

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ЮЖНО-УРАЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Ильина Татьяна Евгеньевна

**ФОЛЛИКУЛЯРНЫЕ ОПУХОЛИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
НЕОПРЕДЕЛЕННОГО ЗЛОКАЧЕСТВЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА:
КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ
ХИРУРГИЧЕСКОЙ ТАКТИКИ**

3.3.2. Патологическая анатомия

3.1.9. Хирургия

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научные руководители:
доктор медицинских наук, профессор
Казачков Евгений Леонидович,
доктор медицинских наук, доцент
Сергийко Сергей Владимирович

Челябинск – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.	4
ГЛАВА 1 СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ УЧЕНИЯ О ФОЛЛИКУЛЯРНЫХ ОПУХОЛЯХ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НЕОПРЕДЕЛЁННОГО ЗЛОКАЧЕСТВЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	13
1.1 Фолликулярная опухоль щитовидной железы неопределенного злокачественного потенциала: термины, дефиниции, классификационные принципы.	13
1.2 Методы диагностики фолликулярных опухолей щитовидной железы на биопсийном и операционном материале.	16
1.3 Современные представления о хирургической тактике при фолликулярных опухолях щитовидной железы.	23
ГЛАВА 2 ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.	28
2.1 Принципы группировки пациентов и дизайн исследования.	28
2.2 Методы исследования.	34
2.2.1 Методика проведения трепанобиопсии.	34
2.2.2 Морфологические методы исследования.	35
2.2.3 Молекулярно-генетическое исследование.	37
2.2.4 Статистические методы.	40
ГЛАВА 3 МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ХИРУРГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И МЕСТО ФОЛЛИКУЛЯРНЫХ ОПУХОЛЕЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НЕОПРЕДЕЛЁННОГО ЗЛОКАЧЕСТВЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА В СТРУКТУРЕ ТИРЕОИДОПАТИЙ ПО МАТЕРИАЛАМ ОБЛАСТНОГО ЦЕНТРА ХИРУРГИЧЕСКОЙ ЭНДОКРИНОЛОГИИ Г. ЕЛЯБИНСКА. МЕДИКО-СОЦИАЛЬНЫЙ ПОРТРЕТ ПАЦИЕНТОВ С ФОЛЛИКУЛЯРНЫМИ ОПУХОЛЯМИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НЕОПРЕДЕЛЁННОГО ЗЛОКАЧЕСТВЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА	43

ГЛАВА 4 СРАВНИТЕЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФОЛЛИКУЛЯРНЫХ ОПУХОЛЕЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НЕОПРЕДЕЛЁННОГО ЗЛОКАЧЕСТВЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА С МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИМ ПРОФИЛЕМ МИКРОРНК, ХАРАКТЕРНЫМ ДЛЯ «УСЛОВНО ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ» И «УСЛОВНО ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫХ» НОВООБРАЗОВАНИЙ.....	59
ГЛАВА 5 АЛГОРИТМ ОБОСНОВАНИЯ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ ЛЕЧЕБНОЙ ТАКТИКИ И ПОКАЗАНИЙ К ХИРУРГИЧЕСКОМУ ЛЕЧЕНИЮ ПАЦИЕНТОВ С ФОЛЛИКУЛЯРНОЙ ОПУХОЛЬЮ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НЕОПРЕДЕЛЕННОГО ЗЛОКАЧЕСТВЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА. ВОЗМОЖНОСТИ ДООПЕРАЦИОННОГО ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА ФОЛЛИКУЛЯРНЫХ ОПУХОЛЕЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ.....	80
5.1 Выявление предиктивно значимых морфологических показателей в ретроспективной группе исследования.....	80
5.2 Оценка возможности экстраполяции полученных результатов на проспективную группу исследования.....	85
ГЛАВА 6 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	96
ВЫВОДЫ.....	106
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	108
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	109
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	110
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА.....	127

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность избранной темы и степень ее разработанности

Опухоли щитовидной железы – распространённая патология человека, не имеющая тенденции к снижению, характеризующаяся высокими показателями заболеваемости различных слоев населения, зачастую – трудоспособного возраста, что переводит данную проблему из ряда медицинских в медико-социальные [22; 31; 55].

Наибольшую сложность на этапах морфологической верификации вызывает группа инкапсулированных опухолей щитовидной железы фолликулярного строения, к которой принято относить инкапсулированный вариант папиллярного рака, фолликулярный рак, фолликулярную аденому, неинвазивную фолликулярную опухоль с ядрами папиллярного типа, высокодифференцированную опухоль неопределенного злокачественного потенциала и фолликулярную опухоль неопределенного злокачественного потенциала [2; 4; 44].

Принято считать, что основой дифференциальной диагностики между данными новообразованиями служит наличие или отсутствие изменений ядер опухолевых клеток, характерных для папиллярной карциномы и признаков капсулярной и/или сосудистой инвазии [3].

Отсутствие чётко очерченных критериев морфологической диагностики ряда опухолей этой группы привело к выделению в самостоятельную нозологическую форму фолликулярную опухоль щитовидной железы неопределенного злокачественного потенциала (ФОНЗП) [111]. В действующей Международной классификации опухолей этого органа к ФОНЗП относят инкапсулированную или хорошо очерченную опухоль из высокодифференцированных клеток фолликулярного происхождения без изменений ядер, характерных для папиллярной карциномы, но с сомнительной капсулярной и/или сосудистой инвазией, которая занимает промежуточное положение между фолликулярной аденомой и фолликулярной карциномой

[2; 111]. Трудности дифференциальной диагностики ФОНЗП вызваны тем, что в отдельных случаях изменения ядер, характерные для папиллярной карциномы, могут быть неочевидны, а признаки капсулярной и/или сосудистой инвазии не являются абсолютно бесспорными и достаточными для диагноза рака [2; 7].

В настоящее время исследования, посвящённые морфологической диагностике ФОНЗП, малочисленны и противоречивы [58; 60; 85; 92; 93; 114], а данных о комплексном структурном и молекулярно-генетическом изучении этих новообразований в доступной литературе мы не обнаружили. Вместе с тем затруднения, возникающие при морфологической верификации опухолевой патологии щитовидной железы на дооперационном этапе обследования пациента, нередко приводят к необоснованному расширению показаний для операции [40; 54; 133]. Это демонстрирует хирургическую составляющую проблемы, поскольку количество диагностических операций и ассоциированных с ними послеоперационных осложнений, ухудшающих качество жизни пациентов, можно

было бы сократить при наличии морфологической верификации диагноза, исключающего наличие злокачественной опухоли.

С учётом изложенного, современное состояние проблемы ФОНЗП диктует необходимость дальнейшего комплексного изучения этого новообразования с применением цитологического, гистологического, гистохимического, иммуногистохимического, молекулярно-генетического методов исследования, особенно на дооперационном этапе, результаты которых помогут наметить подходы к адекватной оценке степени обоснованности оперативного лечения данной патологии щитовидной железы, поскольку структурные особенности новообразований сегодня принято считать стратегической основой хирургической тактики [119].

Цель исследования

Изучить структурные особенности фолликулярных опухолей щитовидной железы неопределённого злокачественного потенциала на основе комплексного морфологического анализа и исследования молекулярно-генетического профиля

для обоснования выбора персонализированной лечебной тактики и показаний к хирургическому лечению.

Задачи исследования

1. Определить частоту встречаемости фолликулярных опухолей щитовидной железы неопределенного злокачественного потенциала в структуре онкологической патологии этого органа в Челябинской области.
2. Дать характеристику медико-социального портрета пациентов с фолликулярными опухолями щитовидной железы неопределённого злокачественного потенциала.
3. Изучить особенности экспрессии ряда микроРНК в фолликулярных опухолях щитовидной железы неопределённого злокачественного потенциала и их молекулярно-генетического профиля.
4. Изучить гистологический, гистохимический, иммуногистохимический профиль и морфометрические особенности фолликулярных опухолей щитовидной железы неопределённого злокачественного потенциала в группах опухолей с различным потенциалом злокачественности.
5. Разработать алгоритм обоснования персонализированной лечебной тактики и показаний к хирургическому лечению пациентов с фолликулярной опухолью щитовидной железы с цитологическим заключением «IV категория по Bethesda».

Научная новизна

Определена частота встречаемости ФОНЗП среди оперированных пациентов по поводу тиреоидопатий в областном центре хирургической эндокринологии г. Челябинска в период 2018–2021 гг., которая составила 4,75 % (98/2063) от общего числа лиц, подвергшихся хирургическому лечению новообразований щитовидной железы.

Охарактеризован медико-социальный портрет пациентов с ФОНЗП на территории Южного Урала. Установлено, что среди них абсолютно преобладают

женщины, а также лица среднего и пожилого возраста, в большинстве случаев проживающие в условиях крупных городов. Каждый второй пациент с ФОНЗП является служащим либо занятым в производстве, страдает гипертонической болезнью и/или сахарным диабетом.

Впервые проведено изучение профиля микроРНК ФОНЗП, результаты которого позволили определить молекулярно-генетическую неоднородность данных новообразований и сформировать группы опухолей с молекулярно-генетическими портретами «условно доброкачественного» (36/98) и «условно злокачественного» (62/98) потенциала развития (1 : 1,72).

На операционном материале ФОНЗП идентифицированы гистологические, морфометрические и гистохимические маркёры (средние показатели площади и/или периметра ядра и/или клетки, ядерно-цитоплазматическое соотношение опухолевых клеток), статистически значимые изменения уровня которых являются предиктивными в отношении злокачественных потенций этих новообразований. Показано, что увеличение среднего количества районов ядрышковых организаторов, а также появление клеток II типа при ФОНЗП, свидетельствуют о нарастании пролиферативной активности клеток опухоли от «условно доброкачественного» до «условно злокачественного» потенциала развития.

Использован метод трепанобиопсии в качестве дооперационной диагностики узлового новообразования щитовидной железы, не приведенный в действующих клинических рекомендациях как обязательный.

Разработан и обоснован алгоритм определения вероятности злокачественности ФОНЗП на основе средних значений ядерно-цитоплазматического соотношения опухолевых клеток и среднего количества районов ядрышковых организаторов, что возможно использовать при изучении биопсийного материала.

