На правах рукописи

БОРИСКОВА

Марина Евгеньевна

ВЛИЯНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ ВЫСОКОДИФФЕРЕНЦИРОВАННОГО РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НА ХИРУРГИЧЕСКУЮ ТАКТИКУ

14.01.12 – Онкология

14.01.17 – Хирургия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Санкт-Петербург – 2019

Работа выполнена на кафедре общей хирургии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научные консультанты:

Решетов Игорь Владимирович – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор

Семенов Дмитрий Юрьевич – доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

Ванушко Владимир Эдуардович – доктор медицинских наук, главный научный сотрудник отдела хирургии эндокринных органов, профессор института высшего и дополнительного профессионального образования федерального государственного бюджетного учреждения «Эндокринологический научный центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Бубнов Александр Николаевич – доктор медицинских наук, профессор кафедры факультетской хирургии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет» Правительства Российской Федерации

Ромащенко Павел Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, начальник кафедры и клиники факультетской хирургии имени С.П. Федорова Федерального государственного бюджетного военного образовательного учреждения высшего образования «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медико-хирургический Центр имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ.

Защита диссертации состоится « 29 » января 2020 года. в «____» часов на заседании Диссертационного совета Д 208.116.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А.М. Гранова» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 197758, Санкт-Петербург, п. Песочный, ул. Ленинградская, д. 70, зал заседаний Ученого совета.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова» Минздрава России и на сайте центра: https://rrcrst.ru/dissertaczionnyij-sovet/dissertaczionnyie-issledovaniya.

Автореферат разослан «____»_____ 2019 года.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат медицинских наук ***Генералов Михаил Игоревич***

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Рак щитовидной железы является самой распространенной злокачественной опухолью эндокринной системы и наиболее часто встречаются высокодифференцированные его формы, характеризующиеся хорошим прогнозом при своевременной диагностике и радикальном лечении. Однако даже среди высокодифференцированных форм РЩЖ наблюдается значительное разнообразие гистологических типов, обладающих разным потенциалом злокачественности и, соответственно, прогнозом. Поэтому стандартный подход в лечении оказывается не всегда оправданным, что влечет за собой поиск новых методов диагностики и прогнозирования.

В настоящее время в мире наблюдается тенденция роста выявляемости высокодифференцированных форм рака щитовидной железы. Так, в США это самый быстрорастущий диагноз рака и по последним данным наблюдается рост заболеваемости на 4% в год. По статистическим данным в РФ за 2012 год было выявлено 9 092 случаев РЩЖ, тогда как в 2017 году – уже 12 315 случаев. (Каприн А.Д. и соавт., 2014, 2018). Большинство авторов связывают это не с истинным ростом заболеваемости, а с улучшением методов диагностики. Однако смертность остается на прежнем уровне и не увеличивается число выявляемых агрессивных форм РЩЖ (Topstad D. et al., 2017).

Таким образом, прослеживаются две наиболее актуальные проблемы. Во-первых, это дооперационная диагностика РЩЖ. Известно, что до 30% результатов цитологического исследования носят неопределенный характер и требуют выполнения диагностической операции, объем которой не всегда оказывается радикальным. Усовершенствование дооперационной диагностики позволило бы в ряде случаев поставить диагноз РЩЖ и выполнить радикальную операцию. Одним из перспективных развивающихся направлений является выявление онкомаркеров, которые могут быть использованы для диагностики рака ЩЖ.

В современной литературе встречается большое количество исследований, посвященных изучению роли генетических маркеров в патогенезе и диагностике

РЩЖ (Коган Е.А. и соавт., 2006; Agretti P. et al., 2012). Появились сообщения о возможности использования молекулярного анализа различных мутаций в образцах тонкоигольной пункционной биопсии в качестве факторов диагностики и прогноза РЩЖ (Bellevicine C. et al., 2012; Romei C. et al., 2012). Исследователи полагают, что внедрение этих методов в клиническую практику может увеличить диагностическую точность цитологического исследования пунктатов из узлов щитовидной железы и, таким образом, повысить эффективность дооперационной диагностики РЩЖ (Румянцева У.В. и др., 2006; Elisei R. et al., 2012).

Вторым, не менее актуальным вопросом, является выявление уже на этапе дооперационной диагностики биологически агрессивных форм рака не зависимо от стадии опухолевого процесса на момент выявления. Это позволит формировать группы риска с индивидуальным прогнозом и персонализированным планом лечения.

В последнее время наметилась тенденция к снижению хирургической агрессии при ВДРЩЖ. По рекомендациям ATA 2016 г. у хорошо отобранных пациентов группы среднего и низкого риска (пациенты с унифокальными опухолями максимальным размером менеее 4 см, без экстратиреоидного распространения и метастазов регионарных и отдаленных, определяемых при физикальном обследовании или с помощью различных методов визуализации, возможно выполнение гемитиреоидэктомии, что оказывает незначительное влияние на специфическую выживаемость. Однако тут же приводятся данные, что, не смотря на низкую частоту рецидивов у этих пациентов, вероятно наименьшая частота рецидивов достигается выполнением тотальной тиреоидэктомии. Также активные дискуссии ведутся по поводу целесообразности выполнения профилактической лимфодиссекции. Таким образом, основной проблемой в выборе объема операции является определение достоверных критериев отбора группы риска.

Не смотря на относительно благоприятный прогноз течения высокодифференцированного рака ЩЖ, различные гистологические варианты имеют отличное течение и, соответственно, смертность, вероятность рецидивирования и метастазирования. Следует отметить, что прогноз течения заболевания и выживаемость больных не всегда коррелирует с гистологическим

типом опухоли и стадией заболевания. Однако принятая в настоящее время тактика лечения и, в частности, хирургическая тактика, основана на гистологической классификации и стадии по TNM (Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению высокодифференцированного рака щитовидной железы у взрослых, 2017 г.), что не соответствует современным представлениям об онкогенезе. Однако в Рекомендациях Американской Тиреодологической Ассоциации за 2016 год было предложено выделять BRAF-позитивные опухоли как фактор неблагоприятного прогноза. В связи с этим возникает проблема не только своевременной и точной диагностики, но и прогнозирования течения опухолевого процесса, что позволит выбрать оптимальный для каждого пациента алгоритм лечения. Индивидуальный подход с учетом прогностических критериев может позволить улучшить отдаленные результаты лечения.

Цель исследования

Оптимизация хирургической тактики лечения высокодифференцированного рака щитовидной железы за счет использования молекулярно-генетической панели маркеров.

Задачи исследования

1. Исследование возможности использования определения онкомаркера galektin-3, HBME-1 методом проточной цитометрии в дооперационной стратификации рисков в группе неопределенных неоплазий по данным ТАБ.
2. Изучение значимости мутационного повреждения гена BRAF в дооперационной диагностике РЩЖ.
3. Изучение прогностического значения наличия BRAF-мутации у больных раком щитовидной железы.
4. Изучение возможности использования определения экспрессии натрий-йодного симпортера в материале ТАБ и парафинизированных препаратах у пациентов ВДРЩЖ в прогнозировании радиойодрезистентности.
5. Обоснование влияния уровня экспрессии НИС на хирургическую тактику лечения ВДРЩЖ.

6. На основании выявленных диагностических и прогностических критериев создание алгоритма дооперационного обследования с целью индивидуализации хирургической тактики лечения больных ВДРЩЖ.

Научная новизна

В работе показано, что ВДРЩЖ является биологически неоднородной, собирательной группой опухолей с различным потенциалом к пролиферации, метастазированию, рецидивированию.

Впервые показана возможность формирования групп риска с использованием онкомаркеров, определяемых на дооперационном этапе. В работе была создана и апробирована новая молекулярно-генетическая панель для диагностики и прогнозирования течения высокодифференцированного рака щитовидной железы.

Результаты данной работы подтверждают, что галектин-3 является онкомаркером высокодифференцированного рака щитовидной железы. Усовершенствован и впервые внедрен в клиническую практику метод проточного флюороцитометрического определения экспрессии галектина-3 в пунктате из узла щитовидной железы, полученном при тонкоигольной аспирационной биопсии. (Удостоверение на рационализаторское предложение «Способ определения экспрессии галектина-3» № 1528 от 28 мая 2009 года.) Впервые показаны возможности проточного флюороцитометрического метода определения экспрессии галектин-3 в предоперационной стратификации риска в группе неопределенных неоплазий по данным цитологического исследования.

В работе определена роль выявления мутации гена BRAF V600E в качестве фактора, определяющего тактику хирургического лечения папиллярного рака щитовидной железы. Выявлены взаимосвязи наличия мутации гена BRAF в ткани щитовидной железы с клиническими и морфологическими особенностями РЩЖ, а также определена прогностическая значимость данного фактора.

В работе проведено исследование и определены предельные значения экспрессии НИС при различных патологических состояниях в щитовидной железе. Достоверно доказано снижение уровня экспрессии НИС при РЩЖ. Наиболее низкие значения наблюдались у пациентов с рецидивным течением

ВДРЩЖ после выполнения радиойодтерапии (РЙТ). Полученные данные легли в основу понимания радиойодрезистентности. Впервые в работе проанализировано значение определения уровня экспрессии НИС методом ПФЦ в первичной опухоли для оценки риска радиойодрезистентности метастазов ВДРЩЖ.

Оценена корреляция уровня экспрессии НИС и мутации гена BRAF V600E. Достоверно доказано отсутствие корреляции между наличием BRAF мутации и уровнем экспрессии НИС, что позволило предположить различные пути онкогенеза у этих прогностических маркеров, что диктует необходимость их совместного использования в прогностической панели.

Доказано, что при ВДРЩЖ и принятых объемах хирургического вмешательства в группе высокого риска неэффективность РЙТ объясняется изначально низким значением уровня экспрессии НИС, что диктует необходимость расширения объема хирургического вмешательства.

Оформлен и получен патент № 2548783 «Способ дооперационного определения объема хирургического лечения высокодифференцированного рака щитовидной железы».

Предложенная панель позволяет улучшить диагностику рака щитовидной железы и на дооперационном этапе прогнозировать течение заболевания и индивидуализировано планировать объем оперативного вмешательства.

Практическая значимость работы

Проведенная работа показывает, что пациенты раком щитовидной железы должны лечиться в специализированных стационарах.

В работе показаны основные проблемы дифференциальной диагностики узловых образований щитовидной железы. Изучена и проанализирована диагностическая ценность определения экспрессии онкомаркера галектина-3 и HBME-1 в узловых образованиях щитовидной железы. Показана роль проточного флюороцитометрического исследования экспрессии галектина-3 при ТАБ узла щитовидной железы в дифференциальной диагностике новообразований щитовидной железы и в выборе объема оперативного вмешательства.

Разработан и апробирован метод определения BRAF-мутации у пациентов с высокодифференцированным раком щитовидной железы, доказана его

эффективность. Результаты работы подтвердили высокую диагностическую значимость определения мутации гена BRAF, что позволяет значительно улучшить дооперационную дифференциальную диагностику узловых образований щитовидной железы.

