосередньо бере участь у зв'язуванні РЙ у кістозно-дегенеруючих вузлах, буде меншою порівняно з такою в метастазах однорідної будови. Саме тому кістозно-дегенеруючі метастази можуть проявляти радіюдрезистентність. Спосіб використання виявлення цитологічної ознаки кістозної дегенерації в пунктатах поопераційних метастазів ПРЦЗ як цитологічного чинника прогнозу радіюдрезистентності та ефективності РЙТ запатентовано і він використовується в практиці (Деклараційний патент №86375 UA МПК G01N33/574). Він не вимагає додаткових інвазійних втручань і додаткових методів забарвлення препаратів, оскільки наявність ознаки кістозної дегенерації оцінюється під час рутинного діагностичного цитологічного дослідження метастазів. У літературі досі не було знайдено даних щодо кореляції наявності ознаки кістозної дегенерації в метастатичних лімфатичних вузлах ПРЦЗ з їх йоднакопичувальною здатністю.

Отже, доведено, що цитологічна картина пунктатів РЙРМ відрізняється від такої РЙЧМ фенотиповою гетерогенністю, яка проявляється наявністю певних клітинних субпопуляцій і структур, відсутніх у ППРЦЗ і РЙЧМ, що можна використовувати в передопераційному прогнозуванні радіюдрезистентності.

Обидві сучасні теорії онкогенезу (як стохастична – теорія клональної клітинної еволюції, так і гіпотеза ракової стовбурової клітини) вказують, що завдяки генетичним та епігенетичним змінам (абераційній диференціації) моноклональна за походженням популяція клітин злоякісної пухлини з часом розпадається на низку субклонів і стає фенотипово гетерогенною (Kim H et al., 1998; Pennec S et al., 2015). Саме серед згаданих субклонів можуть з'явитися здатні до інвазійного росту та утворення метастазів. Наявність у пунктатах РЙРМ більшої кількості субклонів і структур тиреоцитів порівняно з РЙЧМ, можливо, є проявом більшої генетичної гетерогенності цих пухлин, яка є тлом для появи субклонів тиреоцитів з агресивною поведінкою, що можуть зумовлювати розвиток радіюдрезистентності.

Відомо, що показником генетичної нестабільності популяції епітелію є поява мікроядер – особливих структур, які є генетичним матеріалом, втраченим із геному під час мітозу внаслідок порушення розходження хромосом до клітинних полюсів. У літературі знайдено нечисленні дані щодо досліджень мікроядер у матеріалі ТАПБ. Відомо, що визначення їх частоти в клітинах пунктатів використовується як біомаркер малігнізації в диференційній діагностиці метастатичних аденокарцином і реактивних мезотеліом, а також карцином й аденом ЩЗ (Kaur J et al., 2010; Божок ЮМ, 1998; Tuba Dilay Kokenek et al., 2017). Раніше не проводились дослідження мікроядер в епітелії матеріалу ТАПБ поопераційних метастазів ПРЩЗ залежно від їх йоднакопичувальної здатності. У даному дослідженні не визначено значущої різниці в частоті виявлення мікроядер в епітелії матеріалу ТАПБ між групами РЙРМ і РЙЧМ ( $p=0,129624$ ). Водночас показано, що в групі РЙРМ мікроядра виявляються вірогідно частіше, ніж у загальній групі ПРЩЗ ( $p=0,02995$ ). Кореляційний аналіз залежності частоти мікроядер в епітелії пунктатів від активності отриманого пацієнтами РЙ не виявив жодної закономірності, тобто поява мікроядер в епітелії метастазів не асоціюється з активністю отриманого пацієнтами РЙ ( $r=0,0934$ ,  $p=0,687$ ). Отже, значуща різниця між вмістом мікроядер в пунктатах загальної групи ПРЩЗ і РЙРМ, які виникли в поопераційний період на тлі РЙТ, може свідчити про більшу генетичну нестабільність епітелію РЙРМ порівняно із загальною групою ПРЩЗ та їх метастазів, виявлених перед операцією, яка може бути підґрунтям формування агресивніших субклонів клітин, що є підставою прогресії РЙРМ ПРЩЗ. Причому проведене дослідження засвідчило, що вміст мікроядер у пунктатах поопераційних метастазів ПРЩЗ не є критерієм їх йоднакопичувальної здатності та не залежить від отриманої активності РЙ.

Відомо, що умовами ефективної акумуляції РЙ тиреоцитом є не лише його захоплення клітиною, а й ефективний період напівжиття ізотопу. Важливий вплив на нього справляє період органіфікації йоду, який каталізується ТПО. Зниження процесу органіфікації йоду внаслідок зменшення експресії ТПО призводить до його швидкого ефлюксу з клітини та зменшує ефективність акумуляції РЙ (Russo D et al., 2011; Calil-Silveira J, 2016). Важливим клітинним чинником, який також бере безпосередню участь у синтезі тиреоїдних гормонів, є Тг. Суперечливість літературних даних щодо кореляції експресії ТПО та Тг із йоднакопичувальною здатністю метастазів ПРЩЗ і відсутність результатів наукових досліджень експресії цих антигенів у матеріалі ТАПБ метастазів ПРЩЗ обумовлюють необхідність проведення такого дослідження.

За результатами кореляційного аналізу між вмістом ТПО-позитивних (ТПО<sup>+</sup>) тиреоцитів у пунктатах ППРЩЗ і наявністю метастазів у пацієнтів у поопераційний період доведено наявність зворотного кореляційного зв'язку між цими показниками на рівні  $p<0,05$  за методами Спірмена ( $-0,344788$ ) і визначення гама-кореляції ( $-0,489362$ ). За наявності високого вмісту ТПО<sup>+</sup>-клітин у пунктатах ППРЩЗ (50-92%) не виявлено метастазів у поопераційний період. Водночас появу РЙРМ ПРЩЗ реєстрували в поопераційний період лише у випадках, коли експресію ТПО не виявляли, або вона мала місце щонайбільше в 25,0% тиреоцитів у пунктатах ППРЩЗ. Отже, визначення експресії ТПО в матеріалі ТАПБ ПРЩЗ

можна використовувати для прогнозування тенденцій метастазування ПРЩЗ у поопераційний період і відповідно визначати тактику моніторингу й лікування пацієнтів із ПРЩЗ.

Співставлення вмісту ТПО-позитивних клітин в пунктатах первинних ПРЩЗ та їх регіонарних метастазів, виявлених перед проведенням тиреодектомії, продемонструвало відсутність збігів їх відсотків у більшості випадків. В усіх випадках відсутності ТПО-позитивних клітин в пунктатах як первинного ПРЩЗ, так і його метастазу, у пацієнтів спостерігалось метастазування в поопераційному періоді, в тому числі поява радіоїодрезистентних метастазів. При відсутності цих клітин в пунктаті метастазу при наявності їх високого вмісту в пунктаті ПРЩЗ, метастазування в поопераційному періоді не спостерігалось. Тому, при прогнозуванні поопераційної поведінки ПРЩЗ, має сенс орієнтуватись на вміст ТПО-позитивних клітин саме в пунктатах ПРЩЗ або на відсутність антигену як в пунктатах ПРЩЗ, так і його метастазу.

Завданням наступного фрагменту роботи було проведення порівняльного ЦХ дослідження експресії ТПО в пунктатах поопераційних метастазів ПРЩЗ: 94 РЙРМ, 32 РЧМ, а також 38 ПРЩЗ. Результати наведено в таблиці 6.

Таблиця 6

**Показники експресії тиреїдної пероксидази в пунктатах поопераційних метастазів папілярного раку щитоподібної залози**

Показник	РЙРМ (n=94)		РЙЧМ (n=32)	
Кількість ТПО <sup>+</sup> -клітин, %	0	0,5-20	30-50	60-100
Кількість випадків, %	75,5	24,5	25,0	75,0

Визначено дуже високо достовірну різницю між відсотком ТПО<sup>+</sup>-тиреоцитів у РЙРМ і РЙЧМ ПРЩЗ ( $p < 0,001$ ). Статистичний аналіз продемонстрував, що медіана питомої ваги клітин, які містять ТПО, для групи РЙРМ склала 0, а для групи РЙЧМ – 72,5%. Як середній показник відсотка ТПО<sup>+</sup>-клітин, перевищення якого однозначно вказує на радіоїодчутливість метастазу, будемо використовувати медіану 72,5% із варіацією від 53,5% (нижня кватиль) до 82,0% (верхня кватиль). Верхня межа може бути не визначеною, оскільки наближення показника до 100,0% гарантує радіоїодчутливість метастазу. Водночас відсутність клітин із ТПО однозначно свідчить про радіоїодрезистентність метастазу.

З діаграми (рис. 1) бачимо, що максимальне значення відсотка ТПО<sup>+</sup>-клітин складало 20% для групи РЙРМ, що нижче від мінімального значення аналогічного показника для групи РЙЧМ (30%). Кватильний розмах показника відсотка тиреоцитів із ТПО для групи РЙРМ склав 0, що свідчить про високу однорідність досліджуваних даних, а для групи РЙЧМ – 28,5, що свідчить про певну неоднорідність даних, відсоток ТПО<sup>+</sup>-клітин у цій групі варіював від 30% до 100%.

Аналіз ефективності проведеної РЙТ продемонстрував, що попри те, що всі метастази даної групи накопичували РЙ, ефективність РЙТ у пацієнтів із різним

відсотком ТПО<sup>+</sup>-клітин була різною. Так, у 75,0% випадків у пацієнтів цієї групи РЙТ була успішною. У таких пацієнтів відсоток ТПО<sup>+</sup>-клітин у пунктатах поопераційних метастазів перевищував 60%. Водночас у 25,0% пацієнтів цієї групи, хоча спочатку метастази накопичували РЙ, але з часом вони втрачали цю здатність, тобто розвивалась вторинна радіодрезистентність метастазів. Останні було видалено хірургічним шляхом. Відносна кількість ТПО<sup>+</sup>-клітин у пунктатах цих метастазів складала від 30,0% до 50,0%. Це свідчить, що проміжні значення питомої ваги ТПО<sup>+</sup>-клітин (від 30,0 до 50,0%), хоча й передбачають помірне накопичення РЙ, але воно може бути недостатнім для успішної РЙТ.