При исследовании трепанобиоптатов щитовидной железы на этапе дооперационного обследования пациентов с узловой патологией щитовидной железы с цитологическим заключением «IV категория по Bethesda» использованы

разработанные прогностические значения морфометрических показателей (площадь и периметр ядра и клетки, ядерно-цитоплазматическое соотношение, среднее количество AgNORs в ядрах опухолевых клеток, процентное соотношение клеток I, II, III типов), являющиеся предикторами вероятности злокачественного потенциала развития опухоли. Уровень этих показателей рекомендуется учитывать при дооперационном планировании тактики ведения пациентов – хирургическое лечение либо активное динамическое наблюдение с проведением молекулярно-генетического исследования биопсийного материала.

Теоретическая и практическая значимость работы

Проанализирована частота встречаемости опухолевой патологии щитовидной железы среди оперированных пациентов по поводу тиреоидопатий в областном центре хирургической эндокринологии г. Челябинска и частота ФОНЗП в период 2018–2021 гг. от общего числа лиц, подвергшихся хирургическому лечению новообразований этого органа.

Охарактеризован медико-социальный портрет пациентов с ФОНЗП.

Выявлены характерные морфологические и статистически значимые морфометрические параметры ФОНЗП, которые позволяют повысить точность дифференциальной диагностики тиреоидной опухолевой патологии при комплексном морфологическом исследовании.

Разработанные математические модели и критерии расширяют существующие представления о морфологической диагностике узловых опухолевых образований щитовидной железы и могут быть использованы для объективизации оценки прогнозирования вероятности «доброкачественного» и «злокачественного» потенциала ФОНЗП и определения показаний для их хирургического лечения.

Разработана программа для ЭВМ, заключающаяся в прогнозировании вероятности злокачественности ФОНЗП на основе средних значений районов ядрышковых организаторов (№ 2024617843, дата государственной регистрации в Реестре программ для ЭВМ 05.04.2024) для персонализации подхода к лечению

пациентов и обоснованного хирургического лечения.

Методология и методы диссертационного исследования

Для достижения цели исследования использована совокупность общих и специальных методов научного познания. Изучение материала носило характер нерандомизированного исследования со смешанными когортами (ретроспективной и проспективной). Методология исследования базировалась на позициях диалектического материализма, основах доказательной медицины, системном и комплексном подходе с применением таких методов, как клиничко-анамнестический, лабораторный, гистологический, гистохимический, иммуногистохимический, морфометрический, молекулярно-генетический, статистический.

Проведение исследования было одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 8 от 20.09.2021 и протокол № 5 от 10.06.2024). Все пациенты дали информированное согласие на участие в исследовании и публикацию его результатов в открытой печати.

Положения, выносимые на защиту

1. Фолликулярные опухоли щитовидной железы неопределенного злокачественного потенциала представляют собой гетерогенную группу новообразований с различными молекулярно-генетическими характеристиками. Молекулярно-генетическая неоднородность позволяет выделить в данной группе подгруппы опухолей с «условно доброкачественным» и «условно злокачественным» потенциалом.

2. Морфологические (морфометрические) и гистохимические показатели в подгруппах фолликулярных опухолей неопределённого злокачественного потенциала с «условно доброкачественным» и «условно злокачественным» характером имеют статистически значимые отличия.

3. При определении показаний к хирургическому лечению пациентов с

фолликулярной опухолью щитовидной железы с цитологическим заключением «IV категория по Bethesda» необходимо использовать диагностические значения морфометрических показателей в биопсийном материале на дооперационном этапе обследования пациента (площадь и периметр ядра и клетки, ядерно-цитоплазматическое соотношение, среднее количество районов ядрышковых организаторов (AgNORs) в ядрах опухолевых клеток, процентное соотношение клеток I, II, III типов), а также учитывать полученные результаты для выбора персонализированной лечебной тактики.

Степень достоверности и апробация работы

В работе использованы методики и методы, соответствующие поставленной цели и задачам.

Основные положения работы доложены и обсуждены на: региональной научной конференции «Актуальные вопросы эндокринологии. Областная научно-практическая междисциплинарная конференция» (Челябинск, 2021); межрегиональном Съезде онкологов и специалистов лучевой диагностики Уральского федерального округа (Челябинск, 2021); международной конференции, посвященной проблемам диагностики и лечения злокачественных опухолей щитовидной железы «ThyreoCan 2021» (Москва, 2021); областной научно-практической видеоконференции «Актуальные вопросы эндокринологии и эндокринной хирургии» (Челябинск, 2021); 4-й Межрегиональной конференции «Актуальные вопросы патологической анатомии» (Екатеринбург, 2022); 2-м Съезде онкологов и специалистов лучевой и инструментальной диагностики Челябинской области (Челябинск, 2022); 32-м Российском симпозиуме по хирургической эндокринологии с участием терапевтов-эндокринологов «Калининские чтения» (Челябинск, 2022); 7-й Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы патологоанатомической практики» (Челябинск, 2023); областной научно-практической междисциплинарной конференции «Актуальные вопросы диагностики и лечения эндокринных заболеваний» (Челябинск, 2023); 3-м Съезде онкологов и специалистов лучевой и инструментальной диагностики

Челябинской области (Челябинск, 2023); 33-м Российском симпозиуме по хирургической эндокринологии с участием терапевтов-эндокринологов «Калининские чтения» (Махачкала, 2023); 15-м Съезде хирургов России (Москва, 2023); 34-м Российском симпозиуме по хирургической эндокринологии «Калининские чтения» с участием терапевтов-эндокринологов (Нижний Новгород, 2024).

Диссертационная работа поддержана внутривузовским грантом на осуществление проекта по теме диссертационного исследования (2022), выполнялась в рамках комплексной темы «Патоморфологическая характеристика, морфогенез, патоморфоз инфекционных и неинфекционных заболеваний человека и аспекты полиморбидности у населения Южного Урала» (номер государственной регистрации 122090900047-6). Ее результаты вошли в отчеты по НИР ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Диссертационная работа апробирована на заседании Проблемных комиссий № 8, № 3 и кафедр патологической анатомии и судебной медицины имени профессора В. Л. Коваленко, общей и детской хирургии (Челябинск, 2024).

Внедрение результатов исследования

Результаты проведенного исследования внедрены в клиническую практику хирургического отделения № 2 (областной центр эндокринной хирургии), патологоанатомического отделения ГАУ ОТКЗ ГКБ № 1 г. Челябинска и используются в учебном процессе на кафедрах патологической анатомии и судебной медицины имени профессора В. Л. Коваленко и общей и детской хирургии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 18 научных работ, в том числе 1 свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ и 12 статей в научных журналах и изданиях, включённых в перечень рецензируемых научных

изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, из них 1 статья в журнале категории K1 и 10 публикаций в изданиях категории K2, входящих в список изданий, распределённых по категориям K1, K2, K3, в том числе 3 статей в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и систем цитирования Scopus и Web of Science.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 129 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, трёх глав собственных исследований, главы обсуждения результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и списка иллюстративного материала. Список литературы представлен 134 источниками, из которых 77 в зарубежных изданиях. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 13 Таблиц и 16 Рисунков.

Личный вклад автора

Личный вклад автора состоит в участии во всех этапах проведения настоящего исследования. Автором был проведен сбор и обработка архивного материала, сформирована основная группа исследования, осуществлено морфологическое и морфометрическое изучение операционного, биопсийного и аутопсийного материалов, выполнен анализ современной литературы по изучаемой проблеме, осуществлён статистический анализ полученных данных. Формулировка идеи, цели и задач, выбор дизайна исследования осуществлялись совместно с научными руководителями: д-ром. мед. наук профессором Е. Л. Казачковым и д-ром. мед. наук, доцентом С. В. Сергийко.

ГЛАВА 1 СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ УЧЕНИЯ О ФОЛЛИКУЛЯРНЫХ ОПУХОЛЯХ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НЕОПРЕДЕЛЁННОГО ЗЛОКАЧЕСТВЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1 Фолликулярная опухоль щитовидной железы неопределенного злокачественного потенциала: термины, дефиниции, классификационные принципы

В современной классификации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) опухолей щитовидной железы [111;130] в группе новообразований фолликулярного происхождения (Follicular cell-derived neoplasms) упоминается ряд инкапсулированных опухолей, вызывающий наибольшую сложность для морфологической диагностики.

В классификации ВОЗ, предшествовавшей ныне действующей [129], инкапсулированные фолликулярные новообразования щитовидной железы формировали группу «Другие инкапсулированные опухоли фолликулярного строения». К ним относили инвазивный инкапсулированный вариант папиллярного рака, фолликулярный рак, фолликулярную аденому, неинвазивную фолликулярную опухоль с ядрами папиллярного типа, высокодифференцированную опухоль неопределенного злокачественного потенциала и фолликулярную опухоль неопределенного злокачественного потенциала, которые имели пёструю морфологическую картину и различную степень дифференцировки.

Для осуществления дифференциальной диагностики между этими вариантами новообразований щитовидной железы было рекомендовано обращать внимание на наличие или отсутствие изменений ядер опухолевых клеток, характерных для папиллярной карциномы, и признаков капсулярной и/или сосудистой инвазии (Таблица 1.1.1) [2; 3; 129]. Трудности морфологической диагностики связаны с тем, что в отдельных случаях изменения ядер, характерные

для папиллярной карциномы, могут быть неочевидны, а признаки капсулярной и/или сосудистой инвазии не являются абсолютно бесспорными и достаточными для диагноза рака.

Таблица 1.1.1 – Критерии диагностики инкапсулированных опухолей щитовидной железы фолликулярного строения (по А.Ю. Абросимову и соавт. [2])

Изменения ядер опухолевых клеток, характерные для папиллярной карциномы	Капсулярная и/или сосудистая инвазия		
	имеется	сомнительная	отсутствует
Имеются	Инвазивный инкапсулированный вариант папиллярного рака	Высоко- дифференцированная опухоль неопределенного злокачественного потенциала	Неинвазивная фолликулярная опухоль с ядрами папиллярного типа
Сомнительные	Высоко- дифференцированная карцинома без дополнительного уточнения (БДУ)		
Отсутствуют	Фолликулярная карцинома	Фолликулярная опухоль неопределенного злокачественного потенциала	Фолликулярная аденома

ФОНЗП – опухоль из высокодифференцированных клеток фолликулярного происхождения, фолликулярного строения, инкапсулированная или неинкапсулированная, но четко очерченная, при которой после тщательного и исчерпывающего исследование тканевых образцов инвазия остается сомнительной. При этом, опухолевые клетки имеют правильные круглые ядра, а ядерные признаки, характерные для папиллярной карциномы (nuclear score 0–1), отсутствуют [111; 130].

