

## Морфогенез тиреопатий по данным экспрессии Oct3/4, PNH3, CK8, CK18 при хронической эндогенной интоксикации

Людмила Викторовна Полякова<sup>1</sup>✉, Светлана Александровна Калашникова<sup>1</sup>,  
Андрей Владимирович Фогель<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия

<sup>2</sup> Пятигорский медико-фармацевтический институт, Пятигорск, Россия

**Аннотация.** Восстановление внутренних органов в условиях негативного воздействия окружающей среды, а также адаптация к изменяющимся условиям внутреннего гомеостаза в условиях болезни являются актуальными проблемами регенеративной медицины. Ключевые звенья регуляции гомеостаза – нейро-иммунно-эндокринные взаимоотношения, где основная роль в регуляции метаболизма отводится щитовидной железе. Морфологические изменения тиреоидной паренхимы в условиях измененного гомеостаза при хронической эндогенной интоксикации (ХЭИ) могут приводить к формированию недиагностированных тиреопатий и не учитываются в развитии танатогенеза. Нами было проведено ИГХ-исследование с целью определения основных закономерностей развития восстановительных и адаптационных процессов тироцитов в условиях ХЭИ на основании экспрессии факторов пролиферации тироцитов (PNH3), стволовых клеток (Oct3/4), а также определения риска развития злокачественных новообразований (CK8, CK18). Было установлено, что при формировании узловых новообразований при выраженной экспрессии PNH3 с митотическим индексом более 25 % необходимо проводить ИГХ-исследование с определением экспрессии CK8, CK18 для выявления риска развития новообразований щитовидной железы.

**Ключевые слова:** щитовидная железа, иммуногистохимия, пролиферация, тироциты, хроническая интоксикация

ORIGINAL RESEARCHES

Original article

doi: <https://doi.org/10.19163/1994-9480-2023-20-2-105-108>

## Morphogenesis of thyropathies according to expression Oct3/4, PNH3, CK8, CK18 in chronic endogenous intoxication

Lyudmila V. Polyakova<sup>1</sup>✉, Svetlana A. Kalashnikova<sup>1</sup>, Andrey V. Vogel<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia

<sup>2</sup> Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, Pyatigorsk, Russia

**Abstract.** Regeneration of internal organs under conditions of negative environmental impact, as well as adaptation to changing conditions of internal homeostasis in conditions of illness, is an urgent problem in regenerative medicine. The key links in the regulation of homeostasis are neuro-immune-endocrine relationships, where the main role in the regulation of metabolism is assigned to the thyroid gland. Morphological changes in the thyroid parenchyma under conditions of altered homeostasis in chronic endogenous intoxication (CEI) can lead to the formation of undiagnosed thyroid disorders and are not taken into the development of thanatogenesis. We conducted an IHC study to determine the main patterns of development of regenerative and adaptive processes of thyrocytes in conditions of CEI based on the expression of thyrocyte proliferation factors (PNH3), stem cells (Oct3/4), as well as to determine the risk of developing malignant neoplasms (CK8, CK18). It was found that in the formation of nodular neoplasms with a pronounced expression of PNH3 with a mitotic index of more than 25 %, it is necessary to conduct an IHC study to determine the expression of CK8, CK18 to identify the risk of developing thyroid neoplasms.

**Keywords:** thyroid gland, immunohistochemistry, proliferation, thyrocytes, chronic intoxication

Современные клеточные технологии в настоящее время позволили выявить стволовые клетки в различных эмбриональных тканях, а также установить их наличие в органах взрослого организма [1]. Особое значение придается плюрипотентным стволовым клеткам, которые способны дифференцироваться в различные клеточные популяции [2]. Для определения в тканях стволовых клеток в настоящее время

используются различные антитела с помощью иммуногистохимического (ИГХ) метода исследования, где одним из маркеров является ядерный транскрипционный фактор Oct3/4 [3]. Доказано наличие иммунопозитивных клеток против Oct3/4 в тканях взрослого человека, однако роль и участие в канцерогенезе до настоящего времени остаются дискуссионными. Особое значение Oct3/4 придается при наличии

пролиферации эпителиальных клеток в поисках таргетной терапии злокачественных новообразований не только эмбрионального происхождения, но и зрелых тканей. Учитывая этот факт, актуальным представляется определение Oct3/4 в ткани щитовидной железы (ЩЖ) в сопоставлении с маркерами пролиферативной активности PNH3, а также маркерами злокачественных новообразований цитокератинами 8 и 18 (СК8, СК18).

