

Можливості імуногістохімічних маркерів HBME-1, TROP-2, Galectin-3 та Ki-67 для оптимізації діагностики фолікулярних карцином



О. П. Нечай, Н. І. Белемєць, О. О. Гузь,
Д. М. Квітка, О. А. Товкай

Український науково-практичний центр ендокринної хірургії,
трансплантації ендокринних органів і тканин
Міністерства охорони здоров'я України, Київ

Нині існує діагностична дилема щодо верифікації фолікулярних карцином щитоподібної залози (ФКЩЗ) за допомогою морфологічного дослідження у хворих, прооперованих із приводу вузлового зоба, із цитологічним висновком відповідно до класифікації Bethesda III, IV та V [1]. У клінічній практиці досі трапляються пацієнти, яким встановлено діагноз «доброякісна фолікулярна аденома (ФА)», а згодом діагноз змінено на злоякісний процес через рецидив чи метастазування, що може бути фатальним для хворого. Труднощі гістологічної диференційної діагностики ФА та ФКЩЗ пов'язані зі схожістю мікрофолікул. Основним критерієм є виявлення інвазії в капсулу вузла та за її межі на рутинних серійних зрізах. У сумнівних морфологічних випадках застосування імуногістохімічного (ІГХ) дослідження поліпшує діагностику тиреоїдного раку та прогноз щодо одужання хворого при проведенні відповідного лікування [2, 3].

Мета роботи — вивчити ефективність застосування імуногістохімічних маркерів HBME-1, TROP-2, Galectin-3 та Ki-67 у діагностиці фолікулярної аденоми та фолікулярних карцином щитоподібної залози на гістологічному матеріалі хворих, прооперованих із приводу вузлового зоба з цитологічним висновком за класифікацією Bethesda III, IV та V.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Досліджено 124 хворих віком від 15 до 80 років (середній вік — $47,5 \pm 1,3$ року), прооперованих у Центрі в період з 2017 до 2021 р. з приводу фолікулярних вузлових новоутворень щитоподібної залози (ЩЗ) із цитологічним висновком, класифікованим за системою Bethesda (2017) як категорії III, IV та V («Gray zone»).

За результатами патогістологічного дослідження (ПГД) ФКЩЗ мала місце в 26 (20,97 %) випадках, ФА — у 98 (79,03 %). Усі ПГД були доповнені стандартною операційною процедурою ІГХ дослідження з використанням наборів антитіл виробництва «Bio SB» «Bioscience for the World» (Santa Barbara, США) та системи візуалізації фірми «Daco» (Японія). Маркер ендотелію кісткового мозку людини 1 (Hector Battifora mesothelial-1, HBME-1) є мишачим моноклональним антитілом проти людського HBME-1 (1 : 500; кат. № BSB 3459), TROP-2 — мишачим моноклональним антитілом проти людського TROP-2 (1 : 25—1 : 100; кат. № BSB 148), Galectin-3 — мишачим моноклональним антитілом проти людського Galectin-3 (1 : 50—1 : 200; кат. № BSB 9C4), Ki-67 — кроляче моноклональне антитіло проти людського Ki-67 (1 : 50—1 : 200; кат. № BSB EP5). Процедуру дослідження проводили відповідно до інструкцій виробника [4]. Результати ІГХ досліджень оцінювали за часткою забарвлених

Нечай Олександр Павлович, к. мед. н., зав. відділу патології. E-mail: allanechay@ukr.net. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5978-4458>; Белемєць Наталія Іванівна, к. біол. н., зав. відділення цитології. E-mail: n.belemets@ukr.net. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1050-1277>; Гузь Ольга Олександрівна, лікар; Квітка Дмитро Миколайович, лікар-хірург. E-mail: dnkvitka@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7606-8365>; Товкай Олександр Андрійович, д. мед. н., проф., директор Українського науково-практичного центру ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України. E-mail: director.tovkai@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1329-279X>

цитоплазматично-позитивних клітин та інтенсивністю забарвлення (0 балів — відсутність кольору, 1 бал (+) — слабкожовтий колір, 2 бали (++) — помірно виразний жовтий колір, 3 бали (+++) — яскраво-коричневий колір). У кожній секції під мікроскопом ($\times 400$) випадково обирали 5 типових ділянок, підраховували кількість забарвлених клітин у полі зору та розраховували середнє значення. Для оцінки використовували частку позитивних клітин: 0 балів — 0 %, 1 бал — 1—25 %, 2 бали — 26—50 %, 3 бали — 51—75 %, 4 бали — 76—100 %. Зразок вважали позитивним, якщо добуток оцінок інтенсивності забарвлення та частки забарвлених клітин був > 6 балів.