Впервые ФОНЗП появилась в классификации ВОЗ опухолей эндокринных органов 2017 года (4-е издание). Знаменательной стала публикация E. D. Williams [131], в которой автор, опираясь на исследования патологоанатомов, работавших на материале щитовидной железы от пациентов после Чернобыльской аварии на АЭС (A. Abrosimov, T. Bogdanova, M. Ito, J. Rosai, Yu. Sidorov, G. A. Thomas), обратил внимание на трудности в постановке диагноза инкапсулированных опухолей этого органа. При этом указано, что наибольшие диагностические трудности вызывают новообразования с фолликулярной архитектоникой, в которых отсутствует сосудистая инвазия, но есть сомнение в отношении капсульной пенетрации. В этой публикации автор привел ранее не употребляемый термин «Фолликулярная опухоль неопределенного злокачественного потенциала (FT-UMP)».

В классификации ВОЗ 2017 г. ФОНЗП была отнесена в раздел «Другие инкапсулированные опухоли фолликулярного строения», а в 5-м переиздании классификации 2022 г. эта опухоль определена в раздел «Новообразования low-risk», что указывает на вероятно низкий риск их малигнизации. Проведение дифференциальной диагностики между ФОНЗП, фолликулярной аденомой и фолликулярным раком, согласно классификационным принципам, должно основываться на выявлении или исключении признаков достоверной/сомнительной капсулярной или сосудистой инвазии [131].

Однако, несмотря на выделение в классификациях диагностических критериев для установления злокачественного потенциала новообразования, трудности в интерпретации ФОНЗП никуда не исчезли [86; 125]. Сосудистая инвазия уже на момент публикации 1-й классификации ВОЗ опухолей щитовидной железы (1974) [84] считалась признаком злокачественности новообразования, но с появлением новых оригинальных данных определение уточнялось и дополнялось. Сегодня принято считать, что на достоверную сосудистую инвазию указывает прорастание опухолью стенки вены в капсуле новообразования или за её пределами [2; 57]. По понятным причинам, результаты

ряда исследований показывают, что отдельные критерии более «агрессивной» сосудистой инвазии ассоциированы с менее благоприятным прогнозом [114].

Стоит уточнить, что на современном этапе нет единого мнения и о структурных критериях капсулярной инвазии [7; 114], многие источники рекомендуют за достоверную инвазию считать полное прорастание капсулы опухолевой тканью [57], однако некоторые авторы утверждают, что для этого достаточно «минимального распространения» опухолевой ткани на структуры капсулы [64; 93]. При этом не уточняется, что следует считать «минимальным распространением» опухоли на капсулу щитовидной железы.

Таким образом, вышеизложенные материалы позволяют заключить, что современное состояние проблемы ФОНЗП диктует необходимость получения новых критериев морфологической диагностики предиктивных потенций опухоли, что позволит наметить подходы к особенностям хирургической тактики в отношении новообразований этой группы.

1.2 Методы диагностики фолликулярных опухолей щитовидной железы на биопсийном и операционном материале

На сегодняшний день с позиций современной классификации ВОЗ, методом верификации диагноза «ФОНЗП» является гистологическое исследование операционного материала после удаления опухолевого узла целиком вместе с капсулой [1].

Согласно действующим сегодня клиническим рекомендациям [17], на дооперационном этапе ведения пациента с узловым образованием щитовидной железы осуществляется с рабочим клиническим диагнозом «узловой нетоксический зоб». Критерии установления этого диагноза формируются в процессе сбора анамнестических данных, физикального обследования, лабораторных исследований, инструментального обследования пациентов.

Нетоксический зоб небольших размеров обычно протекает бессимптомно и является, как правило, случайной находкой. В подавляющем большинстве случаев

в условиях легкого и умеренного йодного дефицита небольшое увеличение щитовидной железы обнаруживают лишь при целенаправленном обследовании. При сборе анамнеза рекомендуется оценивать местные признаки (изменение голоса, дисфагию и др.), признаки нарушения функции щитовидной железы, медицинский анамнез вмешательств на щитовидной железе, семейный анамнез, включая наличие узлового зоба и медуллярного рака у родственников, предшествующее облучение области головы и шеи, проживание в условиях йодного дефицита [17].

При пальпации может определяться увеличение щитовидной железы. При этом следует придерживаться положений классификации степени развития зоба по ВОЗ (2001): 0-я степень – зоба нет (объем каждой доли не превышает объем дистальной фаланги большого пальца руки обследуемого); 1-я степень – зоб пальпируется, но не виден при нормальном положении шеи (сюда же относятся узловые образования, не приводящие к увеличению самой железы); 2-я степень – зоб четко виден при нормальном положении шеи [111].

В настоящее время для косвенной оценки вероятной злокачественности узловых образований щитовидной железы используют различные ультразвуковые классификации, основанные на сочетании определенных ультразвуковых признаков. Одной из наиболее распространенных и рекомендованных к применению в Российской Федерации является ультразвуковая классификация EU-TIRADS (European Thyroid Association thyroid image reporting and data system) [79]. Классификация EU-TIRADS используется для того, чтобы определить дальнейшую тактику ведения пациентов, у которых выявили узловые изменения в щитовидной железе. Параметры её таковы: EU TIRADS 1 – узлов нет (риск малигнизации отсутствует); EU TIRADS 2 – риск малигнизации $\approx 0\%$, тонкоигольная аспирационная биопсия (ТАБ) не показана (кроме проведения ТАБ с лечебной целью); EU TIRADS 3 – риск малигнизации 2–4 %, ТАБ показана при узлах размером ≥ 1 см; EU TIRADS 4 – риск малигнизации 6–17 %, ТАБ показана при узлах размером ≥ 1 см; EU TIRADS 5 – риск малигнизации 26–87 %, ТАБ показана при узлах размером ≥ 1 см. Если узел размером менее 1 см и нет

изменений со стороны регионарных лимфатических узлов, рекомендуется динамическое наблюдение с регулярными ультразвуковыми исследованиями (УЗИ) каждые 6 месяцев.

Последующая тактика ведения пациентов регламентируется результатом цитологического заключения, полученного при ТАБ под ультразвуковым контролем из узла щитовидной железы с использованием шести стандартных категорий заключений современной международной цитологической классификации Bethesda (The Bethesda System For Reporting Thyroid Cytopathology 2009; 2017) [60]. Ниже изложены диагностические категории и рекомендации по тактике ведения пациентов с учётом классификации Bethesda, 2017 [17].

I. Неинформативный пунктат (Bethesda I), тактика ведения – повторная ТАБ.

II. Доброкачественные изменения (Bethesda II), тактика ведения – наблюдение.

III. Атипия неопределённого значения или изменения фолликулярного эпителия неясного значения (Bethesda III), тактика ведения – повторная ТАБ, определение тактики ведения по результату повторной ТАБ.

IV. Фолликулярная неоплазия или подозрение на фолликулярную неоплазию (Bethesda IV), тактика ведения – хирургическое лечение.

V. Подозрение на злокачественную опухоль (Bethesda V), тактика ведения – хирургическое лечение.

Для дифференциальной диагностики опухолей щитовидной железы (ЩЖ) в рамках цитологического заключения IV и V групп по Bethesda Thyroid Classification возможно проведение молекулярно-генетического исследования мутаций в гене BRAF и иных мутаций (RAS, RET/PTC, PAX8/PPAR-γ, TERT и т. д.).

VI. Злокачественная опухоль (Bethesda VI), тактика ведения – хирургическое лечение.

Таким образом, цитологическое заключение с позиций градации Bethesda (2017) является не окончательным диагнозом, а лишь позволяет отнести

выявленные изменения в щитовидной железе к определённой группе, куда входят фолликулярно-клеточные неоплазии органа разных гистологических подтипов и потенций злокачественности, а также аденома околощитовидной железы с интратиреоидным расположением.

Послеоперационный гистологический диагноз при IV категории по Bethesda подтверждает наличие злокачественной опухоли лишь у 15–30 % пациентов, в то время как остальные 70–75 % пациентов сегодня оперируются в связи с доброкачественными неоплазиями и неопухолевыми патологическими процессами [25]. При этом хирурги могут столкнуться с рядом послеоперационных осложнений (парез гортани, паратиреоидная недостаточность, подсвязочный отек гортани, кровотечения и гематомы, трахеомалация, гипотиреоз, а также неспецифические воспалительные осложнения), снижающими качество жизни оперированных пациентов [31; 39; 46].

Морфологическая верификация ФОНЗП производится на основании структурной оценки (макро- и микроскопической) операционного материала. При этом в качестве перспективы улучшения диагностики в помощь патологу и клиницисту приводится метод трехмерной визуализации для создания 3D-реконструкции блока всей ткани с микроскопическим разрешением без необходимости делать срезы ткани [113], а также современные иммуноморфологические и молекулярно-генетические методы исследования с выявлением мутаций в генах RAS, BRAF [10; 13] и определения профиля микроРНК [32].

Проведены исследования, результаты которых демонстрируют доказанную неоднородность опухолей щитовидной железы неопределенного злокачественного потенциала. Согласно данным Н. Ю. Двинских [14], иммуногистохимический (ИГХ) анализ позволил уточнить потенциал злокачественности в 56,6 % случаев. Автор предполагает, что в остальных 43,4 % требуются другие методы, основанные на молекулярно-генетическом анализе.

Вероятно, именно таким методом может явиться анализ профиля микроРНК клеток опухоли щитовидной железы.

МикроРНК (miRNA) – короткие молекулы (18–24 нуклеотидов), регулирующие экспрессию множества генов на посттранскрипционной стадии. Главный и наиболее частый эффект микроРНК – подавление экспрессии генов, матричная РНК которых имеет участок, комплементарный последовательности этой микроРНК [32; 36; 52; 61]. Функции отдельных микроРНК дифференцированы. Согласно литературным данным [91; 95; 106], для типирования новообразований щитовидной железы возможно использование ряда микроРНК, среди которых упоминают микроРНК-146b, -199b, -221, -223, -31, -375, -451a, -551b и др.