Разработан и апробирован метод определения уровня экспрессии НИС в материале ТАБ с использованием ПФЦ. Определены предельные значения уровня экспрессии НИС в группах высокого, промежуточного и низкого рисков пациентов ВДРЩЖ. Показана прогностическая значимость выявления точечной мутации гена BRAF и НИС, что позволило формировать группы пациентов высокого риска рецидива/персистенции ВДРЩЖ. На основании этого разработаны рекомендации по дооперационному определению BRAF мутации и уровня экспрессии НИС с целью индивидуализации хирургической тактики.

Индивидуальный подход в лечении ВДРЩЖ с использованием молекулярно-генетической панели на дооперационном этапе позволяет улучшить диагностику рака щитовидной железы, прогнозировать его течение и выбрать оптимальную хирургическую и лечебную тактику, что приводит к уменьшению риска развития рецидива/персистенции заболевания.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Определение экспрессии галектин-3 может быть использовано в качестве дополнительного дооперационного маркера стратификации риска в группе неопределенных значений цитологического исследования (Bethesda IV).
2. Выявление BRAF мутации в материале ТАБ со 100% вероятностью подтверждает папиллярный рак щитовидной железы.
3. Наличие BRAF мутации и снижение мембранной экспрессии НИС являются независимыми факторами неблагоприятного прогноза высокодифференцированного рака щитовидной железы
4. Пациентам группы высокого риска рецидива/персистенции заболевания (наличие BRAF мутации и низкой экспрессии НИС) показано выполнение профилактической центральной лимфодиссекции.
5. Применение молекулярно-генетической панели позволяет индивидуализировать лечебную тактику в рамках существующих стандартов и улучшить результаты лечения ВДРЩЖ.

Внедрение результатов работы

Полученные результаты диссертационной работы «Влияние молекулярно-генетического профиля высокодифференцированного рака щитовидной железы на хирургическую тактику» применяются в работе онкологического отделения № 3 (хирургической эндокринологии) НИИ хирургии и неотложной медицины Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Санкт-Петербург, 197022, ул. Льва Толстого, д. 6-8). Материалы диссертационной работы используются при подготовке студентов, аспирантов, врачей-интернов и клинических ординаторов на кафедре общей хирургии.

Оформлен и получен патент № 2548783 публикация от 20.04.2015 г. № 11 на оригинальный способ дооперационного определения объема хирургического лечения высокодифференцированного рака щитовидной железы.

Апробация работы

По теме диссертации получен Федеральный грант «У.М.Н.И.К» 2012-2014 гг., грант молодых ученых в рамках СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова 2011 г., субсидия правительства Санкт-Петербурга молодым ученым вузов и академических институтов, расположенных на территории Санкт-Петербурга 2011 г. Результаты полученных исследований доложены и обсуждены на следующих научно-практических конференциях:

1. Европейский конгресс эндокринологов 24-28 апреля 2010 г., Прага, Чешская Республика.
2. 14-й Международный Европейский тиреодологический конгрессе 11-16 сентября 2010 г., Париж, Франция.
3. 36-й Ежегодный европейский тиреодологический конгресс 8-12 сентября 2012 г., Пиза, Италия.
4. II Всероссийский конгресс с участием стран СНГ «Инновационные технологии в эндокринологии», 25-28 мая 2014 г., Москва, Россия.

5. 38-й Ежегодный европейский тиреодологический конгресс 6-10 сентября 2014 г., Сантьяго де Компостелло, Испания.
6. 2 445 заседание Хирургического общества Пирогова 25 февраля 2015 г., Санкт-Петербург, Россия.
7. Всероссийская конференция с международным участием «Актуальные вопросы современной эндокринологии: фокус на регионы» 24-26 мая 2018 г.
8. VIII Конгресс Европейского общества эндокринных хирургов, 24-26 мая 2018, Амстердам.
9. IV Петербургский международный онкологический форум «Белые ночи 2018», 5-8 июля 2018, Санкт-Петербург, Россия.
10. VII Международный междисциплинарный конгресс по заболеваниям органов головы и шеи, 30-31 мая, 1 июня 2019, Москва.

По теме диссертации опубликовано 19 научных работ, в т. ч. 16 статей в изданиях, рекомендованных в ВАК РФ и 1 статья в зарубежном журнале. Оформлен и получен патент № 2548783 публикация от 20.04.2015 г. № 11.

Личный вклад

Автором лично выполнено планирование исследования. Практически все больные, включенные в исследование, были прооперированы автором или с его участием. Автор освоила методы, применяемые для получения и оценки результатов, принимала участие в ретроспективном и проспективном анализе результатов лечения больных РЩЖ, провела сравнительное исследование данных основных клинических, лабораторных и инструментальных исследований. Автором выполнены анализ, статистическая обработка и описание материала.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы и приложения. Объем работы составляет 238 страниц машинописного текста. Работа иллюстрирована 64 таблицами, 24 рисунками. Список литературы содержит 102 отечественных и 283 зарубежных источников.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы

В исследование вошло 804 пациента. Работа состояла из двух частей – выявление диагностической значимости исследуемых маркеров и прогностического их значения.

Мы исследовали молекулярно-генетические маркеры высокодифференцированного рака щитовидной железы, которые могли бы использоваться для улучшения диагностики рака. В качестве возможных диагностических онкомаркеров мы исследовали экспрессию галектин-3 и спорадическую мутацию гена BRAF. Для доказательства возможности использования этих маркеров в дооперационной диагностике высокодифференцированного рака щитовидной железы, первым этапом мы выполнили ретроспективное исследование в гистологических препаратах послеоперационного материала. На основании данных, полученных на первом этапе работы, мы выполнили проспективный этап работы – исследование онкомаркеров галектин-3, BRAF мутации, также панель была дополнена маркером HBME-1 в материале ТАБ и возможности их использования в диагностике высокодифференцированного рака щитовидной железы.

Вторая часть нашей работы посвящена поиску прогностических маркеров высокодифференцированного рака щитовидной железы и возможности их использования для оптимизации тактики лечения. Для этого ретроспективно в послеоперационных гистологических препаратах и, вторым этапом, проспективно в материале ТАБ исследовалась экспрессия НИС и мутация гена BRAF.

Дизайн работы состоял из двух этапов (таблица 1).

Исследование диагностической значимости онкомаркера галектин-3

Ретроспективный этап

С целью изучения экспрессии галектина-3 в узловых образованиях щитовидной железы ретроспективному анализу подверглись 44 пациента в возрасте от 17 до 76 лет (средний возраст составил 45,6±12,7 лет). Среди них преобладали женщины, соотношение мужчин и женщин равнялось 1:4,5.

Таблица 1 – Этапы работы, методы исследования, количество больных

N	Содержание	Количество больных	Методы исследования и показатели
Использование молекулярно-генетической панели в диагностике			
1	Ретроспективный анализ уровня экспрессии Galectin-3 у пациентов с узловыми образованиями щитовидной железы	44	Иммунногистохимическое исследование в материале из парафиновых блоков
2	Обследование и хирургическое лечение больных с опухолевыми образованиями ЩЖ	151	Выявление уровня экспрессии онкомаркеров Galectin-3 и HBME-1 в материале ТАБ методом проточной флюороцитометрии, оценка диагностической значимости
3	Ретроспективный анализ встречаемости BRAF V600E-мутации у пациентов с ВДРЩЖ	107	Генетическое исследование в материале из парафиновых блоков
4	Обследование и хирургическое лечение больных с опухолевыми образованиями ЩЖ	210	Выявление BRAF V600E-мутации в материале ТАБ методом ПЦР, частота встречаемости BRAF V600E-мутации, определение диагностической значимости
Использование молекулярно-генетической панели в прогнозировании течения			
1	Ретроспективный анализ экспрессии NIS у пациентов с заболеваниями щитовидной железы	97	Иммунногистохимическое исследование в материале из парафиновых блоков
2	Обследование и хирургическое лечение больных с ВДРЩЖ	205	Исследование уровня экспрессии NIS и BRAF V600E мутации в материале ТАБ, определение прогностической ценности.

При проведении планового гистологического исследования у этих пациентов были установлены следующие диагнозы: высокодифференцированный рак – у 23 пациентов, фолликулярная аденома – у 13, коллоидный зоб – у 8 пациентов.

Иммуногистохимическое исследование проводились в ФГУ «РНЦРХТ Россмедтехнологии» д.м.н., профессором К.М. Пожарисским. У всех 44 пациентов определяли уровень экспрессии галектина-3 ИГХ-методом.

Проспективный этап

Основной задачей проспективного исследования являлось изучение возможности определения экспрессии галектина-3 и HBME-1 на дооперационном этапе диагностики рака щитовидной железы. Для этого в алгоритм диагностики узловых образований ЩЖ кроме цитологического исследования аспирата, полученного при ТАБ, был включен усовершенствованный проточный иммуноцитометрический метод исследования экспрессии галектина-3 и HBME-1. В исследование вошли 151 пациентов. Средний возраст больных составил 48,5±13,5 лет. Среди них преобладали женщины, соотношение мужчин и женщин равнялось 1:6.

При выполнении проспективного исследования, пациенты в зависимости от результатов цитологического исследования ТАБ, были разделены три группы: папиллярный рак – 69 пациентов, фолликулярная опухоль – 71 пациент, коллоидный узел – 11 пациентов.

Окончательный диагноз у оперированных пациентов ставился на основании гистологического заключения.

Исследование диагностической значимости BRAF-мутации

Ретроспективный этап

На ретроспективном этапе в исследуемую группу вошли 107 пациентов с ВДРЩЖ (папиллярный или фолликулярный рак).

Средний возраст пациентов составил 51,2±11,6 лет. Соотношение мужчин и женщин 1:9 (мужчин 10,3%, женщин – 89,7%). В зависимости от гистологической структуры опухоли все пациенты были разделены на три группы (таблица 2).

Помимо стандартного гистологического исследования, в гистологическом препарате после депарафинизации проводилось выявление BRAF-мутации.

Таблица 2 – Распределение пациентов по группам (n=107)

Варианты	Количество	
	абс.	%
Папиллярный рак классический вариант	57	53,3
Папиллярный рак фолликулярный вариант	28	26,2
Фолликулярный рак	22	20,5

Проспективный этап

На втором этапе работы нами было обследовано 210 пациентов с узловыми образованиями щитовидной железы. Все пациенты были обследованы по стандартному алгоритму, который дополнялся выполнением молекулярно-генетического исследования в материале ТАБ.

Для анализа диагностической значимости выявления BRAF мутации, пациенты были разделены на группы по результатам цитологического исследования ТАБ (таблица 3).