Аналіз чотирипольних таблиць спряженості виконували шляхом розрахунку коефіцієнта χ^2 із поправкою Йейтса, точного тесту Фішера та коефіцієнта V Крамера за допомогою статистичних онлайн-калькуляторів VassarStats (<http://vassarstats.net/>) та MedCalc Software Ltd. Fisher exact probability calculator (<https://www.medcalc.org/calc/fisher.php> (Version 22.023; accessed April 3, 2024)). Для розрахунку операційних характеристик тестів із 95 % довірчим інтервалом (ДІ) застосовували калькулятор MedCalc Software Ltd. Diagnostic test evaluation calculator. (https://www.medcalc.org/calc/diagnostic_test.php (Version 22.023; accessed April 3, 2024)).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Результати вивчення зміни інтенсивності забарвлення ІГХ-реакції при застосуванні маркерів HBME-1, TROP-2, Galectin-3 та Ki-67 для виявлення ФКЩЗ наведено в табл. 1.

Аналіз таблиці дав змогу припустити, що тести виявляються найбільш результативними за наявності реакції будь-якої інтенсивності слід вважати позитивним результатом тесту (наявність захворювання), відсутність реакції — негативним результатом тесту. З огляду на це результати тестів для кожного маркера мають такий вигляд (табл. 2).

Результати дослідження чотирипольної таблиці спряженості (див. табл. 2) за допомогою коефіцієнта χ^2 із поправкою Йейтса, точного тесту Фішера та коефіцієнта V Крамера наведено в табл. 3.

В усіх випадках сила зв'язку між результатами тестування та наявністю шуканого захворювання є слабкою або дуже слабкою та статистично незначущою в усіх випадках (див. табл. 3).

Додаткову інформацію для аналізу надають дані про величину операційних характеристик відповідних тестів (табл. 4).

Найбільшу загальну діагностичну ефективність за рахунок високої специфічності (93,9 і 96,9 %, відповідно) забезпечують тести з використанням маркерів TROP-2 та Ki-67, але їхня чутливість або вкрай низька (11,5 % для Ki-67), або нульова (TROP-2). Тому ці тести не мають практичної цінності.

Щодо виявлення захворювання найкориснішим є тест із використанням HBME-1 (чутливість — 88,5 %): пропущені лише 3 випадки з 26, але він дає

Таблиця 1

Інтенсивність забарвлення імуногістохімічної реакції HBME-1, TROP-2, Galectin-3 та Ki-67 при встановленні діагнозу фолікулярної карциноми щитоподібної залози

Інтенсивність реакції	HBME-1		Galectin-3		TROP-2		Ki-67	
	ФКЩЗ	ФА	ФКЩЗ	ФА	ФКЩЗ	ФА	ФКЩЗ	ФА
0	3	24	18	77	26	92	23	95
+	8	47	6	16	0	5	2	3
++	7	13	0	5	0	1	0	0
+++	8	14	2	0	0	0	1	0
Разом	26	98	26	98	26	98	26	98

Таблиця 2

Результати тестів маркерів HBME-1, TROP-2, Galectin-3 та Ki-67

Тест	ФКЩЗ (n = 26)		ФА (n = 98)		Разом (n = 124)
HBME-1					
Позитивний	ІП	23	ХП	74	97
Негативний	ХН	3	ІН	24	27
Galectin-3					
Позитивний	ІП	8	ХП	21	29
Негативний	ХН	18	ІН	77	95
TROP-2					
Позитивний	ІП	0	ХП	6	6
Негативний	ХН	26	ІН	92	118
Ki-67					
Позитивний	ІП	3	ХП	3	6
Негативний	ХН	23	ІН	95	118

Примітка. ІП — істинно позитивний; ХП — хибно позитивний; ХН — хибно негативний; ІН — істинно негативний результат.