У отдельных микроРНК зарегистрирован ряд доминирующих функций. Так, микроРНК-375 экспрессируется в поджелудочной железе, головном мозге и непосредственно связывает общий транскрипт гена-мишени, кодирующий миотрофин (инсулиноподобный фактор роста, белок, участвующий в слиянии гранул инсулина), который, в свою очередь, регулирует экзоцитоз и высвобождение гормонов [61]. Помимо этого, S. Zhu et al. показали высокую экспрессию микроРНК-375 у беременных женщин с врождёнными пороками сердца плода [87].

Ряд микроРНК являются онкогенными. Так, микроРНК-221 снижает продукцию белка Kit (CD117 или рецептора фактора роста тучных и стволовых клеток), который является важным звеном в регулировании ангиогенеза и восстановлении сосудистой стенки [56]. Согласно данным H. He et al., у 5 из 10 пациентов с папиллярной карциномой щитовидной железы в окружающей ткани органа зарегистрирован высокий уровень экспрессии микроРНК-221, в связи с чем авторы расценивают микроРНК-221 в качестве маркера раннего этапа канцерогенеза щитовидной железы [123]. Вместе с тем ряд микроРНК характеризуются онкопротекторными свойствами. Например, микроРНК-199b ингибирует миграцию и инвазию раковых клеток, поэтому уровень её экспрессии значительно снижен в клетках карцином [116]. МикроРНК-551b оказывает

супрессивное действие на клеточные элементы колоректального рака и карциномы желудка, вероятно, направляя клетки этих новообразований по пути аутофагического апоптоза [102].

Экспрессия одной и той же микроРНК может иметь разнонаправленную функциональную нагрузку. Так, при карциноме молочной железы микроРНК-31 ингибирует метастазирование и способствует регрессу метастазов [59], в то время как при лёгочной карциноме и колоректальном раке – действует как онкогенный фактор путём подавления специфических супрессоров опухоли [62], при пищеводе Barrett – предположительно участвует в регуляции экспрессии белков, ответственных за барьерную функцию слизистой оболочки [94], при псориазе – способствует пролиферации, дифференцировке и клеточной активности кератиноцитов [97], а при хронических инфекциях – повышает чувствительность Т-клеток к интерферонам I типа [121].

Экспрессия микроРНК-451 разнонаправленно нарушается при злокачественных новообразованиях человека, в том числе при карциноме легких [128], желудка [99], молочной железы [67], глиоме [98] и некоторых лейкозах, что указывает на значимую роль этой микроРНК в онкогенезе [112].

Отмечается роль микроРНК-145 в развитии фиброза разной этиологии путем подавления фактора роста фибробластов 10 (FGF10) [96]. МикроРНК-7 участвует в онкогенезе, старении, иммунном ответе организма посредством влияния на активацию Т-клеток, созревание дендритных клеток [100].

Таким образом, можно предположить возможность определения профиля микроРНК в качестве критерия формирования групп риска доброкачественных и злокачественных потенций в развитии ФОНЗП. Полагаем, что результаты поиска статистически значимых отличий в структурных характеристиках между этими группами можно будет использовать для дооперационной диагностики при исследовании трепанобиопсии щитовидной железы [36; 104].

ИГХ-анализ также может выступить в качестве метода, позволяющего уточнить потенциал злокачественности фолликулярной опухоли щитовидной железы. Для этого можно использовать такие маркеры как галектин-3, маркер

мезотелиальных клеток HBME-1, фибронектин, цитокератин-19, пиклин D1, Ki-67, феномен микросателлитной нестабильности и пр. [14; 129].

Микросателлитная нестабильность (MSI) – феномен накопления мутаций в коротких повторяющихся последовательностях ДНК, наиболее частой причиной которого является дефект системы репарации неспаренных оснований ДНК (dMMR). В настоящее время самыми популярными методами исследования микросателлитного статуса являются ИГХ-анализ и полимеразная цепная реакция (ПЦР) [35].

Genutis L. K. et al. [80], исследовав тканевые образцы 195 папиллярных, 156 фолликулярных, 50 анапластических, 65 медуллярных и 17 низкодифференцированных карцином щитовидной железы, отметили MSI в 2,5 % (4 из 156) случаев фолликулярного рака этого органа. В остальных новообразованиях признаки MSI не зарегистрированы.

Схожий иммунофенотип микросателлитной стабильности приведен в исследовании B. Evgen et al. [75], где изучен операционный материал от 90 пациентов с верифицированными диагнозами папиллярный рак щитовидной железы, узловой коллоидный зоб или хронический тиреоидит.

С середины 80-х годов XX века в диагностической онкоморфологии стал активно применяться анализ районов ядрышковых организаторов путём визуального подсчета гранул серебра в ядрышках (считается, что в интерфазных ядрах гранула серебра соответствует одному ядрышковому организатору) либо с помощью компьютерной морфометрии ядерно-ядрышкового аппарата [9; 49; 122].

Ядрышковые организаторы (англ. Nucleolus organizer regions, NOR, AgNORs) – участки хромосом, образующие внутри ядра клетки так называемое ядрышко. У человека ядрышковые организаторы составлены участками, расположенными на коротких плечах акроцентрических хромосом 13, 14, 15, 21, 22 и содержащими гены 45S рРНК – предшественника 5.8S, 18S, 28S рРНК. В число генов, расположенных в области организаторов рибосом, входят RUNX2, UBTF, APC [8].

Установлено, что состояние районов ядрышковых организаторов рибосом (AgNORs) является маркером скорости клеточной пролиферации, поскольку AgNORs участвуют в регуляции митотического цикла [70]. В исследовании J. Riüschoff et al. [74] обнаружено нарастающее изменение параметров ядер и количества AgNORs при сравнении одноимённых показателей нормальной щитовидной железы и фолликулярной аденомы, а также далее при сравнении изучаемых значений при дифференцированной фолликулярной и анапластической карциномы.

Следует отметить, что ввиду сравнительно недавнего появления ФОНЗП как самостоятельной нозологической единицы, в литературе на сегодняшний день мало освещены такие вопросы, как особенности молекулярно-генетического профиля микроРНК данной опухоли, характеристика районов ядрышковых организаторов, не изучен иммунофенотип микросателлитной стабильности/нестабильности, а также не ясны возможности использования результатов этих исследований в процессе определения хирургической тактики при ФОНЗП.

1.3 Современные представления о хирургической тактике при фолликулярных опухолях щитовидной железы

Вопрос о тактике ведения больных с фолликулярно-клеточным новообразованием щитовидной железы разного потенциала злокачественности остается дискуссионным. В одних исследованиях для определения прогноза течения новообразования придают большую значимость результатам гистологического исследования, в других – размерам опухоли, радикальности проведения операции, причем некоторые авторы отдают предпочтение объёмным операциям, иные – щадящим органосохраняющим [21]. При этом часть авторов полагают, что наряду с минимально инвазивной фолликулярной карциномой, фолликулярные опухоли с сомнительной инвазией или без нее имеют схожий

(благоприятный) прогноз и не играют существенной роли в статистике смертности разных стран [68; 69; 82; 88].

Согласно действующим клиническим рекомендациям, утвержденным приказом Минздрава России [17], при IV–VI категории цитологического заключения по международной цитологической классификации (Bethesda, 2017) рекомендовано хирургическое лечение [20].

The European Thyroid Association (ETA) в своих рекомендациях по лечению узлового зоба указывает на целесообразность индивидуального подхода к выбору алгоритма лечения больных (включая хирургическое вмешательство, консервативное лечение и лечение с помощью минимально инвазивных технологий – химической, лазерной, ультразвуковой, радиочастотной абляции). В этих рекомендациях указывается, что большинство узлов щитовидной железы являются доброкачественными, бессимптомными и не требуют лечения. В остальных случаях, за исключением злокачественных новообразований, подчеркивается потребность в более рентабельных подходах к лечению, сопоставимых с рисками. При этом отмечено, что при комплексном диагностическом подходе к пациенту на основе анализа результатов молекулярно-генетического исследования появляется обоснованная возможность избежать хирургического вмешательства [78].

The American Association of Endocrine Surgeons (AAES) ставит своей целью разработать обоснованные доказательной медициной, эффективные и целесообразные рекомендации по лечению данной когорты пациентов. Анализируя показания к проведению хирургического вмешательства, K. N. Patel et al., помимо прочего, подчеркивают важность результатов молекулярно-генетического исследования [120]. При этом в литературе имеются указания на то, что при доказанной доброкачественности новообразования щитовидной железы хирургическое лечение не рекомендуется [63].

The Asian Association of Endocrine Surgeons (AsianAES) сообщает о частых случаях отказа от хирургического лечения пациентов с узловыми образованиями щитовидной железы после комплексного изучения клинических,

сонографических характеристик и молекулярно-генетического тестирования опухолевого узла. При отсутствии доказанных маркеров злокачественности рекомендуется активное динамическое наблюдение [124].

Следует отметить, что в ряде зарубежных публикаций придаётся решающее значение проведению молекулярно-генетического исследования в процессе верификации диагноза и определении тактики ведения пациентов с узловыми новообразованиями щитовидной железы, причём настоятельно рекомендуется выполнение молекулярно-генетических исследований на дооперационном этапе, в то время как в отечественных протоколах данная позиция носит лишь рекомендательный характер, и то лишь в случаях цитологического заключения III, IV и V групп по Bethesda Thyroid Classification.

Сегодня целенаправленно осуществляется поиск методов, улучшающих процесс дооперационной диагностики узловых новообразований щитовидной железы, в том числе на дооперационном этапе [11; 22]. В ходе решения данной проблемы набирают популярность и внедряются в практику молекулярно-генетические тесты, такие как Thyroseq v3, Afirma Gene Expression Classifier [126]. В своих исследованиях С. В. Сергийко и соавт. [48] оценивают прогностические возможности молекулярно-генетического тестирования для оценки риска рецидива папиллярного рака щитовидной железы у детей [48]. S. Titov et al. [113] предлагают метод дооперационного выявления злокачественных образований при тонкоигольной аспирационной биопсии щитовидной железы с цитологическим заключением III и IV категория по Bethesda с помощью комбинированного молекулярного классификатора, основанного на выявлении мутации BRAF V600E, нормализованной концентрации HMGA, уровней экспрессии 3 микроРНК и соотношения митохондриальной/ядерной ДНК.