Таблица 3 – Распределение пациентов в зависимости от цитологического диагноза (n=210)

Цитологическое заключение	n	%
Папиллярный рак	145	69
Фолликулярная опухоль	48	23
Узловой коллоидный зоб	17	8
Всего	210	100

По данным послеоперационного гистологического исследования диагноз ВДРЩЖ (ПР или ФР) был подтвержден у 146 пациентов (таблица 4).

В последнее время наблюдается тенденция к снижению хирургической агрессивности в отношении высокодифференцированных карцином папиллярного строения, в частности, расширились показания к выполнению органосохраняющих операций.

Таблица 4 – Распределение пациентов в зависимости от цитологического и гистологического диагноза (n=210)

Цитологическое заключение	n	Окончательный гистологический диагноз	n
Узловой коллоидный зоб	17	Узловой коллоидный зоб	17
Папиллярный рак	145	Папиллярный рак	139
		Фолликулярный рак	1
		Фолликулярная аденома	5
Фолликулярная опухоль	48	Фолликулярная аденома	36
		Узловой коллоидный зоб	6
		Папиллярный рак	6
Всего	210		210

В связи с этим, особый интерес представляет группа карцином папиллярного строения размером до 1-2 см (T1), рекомендуемый объем операции в этом случае – гемитиреоидэктомия. Однако в ряде случаев у этой категории больных встречается прорастание капсулы, что определяет стадию как T3 и требует выполнения тиреоидэктомии. Также обнаруживаются пораженные регионарные лимфатические узлы, не выявляемые клинически на дооперационном этапе, что диктует расширение объема операции и дальнейшей РЙТ. Мы выделили группу пациентов, размер опухоли которых не превышал 1,0-1,5 см (T1) с целью анализа прогностических возможностей выявления BRAF-мутации. Это позволит определить объем операции и дальнейшую тактику лечения. В данную подгруппу вошли 44 пациента с ПРЩЖ, размер опухоли 1,0-1,5 см. Средний возраст обследованных пациентов составил 51,9±8,5 лет. Соотношение мужчин и женщин 1:5,2 (мужчины – 15,9%, женщины – 84,1%).

Исследование прогностической значимости BRAF мутации и экспрессии НИС

Ретроспективный этап

На начальном этапе исследовалось распределение и уровень экспрессии НИС в нормальной ткани щитовидной железы и при различных

доброкачественных заболеваниях в виду не изученности патофизиологии симпортера в ткани щитовидной железы при различных патологических состояниях и разноречивости получаемых данных других исследователей. В исследование было включено 15 образцов нормальной ткани щитовидной железы, 16 образцов ткани по гистологическому исследованию представленной фолликулярной аденомой щитовидной железы и 6 пациентов с диагнозом диффузный токсический зоб (болезнь Грейвса). Клинически в шести случаях фолликулярной аденомы имел место тиреотоксикоз, в десяти – эутиреоз.

Далее было выполнено ретроспективное исследование уровня экспрессии НИС методом иммуногистохимии и определение мутации гена BRAF методом ПЦР у 60 пациентов с папиллярным раком щитовидной железы. Средний возраст пациентов 49±13,5 лет. В исследование вошли 12 мужчин и 48 женщины.

Пациенты разделены на три группы. В первую вошли 15 пациентов, чей объем лечения ограничился только оперативным вмешательством (T1-2N0M0)в объеме тиреоидэктомии. Во вторую группу вошли 25 пациентов (T1-4N1a-1bM0), которым тиреоидэктомия по показаниям в ряде случаев была дополнена лимфодиссекцией и в послеоперационном периоде выполнена радиойодаблация и в срок наблюдения до 60 месяцев рецидива заболевания у данной группы пациентов не выявлено. Третью группу составили 20 пациентов с ВДРЩЖ (T1-4N1a-1bM0), которые получили объем лечения, аналогичный пациентам второй группы, однако, в срок наблюдения до 60 месяцев у всех выявлен рецидив заболевания. У 16 пациентов выявлен местный рецидив и 3х пациентов появление отдаленных метастазов (легкие), 1 пациентка с б/х рецидивом заболевания (повышение уровня ТГ) без топической верификации рецидива.

Группы сравнимы по полу, возрасту. Всем 60 пациентам определен уровень мембранной экспрессии НИС методом ИГХ и наличие мутации гена BRAF аллель специфической ПЦР в гистологическом материале первичной опухоли.

Проспективный этап

Мы провели исследование уровня экспрессии НИС и наличия мутации BRAF V600E в материале тонкоигольной аспирационной биопсии (ТАБ) у 205 больных с высокодифференцированным раком щитовидной железы. Уровень экспрессии НИС оценивался количественно методом проточной

флуоцитометрии (ПФЦ), а так же был выполнен молекулярно-генетический анализ материала ТАБ методом ПЦР-анализа с целью определения BRAF статуса опухоли. Следует отметить, что методика проточного флуоцитометрического определения вошла в полученный по результатам данного исследования патент «Способ дооперационного определения объема хирургического лечения высокодифференцированного рака щитовидной железы».

Хирургическая тактика основывалась на согласительных документах, принятых в России, по диагностике и лечению узлового зоба. А так же при выявлении на дооперационном этапе положительного BRAF статуса опухоли по согласованию с пациентом выполнялась тиреоидэктомия с центральной лимфодиссекцией.

По результатам планового гистологического исследования у 129 пациентов поставлены показания к проведению РЙТ. В срок наблюдения до 48 месяцев рецидив заболевания был диагностирован в 49 случаях. Ни в одном случае у пациентов из группы без РЙТ не возникло рецидива заболевания (таблица 5).

Таблица 5 – Распределение пациентов по группам на основании течения заболевания и необходимости в послеоперационной РЙТ

Группы	Пациенты без РЙТ	Пациенты с РЙТ без рецидива	Пациенты с РЙТ и рецидивом
Количество пациентов	76 (37%)	80 (39%)	49 (24%)

Средний возраст пациентов составил 51,3±13,9 лет; соотношение мужчин и женщин – 1:7, соответственно.

Для проведения стандартного статистического анализа и оценки эффективности методов диагностики использована компьютерная программа Statistica 7.0.

Результаты исследования и их обсуждение

Первая часть работы заключалась в поиске диагностических маркеров высокодифференцированного рака щитовидной железы. Мы изучили диагностическую значимость таких белков как галектин-3, HBME-1 и спорадической мутации в гене BRAF. Первым этапом выполнена ретроспективная

оценка исследуемых маркеров в гистологическом материале. Затем отработана методика и проведено исследование данных онкомаркеров в материале ТАБ.

Вторая часть работы посвящена изучению прогностических возможностей определения BRAF мутации и экспрессии НИС в дооперационном материале. На основании выполненного исследования выработана хирургическая тактика, позволившая улучшить результаты лечения высокодифференцированного рака щитовидной железы.

Первым этапом было проведено исследование экспрессии галектин-3 ИГХ методом 44 пациентов с УОЩЖ. По данным иммуногистохимического исследования, из 23 пациентов с высокодифференцированным раком ЩЖ экспрессия галектина-3 наблюдалась у всех. Отсутствие экспрессии галектина-3 наблюдалось у 16 (76,2%) из 21 больного с доброкачественными заболеваниями ЩЖ.

Чувствительность определения галектина-3 выявлении рака щитовидной железы составила 100% (доверительный интервал 86-100%). Несмотря на то, что среди больных с доброкачественными заболеваниями ЩЖ у 5 пациентов экспрессия галектина-3 все же выявлялась, показатели специфичности метода и диагностической точности оказались также высоки 76,2% и 88,6% соответственно.

Полученные результаты дали нам основание для поиска метода определения экспрессии галектина-3 на дооперационном этапе диагностики рака ЩЖ. Мы использовали методику проточной флюороцитометрии для определения экспрессии галектина-3 в материале ТАБ, усовершенствовав ее таким образом, что стало возможно сохранение, накопление и транспортировка материала в течение 10 суток с момента его получения. (Удостоверение на рационализаторское предложение «Способ определения экспрессии галектина-3» № 1528 от 28 мая 2009 года.).

С целью улучшения диагностики рака ЩЖ наряду с цитологическим исследованием у 151 пациентов в дооперационном периоде мы выполнили проточное флюороцитометрическое исследование экспрессии галектина-3 в материале ТАБ.

Среди 74 пациентов с установленным по данным гистологического исследования диагнозом – высокодифференцированный рак ЩЖ, экспрессия Gal-3 наблюдалась у 59 больных (89,2%). Экспрессия Gal-3 отсутствовала у 8 пациентов (10,8%). Среди 77 пациентов с доброкачественными образованиями ЩЖ по данным гистологического исследования экспрессия Gal-3 отсутствовала также у большинства – 72 пациента (93,5%), а была выявлена у трех больных с фолликулярной аденомой ЩЖ, одного пациента с коллоидным зобом и у одного больного с онкоцитарной аденомой ЩЖ.

Чувствительность определения экспрессии галектина-3 методом ПФЦ составила 89,2% (ДИ 79,3-93,6%), специфичность – 93,1% (ДИ 80,5-98,7%), диагностическая точность – 90,9%, предсказательная ценность положительного и отрицательного теста – 92,7% (ДИ 75,3-92,3%) и 90% (83,8-98,9%) соответственно.

Сравнительный анализ показателей диагностической значимости методов цитологического исследования и ПФЦ метода определения экспрессии галектина-3 в аспирате из узлового образования ЩЖ показал, что чувствительность этих методов достоверно не отличается и приближается к 100%. Специфичность же метода ПФЦ определения экспрессии галектина-3 оказалась достоверно выше. Полученные данные позволили нам рекомендовать применение метода ПФЦ определения экспрессии галектина-3 в алгоритме дооперационной диагностики высокодифференцированного рака ЩЖ, что особенно актуально при «неопределенных» и подозрительных на рак результатах цитологического исследования ТАБ.

Проведенное исследование показало, что определение экспрессии галектина-3 может быть дополнительным, уточняющим маркером в диагностике ВДРЩЖ. Соответственно, используя в рутинной практике более простой, экономически выгодный и обладающий высокой чувствительностью метод цитологического исследования, мы можем в диагностически сложных случаях, а именно, неопределенных или подозрительных на рак цитологических заключениях, использовать более специфичный метод определения экспрессии галектина-3 методом ПФЦ. Выявление повышенной экспрессии данного

онкомаркера позволит на дооперационном этапе в ряде случаев поставить диагноз рака и сделать показание к оперативному вмешательству более обоснованным.

Таким образом, ПФЦ определение экспрессии галектина-3 в материале ТАБ из узлового образования щитовидной железы, обладая высокой диагностической точностью, может быть включен в алгоритм дооперационного диагностики пациентов с неопределенными результатами цитологического исследования (BETHESDA III,IV,V) с целью стратификации рисков.