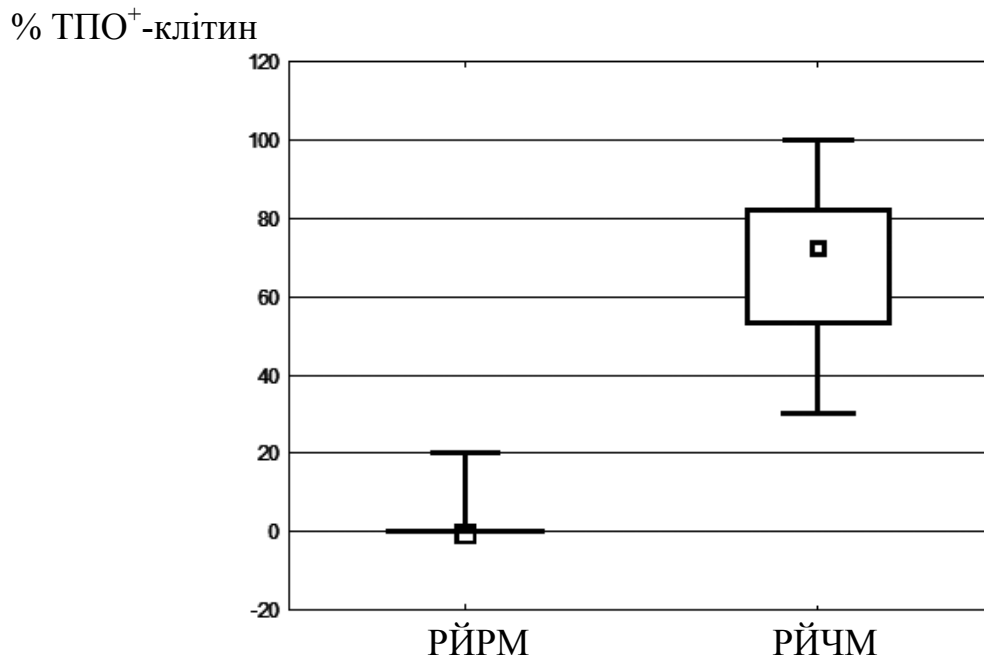


Рис. 1. Діаграма розмаху вмісту (%) ТПО-позитивних клітин для груп радіодрезистентних і радіодрезистентних метастазів.

Ці результати дозволили вперше створити та запатентувати новий метод передопераційного прогнозування радіодрезистентності та визначення ефективності РЙТ ПРЦЗ на підставі ІЦХ визначення експресії ТПО в пунктатах метастазів, виявлених у поопераційний період (Деклараційний патент на корисну модель № 112802 UA МПК А61В 10/02). Відсутність експресії ТПО свідчить про нездатність клітин метастазів до зв'язування РЙ, безперспективність лікування РЙ цього метастазу та доцільність його хірургічного видалення. Якщо понад 53,5% тиреоцитів пунктату метастазу містять ТПО, передбачають здатність метастазу до накопичення РЙ, високу ефективність РЙТ і доцільність подальшої РЙТ. Якщо вміст ТПО<sup>+</sup>-клітин у пунктаті метастазу складає від 30% до 50%, можливим є помірне накопичення РЙ, але ефективність РЙТ може бути низькою. Пояснити різну ефективність РЙТ для неоднорідної за відсотком ТРО<sup>+</sup>-клітин у пунктатах групи метастазів можна, враховуючи існування фенотипової гетерогенності популяції тиреоцитів метастазу (Pennec S et al., 2015; Kim H et al., 1998; Чехун ВФ и соавт., 2012; Inda M et al., 2010). Імовірно, невеликий відсоток ТРО<sup>+</sup>-клітин

знищується РЙ, а ТРО-негативні клітини є субстратом для розвитку вторинної радіодрезистентності та прогресії метастазу.

Отже, розроблено простий і швидкий метод прогнозування радіодрезистентності поопераційних метастазів ПРЦЗ, застосування якого може позбавити пацієнтів із РЙРМ зайвих курсів РЙТ, а пацієнтам із РЙЧМ рекомендувати проведення РЙТ замість операції. З огляду на можливість серйозних побічних ефектів від використання РЙ (розвиток вторинних онкологічних захворювань, лейкоцитопенії та тромбоцитопенії, сіаладенітів, набряку тканин, фіброзу легень тощо) та вартість його використання зрозуміло, наскільки важливим є уникання зайвих курсів РЙТ.

Кореляційний аналіз наявності цитологічної ознаки кістозної дегенерації та експресії ТПО в пунктатах РЙРМ ПРЦЗ не виявив взаємозв'язку між цими факторами передопераційного прогнозу радіодрезистентності (коефіцієнт рангової кореляції Спірмена  $-0,061967$ ). Тобто, наявність кістозної дегенерації та експресія ТПО в метастазах, виявлених у поопераційний період, виступають як незалежні цитологічні прогностичні чинники радіодрезистентності ПРЦЗ. Використання двох незалежних цитологічних прогностичних чинників може, з одного боку, значно підвищити точність прогнозування радіодрезистентності, а з іншого – дозволяє визначити її в тих випадках, коли один із чинників не проявляється в досліджуваних метастазах.

ЦХ метод визначення ТПО дозволяє виявляти антигенні детермінанти, а не активність ферменту, тому важливо мати уявлення про активність ТПО, що визначається за допомогою розробленого нами ЦХ методу (Зелінська ГВ, 2019). Порівняння даних ЦХ та ЩХ методів визначення експресії ТПО в епітелії пунктів поопераційних РЙРМ і РЙЧМ засвідчило їх зіставні результати, що обґрунтовує можливість використання обох методів у передопераційному прогнозуванні радіодрезистентності ПРЦЗ. Зіставність результатів виявлення експресії ТПО двома методами, тобто виявлення наявності ферменту та його активності, ймовірно, свідчить, що радіодрезистентність може викликатися не мутацією гену, який кодує ТПО, а зміною в роботі регуляторних генів-промоторів, які вимикають синтез ферменту в цілому.

Досліджено також експресію Тг у пунктатах 59 РЙРМ і 22 РЙЧМ ПРЦЗ, виявлених у поопераційний період. Результати наведено в таблиці 7.

Таблиця 7

**Показники експресії тиреоглобуліну в пунктатах поопераційних метастазів папілярного раку щитоподібної залози**

Показник	РЙРМ (n=59)			РЙЧМ (n=22)
	0-4	>4-78	>78-100	
Кількість Тг <sup>+</sup> -клітин, %	0-4	>4-78	>78-100	>78-100
Кількість випадків, %	23,7	56,0	20,3	100,0

За результатами статистичного аналізу за непараметричним методом Мана-Уїтні доведено наявності дуже високо достовірної різниці в відносній кількості Тг-позитивних (Тг<sup>+</sup>)-клітин між РЙРМ і РЙЧМ ( $p < 0,001$ ). Медіана відсотку клітин із Тг для групи РЙРМ склала 50,0%, а для групи РЙЧМ – 90,5%. Попри це діаграма демонструє, що загальний розмах варіації показників відсотку Тг<sup>+</sup>-клітин для цих груп перетинався. Причому максимальні показники (100%) для обох груп збігалися, в 20,3% РЙРМ ПРЦЗ вміст імунопозитивних клітин у пунктатах не відрізнявся від такого для РЙЧМ і складав від 78% до 100% (рис. 2). Значення нижньої квартилі для групи РЙЧМ та верхньої квартилі для групи РЙРМ збігалися. Але мінімальний вміст Тг<sup>+</sup>-клітин у групі РЙРМ дорівнював 0, а в групі РЙЧМ такого результату не отримано в жодному випадку. Тому прогнозування радіоїодрезистентності є можливим у випадках виявлення вмісту таких клітин  $< 85\%$  (значення нижньої квартилі для групи РЙЧМ).

Не було випадків присутності ТПО в пунктатах метастазів за відсутності в них експресії Тг. В усіх випадках ТПО виявляли в меншій кількості клітин, ніж Тг, що співпадає з даними літератури (Tanaka T et al., 1996).

Слід відзначити виражену неоднорідність групи РЙРМ за відсотком Тг<sup>+</sup>-клітин порівняно з групою РЙЧМ і різну інтенсивність ІЦХ реакції з МКАТ до Тг у клітинах у межах групи РЙРМ – від інтенсивної до слабкої. В групі РЙЧМ реакція цитоплазми тиреоцитів була вираженою та однорідною. Отже, слід враховувати не лише кількість Тг<sup>+</sup>-клітин, а й інтенсивність проведеної реакції.

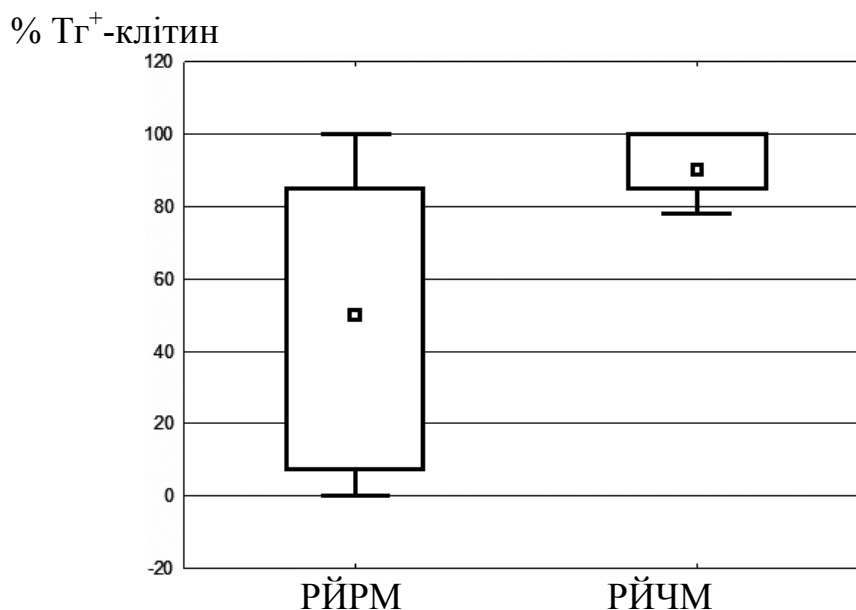


Рис. 2. Діаграма розмаху вмісту Тг-позитивних клітин для груп радіоїодрезистентних і радіоїодчутливих метастазів папілярного раку щитоподібної залози.