Таблиця 3

Результати аналізу чотирипольних таблиць

Маркер	χ^2 із поправкою Йейтса	p	Точний тест Фішера	p	Коефіцієнт V Крамера
HBME-1	1,33	0,2448	0,1896	> 0,05	0,1276
Galectin-3	0,55	0,4583	0,3109	> 0,05	0,0898
TROP-2	—	—	0,3417	> 0,05	0,1161
Ki-67	—	—	0,1060	> 0,05	0,1609

Примітка. Для TROP-2 і Ki-67 значення χ^2 не розраховували через недостатню кількість спостережень.

Таблиця 4

Основні операційні характеристики тестів, %

Показник	HBME-1	Galectin-3	TROP-2	Ki-67
Чутливість	88,5 (69,9—97,6)	30,8 (14,3—51,8)	0,0 (0,0—13,2)	11,5 (2,5—30,2)
Специфічність	24,5 (16,4—34,2)	78,7 (69,1—86,2)	93,9 (87,2—97,7)	96,9 (91,3—99,4)
Прогностична значущість позитивного результату	23,7 (20,6—27,1)	27,6 (16,1—43,2)	0	50,0 (17,6—82,4)
Прогностична значущість негативного результату	88,9 (72,3—96,1)	81,1 (76,4—84,9)	78,0 (77,1—78,8)	80,5 (78,2—82,7)
Діагностична ефективність	37,9 (29,4—47,1)	68,6 (59,6—76,6)	74,2 (65,6—81,6)	79,0 (70,8—85,8)

Примітка. У дужках наведено 95 % ДІ.

Таблиця 5

Розподіл спостережень для різних комбінацій інтенсивності забарвлення тестів HBME-1 і Galectin-3

	HBME-1	Galectin-3	ФКЦЗ (n = 26) / Загальна кількість спостережень (n = 124)
1	0	0	3 / 23
2	0	+	1 / 4
3	0	++	0 / 0
4	0	+++	0 / 0
5	+	0	8 / 42
6	+	+	1 / 9
7	+	++	0 / 4
8	+	+++	0 / 0
9	++	0	2 / 13
10	++	+	2 / 5
11	++	++	0 / 0
12	++	+++	1 / 1
13	+++	0	5 / 17
14	+++	+	2 / 4
15	+++	++	0 / 0
16	+++	+++	1 / 1

дуже багато хибно позитивних результатів: 74 із 98 (див. табл. 2). Тому прогностична значущість позитивного результату і загальна ефективність тесту є низькими (23,7 і 37,9 % відповідно), але прогностична значущість негативного результату є суттєвою — 88,9 %. Отже, при позитивному результаті тесту має місце значна гіпердіагностика, тоді як негативний результат є досить точним.

Натомість тест із використанням Galectin-3 відносно точно визначає відсутність захворювання — 78 із 98 таких випадків (специфічність — 79,6 %), але практично неефективний для пошуку захворювання — 9 «спрацювань» із 26 випадків ФКЦЗ.

Для визначення доцільності та практичної користі одночасного застосування тестів HBME-1 та Galectin-3 проаналізовано кількість випадків ФК за різних комбінацій інтенсивності забарвлення тестів. Загалом таких комбінацій може бути 16 (табл. 5).

З 16 можливих варіантів співвідношення результатів одночасного застосування двох маркерів 15 варіантів є результативними, тобто такими, в яких хоча б один маркер мав позитивну реакцію. У 6 випадках може мати місце позитивна реакція лише одного маркера, у 9 — позитивна реакція різного ступеня інтенсивності забарвлення одночасно обох маркерів.

Оскільки для деяких варіантів спостереження були відсутні, а для деяких — близькі за результативністю, шляхом укрупнення сформовано 5 груп різних комбінацій реакції маркерів і проаналізовано відносну частоту за них ФКЦЗ (табл. 6).

Дані, наведені у табл. 6, дають опосередковане уявлення про ефективність такого дослідження, що можна оцінити зіставленням відносної частоти випадків ФКЦЗ для кожного з 5 варіантів співвідношення результатів двох тестів. Відносну частоту з певними застереженнями можна розглядати як наближене значення ймовірності. Отже, при одночасній відсутності реакції обох маркерів з приблизно 0,9 ймовірністю можна очікувати відсутність у хворого ФКЦЗ. Натомість для варіантів 4 і 5 ймовірність виявлення ФКЦЗ становить від 0,296 до 0,667, а для варіантів 2 і 3 (трохи більше ніж половина пацієнтів) висновки мають проблематичний характер.