Известно, что большое представительство эпителиальных клеток в ЩЖ приводит к их активному делению в ответ на изменяющиеся условия как внешней, так и внутренней среды организма. Развитие адаптивно-приспособительных процессов в ЩЖ приводит к ее морфофункциональной перестройке и, соответственно, нередко к возникновению очагов пролиферации тироцитов с формированием узловых образований [4]. Имеются данные, что пролиферация клеток происходит как за счет фолликулярного эпителия с образованием дочерних фолликулов, так и за счет экстрафолликулярного эпителия. Однако оценить направленность данных процессов и предрасположенность к развитию тиреопатий до настоящего времени не представлялось возможным. Нередко узловых образования ЩЖ являются случайной находкой при вскрытии (исследование ЩЖ входит в стандарт патологоанатомического исследования), однако им не придается должного значения и вовлечения ЩЖ в танатогенез; хотя, очевидно, что изменение уровня тиреоидных гормонов приводит к морфофункциональным изменениям во всех органах. Таким образом, развитие тиреопатий на фоне хронической эндогенной интоксикации (ХЭИ) при различных соматических заболеваниях является актуальной проблемой современной медицины.

### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Установить закономерности экспрессии Oct3/4, PNH3, СК8, СК18 тироцитов на фоне хронической эндогенной интоксикации.

### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Нами был исследован архивный материал, полученный от 50 лиц мужского пола среднего возраста, имеющих в анамнезе цирроз печени с развитием хронической печеночной недостаточности, а также от лиц с заболеваниями почек, сопровождающихся развитием хронической почечной недостаточности на основании данных ретроспективного анализа истории болезни. Критериями включения в данную группу также являлось отсутствие в анамнезе эндокринных и системных заболеваний. После проведения стандартного гистологического исследования нами были отобраны парафиновые блоки для ИГХ-исследования с определением экспрессии Oct3/4, PNH3, СК8,18 непрямым иммунопероксидазным методом.

Известно, что Oct3/4 относится к семейству белковых факторов POU5F1, в частности, кодируемых геном OTF3, который отвечает за обновление и дифференцировку клеток.

Универсальным маркером пролиферативной активности во всех эукариотических клетках, в том числе в ядрах железистого эпителия ЩЖ, является экспрессия фосфорилированных гистоновых белков – PNH3, которые входят в состав ядерного хроматина. Иммунопозитивное окрашивание дают клетки, где происходит фосфорилирование концевых фрагментов по серину 10 и 28. В отличие от Ki-67, PNH3 не дает ложноположительных результатов при возникновении механизмов запрограммированной клеточной гибели (апоптоза), где митотические фигуры выявляются совместно с дефрагментацией ядра при кариорексисе в процессе апоптоза.

Также нами было проведено ИГХ-исследование с выявлением экспрессии онкомаркеров, направленных на определение атипичных эпителиальных клеток. Установлено, что при развитии аденокарцином иммунопозитивное окрашивание дают клетки с наличием мембранного цитоплазматического антигена против членов семейства цитокератинов (СК), подсемейства В: цитокератин 8-го типа (СК8) и цитокератин 18-го типа (СК18), клон SP102. Было установлено, что изменение экспрессии СК8, СК18 к белкам промежуточных филаментов цитоскелета свидетельствует о трансформации эпителиальных клеток.

Статистический анализ включал подсчет иммунопозитивных клеток в полях зрения с последующим анализом данных в программе Graph Pad Prism 8.0.1.244. Митотический индекс (МИ) вычисляли по отношению иммунопозитивных клеток к общему числу клеток (%).