За результатами кореляційного аналізу визначено наявності несуттєвого прямого лінійного зв'язку на рівні значущості  $p = 0,05$  між експресією Тг і ТПО в пунктатах РЙРМ ПРЦЗ (коефіцієнт кореляції склав 0,4186). Діаграма розсіювання демонструє, що за відсутності ТРО<sup>+</sup>-клітин у пунктатах метастазів кореляція не



простежувалась. Для вмісту цих клітин понад 0% виявлено тенденцію до прямого кореляційного зв'язку між показниками експресії ТПО та Тг (рис. 3). Отже, визначення обох антигенів в пунктатах метастазів збільшує точність прогнозування їх радіодрезистентності у випадках «сумнівного» вмісту клітин із ТПО (30-50%).

Важливим є виявлення випадків цілковитої відсутності або присутності лише поодиноких Тг<sup>+</sup>-клітин, що мало місце в 13,0% пунктів РЙРМ (22/59). У декількох із таких випадків попри наявність регіонарних метастазів ПРЦЗ не спостерігали підвищення рівня сироваткового Тг, який вважається надійним маркером розвитку рецидивів ПРЦЗ у поопераційний період. Це явище стає цілком зрозумілим, якщо прийняти до уваги припущення, що рівень Тг у сироватці крові залежить від кількості пухлинних клітин, які синтезують Тг, режиму секреції Тг і ступеня диференціювання пухлинних клітин.

Тобто, за відсутності в епітелії метастазу Тг цілком очікуваним є його нульовий рівень у сироватці крові. Це спонукає до ретельнішого спостереження пацієнтів із високою ймовірністю розвитку радіодрезистентності, визначеною за допомогою прогностичних цитологічних чинників (висока експресія ЦК-17, наявність субпопуляцій S, відсутність експресії ТПО в ПРЦЗ і метастазах, виявлених у поопераційний період), навіть у випадках отримання негативних результатів сканування з РЙ і за наявності нульового показника сироваткового Тг (Зелінська ГВ, 2019).

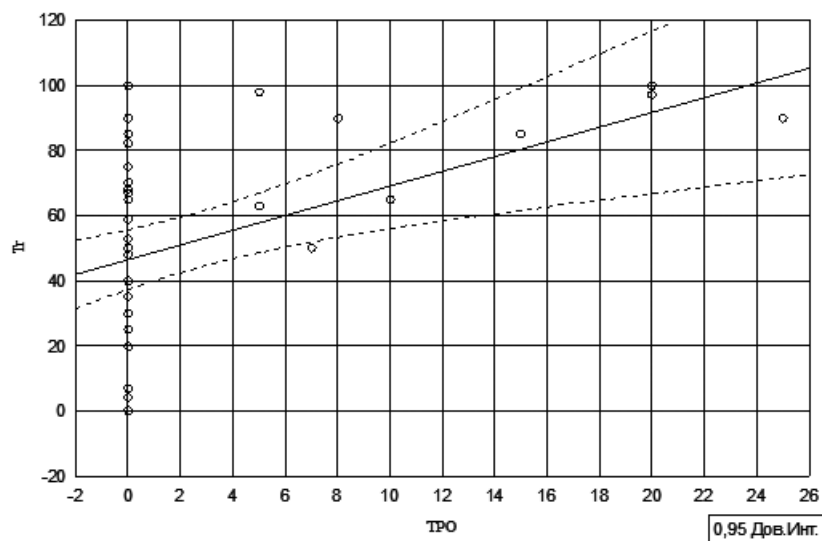


Рис. 3. Діаграма розсіювання вмісту клітин (%), що містять ТПО (вісь X) або Тг (вісь Y), у пунктатах радіодрезистентних метастазів папілярного раку щитоподібної залози.

Раніше показано, що клітини, які містять ЦК-17, не експресують ТПО та Тг, необхідні для акумуляції РЙ тиреоцитами. Виявлення високого вмісту таких клітин (>5%) у пунктатах ПРЦЗ дозволяє прогнозувати появу РЙРМ (Зелінська ГВ, 2019). Водночас проведене порівняльне ІЦХ дослідження експресії ЦК-17 у пунктатах поопераційних метастазів ПРЦЗ не виявило достовірної

різниці ( $p=0,3974$ ) у відсотку клітин із ЦК-17 між РЙРМ і РЙЧМ. Отже, доведено, що ЦК-17, який є маркером передопераційного прогнозування радіоїодрезистентності ПРЦЗ у випадках його виявлення в матеріалі ППРЦЗ, не може бути використаним для прогнозування радіоїодрезистентності поопераційних метастазів. Але доречно зауважити, що саме в цих випадках, коли відносний вміст ЦК-17<sup>+</sup>-клітин у пунктатах РЙРМ був максимальним і складав 22,0-37,0%, ПРЦЗ поводить себе досить агресивно, рецидиви виникли дуже швидко, а кількість метастазів була найбільшою. Слід зауважити, що за використання ЦК-17 як передопераційного цитологічного чинника радіоїодрезистентності на підставі визначення його експресії в пунктатах ППРЦЗ відбувається довгострокове прогнозування розвитку РЙРМ, одним з очікуваних джерел яких можуть бути ЦК-17<sup>+</sup>-клітини. Водночас ЦК-17<sup>+</sup>-клітини в складі популяції епітелію поопераційних метастазів не обумовлюють статус конкретних метастазів відносно РЙ у зв'язку з невеликою кількістю таких клітин.

У літературі відсутні відомості про те, чи пов'язано явище радіоїодрезистентності ПРЦЗ із проліферативною активністю його клітин. Тому завданням даного фрагменту роботи було проведення порівняльного дослідження експресії маркера проліферативної активності клітин – антигену Кі-67 у пунктатах РЙРМ, РЙЧМ і загальній групі метастазів ПРЦЗ (табл. 8). Було відпрацьовано методику ІЦХ визначення Кі-67 у матеріалі пунктів. Задовільну якість ІЦХ реакції з МКАТ до Кі-67 отримано у випадку використання методики відновлення антигенних детермінант у препаратах пунктів, попередньо забарвлених за Романовським (Vozhok Y et al., 1996). У наших спостереженнях найвищий відносний вміст Кі-67-позитивних клітин виявлено в пунктатах медулярного раку (7,0-10,0%), дифузно склерозуючого варіанта ПРЦЗ (7,0-12,0%) і ПРЦЗ на тлі автоімунного тиреоїдиту (6,0-35,0%).

Таблиця 8

**Показники експресії антигену Кі-67-позитивних тиреоцитів в пунктатах поопераційних метастазів папілярного раку щитоподібної залози**

Показник	РЙРМ (n=27)		РЙЧМ (n=11)	Загальна група метастазів ПРЦЗ (n=29)	
	0-6	>6-17	0-6	0-6	>6-35
Кількість Кі-67+ клітин, %	0-6	>6-17	0-6	0-6	>6-35
Кількість випадків, %	33,3	66,7	100,0	82,7	17,3

У даному дослідженні не виявлено значущої різниці у вмісті Кі-67<sup>+</sup>-тиреоцитів між групами РЙРМ і РЙЧМ ( $p=0,974719$ ) і між групами РЙРМ і загальною групою метастазів ПРЦЗ ( $p=0,579963$ ). Тобто, явище радіоїодрезистентності не корелює зі зниженням або підвищенням

проліферативної активності епітелію метастазів ПРЩЗ, хоча слід відзначити підвищення проліферативної активності в пунктатах повторних метастазів ПРЩЗ із багаторазовим метастазуванням. Це спостереження збігається з літературними даними про кореляцію високої експресії антигену Ki-67 із високим ризиком виникнення рецидивів і віддалених метастазів (Luporsi E et al., 2012; Miyauchi A et al., 2013), але вимагає продовження досліджень.

За результатами детального аналізу цитологічних характеристик РЙРМ із різним відсотком в їх пунктатах Ki-67<sup>+</sup>-клітин виявлено високу експресію проліферуючих тиреоцитів як у випадках, коли цитологічну картину метастазу було представлено різними типами тиреоцитів із вираженою атипією клітин, так і в випадках, коли пунктат містив однорідну популяцію тиреоцитів без ознак атипії та поліморфізму.

Хоча в більшості випадків після тиреоїдектомії та РЙТ прогноз для ПРЩЗ є сприятливим, привертають увагу випадки його багаторазового метастазування з появою РЙРМ. У даній роботі вперше проведено комплексне цитологічне та ІЦХ дослідження популяцій тиреоцитів пунктів регіонарних метастазів ПРЩЗ із багаторазовим метастазуванням, які з часом виникли після тиреоїдектомії та РЙТ, і порівняльний аналіз фенотипових характеристик клітин між первинними та повторними метастазами для кожного пацієнта. Виявилось, що первинні метастази (M1), які з'явилися через 1-2 роки після тиреоїдектомії та РЙТ, були в 50,0% випадків радіоїодчутливими, а повторні метастази (M2), які виникали повторно через 1-11 років після ліквідації перших, були радіоїодрезистентними. Порівняння цитологічних характеристик пунктів M1 і M2 поопераційних метастазів засвідчило зміну однорідної клітинної цитологічної картини, характерної для РЙЧМ, на поліморфно клітинну з наявністю різних типів тиреоцитів і клітинних пластів нерегулярної архітектури на тлі кістозної дегенерації, що є характерним для РЙРМ. За наявністю тиреоцитів 1-го типу не виявлено значущої різниці між M1 і M2. Водночас за критерієм знаків знайдено вірогідну різницю між M1 і M2 за наявністю тиреоцитів 2-го типу на рівні значущості  $p < 0,05$  ( $p = 0,015861$ ) (табл. 9).

Доведено вірогідне зменшення експресії ТПО та Тг у повторних поопераційних метастазах M2 порівняно з такою в первинних M1 ( $p = 0,011719$  і  $p = 0,003346$  відповідно) за критерієм Вілкоксона для залежних вибірок, що дало змогу виявити статистичні відмінності в двох групах за певний період часу (рис. 4, 5).

Отже, за результатами дослідження фенотипових характеристик популяції тиреоцитів метастазів ПРЩЗ із повторним метастазуванням виявлено зміни цитологічних та ІЦХ характеристик тиреоцитів у пунктатах M2 порівняно з такими M1. Так, у 50,0% випадків клітини M1 були здатні до накопичення РЙ, для них були характерними висока експресія ТПО та Тг і цитологічні ознаки наявності клітин високого ступеня диференціювання. Натомість усі M2 втратили здатність до накопичення РЙ і характеризувалися низькою експресією ТПО, а частіше – її відсутністю (66,7% випадків) і «мозаїчною» експресією Тг (<50% Тг-позитивних клітин в 66,7% випадків).