Таким чином, на цьому етапі досліджень можна стверджувати, що одночасну відсутність реакції маркерів HBME-1 і Galectin-3 можна трактувати на користь наявності в пацієнта ФА, а одночасну позитивну реакцію обох маркерів — пересторогою щодо діагнозу ФКЦЗ. За наявності більшого обсягу дослідних даних можна буде говорити про диференційованіші прогнози.

Додатково були досліджені найрезультативніші варіанти результатів одночасного застосування двох тестів (табл. 7).

Залежно від завдання можна обирати значення чутливості/специфічності, використовуючи певний варіант критерію. У всіх варіантів висока (> 80 %) прогностична значущість негативного результату.

При вузловому ураженні ЩЗ пункційна біопсія з подальшим цитологічним дослідженням є золотим стандартом доопераційної діагностики доброякісних

Таблиця 6

Результативність одночасного використання тестів HBME-1 і Galectin-3

Забарвлення HBME-1 і Galectin-3	ФКЦЗ	ФА	Разом	Відносна частота ФКЦЗ (95 % ДІ)
1 0 і 0 (реакції немає)	2	21	23	0,087 (0,011—0,314)
2 0 і «+»/«+» і 0 (реакції одного з маркерів немає, інтенсивність забарвлення іншого слабка)	9	37	46	0,196 (0,090—0,371)
3 «+» і «+»/ «+++» і 0	3	19	22	0,136 (0,028—0,399)
4 «+» і «+++»/«+++» і «+»/«++++» і 0	8	19	27	0,296 (0,128—0,584)
5 «++++» і «+»/«+++» і «++++»/«++++» і «++++»	4	2	6	0,667 (0,182—1,000)
Разом	26	98	124	0,210 (0,147—0,290)

Таблиця 7

Основні операційні характеристики тестів для різних варіантів результатів одночасного застосування маркерів HBME-1 і Galectin-3, %

Показник	Позитивний результат — виявлення ФК		
	Обидва тести позитивні	Обидва тести позитивні або HBME-1 — «++++» і Galectin-3 — 0	Обидва тести позитивні або HBME-1 — «+++»/«++++» і Galectin-3 — 0
Чутливість	30,78 (14,3—51,8)	50,0 (29,9—70,1)	57,7 (36,9—76,7)
Специфічність	82,6 (73,7—89,6)	70,4 (60,3—79,2)	59,2 (48,8—69,0)
Прогностична значущість позитивного результату	32,0 (18,6—49,2)	31,0 (21,5—42,3)	27,3 (20,0—36,0)
Прогностична значущість негативного результату	81,8 (77,4—85,5)	84,2 (78,0—88,8)	84,1 (76,6—89,5)
Діагностична ефективність	71,8 (63,0—79,6)	66,1 (57,1—74,4)	58,9 (49,7—67,6)

і злоякісних пухлин. Однак є труднощі з верифікацією злоякісного процесу в пухлинах, які мають фолікулярний характер росту та цитологічно відповідають за класифікацією Bethesda III, IV та V [5]. Це також спостерігається при ПГД. Фолікулярні пухлини ЩЗ (доброякісні та злоякісні) мають схожі ознаки будови клітин — мікрофолікули і мікроядра. Єдиним діагностичним критерієм ФКЩЗ є інвазія в капсулу вузла та за її межі на серійних гістологічних зрізах [1, 6]. Однак завжди є ризик невиявлення гістологом цієї ознаки, що не дасть змоги діагностувати тиреоїдний рак, призведе до невідповідного ведення пацієнта та підвищення ризику рецидиву (продовження) захворювання [3]. Відомо, що застосування певних маркерів при ІГХ-дослідженні поліпшує діагностику тиреоїдного раку в сумнівних гістологічних випадках [2].

Було досліджено 50 зразків різних фолікулярних уражень ЩЗ [7]. Результати показали, що експресія TROP-2 разом із HBME-1 давала змогу відрізнити доброякісні ураження ЩЗ від злоякісних фолікулярних з відповідною чутливістю 74,2 і 87,1 % та специфічністю 84,2 і 78,9 %. Крім того, експресія HBME-1 була значно менш поширеною в доброякісних ураженнях (15,8 %) порівняно зі злоякісними (74,2 %, $p < 0,001$). Позитивна експресія TROP-2 значно рідше траплялася в доброякісних ураженнях (21,1 %), ніж у злоякісних (87,1 %, $p < 0,001$). Значення $p < 0,001$ свідчить про надзвичайно сильну прямо пропорційну кореляцію між експресією HBME-1 і TROP-2 у всіх досліджених випадках.