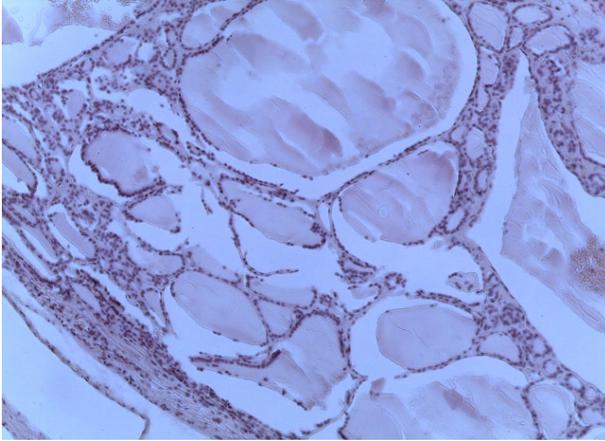
### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При ИГХ-анализе узловых образований, выявленных при стандартном гистологическом исследовании, было установлено, что они имели смешанный тип строения и не давали иммунопозитивного окрашивания к СК18 (рис. А) в отличие от одного случая, где был выявлен фолликулярный рак в аденоме ЩЖ (рис. Б). При сопоставлении экспрессии СК8 и СК18 установлено, что при фолликулярном раке наблюдалась выраженная цитоплазматическая экспрессия данных маркеров, что может использоваться в ИГХ линейке маркеров для узловых образований ЩЖ.

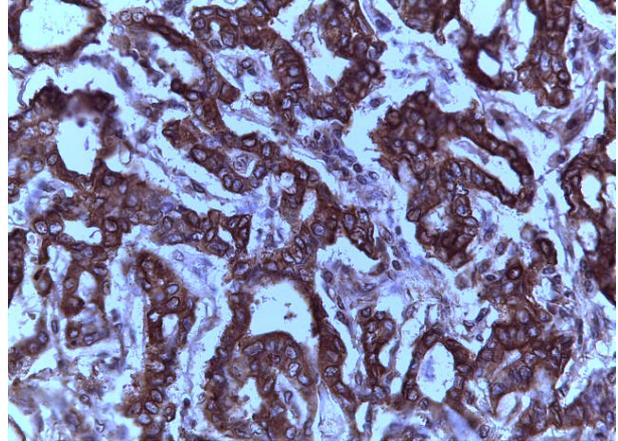
Мы посчитали, что нецелесообразно использовать маркеры Oct3/4 и PNH3 при наличии злокачественных образований, так как это подразумевает высокий митотический индекс (МИ) тироцитов. Напротив, для определения пролиферативной активности клеток в узловых образованиях, где МИ будет

иметь высокие значения, следует проводить исследование на экспрессию СК8, СК18 для исключения злокачественных новообразований. Наряду с этим в

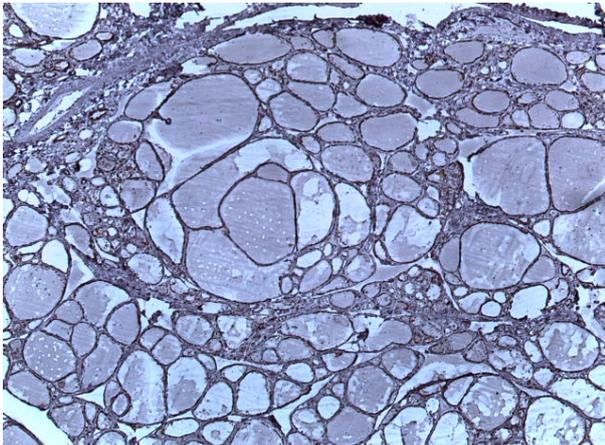
узловых образованиях экспрессия СК8 была слабо выраженной (менее 25 % клеток) или отсутствовала совсем (рис. В, Г).