**Цитологічні та імуноцитохімічні характеристики регіонарних метастазів папілярних карцином щитоподібної залози з повторним метастазуванням після тиреоїдектомії та радіоїодтерапії, n (%)**

Показник	M1 (n=12)	M2 (n=12)
РЙРМ	6 (50)	12 (100)
РЙЧМ	6 (50)	0 (0)
Тиреоцити 1-го типу	12 (100)	10(8,3)
Тиреоцити 2-го типу	3 (25)	10 (83,3)#
Оксифілія	0 (0)	3 (25)
ТПО 0%	4 (33,3)	8 (66,7) *
ТПО>50%	1 (8,3)	0 (0)
Тиреоглобулін<50%	4 (33,3)	8 (66,7)*
Тиреоглобулін>50%	6 (50)	3 (25)*

Примітки: \* – вірогідна різниця за критерієм Вілкоксона; # – вірогідна різниця за критерієм знаків ( $p=0,015861$ ).

Цитологічна картина повторних метастазів характеризувалася появою різко атипичних клітин, S-клітин, оксифільних клітин, що, ймовірно, є проявом втрати високого ступеня диференціювання тиреоцитів та їх здатності до накопичення РЙ. Виявлену вірогідну різницю в цитологічних та ІЦХ характеристиках тиреоцитів пунктів поопераційних метастазів M1 і M2 можна пояснити тим, що через генетичні зміни в популяції тиреоцитів метастазів M1 із часом з'являються клітинні субклони, серед яких є такі, що втрачають здатність до накопичення РЙ, здатні до метастазування та утворення РЙРМ.

Ці дані збігаються з результатами інших дослідників, отриманими в порівняльних дослідженнях гістологічного матеріалу первинних карцином та їх РЙРМ – в 37,0% випадків було відзначено зміни гістологічної структури від первинних пухлин до РЙРМ, причому 70,0% ПРЦЗ прогресували в більш агресивний гістотип, який було представлено в метастазах, із виявленням гістологічних ознак низькодиференційованої або висококлітинної карциноми.

Втрату чутливості пухлини до РЙ вважають наслідком зниження диференціювання її клітин. Проявом цього є поява елементів низького ступеня диференціювання в метастатичних пухлинах (Rivera M et al., 2008).

Відомо, що радіоїодрезистентність тиреоїдного раку можна класифікувати як первинну (коли клітини метастазів не накопичують РЙ), вторинну та стійку метастатичну хворобу (Haugen B et al., 2016; Vaisman F et al., 2015).

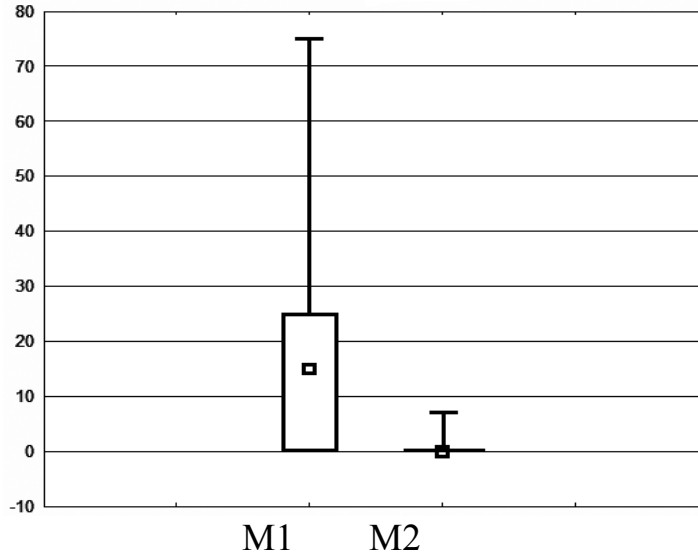
% ТПО<sup>+</sup>-клітин

Рис. 4. Діаграма розмаху відсотку ТПО<sup>+</sup>-тиреоцитів у групах первинних і повторних метастазів папілярного раку щитоподібної залози.

У процесі розвитку вторинної радіоїодрезистентності ПРЦЗ метастаз, який попередньо накопичував РЙ, із часом втрачає цю здатність. Вторинна радіоїодрезистентність метастазів ПРЦЗ є рідкісним явищем і може бути моделлю для вивчення цитологічних змін клітин, які відбуваються в динаміці втрати здатності метастазу до накопичення РЙ.

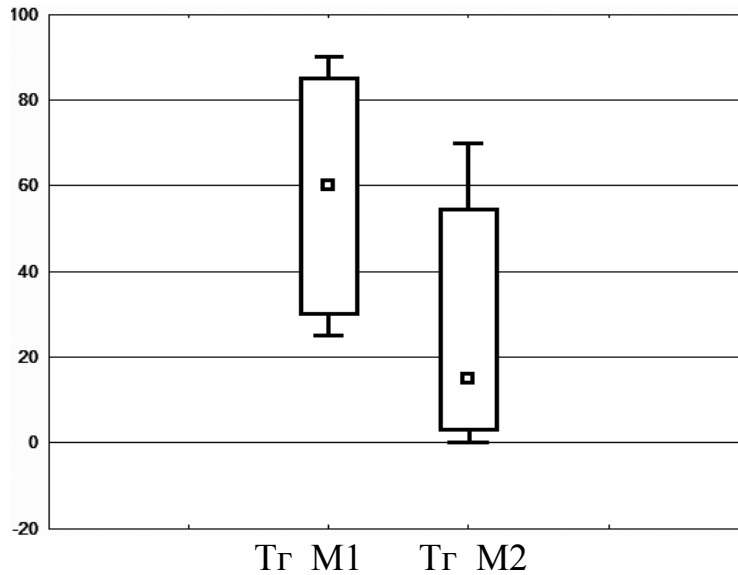
% Тг<sup>+</sup>-клітин

Рис. 5. Діаграма розмаху Тг<sup>+</sup>-тиреоцитів у групах первинних і повторних метастазів папілярного раку щитоподібної залози.

Нам вдалося виділити для проведення досліджень унікальну групу вторинно радіоїодрезистентних метастазів ПРЦЗ і дослідити цитологічні зміни, які відбуваються в клітинах метастазів у динамічному розвитку вторинної

радіоїодрезистентності та можуть скласти підґрунтя для розробки методів раннього передбачення радіоїодрезистентності ПРЦЗ.

Проведено порівняльні цитологічні та ІЦХ дослідження матеріалу таких метастазів на різних стадіях їх розвитку; йоднакопичувальній на перших етапах розвитку та подальшій, коли метастази втрачали здатність накопичувати РЙ. Цитологічні дослідження виявили в усіх зразках метастазів, що були в йоднакопичувальній стадії розвитку, групи тиреоцитів регулярної будови, які склалися з однорідних клітин без виражених ознак атипії, розміром 12-20 мкм. На стадії втрати РЙ-накопичувальної функції в 50,0% метастазів з'являлися групи нерегулярної будови з клітин розміром 24-48 мкм, у 40,0% випадків у пунктатах метастазів з'являлися тиреоцити фенотипу S. Виявлено достовірну різницю в наявності цих фенотипів тиреоцитів між різними стадіями розвитку радіоїодрезистентності ( $p=0,0062$ ). В 46,0% метастазів, які втратили з часом РЙ-накопичувальну здатність, спостерігали особливі клітинні комплекси псамомних тілець і вакуолізованих клітин, які були відсутні на стадії радіоїодчутливості метастазу. У 40,0% випадків пунктати метастазів на стадії втрати здатності до накопичення РЙ містили цитологічну ознаку кістозної дегенерації, на відміну від стадії накопичення РЙ, коли цю ознаку виявляли лише в 6,7% випадків.

Проведено визначення експресії ТПО та Тг у пунктатах метастазів ПРЦЗ у процесі розвитку вторинної радіоїодрезистентності. В досліджуваній групі метастазів на стадії акумуляції РЙ відносна кількість ТПО<sup>+</sup>-клітин складала від 10% до 75%, а на стадії втрати здатності до акумуляції РЙ – знижувалася до 0-7% (рис. 6).

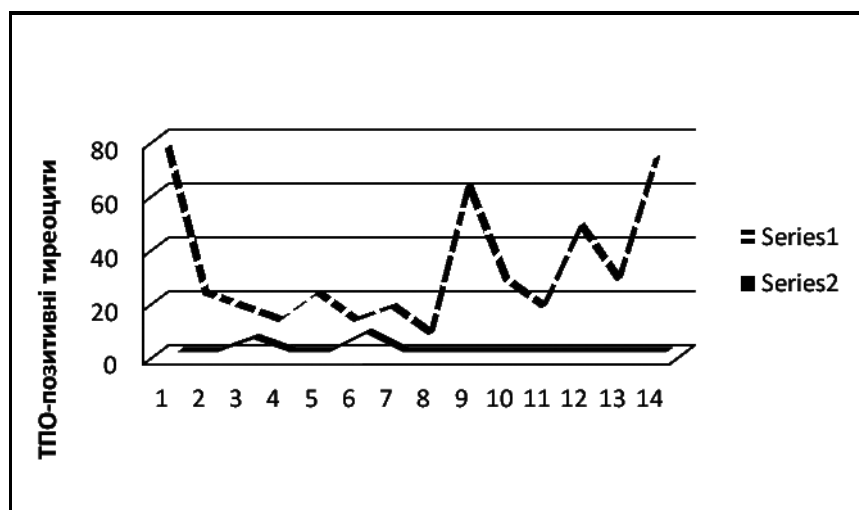


Рис. 6. Розподіл вмісту (%) ТПО<sup>+</sup>-тиреоцитів у пунктатах поопераційних метастазів папілярного раку щитоподібної залози на стадіях накопичення радіоїоду (ряд 1) і втрати здатності до його накопичення (ряд 2) у процесі розвитку вторинної радіоїодрезистентності.

За непараметричним критерієм Вілкоксона виявлено достовірну різницю в експресії ТПО на рівні значущості  $p<0,05$  між цими стадіями розвитку вторинно радіоїодрезистентного метастазу ПРЦЗ:  $p=0,003346$ .

Відносна кількість тиреоцитів, що містять Тг, у пунктатах метастазу на йоднакопичувальній стадії складала від 35,0% до 90,0%, а на стадії втрати здатності до накопичення РЙ – від 0% до 80,0%. Виявлено достовірну різницю в експресії Тг на рівні значущості  $p < 0,05$  між цими стадіями розвитку метастазу ПРЦЗ:  $p = 0,003346$ .