Нами было выполнено исследование диагностической значимости уровня экспрессии HBME-1 в дооперационной диагностике высокодифференцированного рака щитовидной железы. Для проведения сравнительного анализа в алгоритм дооперационной диагностики узловых образований ЩЖ кроме цитологического исследования аспирата, полученного при ТАБ, у 65 пациентов был включен ПФЦ метод исследования экспрессии HBME-1.

В группе пациентов с папиллярным раком диагностическая точность использования в диагностической панели HBME1 составила 67,5%, что достоверно ниже диагностической точности цитологического метода (95%). Таким образом, использование дополнительных методов в диагностике папиллярного рака щитовидной железы не имеет преимуществ перед использованием цитологического метода.

Таким образом, включение в диагностическую панель такого биомаркера как HBME-1, в отличие от галектин-3, не улучшает диагностическую точность метода цитологического исследования в диагностике рака щитовидной железы на дооперационном этапе.

Мы также исследовали возможность использования наличия BRAF мутации в диагностике папиллярного рака щитовидной железы. Для этого мы сначала провели ретроспективную оценку частоты встречаемости мутации гена BRAF у 107 пациентов, оперированных в клинике общей хирургии с диагнозом высокодифференцированный рак щитовидной железы – папиллярный и фолликулярный. В нашей работе было подтверждено, что мутация в гене BRAF встречается при папиллярном раке и никогда не наблюдается в случае фолликулярного рака. Частота встречаемости данной мутации равна 62,4%, что согласуется с данными многочисленных метаанализов.

Исследуемая когорта пациентов папиллярным раком была представлена двумя вариантами – классическим и фолликулярным. При сравнении частоты встречаемости BRAF мутации в различных вариантах мы получили достоверные различия. В случаях классического варианта мутация была выявлена в 70,2%, в то время как при фолликулярном варианте – 46,4%. Полученные данные о генетической неоднородности папиллярного рака щитовидной железы объясняют его морфологическую неоднородность, представленную большим количеством вариантов строения, что влечет за собой различия в клиническом проявлении, динамике роста, метастазирования и, соответственно, прогнозе.

Для определения диагностической значимости BRAF мутации у 210 пациентов с узловыми образованиями щитовидной железы в материале ТАБ выполнялось выявление BRAFмутации метом ПЦР.

В случаях коллоидного зоба, подтвержденного гистологическим исследованием, мутация гена BRAF не была выявлена ни в одном случае.

В группе пациентов с цитологическим диагнозом папиллярный рак по данным гистологического исследования диагноз рака не подтвердился в пяти случаях и ни у кого из них мутации выявлено не было. У 139 пациента с гистологически подтвержденным папиллярным раком мутация гена BRAF была выявлена в 83 случаях (59,7%).

В группе пациентов с неопределенным заключением ТАБ мутантный тип гена BRAF не определялся ни в одном из образцов, взятых у пациентов с фолликулярной аденомой и узловым коллоидным зобом по данным окончательного гистологического исследования. Интересным оказался факт, что в пяти образцах, в которых был обнаружен мутантный тип гена BRAF, по данным гистологии верифицирован папиллярный рак. Соответственно, если в материале ТАБ мы выявляем BRAF мутацию, то мы можем считать, что диагностировали папиллярный рак.

По данным нашего исследования наличие в образцах мутантного типа гена BRAF с вероятностью 100% свидетельствует о злокачественности процесса.

Таким образом, на основании данных нашего исследования мы можем утверждать, что мутация V600E гена BRAF является диагностическим маркером папиллярного рака щитовидной железы. Выявление мутации гена BRAFV600E в

пункционном материале может быть использовано в качестве дополнительного метода дооперационной диагностики папиллярного рака щитовидной железы. Внедрение метода определения BRAF-мутации в дооперационную диагностику позволит не только улучшить дооперационную диагностику папиллярного рака щитовидной железы, но и выполнить радикальный объем оперативного вмешательства с соблюдением онкологических принципов.

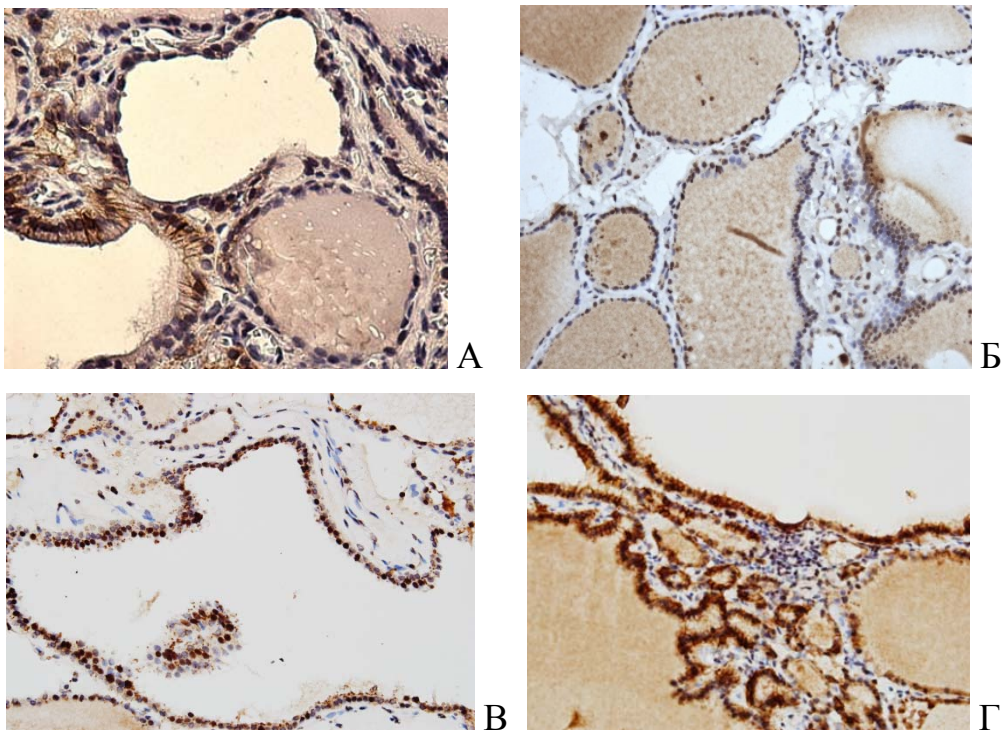
Помимо диагностических возможностей, мы оценили прогностические характеристики BRAF-мутации, а также экспрессии НИС.

Исследование белка НИС методом ИГХ показало, что данный белок локализуется на клеточной мембране, тогда как концентрация его в местах синтеза незначительна. Количество клеток с мембранной экспрессией НИС достигало в среднем 50%.

Мы изучили экспрессию НИС при состояниях, требующих повышенного поступления йода в клетку, в частности, при гиперпродукции тиреоидных гормонов – болезни Грейвса и узловом токсическом зобе. Подтверждением повышенного захвата йода клеткой служат данные сцинтиграфии, где наблюдается повышенное накопление радиофармпрепарата. При исследовании захвата радиойода, определяется повышенный захват РФП. ИГХ-исследование экспрессии НИС при состояниях, сопровождающихся тиреотоксикозом, показало, что количество клеток с мембранной экспрессией симпортера было повышено, по сравнению с нормально функционирующей тканью и достигало уровня 75%.

При изучении экспрессии НИС в холодных узлах по данным сцинтиграфии, уровень мембранной экспрессии НИС в этих опухолях был снижен. Количество клеток с мембранной экспрессией не превышало 15-20% (рисунок 1).

Таким образом, нами была выявлена закономерность – чем выше мембранная экспрессия НИС, тем выше способность тиреоцитов к захвату йода, что подтверждается данными сцинтиграфии. В случае заболеваний, сопровождающихся тиреотоксикозом и требующих повышенного потребления клетками йода для синтеза гормонов, что подтверждается данными сцинтиграфии и захвата йода, имеет место повышенная мембранная экспрессия НИС. Тогда как в «холодных» узлах наблюдается снижение мембранной экспрессии НИС.

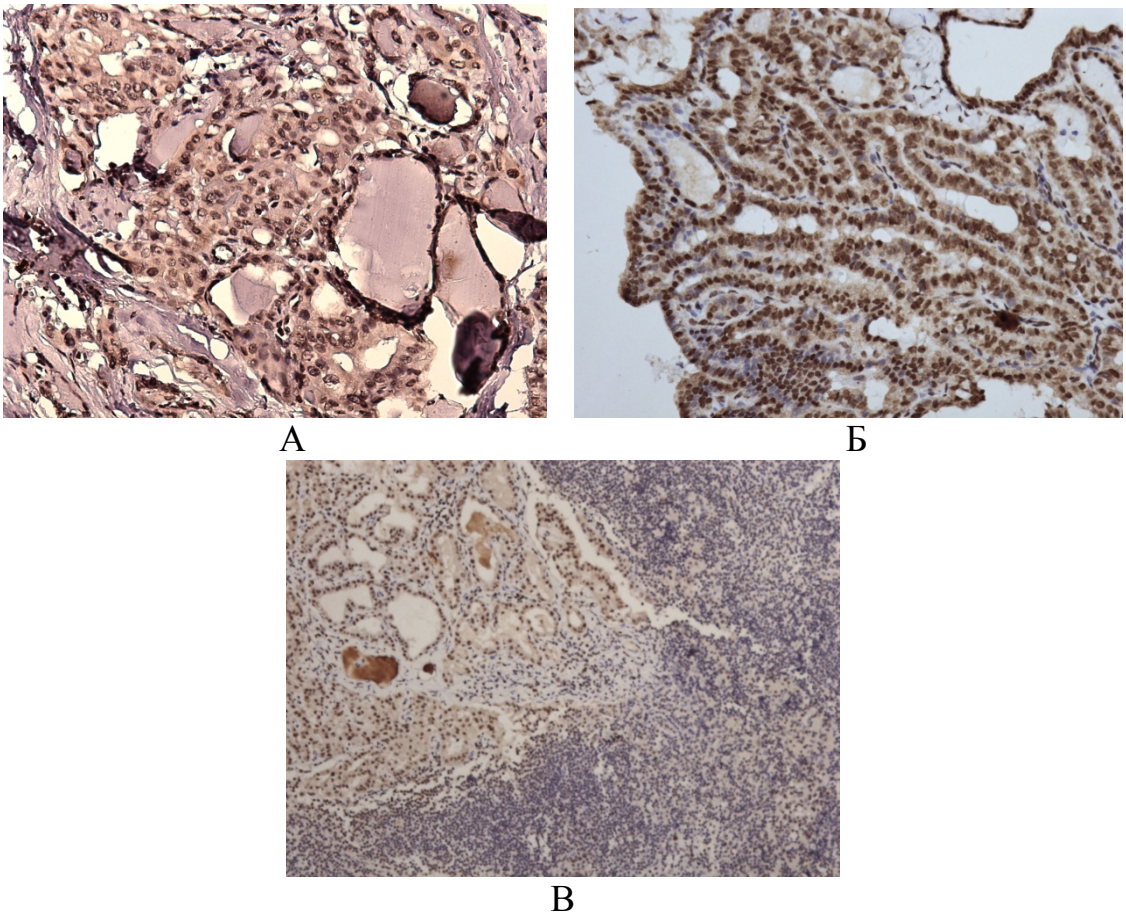


А – диффузный токсический зоб – ИГХ окрашивание НИС только на клеточной мембране, ×40; Б – нормальная ткань щитовидной железы – ИГХ окрашивание НИС так же только на клеточной мембране, ×20; В – фолликулярная аденома щитовидной железы, клинически протекающая на фоне эутиреоза, уровень НИС на мембране снижен, наблюдается внутриклеточное расположение НИС («холодный узел»), ×40; Г – фолликулярная аденома, клинически протекающая на фоне тиреотоксикоза, уровень экспрессии НИС на мембране повышен («горячий узел»), ×40.