У нашому дослідженні (див. табл. 2) маркер TROP-2 продемонстрував найвищу загальну діагностичну ефективність за рахунок високої специфічності (93,9 %), але його чутливість була нульова, що не узгоджується з даними, наведеними S. S. Abu-Seadah et al. [7]. Тест на основі HBME-1 допоміг виявити захворювання з чутливістю 88,5 %, але він показав багато хибних «спрацювань»: 74 із 98, тому прогностична значущість позитивного результату становила 23,7 %, а загальна ефективність тесту — 37,9 %. Прогностична значущість негативного результату — 88,9 %, що відповідає повідомленням інших авторів, тобто негативний результат є досить точним, а при позитивному результаті існує велика ймовірність виявлення ФКЩЗ.

Група авторів дослідили експресію білка маркера HBME-1 у тканинах диференційованої карциноми ЩЗ [8]. Вивчено ІГХ-експресію HBME-1 у пацієнтів із вузловим зобом (контрольна група), папілярною карциномою ЩЗ (група ПКЩЗ) та ФКЩЗ (група ФКЩЗ).

Проаналізовано кореляцію експресії HBME-1 у групах ПКЩЗ та ФКЩЗ з ультразвуковою характеристикою ЩЗ. Як у групі ПКЩЗ, так і в групі ФКЩЗ рівні HBME-1 в уражених тканинах та показник експресії HBME-1 за шкалою ІГХ-забарвлення були вищими, ніж у контрольній групі ($p < 0,05$). У групі ПКЩЗ середній показник ІГХ-експресії HBME-1 в уражених тканинах був вищим, ніж у групі ФКЩЗ ($p < 0,05$). Не виявлено статистично значущих відмінностей за експресією HBME-1 в уражених тканинах між групами ПКЩЗ і ФКЩЗ ($p > 0,05$). Між групами ПКЩЗ та ФКЩЗ відмінності за діаметром вузла, ехом, формою, межею, кальцифікацією та сигналом кровотоку були статистично значущими ($p < 0,05$), а за частотою збільшення шийних лімфатичних вузликів — ні ($p > 0,05$).

Метою іншої роботи було визначити відмінності за експресією HBME-1, цитокератину-19 (CK19), Galectin-3 і CD56 в інфільтративних фолікулярних варіантах папілярної карциноми (IFVPTC) та інкапсульованих фолікулярних варіантах папілярної карциноми (EFVPTC) і предиктори для диференціювання двох підтипів до операції [9]. На всіх цитологічних та гістологічних препаратах з висновком «неінвазивні фолікулярні новоутворення ЩЗ із папілярноподібними ядерними ознаками (NIFIP)» ($n = 45$), EFVPTC ($n = 55$), IFVPTC ($n = 43$), «фолікулярні новоутворення (ХН)» ($n = 64$) проведено ІГХ-дослідження з використанням маркерів HBME-1, CK19, Galectin-3 і CD56. Кожний випадок оцінювали 1 балом за кожний позитивний результат. Імуногістохімічна експресія істотно не відрізнялася у групах EFVPTC і NIFIP за винятком експресії HBME-1. Експресія HBME-1, CK19, Galectin-3 і CD56 була значно вищою в групі IFVPTC, ніж у групі EFVPTC. При граничному рівні забарвлення (3 бали) метод оцінки мав особливу діагностичну цінність для диференціації IFVPTC від EFVPTC і ХН та для прогнозування метастазів у лімфатичних вузлах. Автори дійшли висновку, що оцінка результатів ІГХ-дослідження, ультразвукових, цитологічних і молекулярних тестів може допомогти в диференціації IFVPTC і EFVPTC до операції, що дасть змогу виконати органозахисні операції або застосувати активне спостереження.