Є дані, що ТПО та Тг беруть участь у процесі акумуляції та ретенції РЙ тиреоцитами. Отримані результати не суперечать літературним даним щодо редукції експресії Тг, ТПО та їх мРНК у тканинах РЙРМ ПРЦЗ (Mian C et al., 2008). Натомість слід зазначити, що ці дослідження досі проводились лише на гістологічному матеріалі. Ми вперше провели дослідження експресії цих антигенів у матеріалі ТАПБ метастазів ПРЦЗ у процесі розвитку їх вторинної радіюдрезистентності.

Як показано раніше, частка тиреоцитів, що містять ТПО, в матеріалі ТАПБ РЙЧМ, які успішно лікуються РЙ, досягає 100%. Медіана відсотку ТПО<sup>+</sup>-тиреоцитів для метастазів цієї групи складала 72,5%, що перевищує медіану відсотку ТПО<sup>+</sup>-тиреоцитів для метастазів на стадії накопичення РЙ (Me=20,0%), які з часом втрачають цю здатність і стають вторинно радіюдрезистентними. Різниця в експресії ТПО між цими групами метастазів виявилася достовірною на рівні значущості  $p = 0,00047$ . Причому медіани відсотку Тг<sup>+</sup>-клітин для цих груп метастазів практично збігалися ( $p = 0,286321$ ), тобто не виявлено залежності ефективності РЙТ від вмісту епітеліоцитів, що містять Тг (табл. 10).

Таблиця 10

**Частота цитологічних характеристик і певних антигенів у пунктатах поопераційних метастазів папілярних тиреоїдних карцином (n=15) на стадіях накопичення радіюду та втрати цієї здатності (%)**

Ознака	Стадія здатності до накопичення радіюду	Стадія втрати здатності до накопичення радіюду	p
Особливий клітинний фенотип (S-клітини)	0**	40,0	0,0062
Кістозна дегенерація	6,7**	40,0	0,0309
Комплекси псамомних тілець та вакуолізованих тиреоцитів	0**	46,0	0,0025
ТРО-позитивні клітини (Me)	20,0*	0	0,003346
Тг-позитивні клітини (Me)	90,0*	50,0	0,003346
ЦК 17-позитивні клітини (Me)	0	10,0	0,108810

Примітки: \* – вірогідна різниця за критерієм Вілкоксона в порівнянні зі стадією втрати до накопичення радіюду; \*\* – вірогідна різниця за критерієм  $\chi^2$  в порівнянні зі стадією втрати до накопичення радіюду.

Результати проведеного дослідження підтверджують залежність ефективності РЙТ від відносної кількості тиреоцитів, які експресують ТПО. В усіх випадках, коли відносна кількість ТПО<sup>+</sup>-клітин у матеріалі пунктату метастазу перевищувала 50%, РЙТ була ефективною. Проміжний показник вмісту цих клітин (до 50%) не виключає подальшого розвитку вторинної радіодрезистентності метастазу. Відсутність ТПО<sup>+</sup>-клітин або низький їх вміст свідчить про радіодрезистентність метастазу. Отже, визначення експресії ТПО в пунктаті поопераційних метастазів можна використовувати не лише для визначення здатності метастазу до накопичення РЙ, а й з метою прогнозування ефективності подальшої РЙТ. Дослідження експресії ЦК-17 у пунктатах метастазів у динаміці розвитку вторинної радіодрезистентності не виявило різниці між йоднакопичувальною стадією та стадією втрати здатності до накопичення РЙ ( $p=0,108810$ ).

Отже, на підставі виявлених цитологічних, ЦХ та ІЦХ особливостей РЙРМ ПРЦЗ вперше розроблено алгоритм передопераційного прогнозування радіодрезистентності (рис. 7) з метою визначення тактики терапії (хірургічне видалення метастазу або подальша РЙТ).

1. За відсутності ТПО або її наявності у менше ніж 25% клітин в епітелії пунктатів ППРЦЗ або відсутності антигену як в пунктаті первинної пухлини, так і її регіонарного метастазу, прогнозують високу ймовірність розвитку РЙРМ, що вимагає детального спостереження таких пацієнтів.

2. За сонографічного виявлення в поопераційний період регіонарних лімфовузлів, підозрілих на наявність метастазу, рекомендовано проведення ТАПБ із використанням запропонованих методів цитологічного та ІЦХ дослідження пунктату з метою визначення ефективності РЙТ.

3. Для прогнозування радіодрезистентності поопераційних метастазів рекомендується ІЦХ визначення експресії ТПО в пунктатах. За відсутності антигену в епітелії прогнозується неефективність подальшої РЙТ і бажано хірургічне видалення метастазу. За наявності інтенсивної реакції епітелію пунктату з МКАТ до ТПО у понад 53,5% тиреоцитів прогнозується успішне лікування РЙ і доцільно проведення РЙТ. За наявності від 30% до 50% ТПО<sup>+</sup>-клітин існує ймовірність розвитку вторинної радіодрезистентності метастазу попри помірне накопичення РЙ.

4. Цитологічне визначення в пунктатах поопераційних метастазів фенотипової гетерогенності епітелію – особливих фенотипів тиреоцитів, кістозної дегенерації, комплексів псамомних тілець і вакуолізованого епітелію – дозволяє прогнозувати їх радіодрезистентність.

5. При експресії Тг у 85% і менше тиреоцитів передбачають радіодрезистентність метастазу. Результати дослідження повідомляють клініцистам-хірургам, радіологам та ендокринологам.

Отже, в результаті комплексного порівняльного дослідження пунктатів первинного ПРЦЗ і поопераційних РЙРМ і РЙЧМ ПРЦЗ вперше отримано нові дані про цитологічні, ЦХ та ІЦХ зміни, що відбуваються в процесах розвитку



первинної та вторинної радіоїодрезистентності та багаторазового метастазування ПРЩЗ. На підставі цих даних вперше розроблено методи ефективного передопераційного прогнозування радіоїодрезистентності та результативності РЙТ ПРЩЗ. Вперше отримано доказові дані щодо можливості використання ЦХ визначення експресії ТПО, Тг, цитологічних ознак кістозної дегенерації та фенотипової гетерогенності популяції тиреоцитів як цитологічних маркерів прогнозування радіоїодрезистентності ПРЩЗ і розроблено новий алгоритм передопераційного прогнозування радіоїодрезистентності ПРЩЗ.

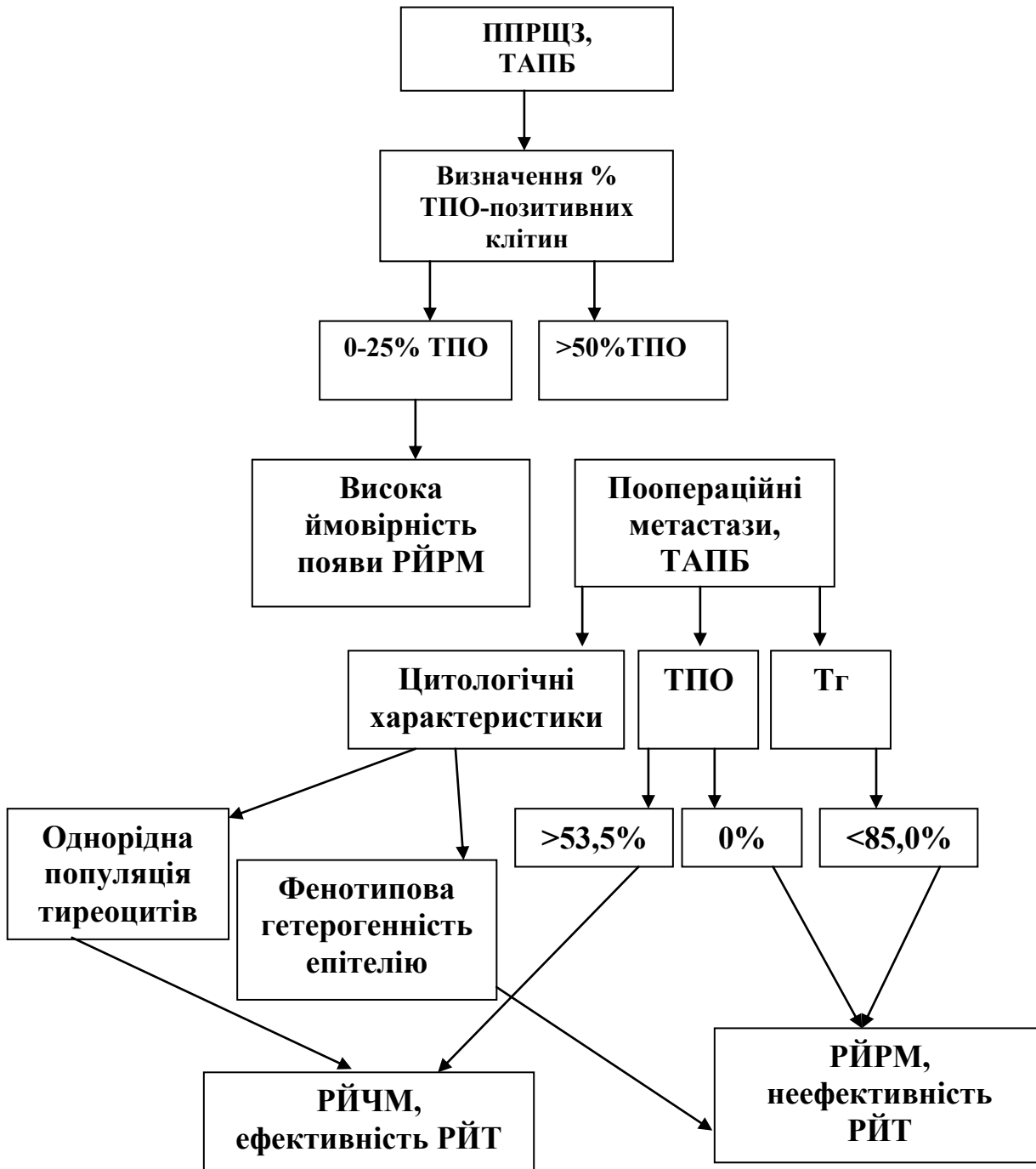


Рис. 7. Схема алгоритму передопераційного прогнозування радіоїодрезистентності папілярного раку щитоподібної залози.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі на підставі комплексного цитологічного, цитохімічного та імуноцитохімічного дослідження пункційного матеріалу тиреоїдних папілярних карцином щитоподібної залози та їх метастазів виявлено зміни, які відбуваються в процесі розвитку радіоїодрезистентності, що дозволило вирішити актуальну проблему сучасної ендокринології – розробити новий підхід до передопераційного прогнозування радіоїодрезистентності та передопераційного прогнозування ефективності радіоїодтерапії папілярного раку щитоподібної залози.