Рисунок 1 – Экспрессия натрий-йодного симпортера в нормальной ткани щитовидной железы и при доброкачественных заболеваниях щитовидной железы.

Полученные данные позволили нам предположить, что по степени мембранной экспрессии НИС мы можем прогнозировать чувствительность опухолевой ткани к захвату радиойода. Интересные данные были получены при изучении экспрессии НИС внутри опухолевой клетки. Синтез белка оставался на прежнем уровне, однако уменьшалось количество встроенного в мембрану белка и он накапливался во внутренних компартментах клетки. Функциональную нагрузку может нести белок, находящийся на клеточной мембране, поэтому оценку экспрессии НИС правомерно считать только по мембранной экспрессии. При количественной оценке мембранной экспрессии в клетках различных

опухолей мы получили большой разброс данных, что соответствует представлению о том, что различные опухоли имеют разную чувствительность к радиойоду (рисунок 2).



А Б

В

А – высокодифференцированный рак щитовидной железы с низким уровнем экспрессии НИС на мембране, ×40; Б – высокодифференцированный рак щитовидной железы с хорошим уровнем экспрессии НИС на мембране, ×20; В – метастаз высокодифференцированного рака в лимфоузел центральной клетчатки шеи (VI группа) – определяется лишь фоновое окрашивание, отчетливо экспрессии НИС на мембране клеток не определяется, ×10.

Рисунок 2 – Экспрессия натрий-йодного симпортера при папиллярном раке щитовидной железы.

При изучении мембранной экспрессии НИС в клетках ВДРЩЖ было показано, что количество клеток с мембранной экспрессией не превышало 10%. Мы сравнили экспрессию НИС у пациентов, которым не показано лечение радиойодом, пациентов после РЙТ без рецидива и пациентов с рецидивом заболевания после РЙТ. В группе пациентов с наиболее доброкачественным

течением заболевания экспрессия НИС оказалась максимальной – 6,7%. У пациентов, получивших РЙТ и без развития рецидива в сроки до 60 месяцев наблюдалась сниженная экспрессия НИС – 2,8%. Пациенты, у которых имел место рецидив заболевания в сроки до 60 месяцев после РЙТ, имели максимально низкую экспрессию НИС – 1%. Полученные данные позволили сделать вывод, что чем ниже мембранная экспрессия НИС, тем ниже способность опухоли к захвату радиойода и тем более агрессивна опухоль. То есть снижение мембранной экспрессии НИС может служить одним из маркеров дедифференцировки опухоли.

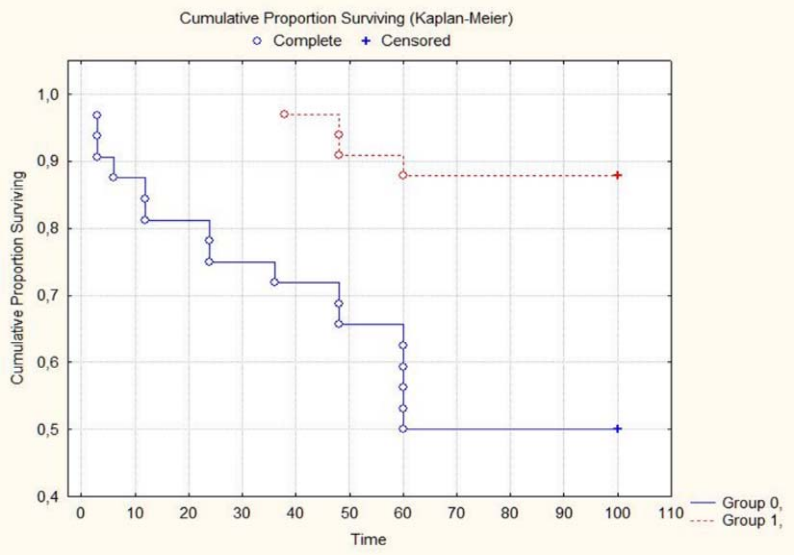
В группе пациентов с рецидивом заболевания уровень экспрессии НИС был менее 1% более чем у половины больных (таблица 6).

Таблица 6 – Характеристика экспрессии натрий – йодного симпортера у пациентов с рецидивом заболевания в срок наблюдения до 60 месяцев после оперативного вмешательства и радиойодтерапии

Уровень экспрессии НИС	Всего
НИС менее 1%	13
НИС более 1%	2
НИС более 2%	5
ВСЕГО	20

Критичным для развития рецидива явилось снижение уровня экспрессии НИС до 1%. Сравнительный анализ показал, что одной из причин рецидива является неэффективность РЙТ, что объясняется неспособностью опухолевый клеток к захвату радиойода, что подтверждается данными о снижении экспрессии НИС.

Этот вывод подтверждается данными о том, что у пациентов с уровнем экспрессии НИС менее 1% в первичной опухоли риск рецидива заболевания в срок до 60 месяцев достоверно выше. Обусловлено данное явление резистентностью опухоли к РЙТ (рисунок 3).



Группа 0 – пациенты с уровнем экспрессии НИС менее или 1%;

Группа 1 – пациенты с уровнем экспрессии НИС более 1%;

Time – время до наступления рецидива указано в месяцах;

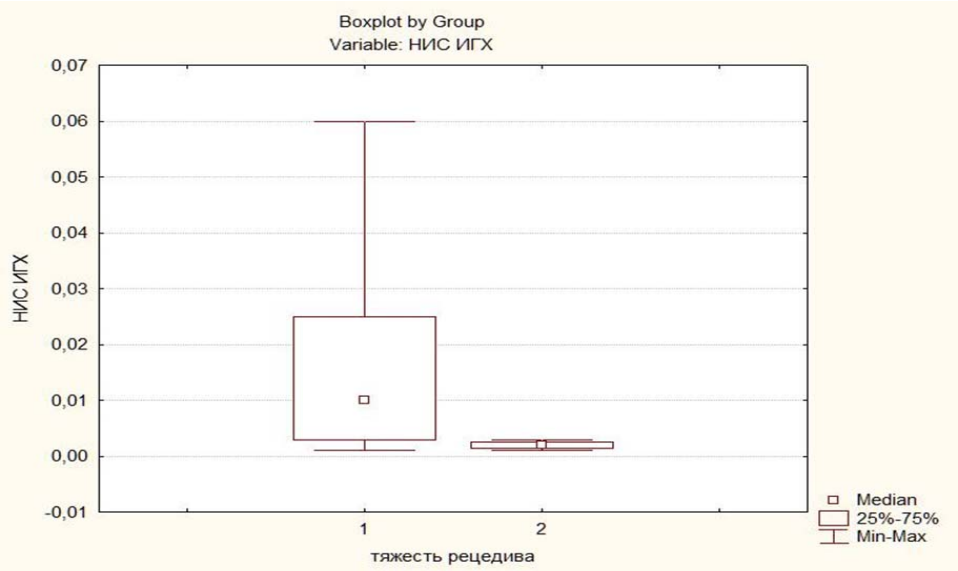
Cumulative proportional surviving – кумулятивная выживаемость. $p<0,005$.

Рисунок 3 – Кривые без рецидивной выживаемости больных в зависимости от уровня экспрессии натрий – йодного симпортера.

При анализе вероятности развития отдаленных метастазов выявилось, что чем ниже уровень экспрессии НИС в первичной опухоли щитовидной железы, тем вероятность отдаленного метастазирования, даже после выполнения РЙТ, выше. Данный факт является еще одним подтверждением того, что снижение экспрессии НИС является маркером дедифференцировки опухоли (рисунок 4).

Таким образом, снижение экспрессии НИС может служить прогностическим маркером агрессивности течения опухолевого процесса.

При анализе экспрессии НИС в зависимости от пола было показано, что у мужчин наблюдается более низкая экспрессия НИС, что может быть одной из причин более агрессивного течения ВДРЩЖ у мужчин (рисунок 5).

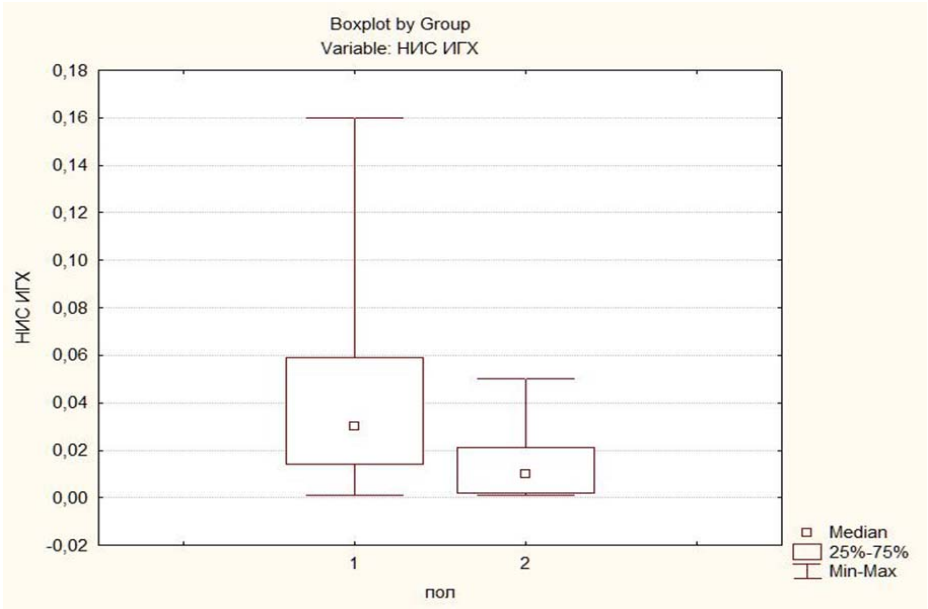


Группа 1 – пациенты с локорегионарными метастазами;

Группа 2 – пациенты с отдаленными метастазами;

НИС ИГХ – натрий-йодный симпортер, определенный иммуногистохимическим методом, измеренный в %. $p<0,05$.

Рисунок 4 – Влияние уровня экспрессии НИС на тяжесть рецидива.