Рядом авторов предлагается определение уровня мембранной экспрессии натрий-йодного симпортера методом проточной флюороцитометрии в материале ТАБ в качестве маркера неблагоприятного прогноза течения высокодифференцированного рака щитовидной железы [47]; исследование

наличия мутации гена BRAF в сочетании с экспрессией галектина-3 [24]; применение интегральной диагностической шкалы, основанной на использовании наиболее эффективных современных методов лабораторно-инструментального обследования (а именно: УЗИ с ультразвуковой оценкой по системе EU-TIRADS; цитологическое исследование пунксионного материала по классификации Bethesda; методика полуколичественного анализа результатов двухиндикаторной сцинтиграфии щитовидной железы с ^{99m}Tc -пертехнетатом и ^{99m}Tc -технетрилом; оценка уровня экспрессии онкомаркера Galectin-3 и выявлении мутации V600E гена BRAF в пунксионном материале) [53].

Таким образом, декларируемая неизбежность оперативного вмешательства при узловых образованиях щитовидной железы и процесс сложной верификации диагноза при фолликулярно-клеточной неоплазии этого органа на операционном материале диктуют потребность в совершенствовании дооперационной диагностики. Существующие сегодня различия в ведении пациентов с ФОНЗП в разных странах и изменение взглядов на эту проблему с течением времени подчеркивают отсутствие на современном этапе единого подхода к хирургической тактике при ФОНЗП.

Материалы данной главы отражены в следующих публикациях:

1. Карцинома паращитовидной железы с интратиреоидным расположением: Случай из практики / Е. Л. Казачков, С. В. Сергийко, И. В. Фоминых, Д. Д. Воропаев, А. И. Кошкина // Таврический медико-биологический вестник. – 2020. – Т. 23, № 2. – С. 185–189.
2. Патология щитовидной железы, требующая хирургического лечения и патоморфоз / Е. Л. Казачков, Т. Е. Ильина, Д. Д. Воропаев, А. И. Кошкина // Актуальные вопросы патологоанатомической практики : материалы V всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Современные подходы к морфологической диагностике новообразований человека». – Челябинск, 2020. – С. 39–41.
3. Новые возможности дооперационной диагностики анапластического рака щитовидной железы / С. А. Лукьянов, С. В. Сергийко, С. Е. Титов,

Ю. А. Веряскина, А. М. Мудунов, В. З. Доброхотова, Е. С. Козорезова, С. Л. Воробьев, А. В. Важенин, А. Ф. Романчишен, К. В. Вабалайте, А. С. Вилкова, Н. И. Тимофеева, Т. Е. Ильина // Опухоли головы и шеи. – 2021. – Т. 11, № 1. – С. 35–40.

4. Казачков, Е. Л. Экспрессия микро-РНК в диагностике фолликулярной опухоли щитовидной железы неопределенного злокачественного потенциала: обзор литературы и собственное наблюдение / Е. Л. Казачков, Т. Е. Ильина, С. В. Сергейко // Южно-Уральский медицинский журнал. – 2021. – № 2. – С. 24–33.

5. Современные тенденции, парадигмы и заблуждения в диагностике и лечении узловых образования щитовидной железы / С. В. Сергейко, С. А. Лукьянов, С. Е. Титов, Ю. А. Веряскина, Т. Е. Ильина, А. С. Буторин, О. Г. Буторин // Таврический медико-биологический вестник. – 2021. – Т. 24, № 2. – С. 150–155.

6. Проблемы диагностики фолликулярного рака щитовидной железы / С. Е. Титов, С. А. Лукьянов, С. В. Сергейко, Ю. А. Веряскина, Т. Е. Ильина, Е. С. Козорезова, С. Л. Воробьев // Опухоли головы и шеи. – 2023. – Т. 13, № 3. – С. 10–23;

7. Недиагностированная фолликулярная карцинома щитовидной железы у пациента с первично-множественным метастазным раком с отсроченным метастазом в левый надпочечник и бессимптомным нормокальциемическим гиперпаратиреозом. Ошибки и трудности диагностики и непосредственные результаты лечения / С. В. Сергейко, Д. В. Коротовский, С. А. Лукьянов, О. Г. Батурин, А. С. Буторин, Т. Е. Ильина // Эндокринная хирургия. – 2023. – Т. 17, № 2. – С. 29–36.

ГЛАВА 2 ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Принципы группировки пациентов и дизайн исследования

Исследование проводилось на кафедре патологической анатомии и судебной медицины имени профессора В. Л. Коваленко (заведующий кафедрой – Е. Л. Казачков, д-р мед. наук, профессор) и кафедре общей и детской хирургии (заведующий кафедрой – С. В. Сергийко, д-р мед. наук, доцент) ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, использовался архив клинической базы кафедры Патологической анатомии и судебной медицины имени профессора В. Л. Коваленко ЮУГМУ Минздрава России ГАУЗ ОТКЗ ГKB № 1 г. Челябинска (главный врач – Д. А. Тарасов, канд. мед. наук).

В ходе проведения работы были использованы следующие методы исследования.

1. Историко-архивный метод (анализ медицинской карты стационарного больного (форма № 003/у), медицинской карты пациента, получающего медицинскую помощь в амбулаторных условиях (форма № 025/у), направлений на прижизненное патологоанатомическое исследование (форма № 014/у) и протоколов прижизненного патолого-анатомического исследования биопсийного (операционного) материала (форма № 014-1/у), при формировании контрольной группы – анализ протоколов патологоанатомического вскрытия (форма № 013/у).

2. Морфологические методы: гистологический (обзорная световая микроскопия в окраске гематоксилином и эозином); морфометрический (с помощью электронного аналога морфометрической сетки Г. Г. Автандилова и использованием автоматизированного алгоритма подсчета QuPath на сканированных изображениях); гистохимический (метод импрегнации гистологических срезов 50 % коллоидным раствором нитрата серебра по J. Crocker [5; 71; 72] с целью оценки районов ядрышковых организаторов); иммуногистохимический (оценка микросателлитной нестабильности опухолевых клеток).

3. Статистический метод.

Исследование на всех его этапах выполнялось согласно Хельсинской декларации Всемирной Медицинской Ассоциации от 1964 г. с дополнениями 1975 г., 1983 г., 1989 г., 2000 г.; основам законодательства Российской Федерации «Об охране здоровья граждан», приказ Минздрава России № 266 от 19.07.2003 «Об утверждении правил клинической практики в Российской Федерации»; Национальному стандарту Российской Федерации «Надлежащая клиническая практика» 2005 г. Проведение исследования было одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России (протокол № 8 от 20.09.2021). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании и публикацию его результатов в открытой печати.

Дизайн исследования представлен на Рисунке 2.1.1.



Рисунок 2.1.1 – Дизайн исследования

Для отбора группы исследования проведен анализ протоколов прижизненного патолого-анатомического исследования биопсийного (операционного) материала (форма № 014-1/у), проведенных в патолого-анатомическом отделении ГАУЗ ОТКЗ ГKB № 1 г. Челябинска. Установлено, что за период 2018–2021 гг. на базе областного центра хирургической эндокринологии г. Челябинска (ГАУЗ ГKB № 1) было проведено оперативное лечение 3 960 пациентов, причём 2 063 (52,10 %) из них прооперированы по поводу опухолевой патологии щитовидной железы.

Из 2 063 пациентов, подвергшихся хирургическому лечению опухолей щитовидной железы, выделено 98 случаев, где при изучении операционного материала двумя независимыми врачами-патологоанатомами была диагностирована ФОНЗП с учётом верификации морфологических критериев этого новообразования [129; 130]. Эти 98 наблюдений составили основную исследовательскую группу пациентов (см. Рисунок 2.1.1).

Для изучения клинико-anamнестических характеристик пациентов были проанализированы: пол, возраст, возрастная группа по классификации ВОЗ [77], проведение операции на щитовидной железе в анамнезе, местность (городская/сельская), трудоспособность, коморбидность; у женщин – состояние репродуктивной системы (репродуктивный период/перименопауза/менопауза).

В 98 случаях основной исследовательской группы ФОНЗП проведено молекулярно-генетическое исследование (определение профиля микроРНК), результатом которого явилось определение спектра микроРНК, характерного или нехарактерного для злокачественного фолликулярно-клеточного новообразования на основе запатентованной методики [41; 42]. Результаты позволили разделить этих пациентов на две группы с «условно злокачественным» (1-я группа, 62 случая) и «условно доброкачественным» (2-я группа, 36 случаев) потенциалом злокачественности. Последующий сравнительный анализ морфологических (морфометрических, гистохимических, иммуногистохимических) характеристик выполнен в этих 1-й и 2-й группах. Материалом для морфологического и

молекулярно-генетического анализа служили кусочки опухолевой ткани, а также сопроводительная документация к тканевому материалу.

В качестве групп сравнения использовали кусочки опухолевой ткани щитовидной железы от пациентов, полученные в ходе хирургического вмешательства (гемитиреоидэктомия, субтотальная резекция, тиреоидэктомия) по поводу фолликулярной аденомы (1-я группа сравнения, (n = 20) и папиллярной карциномы щитовидной железы (2-я группа сравнения, (n = 20).

Критерии включения в основную группу исследования: узловое инкапсулированное новообразование щитовидной железы фолликулярного строения с сомнительной инвазией (капсулярной и/или сосудистой); отсутствие изменений ядер, характерных для папиллярной карциномы; наличие в архиве патологоанатомического отделения микропрепаратов и парафиновых блоков; информированное согласие пациентов на участие в исследовании.

Критерии невключения: достоверная капсулярная и/или сосудистая инвазия опухоли; наличие изменений ядер, характерных для папиллярной карциномы; отсутствие в архиве патологоанатомического отделения микропрепаратов и/или парафиновых блоков; отсутствие информированного согласия пациентов на участие в исследовании.

Критерии включения в 1-ю группу сравнения: фолликулярная аденома щитовидной железы, диагностированная в ходе макро- и микроскопического исследования операционного материала; наличие в архиве патологоанатомического отделения микропрепаратов и парафиновых блоков; информированное согласие пациентов на участие в исследовании.