1. Розвиток радіоїодрезистентності асоціюється з такими морфологічними ознаками первинних папілярних карцином, як наявність екстратиреоїдного розповсюдження та метастазів, інвазія в судини та капсулу залози, відсутність тиреоїдиту.

2. Вперше продемонстровано фенотипову гетерогенність популяції тиреоцитів радіоїодрезистентних метастазів папілярного раку щитоподібної залози, що відрізняє їх від радіоїодчутливих метастазів. Наявність певних клітинних субпопуляцій корелює з частотою появи регіонарних метастазів тиреоїдного папілярного раку. Радіоїодрезистентність метастазів папілярного раку щитоподібної залози корелює з наявністю цитологічних ознак кістозної дегенерації в метастазах, виявлених у поопераційний період, що може використовуватись як новий метод передопераційного прогнозування радіоїодрезистентності та ефективності радіоїодтерапії.

3. Доведено кореляцію між вмістом тиреоцитів з експресією тиреоїдної пероксидази в пунктатах первинного папілярного тиреоїдного раку та наявністю метастазів у поопераційний період. Радіоїодрезистентні метастази з'являються лише у випадках, коли вміст клітин з експресією тиреоїдної пероксидази не перевищує 25,0% епітеліоцитів пунктату, що може бути використано для прогнозування поведінки папілярного раку в поопераційний період.

4. При індивідуальному порівнянні первинних папілярних раків щитоподібної залози та їх метастазів, виявлених до проведення тиреодектомії, відсоток клітин з тиреоїдною пероксидазою не збігається у більшості випадків. При прогнозуванні поопераційного метастазування папілярного раку, має сенс враховувати вміст клітин з тиреоїдною пероксидазою в пунктатах первинної пухлини або відсутність антигену як в пунктатах первинного папілярного раку, так і його метастазу.

5. Експресія тиреоїдної пероксидази є вірогідно меншою в пункційному матеріалі радіоїодрезистентних метастазів порівняно з відповідним показником у радіоїодчутливих метастазах папілярного раку щитоподібної залози. На підставі цього факту розроблено новий метод передопераційного прогнозування радіоїодрезистентності метастазів тиреоїдних папілярних карцином. Ефективність радіоїодтерапії корелює з експресією тиреоїдної пероксидази в пунктатах метастазів папілярного раку щитоподібної залози.

6. Цитохімічні та імуноцитохімічні методи визначення експресії тиреоїдної пероксидази в пунктатах поопераційних радіоїодрезистентних і радіоїодчутливих

метастазів демонструють зіставні результати, що обґрунтовує можливість використання обох методів у передопераційному прогнозуванні радіюдрезистентності папілярних карцином щитоподібної залози.

7. Експресію тиреоглобуліну значно зменшено в радіюдрезистентних метастазах папілярного раку щитоподібної залози порівняно з радіюдчутливими. Імуноцитохімічне визначення експресії тиреоглобуліну в метастазах є ефективним у передопераційному моніторингу радіюдрезистентності лише у випадках, коли вміст тиреоглобулін-позитивних клітин у пунктатах не перевищує 85,0%.

8. Проліферативна активність клітин у радіюдрезистентних і радіюдчутливих метастазів і загальній групі тиреоїдних папілярних карцином не різниться ( $p=0,974719$ ).

9. У метастазах папілярних тиреоїдних карцином, виявлених у поопераційний період, відсутня кореляція між експресією цитокератину-17 і радіюдрезистентністю на відміну від первинних папілярних карцином та їх метастазів, виявлених перед операцією.

10. Виявлено тенденцію до втрати ознак диференціації (достовірне зниження експресії тиреоїдної пероксидази та тиреоглобуліну, поява фенотипової гетерогенності популяції) тиреоцитами повторних метастазів рецидивуючих папілярних карцином щитоподібної залози.

11. У процесі розвитку вторинної радіюдрезистентності метастазів папілярного тиреоїдного раку достовірно знижується експресія тиреоїдної пероксидази та тиреоглобуліну, а також з'являються клітини певних фенотипів та особливі клітинні структури.

12. Розроблено алгоритм передопераційного прогнозування радіюдрезистентності тиреоїдної папілярної карциноми на підставі виявлення цитологічних та імуноцитохімічних особливостей тиреоцитів у пункційному матеріалі.

## **ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ**

1. Доцільно визначати експресію тиреоїдної пероксидази в матеріалі пунктів первинних папілярних карцином. За наявності експресії ферменту в 0,0-25,0% тиреоцитів існує висока ймовірність метастазування та появи радіюдрезистентних метастазів у поопераційний період, що обумовлює необхідність ретельного моніторингу таких пацієнтів.

2. У випадках сонографічного виявлення в пацієнтів із папілярним раком щитоподібної залози після тиреоїдектомії та радіюдтерапії регіонарних лімфатичних вузлів, підозрілих на наявність метастазу, доцільно проводити ТАПБ із використанням розроблених методів цитологічного та імуноцитохімічного дослідження пунктату з метою прогнозування радіюдрезистентності та визначення ефективності радіюдтерапії.

3. Виявлення цитологічних ознак кістозної дегенерації в пунктатах метастазів, діагностованих у поопераційний період, дозволяє передбачати

радіоїодрезистентність метастазу та обґрунтовує необхідність його хірургічного видалення.

4. Для прогнозування радіоїодрезистентності метастазу та визначення подальшої тактики терапії рекомендується проведення імуноцитохімічної реакції з моноклональними антитілами до тиреоїдної пероксидази та визначення відсотку імунопозитивних епітеліоцитів у пунктатах поопераційних метастазів. За відсутності експресії тиреоїдної пероксидази в клітинах пунктату доцільним є хірургічне видалення утворення. За наявності інтенсивної реакції з моноклональними антитілами в понад 53,5% тиреоцитів рекомендовано проведення радіоїодтерапії. Якщо вміст тиреоцитів з експресією ферменту складає від 30,0% до 50,0%, високою є ймовірність розвитку вторинної радіоїодрезистентності метастазу попри здатність до накопичення радіоїоду.

5. Цитологічне визначення ознаки фенотипової гетерогенності епітелію в пунктаті метастазу, виявленого в поопераційний період, дозволяє прогнозувати його радіоїодрезистентність.

6. Імуноцитохімічне визначення тиреоглобуліну в пунктатах метастазів, виявлених у поопераційний період, дозволяє передбачити їх радіоїодрезистентність за умов експресії тиреоглобуліну в менше, ніж 85,0% тиреоцитів або її повної відсутності.

7. За відсутності експресії тиреоглобуліну в клітинах пунктатів метастазів існує ймовірність неможливості контролю процесу метастазування за допомогою визначення вмісту тиреоглобуліну в крові. В таких випадках радіоїодрезистентні метастази можуть існувати попри низький рівень вмісту тиреоглобуліну в крові та негативні результати сканування з радіоїодом.

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

*Наукові праці (фахові видання), в яких опубліковано основні наукові результати дисертації:*

1. Божок ЮМ, Зелінська ГВ, Ніконенко АГ. Особлива субпопуляція тиреоцитів в пункційному матеріалі папілярних карцином щитоподібної залози. Ендокринологія. 2008;13(1):4-12. *(Особистий внесок – відбір матеріалу для досліджень, написання підрозділу, участь у підготовці статті до друку).*

2. Зелінська ГВ, Гулеватий СВ, Совенко ТК, Божок ЮМ, Марков ВВ. Радіоїодрезистентні регіональні метастази папілярного раку щитоподібної залози: клініко-біологічні аспекти (огляд літератури і власні дані). Ендокринологія. 2009;14(1):134-146. *(Особистий внесок – відбір та вивчення літератури за темою, проведення власних досліджень, написання статті).*

3. Bozhok Y, Greenebaum E, Bogdanova T, McConnell R, Zelinskaya A. et al. NA Cohort Study of Thyroid Cancer and Other Thyroid Diseases After the Chernobyl Accident. Cancer Cytopathology. 2009;25:73-81. *(Особистий внесок – участь у проведенні досліджень нативних пунктатів новоутворень щитоподібної залози, участь у проведенні цитологічних досліджень пунктатів та у підготовці статті до друку).*

4. Тронько МД, Гулеватий СВ, Совенко ТК, Матящук СІ, Марков ВВ, Божок ЮМ, Зелінська ГВ. Діагностика та радіонуклідне лікування тиреоїдного раку у хворих молодого віку. *Ендокринологія*. 2013;18(2):5-10. *(Особистий внесок – аналіз літератури, проведення цитологічних та імуноцитохімічних досліджень та статистичної обробки результатів, участь у підготовці статті до друку)*.

5. Зелінська ГВ. Цитологічні особливості популяції тиреоцитів радіоїодрезистентних метастазів папілярних карцином щитоподібної залози в їх доопераційному прогнозуванні. *Ендокринологія*. 2017;22(3):195-200.

6. Зелінська ГВ. Можливості цитологічної діагностики в передопераційному прогнозуванні поведінки пухлин та виборі адекватної терапії. *Ендокринологія*. 2018; 23(1):47-53.

7. Зелінська ГВ. Можливості цитологічної діагностики в передопераційному прогнозуванні радіоїодрезистентності клітин папілярного раку щитоподібної залози. *Онкологія*. 2018;20(4):1-5.

8. Зелінська ГВ. Цитокератин № 17 і тиреоїдна пероксидаза в якості імуноцитохімічних маркерів доопераційного прогнозування радіоїодрезистентності та ефективності радіоїодтерапії папілярного раку щитоподібної залози. *Онкологія*. 2019;21(1):31-5.

9. Зелінська ГВ. Цитологічні особливості багаторазово метастазуючих тиреоїдних папілярних карцином. *Ендокринологія*. 2019;24(1):35-40. Doi: 10.31793/1680-1466.2019.24-1.35

10. Зелінська ГВ. Дослідження проліферативної активності клітин радіоїодрезистентних метастазів папілярного раку щитоподібної залози. *Онкологія*. 2019;21(2):121-124.

11. Зелінська ГВ. Цитологічні та імуноцитохімічні прогностичні чинники радіоїодрезистентних метастазів папілярного раку щитоподібної залози. *Ендокринологія*. 2019;24(2):117-122. Doi: 10.31793/1680-1466.2019.24-2.117.

12. Zelinskaya Anna. Characteristics of subclonal structure in thyrocyte population in radioiodine-refractory metastases of papillary thyroid cancer. *Eureka: Life Science*. 2019;3(21):3-9. ISSN2504-5687.