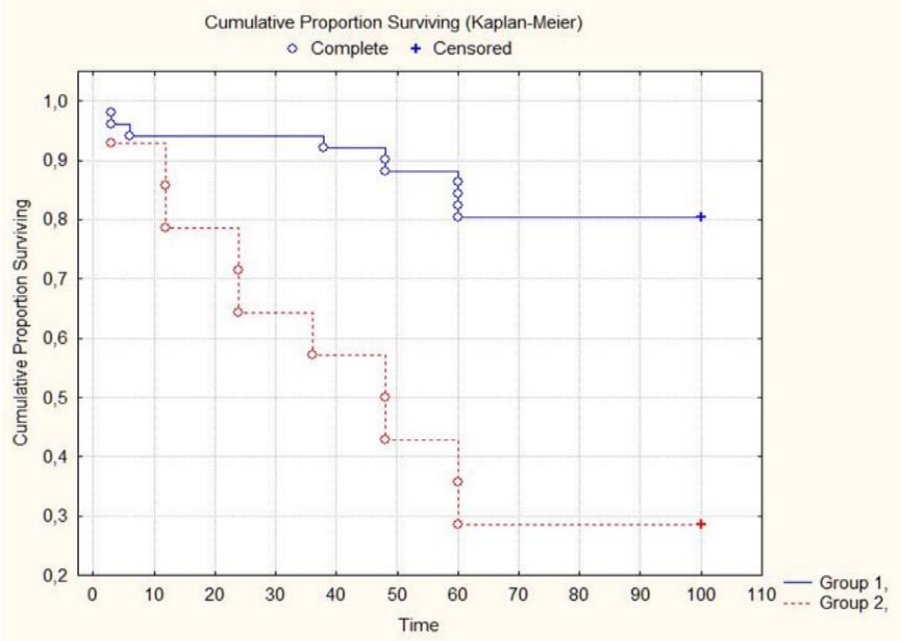
Mann – Whitney U test, $p=0,001$;

Пол 1 – женский пол;

Пол 2 – мужской пол.

Рисунок 5 – Влияние пола на уровень экспрессии натрий-йодного симпортера.

Безрецидивная выживаемость мужчин статистически ниже безрецидивной выживаемости женщин (рисунок 6).



Группа 1 – женщины; Группа 2 – мужчины;
Time – время до рецидива, измеренное в месяцах;
Cumulative proportional surviving – кумулятивная выживаемость. $p<0,001$.

Рисунок 6 – Кривые безрецидивной выживаемости в зависимости от пола.

В задачи ретроспективной части нашей работы входило исследование прогностической значимости мутации гена BRAF для высокодифференцированного рака щитовидной железы.

При анализе частоты выявления BRAF мутации было показано, что данная поломка наиболее часто наблюдается в случае развития рецидива заболевания после РЙТ и достигает частоты 65%. У пациентов, которые получили только хирургическое лечение без развития рецидива, встречаемость BRAF мутации была достоверно ниже и составила 46,7%. Таким образом, были получены достоверные доказательства влияния BRAF мутации на агрессивность течения опухолевого процесса.

Неожиданным оказался факт, что статистически значимого влияния наличия BRAF мутации на рецидив получено не было ($p=0,68$). Данный результат

говорит о необходимости дополнительного прогностического маркера, отражающего такую характеристику агрессивности течения заболевания, как рецидив рака.

Нами не было выявлено зависимости уровня экспрессии НИС от наличия BRAF мутации (p=0,65). Отсутствие корреляции между двумя исследуемыми маркерами может говорить о том, что они участвуют в различных независимых молекулярных путях онкогенеза.

Таким образом, выполненное ретроспективное исследование показало, что BRAF-мутация является маркером агрессивного течения папиллярного рака щитовидной железы. Исследование экспрессии НИС на ретроспективном материале показало, что данный маркер коррелирует не только с агрессивностью опухоли, но и безрецидивной выживаемостью. В тоже время корреляции между этими маркерами выявлено не было, что позволило на предположить, что они могут быть использованы в качестве независимых факторов прогноза течения высокодифференцированного рака щитовидной железы.

Следующей задачей нашей работы было проспективное исследование прогностической значимости мутации гена BRAF для папиллярного рака щитовидной железы.

Мы предприняли попытку найти зависимость между BRAFстатусом опухоли и развитием таких признаков опухолевой распространенности, как мультицентричность, регионарное и отдаленное метастазирование, прорастание капсулы органа, а также рецидив заболевания. На основании этих данных в настоящее время принимается решение об объеме оперативного вмешательства.

Стадирование на дооперационном этапе имеет ряд затруднений, а именно, стадия Т определяется, как правило, на основании размера опухоли, а данные об инвазии органной капсулы и экстратиреоидном распространении мы получаем на интра- или послеоперационном этапе. Прогнозирование данного признака на дооперационном этапе позволит планировать радикальную операцию. Анализ частоты встречаемости BRAF-мутации у пациентов с наличием капсульной инвазии и экстратиреоидного распространения и без, показал достоверные различия (p<0,05) (таблица 7).

Таблица 7 – Корреляция наличия BRAF мутации и прорастания органной капсулы папиллярного рака щитовидной железы

p>0,05	T1-2, чел	T3-4, чел	Всего, чел
BRAF отрицательный	84 (69%)	22 (26%)	106
BRAF положительный	49 (31%)	50 (67%)	99
Всего	133	72	205

Таким образом, определение BRAF-мутации в материале ТАБ на дооперационном этапе с высокой долей вероятности позволяет предположить прорастание органной капсулы.

По литературным данным ряда мультицентричность в случае папиллярного рака достигает 60-80%. В связи с этим высказывалась позиция при которой предлагалось выполнять тиреоидэктомию не зависимо от размера опухолевого узла. В то же время в последнее время наблюдается отчетливая тенденция к выполнению органосохраняющих операций при дооперационном стадировании как T1-2N0M0. Однако в случае мультицентричности опухолевого роста такой объем операции будет носить заведомо не радикальный характер. Мы проанализировали BRAF мутации у пациентов с мультицентричным ростом опухоли. Сравнение частоты обнаружения мультицентричности опухоли продемонстрировало достоверные различия (p<0,05) по данному признаку между группами пациентов с обнаруженной BRAF-мутацией и без нее (таблица 8).

Таблица 8 – Корреляция наличия BRAF мутации и мультицентричности высокодифференцированного рака щитовидной железы

p=0,0001	Мультицентричности нет, чел	Мультицентричность есть, чел	Всего, чел
BRAF отрицательный	101 (95,3%)	5 (4,7%)	106
BRAF положительный	76 (76,8%)	23 (23,2%)	99
Всего	177	28	205

Таким образом, пациентам с выявленной BRAF-мутацией мы можем с высокой долей вероятности прогнозировать мультицентричность опухоли, что позволит планировать адекватный объем операции, а именно, тиреоидэктомию не зависимо от размера опухоли.

Наиболее сложным остается вопрос о показаниях к центральной лимфодиссекции – выполнять ее профилактически всем в случае доказанного папиллярного рака или только при клинически выявляемых лимфоузлах центральной группы. С одной стороны, литературные данные о встречаемости микрометастазов в лимфоузлы VI группы, достигающей по некоторым данным 80%, склоняет в пользу выполнения профилактической лимфодиссекции. С другой стороны, растет частота специфических осложнений – гипопаратиреоза и парез гортани. В связи с этим актуальным становится поиск прогностических маркеров метастазирования в лимфоузлы центральной группы для того, чтобы все лимфодиссекции носили лечебный характер. Дискутабельным вопросом хирургической тактики лечения папиллярного рака щитовидной железы является вопрос выполнения профилактической центральной лимфодиссекции. По данным нашего исследования в случае BRAF положительного статуса первичной опухоли в более чем половине случаев (52%) следует ожидать наличия метастатических регионарных лимфатических узлов. Это позволило нам утверждать, что пациентам с BRAF положительным статусом опухоли показано выполнение ЦЛД и в более половины случаев данная лимфодиссекция будет носить лечебный характер и не приведет к персистенции заболевания (таблица 9).

Таблица 9 – Корреляция наличия BRAF мутации и метастатического поражения регионарных лимфатических узлов

p=0,005	ЛУ без мтс, чел	ЛУ с мтс, чел	Всего, чел
BRAF отрицательный	71 (67%)	35 (33%)	106
BRAF положительный	47 (48%)	52 (52%)	99
Всего	118	87	205

Таким образом, при выявлении BRAF-мутации мы можем с высокой долей вероятности прогнозировать поражение регионарных лимфоузлов и, соответственно, ставить показания к выполнению центральной лимфодиссекции. Это позволит, с одной стороны, стадировать процесс и планировать дальнейшую радиойодтерапию. С другой стороны, радикальное оперативное вмешательство позволит избежать рецидива заболевания.

В проспективном исследовании нами также выявлено не было статистически значимой зависимости между возрастом, развитием рецидива и наличием BRAF-мутации, тогда как для мужского пола выявлена достоверно более частая встречаемость. Таким образом, проведенное исследование показало, что исследуемые признаки опухолевой распространенности, как метастазирование, мультицентричность, органная инвазия имеют прямую корреляционную зависимость с наличием BRAF-мутации. Соответственно, в нашем исследовании подтверждается предположение, что BRAF-мутация является фактором неблагоприятного прогноза при папиллярном раке щитовидной железы.

В последнее время наметилась тенденция к расширению показаний к выполнению гемитиреоидэктомии, а именно, стадия T1-2N0M0 позволяет выполнить гемитиреоидэктомию. В тоже время стадирование на дооперационном этапе имеет ряд ограничений, в частности, опухоль, клинически диагностируемая как микрокарцинома, может по данным гистологии иметь признаки экстратиреоидной инвазии и микрометастазирования. Рекомендуемый объем операции в данном случае будет носить заведомо нерадикальный характер. Мы проанализировали результаты лечения 44 больных с опухолями по своим характеристикам соответствующие «маленькому» раку. Мы исследовали прогностические возможности выявления BRAF-мутация в группе пациентов с микрокарциномами папиллярного строения. При проведении многомерного анализа было показано, что при выявлении BRAF-мутации мы с одинаковой степенью вероятности можем прогнозировать инвазию органной капсулы, регионарное метастазирование, мультицентричность. Соответственно, наличие любого из этих признаков является показанием к расширению объема операции

до тиреоидэктомии, а высокая вероятность регионарного метастазирования требует выполнения центральной лимфодиссекции.

Полученные результаты подтверждают данные о том, что микрокарциномы щитовидной железы являются гетерогенной группой опухолей, объединённых лишь размером узлового образования, и не отражают биологического потенциала опухоли.

Одной из задач проспективной части работы был поиск метода определения мембранной экспрессии НИС в материале ТАБ на дооперационном этапе. Для решения этой задачи нами была отработана и применена запатентованная методика проточной флуоцитометрического определения уровня экспрессии НИС, которая позволяет определять белок, локализующийся на мембране.