Критерии включения во 2-ю группу сравнения: папиллярная карцинома щитовидной железы, диагностированная в ходе макро- и микроскопического исследования операционного материала; наличие в архиве патологоанатомического отделения микропрепаратов и парафиновых блоков; информированное согласие пациентов на участие в исследовании.

Контрольную группу составили щитовидные железы, взятые во время аутопсии в патологоанатомическом отделении ГАУЗ ОТКЗ ГКБ № 1

г. Челябинска, у 15 умерших от различных причин – ишемическая болезнь сердца острая (острый инфаркт миокарда) и хроническая (постинфарктный крупноочаговый кардиосклероз, атеросклеротический кардиосклероз), цирроз печени, хроническая ишемия головного мозга (ангиоэнцефалопатия), апластическая анемия, рак легкого, острое нарушение мозгового кровообращения (инфаркт головного мозга), ВИЧ-инфекция, аденома надпочечника, пиомиозит, острый рассеянный энцефаломиелит. При этом в ходе патологоанатомических вскрытий при изучении органов и тканей умерших и при работе с медицинской документацией были исключены факторы, которые могли бы оказать влияние на структуру щитовидной железы. Кроме того, морфологические макро- и микроскопические характеристики железы не имели структурных особенностей и не отличались от так называемых «нормальных» параметров. Микроскопически паренхима железы представляла собой скопления функциональных единиц (заполненных коллоидом фолликулов), окруженных развитой капиллярной сетью и небольшими включениями зрелой жировой ткани, выстланных одним слоем уплощенной или цилиндрической формы фолликулярных эпителиальных клеток (тироцитов), плотно прилежащих к базальной мембране [28].

При проведении морфометрического изучения материала и статистической обработке его результатов был идентифицирован ряд статистически значимых характеристик опухолевых клеток, что позволило затем ориентироваться на полученные данные при работе с трепанобиоптатами щитовидной железы, которые получали на дооперационном этапе обследования пациентов. При направлении на трепанобиопсию новообразования щитовидной железы обследуемым пациентам на амбулаторном этапе по клиническим данным было сформулировано заключение «Узловой нетоксический зоб», а цитологическое заключение после исследования материала тонкоигольной аспирационной биопсии железы соответствовало критериям «IV по Bethesda».

2.2 Методы исследования

2.2.1 Методика проведения трепанобиопсии

Пациенты, вошедшие в проспективную группу исследования, были заранее проинформированы об отсутствии данной манипуляции в действующих клинических рекомендациях как обязательной, осведомлены о целях и ожидаемых результатах проводимого научного исследования и дали на него письменное согласие.

Трепанобиопсия проводилась под ультразвуковым (УЗ) контролем с соблюдением всех правил асептики под местной инфильтрационной анестезией 0,5 % новокаином и использованием полуавтоматической иглы для мягкотканной биопсии LIGHT-CUT («М.Д.Л. Медикал Девайс Лаборатори, С.р.л.», Italy). Перед проведением биопсии предварительно выполняли УЗ-визуализацию патологического очага с определением глубины и направления пункции после выявления безопасного акустического окна.

Процедура трепанобиопсии щитовидной железы проводилась в соответствии с общепринятой методикой [43]. На первом этапе проведения обезболивания на месте будущего прокола создавали кожный желвак в виде «лимонной корочки» с последующей инфильтрацией анестезирующим раствором подкожной клетчатки и глубжележащих тканей до капсулы щитовидной железы. Визуально контролировали движение биопсийной иглы в периферические отделы узла. После нажатия на спусковой механизм выдвигалась внутренняя канюля с «окошком» и срезала столбик ткани с патологического очага, вынимаемый посредством выдвижения канюли. Полученный столбик помещался в 10 % раствор забуференного нейтрального формалина на 24 часа для последующего гистологического исследования. После проведенной биопсии проводился эхографический контроль области вмешательства с целью исключения возможных осложнений.

2.2.2 Морфологические методы исследования

Гистологические препараты изготавливались по стандартным методикам. Для этого кусочки ткани фиксировались помещали в 10 % раствор нейтрального формалина в течение 24 часов, затем обезвоживали, обезжиривали и заливали в парафин в гистологическом автомате по общепринятой методике. Изготавливали срезы толщиной 5 мкм с использованием ротационного микротомы для лабораторных исследований РМ-325 («Термо Шендон Лимитед», UK). Депарафинированные срезы окрашивали гематоксилином и эозином по общепринятой методике [26]. Гистологическое исследование образцов выполняли путем световой микроскопии при увеличении от $\times 40$ до $\times 1000$ с помощью микроскопа Zeiss Primo Star (Germany).

В ходе аутопсийных исследований особое внимание обращали на макро- и микроскопические характеристики щитовидной железы. При макроскопическом исследовании определяли размеры, массу, форму, цвет, консистенцию железы, состояние её капсулы, особое внимание обращали на отсутствие визуальных патологических изменений органа (увеличение размеров и/или массы, узловые включения, кальцинаты, кисты). При микроскопическом исследовании структурные и морфометрические характеристики ткани щитовидной железы также соответствовали критериям «нормы» [6].

При помощи цифрового гистосканера AperioCS2 (USA) с каждого микропрепарата было получено по одному изображению с созданием электронного архива на цифровом носителе для последующего морфометрического исследования с применением автоматизированного алгоритма подсчета QuPath (USA) [115].

Морфометрический анализ групп исследования, сравнения и контроля осуществляли с помощью электронного аналога морфометрической сетки Г. Г. Автандилова. Во всех случаях выбиралось наиболее информативное поле зрения микропрепарата, в котором подсчитывали каждый из анализируемых морфометрических параметров (периметр и площадь ядра, периметр и площадь

клетки, наибольший и наименьший размер ядра, наибольший и наименьший размер клетки, ядерно-цитоплазматическое соотношение) на 200 клеток [5].

Для идентификации состояния районов ядрышковых организаторов был использован метод импрегнации гистологических срезов 50 % коллоидным раствором нитрата серебра по J. Crocker [26; 72.]. Для этого депарафинированные срезы инкубировали 45 минут в свежеприготовленном 50 % коллоидном растворе нитрата серебра (посредством смешения водного раствора желатина и концентрированного раствора нитрата серебра) при комнатной температуре во влажной камере в темноте, промывали в дистиллированной воде, дегидратировали в спиртах возрастающей концентрации, просветляли в ксилоле и заключали под покровное стекло без докрашивания. Афинные к серебру гранулы (ядрышкообразующие районы интерфазных хромосом) окрашивались в черный цвет. Учет реакции проводился в 100 эпителиоцитах новообразования при увеличении $\times 1000$ с масляной иммерсией и зеленым светофильтром, редуцирующим хромосомные абберации. Одновременно осуществляли автоматизированный и ручной способы подсчета аргентофильных гранул.

В зависимости от топики районов ядрышковых организаторов и в соответствии с рекомендациями J. Crocker et al. [71], клетки подразделяли на три типа: I тип – выявляются целиком прокрашенные ядрышки или гранулы серебра только внутри ядрышек (покоящиеся клетки); II тип – гранулы серебра как внутри ядрышек, так и свободно диспергируемые по ядру (пролиферирующие клетки); III тип – множественные свободно лежащие в ядре депозиты серебра различных размеров и форм, ядрышки не дифференцируются (злокачественные клетки).

При подсчете белковых гранул в районах, ассоциированных с ядрышковыми организаторами (AgNORs), с помощью компьютерной программы QuPath (USA) определяли общее количество гранул, плотность гранул и их расположение: внутриядрышковое и внеядрышковое. Общую площадь и плотность областей ядрышковых организаторов определяли дважды в 30 полях зрения, определённых методом случайной выборки.

Анализ MSI опухолевых клеток выполняли методом ИГХ-исследования. Для этого использовалась система визуализации BioGenex Super Sensitive Polymer-HRP Detection System и EnVision+Dual Link (Netherlands). Исследование образцов проводилось с парафиновых блоков, изготавливались срезы толщиной 4 мкм, которые монтировались на поли-L-лизинные стекла с последующей обработкой (депарафинизация и демаскировка антигенов) в устройстве PT Link (Dako, USA) на протяжении 20 мин. Для демаскировки антигенов использовался раствор Target Retrieval Solution High pH 6,1 (Dako, USA) в разведении с дистиллированной водой 1:50. Изготовление препаратов проведено на аппарате Autosainer Plus (Dako, USA) с применением моноклональных антител (Dako, USA). Антитела использовались согласно рекомендованным протоколам производителя (Dako, USA) с постановкой положительного и отрицательного контролей. Срезы докрашивались гематоксилином Гарриса.

Уровень экспрессии маркёров MSI оценивали в ядрах опухолевых клеток [51]: MLH-1 с помощью мышиных моноклональных антител (МКАТ) к MLH-1 (клон G168-728, рабочее разведение 1:50), MSH-2 с использованием специфической сыворотки к белку MSH-2 (клон G219-1129, рабочее разведение 1:300), MSH-6 с использованием МКАТ к MSH-6 (клон 44, рабочее разведение 1:50), PMS-2 с помощью МКАТ к PMS-2 (клон MRQ-28, рабочее разведение 1:30) производства компании «Cell Marque» (USA).

2.2.3 Молекулярно-генетическое исследование

Изучение профиля микроРНК методом ПЦР в режиме реального времени проведено на базе Федерального государственного бюджетного учреждения Институт молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения Российской академии наук (ИМКБ СО РАН), г. Новосибирск (директор – С. А. Демаков, д-р биол. наук).

На основании анализа литературных данных для изучения были выбраны 14 микроРНК (-144, -145, -146b, -155, -183, 199b, -221, -31, -375, -451a, -551b, -7,

-21/125b), позволяющие провести дифференциальную диагностику между неоплазиями фолликулярно-клеточного генеза (злокачественными – карциномами и доброкачественными – аденомами). Нормировку содержания микроРНК выполняли на геометрическое среднее 3 референсных микроРНК (-197, -23a и -29b) с помощью метода $2\Delta\Delta C_q$ [70] и запатентованной методики [41; 42].