V. Arcolia та співавт. повідомляють, що нині як доопераційний метод діагностики злоякісних пухлин ЩЗ найчастіше використовують тонкоголкову пункцію, але в деяких випадках гістологи не можуть провести ефективною та точною диференційною діагностикою доброякісних і злоякісних вузлів ЩЗ [10]. Для вирішення цієї проблеми вони провели ІГХ-дослідження з використанням галектинів

(Galectin) 1, 3, 7 і 8, цитокератину-19 (CK19), мезотеліального епітопу Hecton Battifora-1 (HBME-1) і тиреоїдної пероксидази (ТРО) на 66 зразках тканини ФА і 66 зразках карциноми ЩЗ. Ідентифікацію оптимальних граничних рівнів і діагностичну цінність окремих імуномаркерів або комбінацій оцінювали за допомогою аналізу кривої робочих характеристик приймача. Інтенсивність сигналу для Galectin-1, Galectin-3, CK19 і HBME-1 була значно вищою в КЩЗ порівняно з ФА ($p < 0,001$), а рівень експресії ІПО — у ФА порівняно з КЩЗ ($p < 0,001$). Galectin-3 і CK19 були найчутливішими маркерами (97 і 98 % відповідно), тоді як Galectin-1 — найспецифічнішим (97 %). Комбінація Galectin-3, CK19 і HBME-1 виявилася найбільш ефективною та інформативною панеллю маркерів із найбільшою специфічністю (97 %) і чутливістю (95 %) для діагностики КЩЗ. Отримані результати свідчать, що ця комбінація маркерів може підвищити надійність діагностики раку ЩЗ. У нашому дослідженні встановлено, що при одночасному застосуванні маркерів HBME-1 і Galectin-3 у гістологічних препаратах відсутність ІГХ-реакції може свідчити про наявність у хворого ФА, тоді як одночасна позитивна реакція обох маркерів є підставою для пошуку можливого діагнозу ФКЩЗ (специфічність — 82,6 %).

ВИСНОВКИ

Найбільш значущим ІГХ-маркером у диференційній діагностиці ФА та ФРЩЗ є HBME-1 (діагностична чутливість — 88,5 %). Застосування маркерів TROP-2 та Ki-67 при ІГХ-дослідженні недоцільне для виявлення ФКЩЗ (чутливість — 11,5 та 0 % відповідно). Одночасне використання маркерів HBME-1 і Galectin-3 довело, що відсутність ІГХ-реакції можна трактувати на користь наявності в пацієнта ФА, а одночасна позитивна реакція обох маркерів має насторожити щодо діагнозу ФКЩЗ.

Необхідно продовжити дослідження в цьому напрямі для накопичення більшого обсягу спостережень, що дасть змогу отримати більше достовірних статистичних даних для використання зазначених маркерів.

Конфлікту інтересів немає.

Участь авторів: концепція і дизайн дослідження, редактування — О. П. Нечай, О. А. Товкай; збір та опрацювання матеріалу — О. П. Нечай, Н. І. Белемєць, О. О. Гузь, Д. М. Квітка, О. А. Товкай; написання тексту — О. П. Нечай, О. О. Гузь, Д. М. Квітка.

ЛІТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Xu B. Papillary Thyroid Carcinoma Overview. 2020. Available online: <https://www.pathologyoutlines.com/topic/thyroidpapillary.html> (accessed on 25 April 2022).
2. De Matos PS, Ferreira AP, de Oliveira Facuri F, Assumpção LV, Metze K, Ward LS. Usefulness of HBME-1, cytokeratin 19 and galectin-3 immunostaining in the diagnosis of thyroid malignancy. *Histopathology*. 2005 Oct;47(4):391-401. doi: 10.1111/j.1365-2559.2005.02221.x. PMID: 16178894.
3. Yuan Y, Sun C, Yin T, Shao C, Pan B, Lu D, Hou S, Lowe S, Bentley R, Chen S, Huang C, Cheng C, Li Y, King B, Zhou Q, Yan C, Zhang F. Comparison of endoscopic thyroidectomy by complete areola approach and conventional open surgery in the treatment of differentiated thyroid carcinoma: A retrospective study and meta-analysis. *Front Surg*. 2022 Dec 20;9:1000011. doi: 10.3389/fsurg.2022.1000011. PMID: 36605164; PMCID: PMC9807756.
4. Sadamori H, Yagi T, Iwagaki H, Matsuda H, Shinoura S, Umeda Y, Ohara N, Yanai H, Ogino T, Tanaka N. Immunohistochemical staining of liver grafts with a monoclonal antibody against HCV-Envelope 2 for recurrent hepatitis C after living donor liver transplantation. *J Gastroenterol Hepatol*. 2009 Apr;24(4):574-80. doi: 10.1111/j.1440-1746.2008.05638.x. PMID: 19368635.
5. Giuliano S, Mirabelli M, Chiefari E, Vergine M, Gervasi R, Brunetti FS, Innaro N, Donato G, Aversa A, Brunetti A. Malignancy analysis of thyroid nodules in patients subjected to surgery with cytological and ultrasound based risk stratification. *Endocrines*. 2020;(1):102-18. <https://doi.org/10.3390/endocrines1020010>.
6. Baloch ZW, Harrell RM, Brett EM, Randolph G, Garber JR; AACE Endocrine Surgery Scientific Committee and Thyroid Scientific Committee. Managing thyroid tumors diagnosed as non-invasive follicular tumor with papillary like nuclear features (NIFIP). *Endocr Pract*. 2017 Jul 13. doi: 10.4158/EP171940.DSC. Epub ahead of print. PMID: 28704097.
7. Abu-Seadah SS, Attiah SM, Ali MY, Shams El-Din M, El-Kholy MA. Immunohistochemical expression of HBME-1 and TROP-2 in some follicular-derived thyroid lesions. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2023 Jul 1;24(7):2305-11. doi: 10.31557/APJCP.2023.24.7.2305. PMID: 37505760; PMCID: PMC10676500.
8. Qiao J, Li C, Zhang Y, Wang S, Gao S. HBME-1 expression in differentiated thyroid carcinoma and its correlation with the ultrasonic manifestation of thyroid. *Oncol Lett*. 2017 Dec;14(6):6505-10. doi: 10.3892/ol.2017.6971. Epub 2017 Sep 15. PMID: 29151906; PMCID: PMC5678245.
9. Cho H, Kim JY, Oh YL. Diagnostic value of HBME-1, CK19, Galectin 3, and CD56 in the subtypes of follicular variant of papillary thyroid carcinoma. *Pathol Int*. 2018 Nov;68(11):605-13. doi: 10.1111/pin.12729. Epub 2018 Oct 23. PMID: 30350394.
10. Arcolia V, Journe F, Renaud F, Leteurtre E, Gabius HJ, Rummelink M, Saussez S. Combination of galectin-3, CK19 and HBME-1 immunostaining improves the diagnosis of thyroid cancer. *Oncol Lett*. 2017 Oct;14(4):4183-4189. doi: 10.3892/ol.2017.6719. Epub 2017 Aug 4. PMID: 28943926; PMCID: PMC5592881.

РЕЗЮМЕ

У клінічній практиці існує діагностична дилема щодо верифікації фолікулярних карцином щитоподібної залози (ФКЦЗ) та фолікулярної аденоми (ФА) за допомогою морфологічного дослідження у хворих, прооперованих із приводу вузлового зоба, із цитологічним висновком відповідно до класифікації Bethesda III, IV та V.

Мета роботи — вивчити ефективність застосування імуногістохімічних маркерів HBME-1, TROP-2, Galectin-3 та Ki-67 у діагностиці фолікулярної аденоми та фолікулярних карцином щитоподібної залози на гістологічному матеріалі хворих, прооперованих із приводу вузлового зоба з цитологічним висновком за класифікацією Bethesda III, IV та V.

Матеріали та методи. Досліджено 124 хворих, прооперованих з приводу фолікулярних вузлових новоутворень із цитологічним висновком за Bethesda «Gray zone». За результатами патогістологічного дослідження ФКЦЗ мала місце в 26 (20,97 %) випадках, ФА — у 98 (79,03 %). Проведено імуногістохімічні реакції з використанням моноклональних антитіл проти людського HBME-1, TROP-2, Galectin-3 та Ki-67 («Bio SB», США). Критерії оцінки — інтенсивність забарвлення (від 0 до 3) та частка забарвлених клітин у полі зору.

Результати. Найвищу загальну діагностичну ефективність за рахунок високої специфічності (93,9 і 96,9 %) забезпечують, відповідно маркери TROP-2 та Ki-67, але їхня чутливість украй низька (0 та 11,5 % відповідно) тобто корисного змістового навантаження ці тести не мають. Для виявлення захворювання найкориснішим є тест на основі HBME-1 (чутливість — 88,5 %): були пропущені лише 3 випадки з 26, але він дає дуже багато хибних «спрацювань» — 74 із 98. Тест на основі Galectin-3 відносно точно визначає відсутність захворювання — 78 із 98 таких випадків (специфічність — 79,6 %), але неефективний для пошуку захворювання — 9 «спрацювань» із 26 випадків ФКЦЗ. При одночасній відсутності реакції маркерів HBME-1 і Galectin-3 із майже 0,9 ймовірністю можна очікувати відсутність у хворого ФКЦЗ. Натомість при максимальній силі реакції ймовірність виявлення ФКЦЗ становить 0,667.