При изучении экспрессии НИС в материале ТАБ методом ПФЦ мы получили результаты идентичные ретроспективной части нашей работы. Мы провели сравнительный анализ уровня экспрессии НИС у пациентов трех групп – пациенты, получившие только хирургическое лечение без развития рецидива в сроки до 60 месяцев, получившие хирургическое лечение, РЙТ и без развития рецидива в сроки до 60 месяцев и пациенты с развившимся рецидивом после хирургического лечения и РЙТ.

В первой группе пациентов (75 больных, чей объем лечения ограничился только оперативным вмешательством) средний уровень экспрессии НИС был максимальным и составил 4,7%. Во второй группе больных (80 пациентов без рецидива заболевания в срок наблюдения до 60 месяцев после оперативного вмешательства и радиойодтерапии) средний уровень экспрессии НИС первичной опухоли составил 4,7%. В третьей группе больных (50 пациентов с рецидивом заболевания после радиойодтерапии и оперативного вмешательства в срок наблюдения до 48 месяцев) уровень экспрессии НИС был снижен до 2% (таблица 10).

Анализ влияния уровня экспрессии НИС на безрецидивную выживаемость в группе больных с экспрессией НИС более 1-2% показал, что рецидив заболевания развился лишь в 10% случаев. Тогда как в группе больных с уровнем экспрессии НИС менее 1% частота рецидивов достигла 50%. При этом все пациенты с рецидивами заболевания прошли терапию радиоактивным йодом. Таким образом,

получается, что в половине случаев при уровне экспрессии менее 1-2% в первичной опухоли в срок до 48 месяцев мы можем ожидать рецидива заболевания после выполнения РЙТ.

Таблица 10 – Уровень экспрессия НИС у пациентов проспективной группы в зависимости от течения высокодифференцированного рака щитовидной железы

Группы	Пациенты без РЙТ и рецидива	Пациенты с РЙТ без рецидива	Пациенты с РЙТ с рецидивом
Количество пациентов	75	60	50
Экспрессия НИС	4,7%	4,7%	<2%

Таким образом, низкая экспрессия НИС предполагает нечувствительность опухоли к лечению радиойодом. Предполагая возможную радиойодрезистентность опухоли на этапе первичной диагностики, мы можем планировать заведомо более расширенный обьем операции, так как проведение лечения радиоактивным йодом будет неэффективным и может потребовать повторного оперативного вмешательства, сопряженного с повышенным риском осложнений. Соответственно, в случае рецидива или прогрессирования у данной группы больных, опухоль будет не чувствительна к радиойоду. Таким образом, с целью предотвращения рецидива и/или персистирования ВДРЩЖ, при выявлении на дооперационном этапе снижения уровня экспрессии НИС в первичной опухоли менее 1-2%, целесообразно выполнение профилактической центральной шейной лимфодиссекции.

Изучая прогностические возможности таких маркеров, как экспрессия НИС и наличие BRAF мутации, мы получили разноречивые данные о влиянии их на развитие рецидива. Нами не было получено статистически достоверного влияния наличия мутации в гене BRAF на частоту и время развития рецидива. Тогда как уровень экспрессии НИС достоверно коррелировал с развитием рецидива. Но на развитие рецидива влияет не только биологический потенциал опухоли, но и лечение, которое получают пациенты. В связи с этим мы провели многофакторный анализ, включающий в качестве факторов, влияющих на время

развития рецидива, не только исследуемые молекулярно-генетические маркеры, но и объем оперативного вмешательства.

Проведенный анализ достоверно показал, что у пациентов с BRAF позитивным статусом и низкой экспрессией НИС увеличение объема операции до тиреоидэктомии с ЦЛД приводит к снижению количества рецидивов и увеличению времени безрецидивной выживаемости. Та же тенденция наблюдается у пациентов с BRAF позитивным статусом и высокой экспрессией НИС. В случае же отсутствия мутации в гене BRAF и высокой экспрессии НИС расширение объема операции до тиреоидэктомии с ЦЛД не уменьшает безрецидивную выживаемость.

Проведенное исследование показало, что изучаемые молекулярно-генетические маркеры являются индикатором агрессивного поведения опухоли и требуют изменения хирургической тактики. Определяя на дооперационном этапе в материале ТАБ наличие BRAF мутации и уровень экспрессии НИС, мы можем прогнозировать у данного пациента поведение опухоли и определять соответствующий объем операции. Так, наличие BRAF мутации и низкой экспрессии НИС, можно предположить больший потенциал агрессивности и у данного пациента расширить объем операции до тиреоидэктомии с центральной лимфодиссекцией. При выявлении в материале ТАБ высокого уровня экспрессии НИС и отсутствие мутации в гене BRAF, мы можем думать о доброкачественном течении папиллярного рака щитовидной железы и выполнить у данных пациентов органосохраняющую операцию. У пациентов с отсутствием мутации в гене BRAF и низкой экспрессией НИС, а также с наличием BRAF мутации и высокой экспрессией НИС, не было получено убедительных доказательств в зависимости безрецидивного периода от объема операции. По-видимому, на биологическое поведение опухоли у этой категории больных оказывают влияние другие факторы и расширение молекулярно-генетической панели в дальнейшем позволит более точно формировать группы риска и индивидуальный план лечения.

Таким образом, на основании проведенного исследования нами была разработана следующая хирургическая тактика: при выявлении BRAF положительной первичной опухоли адекватным объемом первичного оперативного лечения является тиреоидэктомия с центральной лимфодиссекцией;

а так же при выявлении снижения уровня экспрессии НИС менее 1% в первичной опухоли обоснованным будет выполнение профилактической центральной лимфодиссекции.

Полученные результаты позволили выполнить проспективное исследование по изучению результатов использования выработанной тактики лечения высокодифференцированного рака щитовидной железы. Мы провели сравнительный анализ результатов лечения пациентов, оперированных до 2009 года и после, когда стала применяться предложенная тактика лечения.

Критерием разделения был принят год выполнения операции. Критериями включения в исследуемые группы явились такие признаки, как отсутствие клинически и инструментально определяемых на дооперационном этапе признаков регионарного и отдаленного метастазирования, инвазии органной капсулы. При клинически определяемых регионарных метастазах объем операции определялся распространенностью процесса и расширялся до тиреоидэктомии с центральной и боковой лимфодиссекцией. Эти пациенты не были включены в исследуемые группы.

BRAF-позитивный статус имели 80 пациентов, из них 18 больных были оперированы до 2009 года, 62 – после 2009 года с применением выработанной тактики лечения.

В группе пациентов, оперированных до 2009 года, при выполнении гемитиреоидэктомии или тиреоидэктомии без ЦЛД у пациентов с BRAF-позитивной опухолью без признаков прорастания органной капсулы и неопределяемыми лимфоузлами на этапе дооперационного обследования, мы получили рецидив заболевания у 7 из 18 пациентов.

С 2009 года у пациентов с BRAF позитивным статусом опухоли мы выполняли тиреоидэктомию с ЦЛД. Из 62 пациентов исследуемой группы мы получили развитие рецидива в трех случаях в сроки до 60 месяцев.

Таким образом, выработанная хирургическая тактика позволила достоверно снизить количество рецидивов и увеличить время безрецидивной выживаемости у пациентов с BRAF положительным статусом опухоли.

Интересным оказался факт, что время безрецидивной выживаемости не зависит от стадии Т, то есть при выявлении BRAF мутации в опухоли, показано

выполнение тиреоидэктомии с ЦЛД вне зависимости от размера опухоли и наличия капсульной инвазии.

В случае, когда на дооперационном этапе был выявлен BRAF негативный статус опухоли, ведущую роль в прогнозировании рецидива имеет выявление экспрессии НИС. Как было показано выше, чем выше экспрессия НИС, тем выше дифференцировка опухоли, тем более благоприятный прогноз и ниже риск рецидива. Мы проанализировали, влияет ли увеличение объема операции у BRAF негативных опухолей на прогноз и риск развития рецидива.

Нами были получены следующие данные. Увеличение объема операции до тиреоидэктомии с ЦЛД у пациентов с BRAF негативным статусом и неопределяемыми метастазами и органной инвазией на дооперационном этапе в случае высокой экспрессии НИС не уменьшает риск рецидива. То есть у этой категории больных можно обоснованно рекомендовать выполнение органосохраняющих операций. В случае же низкой экспрессии НИС при негативном BRAF статусе расширение объема операции не приводит к снижению риска рецидива.

Таким образом, в случае выявления на дооперационном этапе BRAF мутации мы можем рекомендовать выполнение тиреоидэктомии с ЦЛД.

Увеличение объема операции до тиреоидэктомии с ЦЛД у BRAF негативных опухолей с высоким уровнем экспрессии НИС при отсутствии клинических и инструментальных признаков регионарного и отдаленного метастазирования, не улучшает результатов лечения, а именно, не уменьшает риск рецидива. Эти результаты позволяют рекомендовать у этой группы пациентов выполнение органосохраняющих операций.

У пациентов с низкой экспрессией НИС наиболее высокий риск развития рецидива и в случае BRAF негативного статуса опухоли, расширение объема операции не улучшает результаты. Это дает основание предположить, что для лечения этих пациентов необходимо искать другие пути воздействия на опухоль, а именно, фармакологическое воздействие, возможно, с целью повышения чувствительности клетки к радиойодтерапии, то есть воздействуя на уровень экспрессии НИС.

Таким образом, проведенное исследование позволило утверждать, что группа пациентов с высокодифференцированным раком щитовидной железы является гетерогенной группой, как клинически, так и на молекулярно-генетическом уровне. Такая неоднородность ведет к различиям в клинических проявлениях и прогнозе, что, соответственно, диктует необходимость подбирать индивидуальный подход к хирургической и лечебной тактике. Такой подход требует наличие высокотехнологичных методик и опыта, что возможно в условиях специализированных отделений.

Внедрение в алгоритм дооперационного обследования молекулярно-генетической панели позволяет осуществить индивидуальный подход к выбору хирургической тактики в рамках принятых стандартов и улучшить результаты лечения высокодифференцированного рака щитовидной железы.

ВЫВОДЫ

1. У пациентов с цитологическим заключением Bethesda IV выявление повышенного уровня экспрессии галектин-3 методом ПФЦ позволяет прогнозировать высокодифференцированный рак щитовидной железы, за счет повышения диагностической точности метода до 90,9%. Определение экспрессии HBME-1 не улучшает диагностическую ценность метода.

2. Выявление BRAF мутации позволяет со 100% вероятностью утверждать, что диагностирован папиллярный рак и может быть использовано в качестве дополнительного диагностического дооперационного маркера папиллярного рака щитовидной железы. Мутация гена BRAF V600E не встречается при фолликулярном раке и доброкачественных образованиях.

3. Уровень экспрессии НИС определяет способность клетки к захвату йода и позволяет прогнозировать радиойодчувствительность.