Для анализа спектра и уровня экспрессии микроРНК поэтапно проводили депарафинирование тканевых образцов, выделяли суммарный пул РНК (в том числе содержащий микроРНК) методом выделения нуклеиновых кислот, далее проводили измерение уровней экспрессии микроРНК в опухолевых образцах методом обратной транскрипции с последующей ПЦР в реальном времени, который включал в себя обратную транскрипцию зрелой микроРНК с помощью длинного праймера со шпилькой, с последующей детекцией полученной комплементарной ДНК с помощью ПЦР в реальном времени.

Депарафинизацию материала проводили с использованием минерального масла: в пробирку 1,5 мл с двумя парафиновыми срезами толщиной 5 мкм добавляли 1 мл минерального масла и тщательно перемешивали в течение 10 секунд. Затем пробирки в течение 2 минут инкубировали в термошейкере при температуре 65 °С и частотой вращения 1300 об/мин и центрифугировали при 13 000–15 000 оборотах в течение 4 минут. После удаления надосадочной жидкости в осадок добавляли по 1 мл 96 % этанола и снова перемешивали в течение 10 секунд, затем центрифугировали в тех же условиях. После чего вновь удаляли надосадочную жидкость, вносили в осадок 1 мл 70 % этанола и центрифугировали при 13 000–15 000 оборотах в течение 2 минут.

Из полученной депарафинированной ткани опухоли в дальнейшем выделяли нуклеиновые кислоты с использованием набора реагентов «РеалБест экстракция 100» (АО «Вектор-Бест», Россия). Выделение нуклеиновых кислот проводили следующим способом: к образцам добавляли три порции гуанидинового лизирующего буфера (по 200 мкл), перемешивали и инкубировали в термошейкере TS-20 (Biosan, Latvijas Republika) в течение 15 минут при 65 °С. на 1 300 об/мин. Затем добавляли равный объем изопропанола, перемешивали и

выдерживали при комнатной температуре в течение 5 минут. После центрифугирования (ротор угловой F-45-12-11 MiniSpin Eppendorf, Germany) в течение 10 минут при 14 000 g супернатант удаляли, а осадок промывали 500 мкл 70 % этанола, а затем – 300 мкл ацетона. Выделенный осадок высушивали и растворяли в 300 мкл элюирующего раствора, после чего пробирки помещали в термошейкер и инкубировали в течение 5 минут при температуре 65 °С с частотой вращения 1 300 об/мин. Далее пробирки центрифугировали при 13 000–15 000 об/мин в течение 1 минуты. Концентрацию РНК определяли на спектрофотометре NanoDrop 2 000C (Thermo Scientific, USA).

Для получения комплементарной ДНК проводили реакцию обратной транскрипции в пробирках объемом 50 мкл с помощью готовых реакционных смесей «РеалБест Мастер микс ОТ» (ЗАО «Вектор-Бест», Россия). Реакция обратной транскрипции содержала: 3 мкл выделенной РНК, 16,2 мкл 40 % раствора трегалозы, 3 мкл 10 × буфера для обратной транскрипции, 3 мкл 4 мМ раствора дезоксинуклеозидтрифосфатов, 3 мкл 10 % раствора бычьего сывороточного альбумина, 100 е.а. М-MLV обратной транскриптазы, 1,5 мкл 10 мкМ раствора соответствующего праймера для обратной транскрипции. Реакцию проводили в течение 30 минут при 42 °С, после чего реакционную смесь инкубировали 2 минуты при 95 °С для инактивации обратной транскриптазы. Полученную реакционную смесь, содержащую ДНК, в объеме 3 мкл сразу использовали в качестве матрицы для проведения ПЦР. Реакционную смесь в объеме 3 мкл использовали в качестве матрицы для проведения ПЦР в реальном времени на амплификаторе CFX96 (Bio-Rad Laboratories, USA). В качестве контроля использовали малую РНК U6. Реакцию проводили в объеме 30 мкл: 3 мкл полученной комплементарной ДНК, 14 мкл H₂O, 3 мкл 10 × буфера для ПЦР (ЗАО «Вектор-Бест», Россия), 3 мкл 4 мМ раствора дезоксинуклеозидтрифосфатов, 3 мкл 10 % раствора BSA, 1 е.а. Taq-полимеразы (ЗАО «Вектор-Бест», Россия) в комплексе с моноклональными антителами к её активному центру (Clontech, USA), 3 мкл раствора прямого и обратного праймеров (5 мкМ) и зонда (2,5 мкМ). Протокол реакции ПЦР: предварительный

прогрев при 94 °C – 2 минуты, 50 основных циклов: денатурация при 94 °C – 10 секунд, отжиг и элонгация: 60 °C – 20 секунд. Системы праймеров и зондов разработаны компанией АО «Вектор-Бест» (Россия), эффективность реакции составляет 90–100 %. За снижение или повышение экспрессии микроРНК считали 4-, 6-, 8-, 10-, 20- и 40-кратное изменение [103]. Результат исследования образца представляли в виде вероятностного значения от 0 % до 100 %, что пациент имеет злокачественное или доброкачественное новообразование.

На основе полученных результатов составлялось заключение о предиктивном потенциале злокачественности новообразования. Это заключение базировалось на комплексном критерии, который рассчитывался на основе средних значений уровней экспрессии микроРНК в тканях щитовидной железы в норме и при разных типах её новообразований: доброкачественное узловое образование (аденома), злокачественное узловое образование (а именно – папиллярный, фолликулярный, медуллярный, Гюртле-клеточный рак). Новообразование определяли, как опухоль фолликулярно-клеточного происхождения с признаками злокачественности при уровнях экспрессии: микроРНК-145 – более –6,92; микроРНК-7 – более 4,8 и менее –27,79; микроРНК-221 – более –1,105; микроРНК-375 – более –10,035; микроРНК-146b – более –1,12; микроРНК-31 – более –1,74; микроРНК-551b – более –39,13 [41; 42].

2.2.4. Статистические методы

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы IBM SPSS Statistics 23. При проведении статистических тестов указывали пороговую величину уровня значимости (p), которую принимали за $< 0,05$.

Для определения типа (оценка нормальности) распределения количественных переменных применялся критерий Шапиро – Уилка. Так как распределение в группах исследования отличалось от нормального,

использовался расчет для количественных величин средних значений – Ме [25 %; 75 %]).

Сравнение между двумя группами проводили с помощью непараметрического теста Манна – Уитни (Mann – Whitney U-test). Для сравнения в более чем 2 независимых группах применяли критерий Крускала – Уоллеса (Kruskal – Wallis test), с последующим попарным сравнением показателей с применением критерия Манна – Уитни, после выявления различий по критерию Крускала – Уоллеса критический уровень значимости менялся с учетом поправки Бонферони.

Для проведения анализа зависимостей использовали метод корреляционного анализа Спирмена (Spearman), т. к. как минимум один из признаков имел распределение, отличающееся от нормального. Коэффициент корреляции Спирмена расценивался как безразмерная величина, принимающая значения от -1 до 1 . Для трактовки силы связи между двумя наблюдаемыми величинами использовалась шкала Чеддока (0 – полное отсутствие связи; $0,1-0,3$ – слабая корреляция; $0,3-0,5$ – умеренная корреляция; $0,5-0,7$ – заметная корреляция; $0,7-0,9$ – высокая корреляция; $0,9-1$ – весьма высокая).

При оценке качественных показателей вычисляли фактические и относительные частоты наблюдений (n , %). Величину максимальной вероятности ошибки I рода устанавливали на уровне, равном $0,05$. Слишком малые значения p обозначали как ($p < 0,001$). Для сравнения качественных бинарных признаков количественно малых групп использовался точный критерий Фишера (двувариантный).

Для определения вида статической связи с возможностью прогнозирования значения одной зависимой переменной (потенциал злокачественности), отталкиваясь от значения независимой переменной, применяли метод регрессионного анализа (бинарная логистическая регрессия по одной предикторной переменной) с расчетом коэффициента, стандартной ошибки, статистики критерия Вальда (вычислена по данным для сравнения с распределением хи-квадрат с одной степенью свободы), p – значения,

доверительного интервала. Оценку эффективности бинарных классификаторов на основе логистической регрессии проводили методом построения ROC-кривой. Критерием выбора порога отсечения (cut-o-) взято требование максимальной суммарной чувствительности (Se) и специфичности (Sp) модели: $Cut-o- = \max (Se + Sp)$. Разделяющее значение количественного признака в точке cut-o- определялось по наивысшему значению индекса Юдена. Качество шкалы оценивали с помощью площади под ROC-кривой (AUC). О качестве теста судили по экспертной шкале для значения AUC: при интервале AUC 0,9–1,0 – качество модели оценивали, как «отличное»; 0,8–0,9 – «очень хорошее»; 0,7–0,8 – «хорошее»; 0,6–0,7 – «среднее», менее 0,6 – «неудовлетворительное» [27; 38].

Материалы данной главы отражены в следующих публикациях:

1. Молекулярно-генетические подходы к оценке фолликулярной опухоли щитовидной железы неопределенного потенциала злокачественности как структурная основа хирургической тактики / Т. Е. Ильина, Е. Л. Казачков, С. В. Сергейко, Ю. А. Веряскина // Актуальные вопросы патологической анатомии : материалы IV межрегион. науч.-практ. конф. (Екатеринбург, 15 апреля 2022 г.). – Екатеринбург, 2022. – С. 22–26.
2. Казачков, Е. Л. Полиморфизм морфометрических параметров фолликулярной опухоли щитовидной железы неопределенного злокачественного потенциала как структурная основа хирургической тактики / Е. Л. Казачков, Т. Е. Ильина, С. В. Сергейко // Материалы VI съезда Российского общества патологоанатомов (Новосибирск, 08–10 июня 2022 г.). – Новосибирск, 2022. – С. 59–60.
3. Ильина, Т. Е. Молекулярно-генетические основы хирургической тактики при фолликулярной опухоли щитовидной железы неопределенного потенциала злокачественности / Т. Е. Ильина, Е. Л. Казачков, С. В. Сергейко // Альманах Института хирургии им. А. В. Вишневского. – 2022. – № 1. – С. 582.