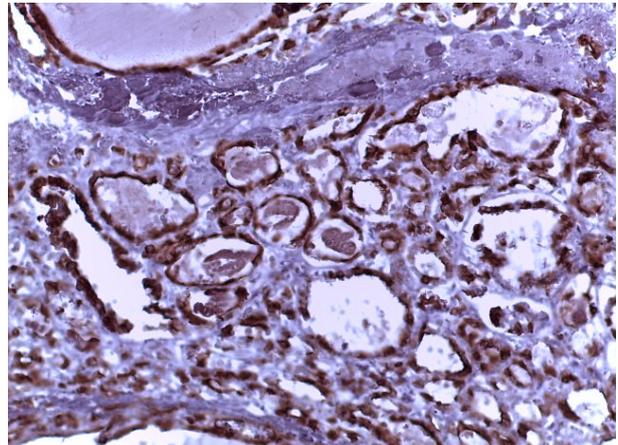
А



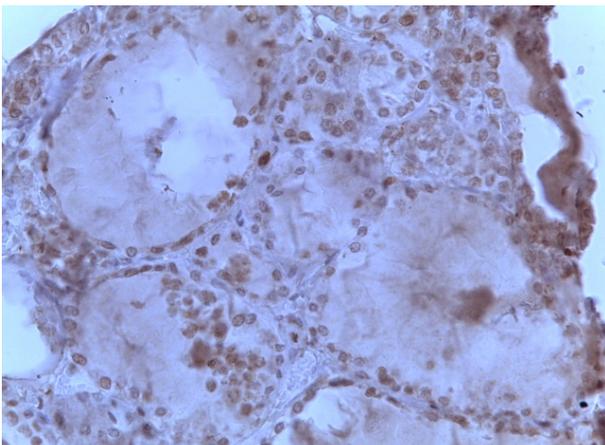
Б



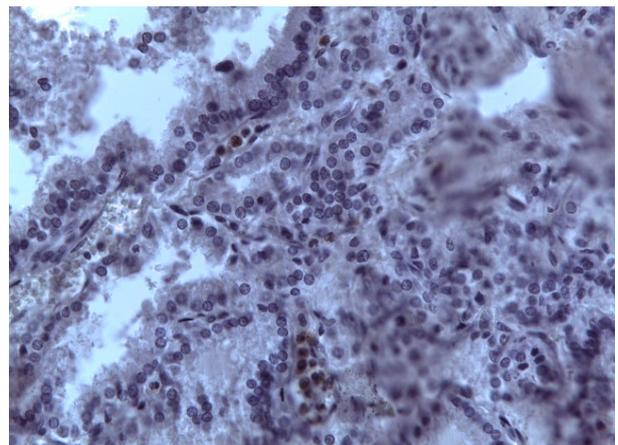
В



Г



Д



Е

*Рис. Узловые образования щитовидной железы:*

*А – иммунонегативное окрашивание узловых образований ЩЖ к СК18. Ув. ×100; Б – обилие иммунопозитивных тироцитов к СК18 при фолликулярном раке ЩЖ. Ув. ×200; В – иммунонегативное окрашивание узловых образований ЩЖ к СК8. Ув. ×400; Г – обилие иммунопозитивных клеток к СК8 в узловом образовании ЩЖ. Ув. ×200; Д – единичные иммунопозитивные клетки к Oct3/4 (стрелка). Ув. ×400; Е – островки иммунопозитивных клеток к PNH3. Ув. ×400*

Так, где МИ тироцитов составлял более 25 %, преимущественно в нижней доле ЩЖ, было выявлено иммунопозитивное окрашивание к СК8 (50–75 % клеток) наряду с СК18, где иммунопозитивное окрашивание давало до 50 % клеток. Данный факт вызывает онко-настороженность, так как при наличии 50 % и более иммунопозитивных клеток при сочетанном использовании СК8 и СК18 может свидетельствовать об изменении цитоскелета тироцитов, что является предпосылкой к изменению фенотипа клеток и развитию злокачественных новообразований.