Висновки. Для диференційної діагностики ФА та ФРЦЗ найбільш значущим імуногістохімічним маркером виявився HBME-1 (чутливість — 88,5 %). Використання маркерів TROP-2 та Ki-67 в імуногістохімічному дослідженні не було корисним для виявлення ФКЦЗ (чутливість — 0 та 11,5 %

відповідно). Одночасне застосування маркерів HBME-1 і Galectin-3 виявило, що відсутність імуногістохімічної реакції можна трактувати на користь наявності в пацієнта ФА, а одночасна позитивна реакція обох маркерів є пересторогою щодо діагнозу ФКЦЗ.

Ключові слова: фолікулярна карцинома, щитоподібна залоза, HBME-1.

ABSTRACT

Possibilities of immunohistochemical markers HBME-1, TROP-2, Galectin-3 and Ki-67 to optimize the diagnosis of follicular carcinomas

O. P. Nechai, N. I. Belemets, O. O. Huz, D. M. Kvitka, O. A. Tovkai

Ukrainian Scientific and Practical Center of Endocrine Surgery, Transplantation of Endocrine Organs and Tissues of the Ministry of Health of Ukraine, Kyiv

In clinical practice, there is a diagnostic dilemma in the morphological examination in the verification of follicular carcinomas of the thyroid gland (FTC) and follicular adenoma (FA) among patients who were operated on for a nodular goiter with Bethesda III, IV and V cytological findings.

Objective — To study the effectiveness of the use of immunohistochemical (IGH) markers HBME-1, TROP-2, Galectin-3 and Ki-67 in the diagnosis of FA and FTC on the histological material of patients who were operated on for nodular goiter with a cytological conclusion according to the Bethesda classification III, IV and V.

Materials and methods. 124 patients operated on for follicular nodular neoplasms with a cytological conclusion according to Bethesda «Gray zone» were studied, as a result of the pathohistological examination, it was established: FTC — 26 (20.97 %), FA — 98 (79.03 %). IGH was performed using monoclonal antibodies against human HBME-1, TROP-2, Galectin-3 and Ki-67 («Bio SB», USA). Evaluation criteria were based on the intensity of staining (scale of 0 to 3)

Results. TROP-2 and Ki-67 markers provide the highest overall diagnostic efficiency due to high specificity (93.9 % and 96.9 %, respectively). However, their sensitivity is extremely low (11.5 % — Ki-67, 0 % — TROP-2). That is, these tests have practically no diagnostic utility. From the point of view of detecting the disease, the test based on HBME-1 is the most useful (sensitivity — 88.5 %): only 3 cases out of 26 were missed, but it gives a lot of false positives: 74 out of 98. The test based on Galectin-3 relatively accurately determines the absence of the disease — correctly identified 78 out of 98 such cases

(specificity — 79.6 %), but at the same time it is practically ineffective in finding the disease — 9 «triggers» out of 26 cases of FTC. If there is a simultaneous absence of the reaction of the HBME-1 and Galectin-3 markers, with a probability of approximately 0.9, it can be expected that the patient does not have FTC. On the other hand, with the maximum strength of the reaction, the probability of detecting FTC reaches 0.667.

Conclusions. HBME-1 (sensitivity 88.5 %) turned out to be the most significant IGH marker in the differential

diagnosis between FA and FTC. Markers TROP-2 and Ki-67 on the IGH study were practically not useful in the detection of FTC (sensitivity 0 and 11.5 % respectively). The combined use of HBME-1 and Galectin-3 markers proved that the absence of an IGH reaction can be interpreted in favor of the presence of FA in the patient, and the simultaneous positive reaction of both markers is a warning regarding the diagnosis of FTC.

Keywords: follicular carcinoma, thyroid gland, HBME-1.

Дата надходження до редакції 08.10.2024 р.

Дата рецензування 28.11.2024 р.

Дата підписання статті до друку 02.12.2024 р.