4. Определение уровня снижения экспрессии НИС может быть использовано в качестве прогностического маркера рецидива после проведения радиойодтерапии, и для количественной оценки мембранной экспрессии НИС на дооперационном этапе целесообразно использование проточной флуороцитометрии.

5. Выявление мутации гена BRAF и снижения уровня экспрессии НИС нижее 1% являются независимыми факторами риска агрессивного течения высокодифференцированного рака щитовидной железы, что обусловливает необходимость определение наличия мутации гена BRAF и уровня экспрессии НИС с целью формирования на дооперационном этапе группы высокого риска рецидива/персистенции заболевания.

6. Адекватным объемом оперативного вмешательства для пациентов с BRAF положительным статусом первичной опухоли или снижением уровня экспрессии НИС менее 1% является тиреоидэктомия с профилактической центральной лимфодиссекцией.

7. При высокой экспрессии НИС и BRAFнегативном статусе опухоли рекомендовано выполнение органосохраняющей операции при отсутствии экстратиреоидного распространения и метастазирования.

8. Применение в лечебной тактике предложенной молекулярно-генетической панели позволяет улучшить результаты лечения за счет увеличения безрецидивной выживаемости.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При получении заключения цитологического исследования Bethesda IV считаем обоснованным ориентироваться на данные экспрессии галектина-3 в аспирате, полученном при ТАБ. Выявление повышения экспрессии галектина-3 позволяет делать более обоснованным хирургическое вмешательство, выполняемое в этой группе пациентов с диагностической целью.

2. Всем пациентам с ВДРЩЖ показано дооперационное определение уровня экспрессии НИС и наличия мутации гена BRAF

3. При планировании объема хирургической лечения ВДРЩЖ необходимо основываться на результатах дооперационных методов обследования и принятых стандартах лечения и для индивидуализации лечения использовать предложенную молекулярно-генетическую панель.

4. При выявлении мутации гена BRAF и снижения уровня экспрессии НИС менее 1% адекватным объемом оперативного вмешательства будет выполнение тиреоидэктомии с профилактической центральной лимфодиссекцией.

СПИСОК ПЕЧАТНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Александрова, С.А. Влияние галектина-3 на FAS-опосредованный апоптоз в клетках опухолей щитовидной железы человека / С.А. Александрова, Л.Б. Гинкул, М.Е. Борискова // Вопр. онкологии. – 2008. – Т. 54. – С. 4.**
2. **Поташов, Л.В. Современные проблемы диагностики и хирургического лечения заболеваний щитовидной железы / Л.В. Поташов, Д.Ю. Семенов, Т.Д. Фигурина, М.Е. Борискова, П.А. Панкова, В.Н. Сечкарева, Н.С. Фещенко // Мед. академический журн. – 2008. – Т. 8, № 1. – С. 197-203.**
3. **Семенов, Д.Ю. Использование галектина-3 в диагностике рака щитовидной железы / Д.Ю. Семенов, К.М. Пожарисский, М.Е. Борискова, П.А. Панкова, М.С. Мухина, Н.С. Фещенко // Вопр. онкологии. – 2008. – Т. 54, № 3. – С. 321-323.**
4. **Борискова, М.Е. Диагностика и хирургическая тактика при микрокарциноме щитовидной железы / М.Е. Борискова, Т.Д. Фигурина, П.А. Панкова, Н.С. Фещенко, В.Н. Сечкарева, У.В. Фарафонова // Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. – 2009. – Т. 16, № 3. – С. 22-25.**
5. **Зарайский, М.И. Значение выявления мутации гена BRAF в дооперационной диагностике рака щитовидной железы / М.И. Зарайский, Д.Ю. Семенов, М.Е. Борискова, И.Ю. Сабурова, П.А. Панкова, Н.С. Фещенко, В.Г. Чаусова, У.В. Фарафонова, О.А. Пестерова // Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. – 2009. – Т. 16, № 2. – С. 45-48.**

6. **Семенов, Д.Ю. Значение выявления мутации гена BRAF в дооперационной диагностике рака щитовидной железы / Д.Ю. Семенов, М.И. Зарайский, М.Е. Борискова, И.Ю. Сабурова, П.А. Панкова, Н.С. Фещенко, В.Г. Чаусова, У.В. Фарафонова, О.П. Пестерова // Клин. и эксперим. тиреоидология. – 2009. – Т. 5, № 4. – С. 33-37.**
7. **Семенов, Д.Ю. Изучение возможностей использования биомаркеров galektin-3, HBME-1, FAS, FASL в дооперационной диагностике высокодифференцированного рака щитовидной железы / Д.Ю. Семенов, Л.Б. Гинкул, М.Е. Борискова, С.А. Александрова, П.А. Панкова, Н.С. Фещенко, У.В. Фарафонова // Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. – 2009. – Т. 16, № 3. – С. 18-21.**
8. **Семенов, Д.Ю. Экспрессия галектина-3 в дооперационной диагностике высокодифференцированного рака щитовидной железы / Д.Ю. Семенов, Л.Е. Колоскова, М.Е. Борискова, П.А. Панкова, Н.С. Фещенко, О.И. Филиппова, У.В. Фарафонова // Проблемы эндокринологии. – 2010. – Т. 56, № 4. – С. 9-15.**
9. **Семенов, Д.Ю. Комбинированный анализ выявления мутации гена BRAF и экспрессии галектина-3 в дооперационной диагностике рака щитовидной железы / Д.Ю. Семенов, М.И. Зарайский, Л.Е. Колоскова, М.Е. Борискова, И.Ю. Сабурова, П.А. Панкова, Н.С. Фещенко, О.И. Филиппова, У.В. Фарафонова, О.П. Пестерова, М.А. Быков / Клин. и эксперим. тиреоидология. – 2011. – Т. 7, № 2. – С. 49-56.**
10. **Семенов, Д.Ю. Использование мутации BRAF V600E в дифференциальной диагностике фолликулярных опухолей и папиллярного рака щитовидной железы и оптимизации тактики лечения / Д.Ю. Семенов, М.Е. Борискова, М.И. Зарайский, И.Ю. Сабурова, П.А. Панкова, У.В. Фарафонова, М.А. Быков // Вопр. онкологии. – 2012. – Т. 58, № 5. – С. 649-652.**
11. Зарайский, М.И. Онкопаспорт-скрининг – система стандартизированной молекулярно-генетической оценки состояния генов для выявления групп населения с повышенным риском развития онкологических заболеваний / М.И. Зарайский, Е.Е. Зуева, А.Б. Чухловин, Д.В. Чередниченко,

Е.Б. Морозова, О.В. Галкина, А.С. Бельтюкова, М.В. Горчакова, И.Ю. Сабурова, А.В. Артемьева, К.Ю. Слободнюк, Е.Б. Русанова, М.В. Иванченко, М.Е. Борискова, У.В. Фарафонова, М.А. Быков, Д.Ю. Семенов // Клин.-лаб. консилиум. – 2013. – № 1. – С. 13-18.

12. **Семенов, Д.Ю. Определение BRAF-мутации в папиллярных микрокарциномах щитовидной железы – дополнительный маркер стратификации риска / Д.Ю. Семенов, М.Е. Борискова, М.И. Зарайский, У.В. Фарафонова, М.А. Быков // Клин. и эксперим. тиреоидология. – 2014. – Т. 10, № 3. – С. 36-40.**
13. Семенов, Д.Ю. Определение объема хирургического лечения высокодифференцированного рака щитовидной железы на основании определения мутации гена braf и уровня экспрессии натрий-йодного симпортера / Д.Ю. Семенов, М.Е. Борискова, У.В. Фарафонова, М.А. Быков, И.Т.Зинкевич, Л.Е. Колоскова, О.Л. Кочнева // Инновационные технологии в эндокринологии : II Всерос. конгр. с участием стран СНГ. – М., 2014. – С. 22.
14. **Борискова, М.Е. Прогнозирование течения высокодифференцированного рака щитовидной железы на основании дооперационного определения уровня экспрессии натрий-йодного симпортера / М.Е. Борискова, Д.Ю. Семенов, У.В. Фарафонова, Л.Е. Колоскова, П.А. Панкова, Е.Н. Смолина // Клин. и эксперим. тиреоидология. – 2015. – Т. 11, № 3. – С. 54-59.**
15. Семенов, Д.Ю. Пат. № 2548783 Российская Федерация, МПК G 01 N 33/50. Способ дооперационного определения объема хирургического лечения высокодифференцированного рака щитовидной железы / Семенов Д.Ю., Борискова М.Е., Колоскова Л.Е., Фарафонова У.В.; заявитель и патентообладатель ГБОУ ВПО ПСПБГМУ им. акад. Павлова. – № 2014121906/15; заявл. 29.05.2014; опубл. 20.04.15. – Бюл. № 11. – С. 10.
16. **Семенов, Д.Ю. Прогностическое значение экспрессии натрий-йодного симпортера для высокодифференцированного рака щитовидной железы / Д.Ю. Семенов, М.Е. Борискова, У.В. Фарафонова, Р.В. Грозов, П.А. Панкова, Е.Н. Смолина // Клин. и эксперим. тиреоидология. – 2015. – Т. 11, № 1. – С. 50-58.**

17. **Семенов, Д.Ю. Аксиллярный эндовидеохирургический доступ в хирургии щитовидной железы / Д.Ю. Семенов, М.Е. Борискова, П.А. Панкова, Г.В. Волчков, М.А. Быков // Вестн. хирургии им. И.И. Грекова. – 2018. – Т. 177, № 1. – С. 37-40.**
18. **Борискова, М.Е. Оптимизация хирургической тактики лечения BRAF-положительного папиллярного рака щитовидной железы / М.Е. Борискова, У.В. Фарафонова, П.А. Панкова, М.А. Быков, Э.А. Рамазанова // Клин. и эксперим. тиреоидология. – 2018. – Т. 14, № 1. – С. 25-33.**
19. Boriskova, M.E. Implication of BRAF V600E gene mutation in preoperative diagnoctic of thyroid gland cancer / M.E. Boriskova, D.Y. Semyonov, M.I. Zaraisky, P.A. Pankova, U.V. Farafonova, M.A. Bikov // Eur. Thyroid. J. – 2012. – № 1, suppl. 1. – P. 144.

Список сокращений

ВДРЩЖ – высокодифференцированный рак щитовидной железы
ИГХ – иммуногистохимическое исследование
ИЦХ – иммуноцитохимическое исследование
НИС – натрий йодный симпортер
ПФЦ – проточная флуороцитометрия
ПЦР – полимеразная цепная реакция
РЙ – радиойод (131 I)
РЙТ – радиойодтерапия
РЩЖ – рак щитовидной железы
ТАБ – тонкоигольная аспирационная биопсия
ФВПР – фолликулярный вариант папиллярного рака
ФРЩЖ – фолликулярный рак щитовидной железы
ЩЖ – щитовидная железа