При оценке экспрессии Oct3/4 для определения плюрипотентных стволовых клеток выявило единичные иммунопозитивные клетки, которые, вероятно, служат для обновления тироидной паренхимы, а не для пролиферации тироцитов в условиях ХЭИ (рис. Д).

Наряду с этим, экспрессия РННЗ показала, что определяются островки иммунопозитивных клеток среди фолликулов, где источником служит экстрафолликулярный эпителий (рис. Е).

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ структурных изменений ЩЖ выявил, что при формировании узловых образований, которые локализуются преимущественно в нижней части долей ЩЖ, происходит экспрессия иммунопозитивных клеток к РННЗ и в меньшей степени к Oct3/4, где последние являются единичными и, возможно, играют роль в случаях регенерации тироидной паренхимы при тотальном/субтотальном удалении ЩЖ. В то время

экспрессия РННЗ позволяет вычислить МИ, где значимыми показателями являются данные выше 25 %. В целом МИ в долях ЩЖ распределялся от 0 до 100 %, где в последнем случае было выявлено злокачественное новообразование. При показателях МИ более 25 % рекомендуется дополнительно использовать ИГХ-исследование к СК8 и СК18 для оценки риска возникновения новообразований ЩЖ. Таким образом, при наличии синдрома ХЭИ рекомендуется скрининговое обследование ЩЖ для исключения развития тиреопатий, где одним из морфологических компонентов является формирование узловых образований.

### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

1. Suman S., Domingues A., Ratajczak J., Ratajczak M.Z. Potential Clinical Applications of Stem Cells in Regenerative Medicine. *Advances in experimental medicine and biology*. 2019; 1201:1–22. doi: 10.1007/978-3-030-31206-0\_1.
2. Yamanaka S. Pluripotent Stem Cell-Based Cell Therapy: Promise and Challenges. *Cell Stem Cell*. 2020;27(4):523–531. doi: 10.1016/j.stem.2020.09.014.
3. Clemente-Periván S.I., Gómez-Gómez Ya., Leyva-Vázquez M.A. et al. Role of Oct3/4 in cervical cancer tumorigenesis. *Frontiers in oncology*. 2020;10:247. doi: 10.3389/fonc.2020.00247.
4. Grani G., Sponziello M., Pecce V. et al. contemporary thyroid nodule evaluation and management. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2020;105(9):2869–2883. doi: 10.1210/clinem/dgaa322.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

### Информация об авторах

Людмила Викторовна Полякова – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры анатомии, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия; [lvpolyakova7@gmail.com](mailto:lvpolyakova7@gmail.com), <http://orcid.org/0000-0002-5349-1435>

Светлана Александровна Калашникова – доктор медицинских наук, заведующая кафедрой анатомии, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия; [kalashnikova-sa@yandex.ru](mailto:kalashnikova-sa@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0002-7688-9366>

Андрей Владимирович Фогель – кандидат биологических наук, и.о.зав.кафедрой морфологии Пятигорский медико-фармацевтический институт, Пятигорск, Россия; [andru-fogel@mail.ru](mailto:andru-fogel@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0001-7412-9155>

Статья поступила в редакцию 02.12.2023; одобрена после рецензирования 15.02.2023; принята к публикации 16.03.2023.

**Competing interests.** The authors declare that they have no competing interests.

### Information about the authors

Ludmila V. Polyakova – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia; [lvpolyakova7@gmail.com](mailto:lvpolyakova7@gmail.com), <http://orcid.org/0000-0002-5349-1435>,

Svetlana A. Kalashnikova – Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the Department for Anatomy, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia; [kalashnikova-sa@yandex.ru](mailto:kalashnikova-sa@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0002-7688-9366>

Andrey V. Fogel – Candidate of Biological Sciences, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia, Head of the Department for Morphology, Pyatigorsk, Russia; [andru-fogel@mail.ru](mailto:andru-fogel@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0001-7412-9155>

The article was submitted 02.12.2023; approved after reviewing 15.02.2023; accepted for publication 16.03.2023.