13. Zelinskaya AV. Morphological features of radioiodine-resistance metastases of thyroid papillary carcinoma. *Reports of morphology (Вісник морфології)*. 2019;25(1):5-11. Doi: 10.31393/morphology-journal-2019-25(1)-01.

14. Зелінська ГВ. Цитохімічне та імуноцитохімічне дослідження експресії тиреоїдної пероксидази в передопераційній діагностиці папілярного раку щитоподібної залози та його радіоїодрезистентних метастазів. *Онкологія*. 2019;21(3): 1-6. DOI: 10.32471/oncology.2663-7928.t-21-3-2019-g.7925.

15. Zelinskaya A. Immunocytochemical characteristics of thyrocytes in radioiodine refractory metastases of papillary thyroid cancer. *Experimentally Oncology*. 2019;41(4):1-4. DOI: 10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-41-no-4.13705

16. Зелінська ГВ. Сумісне використання визначення експресії тиреоглобуліну та тиреоїдної пероксидази в пунктатах у передопераційному прогнозуванні ефективності радіоїодтерапії поопераційних метастазів папілярного

тиреоїдного раку. Ендокринологія. 2019;24(3):245-253. DOI:10.31793/1680-1466.2019.24-3.245.

17. Тронько МД, Зелінська ГВ, Кваченюк АМ, Божок ЮМ, Кулініченко ГМ. Алгоритм передопераційного прогнозування радіюдрезистентності папілярного раку щитоподібної залози з використанням матеріалу тонкоголкових аспіраційних пункцій них біопсій. Проблеми ендокринної патології. 2019;4(70):96-103. <http://doi.org/10.21856/j-PER.2019.4.13>. *(Особистий внесок – аналіз літератури, проведення досліджень, статистична обробка результатів, написання статті)*.

18. Зелінська ГВ. Кореляція радіюдрезистентності з агресивністю папілярних тиреоїдних карцином. Онкологія. 2019;21(4):310-315. DOI: 10.32471/oncology.2663-7928.t-21-4-2019-g.8430.

19. Зелінська ГВ, Шелковий ЄА. Ультразвукові та цитологічні характеристики радіюдрезистентності метастазів папілярного раку щитоподібної залози. Ендокринологія. 2019;24(4):311-317. DOI:10.31793/1680-1466.2019.24-4.311. *(Особистий внесок – аналіз літератури, проведення цитологічних, імуноцитохімічних та статистичних досліджень, участь у написанні статті)*.

20. Zelinskaya A, Kvachenyuk A, Kulinichenko G, Moroz V. Cytological characteristics of postoperative metastases of papillary thyroid cancer during the development of secondary radioiodine refractoriness. Eureka: Life science. 2020;1:3-10. DOI:10.21303/2504-5695.2020.001117. *(Особистий внесок – аналіз літератури, проведення досліджень, статистична обробка результатів, написання статті)*.

21. Булдігіна ЮВ, Зелінська ГВ, Шляхтич СЛ, Таращенко ЮН. Ультразвукові та цитологічні характеристики вузлових утворень щитоподібної залози за хвороби Грейвса. Ендокринологія. 2020;25(2):101-109. DOI: 10.31793/1680-1466.2020.25-2.101. *(Особистий внесок – аналіз літератури, проведення цитологічних, імуноцитохімічних та цитохімічних досліджень, статистична обробка результатів, написання статті)*.

*Опубліковані праці апробаційного характеру:*

22. Зелінська ГВ, Гулеватий СВ, Марков ВВ, Кулініченко ГМ, Устименко ГЯ. Цитоморфологічні та імуноцитохімічні особливості радіюдрезистентних метастазів папілярного раку щитоподібної залози. Матеріали VIII з'їзду асоціації ендокринологів України. Київ; 2014 *(Особистий внесок – аналіз літератури, проведення досліджень, статистична обробка результатів, написання тез)*.

23. Зелінська ГВ. Цитоморфологічні, імуноцитохімічні та цитохімічні особливості радіюдрезистентних метастазів папілярного раку щитоподібної залози. Тези до науково-практичної конференції «Сьогодення та майбутнє лабораторної медицини». Київ; 2014.

24. Зелінська ГВ. Цитологічні досягнення в прогнозуванні радіюдрезистентності папілярного раку щитоподібної залози в допомогу радіологам. Міжнародна наукова конференція «Радіологічні та медичні наслідки Чорнобильської катастрофи - тридцять років потому». Київ; 2016;204, с. 161.

25. Зелінська ГВ. Цитоморфологічні та імуноцитохімічні особливості радіюдрезистентних метастазів папілярного раку щитоподібної залози.

Ендокринологія. Матеріали II конгресу асоціації ендокринологів України. Київ; 2012;17(1):36.

26. Зелінська ГВ. Фенотипічні особливості тиреоцитів радіоїдрезистентних метастазів папілярних карцином щитоподібної залози в їх доопераційному прогнозуванні. Ендокринологія. Матеріали конференції. Київ; 2018;22(3):195-200.

27. Зелінська ГВ. Цитологічні, імуноцитохімічні та цитохімічні особливості радіоїдрезистентних метастазів папілярного тиреоїдного раку та їх передопераційне прогнозування. Проблеми ендокринної патології. Тези доповідей IX з'їзду ендокринологів України, що присвячений 100-річному ювілею ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данілевського НАМН України». Харків; 2019, с.81.

*Опубліковані праці, які додатково відображають наукові результати:*

28. Зелінська ГВ, Божок ЮМ, Коваленко АЄ, Солодяннікова ОІ, Кваченюк АМ. Застосування методів передопераційного прогнозування радіоїдрезистентності папілярних карцином щитоподібної залози для визначення ефективності радіоїодтерапії та тактики лікування. Інформаційний лист. Інформаційний лист. №36-2018. Київ.

29. Зелінська ГВ, винахідники; ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», патентовласник. Спосіб прогнозування ефективності лікування радіоїодтерапією післяопераційних метастазів папілярного раку щитоподібної залози. Деклараційний патент №86375 UA МПК G01N33/574. 2013 груд. 25.

30. Зелінська ГВ, винахідники; ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», патентовласник. Спосіб прогнозування радіоїдрезистентності метастазів папілярного раку щитоподібної залози. Деклараційний патент № 112802 UA МПК А61В 10/02 2016 груд. 26.

31. Зелінська ГВ. Доопераційне прогнозування радіоїдрезистентних метастазів папілярного раку щитоподібної залози. Український Радіологічний Журнал. 2009;17(3):384-387.

32. Зелінська ГВ, Кулініченко ГМ, Гулеватий СВ, Божок ЮМ, Марков ВВ, Устіменко ГЯ. Кістозна дегенерація та цитокератин – 17 як прогностичні фактори радіоїдрезистентності метастазів папілярного раку щитоподібної залози. Український Радіологічний Журнал. 2010;18(3):284-285 (*Особистий внесок – аналіз літератури, проведення цитологічних та імуноцитохімічних досліджень, статистична обробка результатів, написання статті*).

33. Зелінська ГВ, Кулініченко ГМ, Устіменко ГЯ. Цитоморфологічні особливості радіоїдрезистентних метастазів папілярного раку щитоподібної залози. Український Радіологічний Журнал. 2011;19(3):253-283 (*Особистий внесок – аналіз літератури, проведення цитологічних, імуноцитохімічних та статистичних досліджень, написання статті*).

34. Зелінська ГВ. Тиреоїдна пероксидаза в пунктах радіоїдрезистентних та радіоїодчутливих метастазів папілярного раку щитоподібної залози. Український Радіологічний Журнал. 2012;20(3):299-301.

35. Зелінська ГВ. Цитологічні досягнення у прогнозуванні радіоюдрезистентності папілярного раку щитоподібної залози в допомогу радіологам. Український Радіологічний Журнал. 2013;21(3):313-315.

36. Зелінська ГВ, Кулініченко ГМ, Устименко ГЯ. Особливості цитоморфологічного та імуноцитохімічного профілю радіоюдрезистентних метастазів папілярного раку щитоподібної залози. Український Радіологічний Журнал. 2014;22(3):63-66 (*Особистий внесок – аналіз літератури, проведення досліджень, статистична обробка результатів, написання статті*).

37. Зелінська ГВ, Кулініченко ГМ, Устименко ГЯ. Цитоморфологічні та імуноцитохімічні особливості первинних папілярних карцином щитоподібної залози та їх метастазів (радіоюдрезистентних та радіоюдчутливих). Український Радіологічний Журнал. 2015;23(3):83-86. (*Особистий внесок – аналіз літератури, проведення досліджень, статистична обробка результатів, написання статті*).

38. Зелінська ГВ. Імуноцитохімічні дослідження в доопераційному прогнозуванні радіоюдрезистентності папілярного раку щитоподібної залози. Український Радіологічний Журнал. 2015;23(3):165-166.

39. Зелінська ГВ, Кулініченко ГМ, Устименко ГЯ, Моторний ЄО. Субклональна структура популяції тироцитів радіоюдрезистентних та радіоюдчутливих метастазів папілярного раку щитоподібної залози. Український Радіологічний Журнал. 2016;24(3):15-19. (*Особистий внесок – аналіз літератури, проведення досліджень, статистична обробка результатів, написання статті*).

40. Божок ЮМ, Зелінська ГВ, Ніконенко ОГ. Дослідження фенотипічної гетерогенності популяції тироцитів папілярних карцином в матеріалі тонкоголкових пункційних біопсій. Журнал Національної академії медичних наук України. 2016;22(2) (*Особистий внесок – відбір матеріалу для досліджень, написання підрозділу, участь у підготовці статті до друку*).

41. Кваченюк АН, Кучменко ТМ, Божок ЮМ, Зелінська АВ, Шелковой ЕА. Дисгормональні стани репродуктивної системи у жінок після тироїдектомії та радіоюдтерапії з приводу диференційованої карциноми щитоподібної залози. Международный эндокринологический журнал. 2017;13(3):67-71. (*Особистий внесок – написання підрозділу, участь у підготовці статті до друку*).

42. Зелінська ГВ, Кулініченко ГМ, Устименко ГЯ, Божок ЮМ, Кваченюк АМ, Моторний ЄО. Фенотипічні особливості популяції тироцитів метастазів рецидивуючих папілярних карцином щитоподібної залози з багаторазовим метастазуванням. Український Радіологічний Журнал. 2017;24(3):190-193. (*Особистий внесок – аналіз літератури, проведення досліджень, статистична обробка результатів, написання статті*).

43. Зелінська ГВ. Радіоюдрезистентні метастази папілярного раку щитоподібної залози як прояв внутрішньопухлинної фенотипічної гетерогенності тироцитів. Український Радіологічний Журнал. 2018;25(3):

44. Зелінська ГВ. Доопераційне прогнозування радіоюдрезистентності папілярного раку щитоподібної залози. Art of medicine. 2018;4(8):78-86.

45. Тарашенко ЮМ, Коваленко АЄ, Остафійчук МВ, Янчій ІР, Мельник МД, Зелінська ГВ, Найда ЮМ. Хірургічне лікування тиреоїдних вузлів невизначеної



цитологічної структури. Клінічна хірургія. 2019;86(5):59-63. (*Особистий внесок – проведення цитологічних та імуноцитохімічних досліджень, написання фрагменту, участь у підготовці статті до друку*).

## АНОТАЦІЯ

**Зелінська Г.В.** Цитологічні аспекти радіюдрезистентності метастазів папілярного раку щитоподібної залози та алгоритм їх передопераційного прогнозування – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 14.01.14 «Ендокринологія». – ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», Київ, 2020.

Роботу присвячено дослідженню порушень експресії та активності антигенів клітин папілярного раку щитоподібної залози (ПРЩЗ) у розвитку його радіюдрезистентності та розробці методів передопераційного прогнозування радіюдрезистентності та ефективності радіюдтерапії метастазів ПРЩЗ на підставі виявлення цитологічних, імуноцитохімічних і цитохімічних особливостей їх клітин у матеріалі тонкоголкових аспіраційних пункційних біопсій, отриманому від 520 пацієнтів.

Вперше отримано доказові дані щодо можливості використання імуноцитохімічного визначення експресії тиреоїдної пероксидази, тиреоглобуліну, цитологічних ознак кістозної дегенерації та фенотипової гетерогенності популяції тиреоцитів як цитологічних чинників прогнозування радіюдрезистентності ПРЩЗ. Продемонстровано зміни цитологічних та імуноцитохімічних характеристик тиреоцитів, які відбуваються в процесі повторного метастазування та в динаміці розвитку вторинної радіюдрезистентності метастазів ПРЩЗ. Вперше розроблено алгоритм передопераційного прогнозування радіюдрезистентності та ефективності радіюдтерапії ПРЩЗ.

**Ключові слова:** щитоподібна залоза, тонкоголкова пункційна аспіраційна біопсія, папілярний рак, метастази, радіюдрезистентність, цитологічна діагностика, імуноцитохімічні дослідження, передопераційне прогнозування.

## АННОТАЦІЯ

**Зелинская А.В.** Цитологические аспекты радиюдрезистентности метастазов папиллярного рака щитовидной железы и алгоритм их дооперационного прогнозирования – Квалификационная научная работа на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 14.01.14 «Эндокринология». – ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко НАМН Украины», Киев, 2020.

Работа посвящена исследованию нарушений экспрессии и активности антигенов клеток папиллярного рака щитовидной железы (ПРЩЖ) в развитии его радиюдрезистентности и разработке методов дооперационного прогнозирования

радиодрезистентности и эффективности радиойодтерапии метастазов ПРЩЖ на основе выявления цитологических, иммуноцитохимических и цитохимических особенностей их клеток в материале тонкоигольных аспирационных пункционных биопсий, полученном от 520 пациентов.

Впервые получены доказательные данные относительно возможности применения иммуноцитохимического определения экспрессии тиреоидной пероксидазы, тиреоглобулина, цитологических признаков кистозной дегенерации и фенотипической гетерогенности популяции тиреоцитов как цитологических факторов прогнозирования радиодрезистентности ПРЩЖ. Продемонстрированы изменения цитологических и иммуноцитохимических характеристик тиреоцитов, которые происходят при повторном метастазировании и в динамике развития вторичной радиодрезистентности метастазов ПРЩЖ. Впервые предложен алгоритм дооперационного прогнозирования радиодрезистентности и эффективности радиойодтерапии ПРЩЖ, который можно применять в практической деятельности специализированных клиник.

**Ключевые слова:** щитовидная железа, тонкоигольная аспирационная пункционная биопсия, папиллярный рак, метастазы, радиодрезистентность, цитологическая диагностика, иммуноцитохимические исследования, дооперационное прогнозирование.

## SUMMARY

***Zelinska GV. Cytological aspects of radioiodine resistance of papillary thyroid cancer' metastases and algorithm of their preoperative prediction*** – Qualified scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Biological Sciences, specialty 14.01.14 "Endocrinology". – State Institution «Institute of Endocrinology and Metabolism named after V.P. Komisarenko NAMS of Ukraine», Kyiv, 2020.

The dissertation aimed to elucidate the role of impaired expression and activity of certain antigens of thyroid papillary cancer (PTC) cells in the development of radioiodine resistance and to develop methods for preoperative prediction of radioiodine resistance and efficacy of radioiodine therapy on the material of Fine Needle Aspiration Biopsies (FNAB).

For the first time the cytological and immunocytochemical studies of subclonal structure of population thyrocytes of postoperative PTC metastases were conducted. The presence of phenotypic heterogeneity of thyrocytes of radioiodine-refractory metastases of PTC was demonstrated in contrast to the absence of such feature for radioiodine-avid metastases. It is proved that certain cellular subpopulations ("S" and "M"-phenotypes of cells), differ from other thyrocytes by immunocytochemical and cytological characteristics, and can be used for preoperative prediction of radioiodine-resistance of PTC metastases. It was found that the incidence of regional metastases correlates with the presence of subpopulation "S" in FNA smears of PTC and postoperative metastases are statistically more common in patients with these cells in the FNA smears of primary PTC ( $p=0.0272$ ). Therefore, it is shown that the study of phenotypic heterogeneity of the

thyrocytes' population of FNA smears of PTC is a new and effective direction for the development of methods for preoperative predicting of radioiodine resistance of metastases.

The result of the work showed that the radioiodine resistance of PTC metastases correlates with the presence of cytological signs of cystic degeneration in the FNA smears of postoperative PTC metastases, on the basis of which proposed a new method of preoperative prediction of radioiodine resistance and efficacy of radioiodine therapy. For the first time there was a study of the correlation of the frequency of micronucleis in the FNA smears of PTC' metastases depending on their ability to accumulate radioiodine.

The correlation between the thyrocytes' content with the expression of thyroid peroxidase in the FNA smears of primary PTC and the presence of metastases in patients in the postoperative period is shown ( $p < 0.05$  by Spearman's methods (-0.344788) and by the method of determining gamma-correlation (-0.489362). It's shown that the radioiodine-refractory metastases were detected only in cases where the content of thyroid peroxidase-positive cells comprised 0-25% of thyrocytes, which can be used to predict PTC behavior in the postoperative period.

Immunocytochemical studies of the FNA smears of metastases that developed after thyroidectomy and radioiodine therapy revealed a significant difference in the percentage of thyroid peroxidase-positive thyrocytes between radioiodine-resistant and radioiodine-avid metastases ( $p < 0.001$ ). On this basis, a method for the prediction of radioiodine resistance and efficacy of radioiodine therapy for postoperative PTC metastases was developed for the first time. This quick and easy method allows determine the adequate tactics for further treatment of patients: radioiodine therapy – in cases where the percentage of thyroid peroxidase-positive thyrocytes in the FNA smears of the metastases exceeds 53.5%, surgical removal of metastasis – in cases of lack of expression of thyroid peroxidase. It is shown that the intermediate values of the percentage of cells with thyroid peroxidase expression (30-50%), although accompanied by a moderate accumulation of radioiodine, but such accumulation may be insufficient for successful radioiodine therapy. Comparison of cytochemical and immunocytochemical methods for determining the expression of thyroid peroxidase in the epithelium of FNA smears of postoperative metastases demonstrated comparable results, which substantiates the possibility of using both methods in the preoperative prediction of radioiodine resistance of PTC.

A significant difference in the percentage of thyroglobulin-positive thyrocytes between radioiodine-resistant and radioiodine-avid metastases of PTC was also determined ( $p < 0.001$ ). The content of thyrocytes with expression of thyroglobulin in FNA smears of radioiodine-avid metastases is always not lower than 85%, whereas in radioiodine-resistant metastases it can be reduced to 0%. It is shown that determination in FNA smears of postoperative metastases of both antigens – thyroid peroxidase and thyroglobulin – increases the accuracy of prediction of their radioiodine resistance.

It has been determined that the phenomenon of radioiodine resistance does not correlate with a decrease or increase in the proliferative activity of epithelium of metastases of PTC ( $p = 0.974719$ ). There is no correlation between radioiodine resistance

of postoperative PTC metastases and expression of cytokeratin-17 in FNA smears ( $p=0.397468$ ).

The results of cytological and immunocytochemical studies of FNA smears of metastases of recurrent PTC proved that the phenotypic characteristics of thyrocytes of recurrent metastases of such carcinomas show a tendency for the loss of their cells by the signs of differentiation.

For the first time, a studies of cytological and immunocytochemical changes in the dynamics of development of secondary radioiodine resistance of PTC metastases were performed. Significant reduction of the expression of thyroid peroxidase and thyroglobulin ( $p<0.05$ ), as well as the appearance of certain phenotypes and cellular structures under conditions of loss of the ability to accumulate radioiodine in the development of secondary radioiodine resistance of PTC metastases have been demonstrated.

As a result of complex studies of FNA smears of PTC and their metastases, for the first time an algorithm for preoperative prediction of radioiodine resistance and efficacy of radioiodine therapy of PTC, which can be used in the practice of radiology, endocrinology, oncology clinics' departments.

**Key words:** thyroid, fine needle aspiration biopsy (FNAB), cytological diagnosis, papillary cancer, metastases, radioiodine-resistance, immunocytochemical studies, preoperative prognosis.

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

ЩХ	– імуноцитохімія
ПР	– папілярний рак
ППР	– первинний папілярний рак
РЙ	– радіойод
РЙТ	– радіойодтерапія
РЙРМ	– радіойодрезистентні метастази
РЙЧМ	– радіойодчутливі метастази
ТАПБ	– тонкоголкова аспіраційна пункційна біопсія
Тг	– тиреоглобулін
ТПО	– тиреоїдна пероксидаза
УЗД	– ультразвукове дослідження
ЦХ	– цитохімія
ЩЗ	– щитоподібна залоза
NIS	– Na-I-Symporter
ЦК-17	– цитокератин-17