ГЛАВА 3 МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ХИРУРГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И МЕСТО ФОЛЛИКУЛЯРНЫХ ОПУХОЛЕЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НЕОПРЕДЕЛЁННОГО ЗЛОКАЧЕСТВЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА В СТРУКТУРЕ ТИРЕОИДОПАТИЙ ПО МАТЕРИАЛАМ ОБЛАСТНОГО ЦЕНТРА ХИРУРГИЧЕСКОЙ ЭНДОКРИНОЛОГИИ Г. ЧЕЛЯБИНСКА. МЕДИКО-СОЦИАЛЬНЫЙ ПОРТРЕТ ПАЦИЕНТОВ С ФОЛЛИКУЛЯРНЫМИ ОПУХОЛЯМИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НЕОПРЕДЕЛЁННОГО ЗЛОКАЧЕСТВЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА

Проведен анализ медицинской документации (медицинских карт стационарного больного, медицинских карт пациента, получающего медицинскую помощь в амбулаторных условиях, направлений на прижизненное патологоанатомическое исследование), а также ретроспективное изучение протоколов прижизненного патологоанатомического исследования биопсийного (операционного) материала от пациентов, прооперированных за период 2018–2021 гг. в областном центре хирургической эндокринологии г. Челябинска (ГАУЗ ОТКЗ ГКБ № 1). За указанный период проведено хирургическое лечение 3 960 пациентов с разнообразной патологией щитовидной железы. Из них в 2 063 (52,1 %) наблюдениях хирургическое вмешательство выполнено по поводу опухолевой патологии щитовидной железы, а в 1 897 (47,9 %) случаях операция была проведена по поводу неопухолевой патологии органа, требующей хирургического вмешательства (узловой зоб, аутоиммунный тиреоидит с компрессией органов шеи).

При изучении медицинской документации и пересмотре микропрепаратов новообразований щитовидной железы (2 063 наблюдения) в 1 965 (95,3 %) случаях верифицированы доброкачественные (аденома) и злокачественные (папиллярная, фолликулярная, медуллярная, онкоцитарная (Гюртле-клеточная), низко- и недифференцированная карцинома, лимфома, метастазы новообразований других локализаций) опухоли этого органа. Кроме того, двумя

независимыми экспертами-патологоанатомами в 98 случаях диагностирована ФОНЗП с учётом порядка верификации морфологических критериев данного новообразования, что составило 4,75 % всей хирургической опухолевой патологии щитовидной железы за указанный период времени.

Именно эти 98 пациентов и составили основную группу нашего исследования. Среди них было 11 (11,2 %) мужчин и 87 (88,8 %) женщин, их средний возраст составил 54,3 [42,0; 66,0] лет. Распределение группы исследования по полу и возрастным группам представлены на графиках (Рисунок 3.1 и Рисунок 3.2).

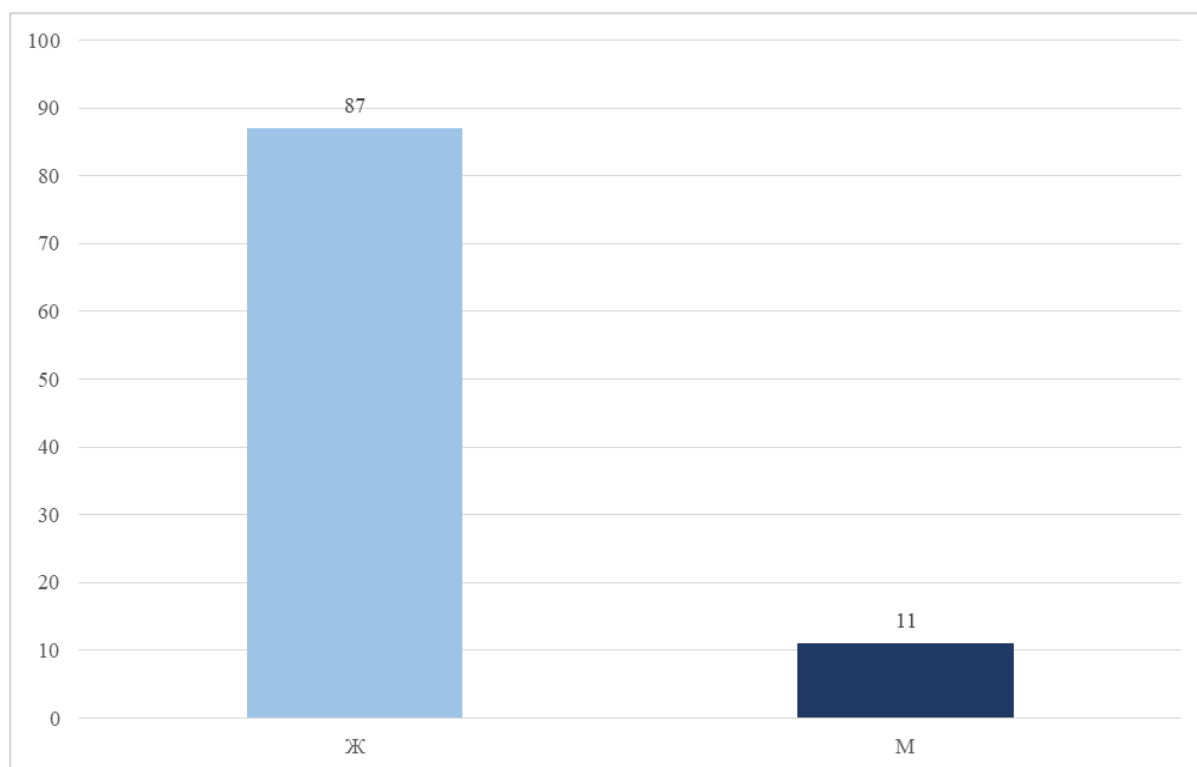


Рисунок 3.1 – Распределение пациентов с ФОНЗП по полу

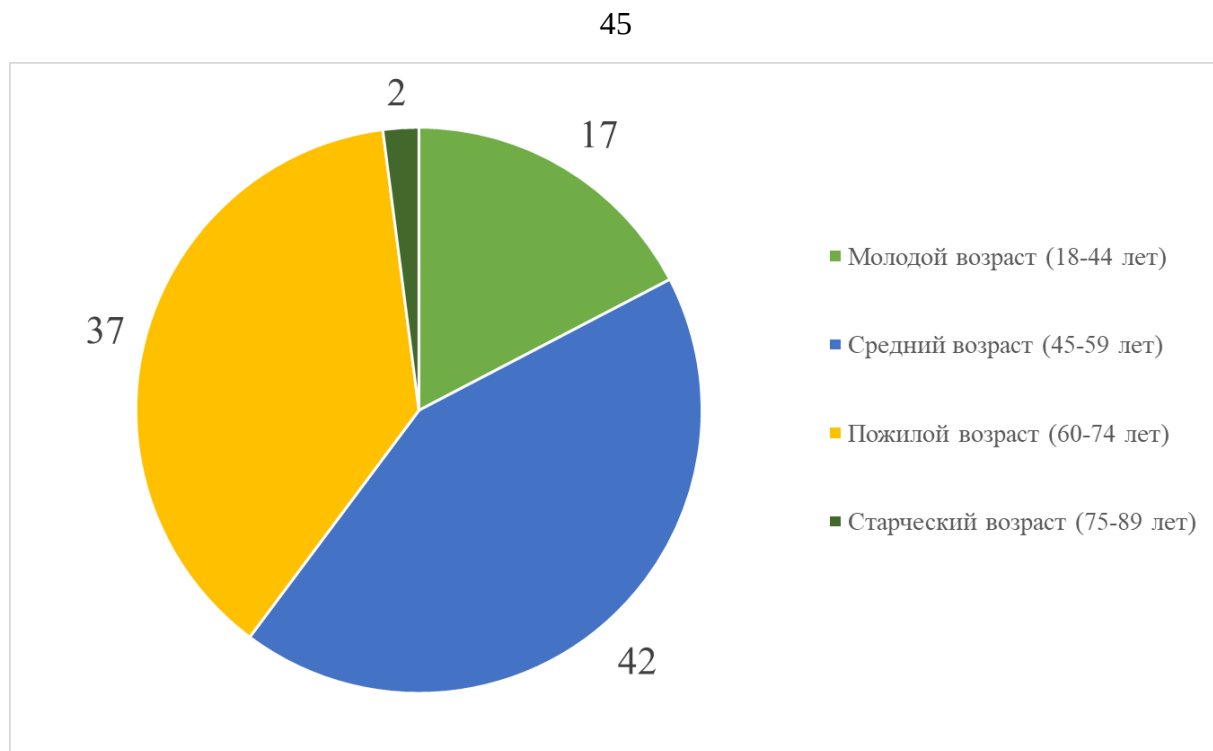


Рисунок 3.2 – Распределение пациентов с ФОНЗП по возрастным группам
согласно классификации ВОЗ

Как видно из Рисунка 3.1 и Рисунка 3.2, среди пациентов с ФОНЗП абсолютно преобладали женщины, а также лица среднего и пожилого возраста по классификации ВОЗ [77].

Установлено, что в большинстве случаев пациенты проживали в городской местности (70,4 %). Большую часть группы исследования составило трудоспособное (занятое) население (43,9 %) и пенсионеры (42,9 %). Неработающие и обучающиеся заняли 10,2 % и 3,1 % соответственно.

Коморбидная патология зарегистрирована у 77,6 % пациентов (Рисунок 3.3).



Рисунок 3.3 – Коморбидная патология у пациентов группы исследования

Как видно из Рисунка 3.3, среди коморбидной патологии преобладающими были заболевания сердечно-сосудистой системы (гипертоническая болезнь – 46,9 %, ишемическая болезнь сердца – 5,1 %, варикозное расширение вен нижних конечностей – 9,2 %), сахарный диабет 2 типа (13,3 %), патология репродуктивной системы у женщин (миома тела матки – 11,5 %). Реже пациенты отмечали наличие в анамнезе желчнокаменной болезни (7,1 %), злокачественных новообразования (5,1 %), хронический вирусный гепатит С (3,1 %), бронхиальной астмы (3,1 %) и хронических заболеваний мочевыделительной системы (3,1 %).

Как было указано в главе 2, при проведении анализа спектра и уровня экспрессии микроРНК с учётом их референсных значений новообразование определяли как опухоль с признаками злокачественности при следующих уровнях экспрессии: микроРНК-145 – более –6,92; микроРНК-7 – более 4,8 и менее –27,79; микроРНК-221 – более –1,105; микроРНК-375 – более –10,035; микроРНК-146b – более –1,12; микроРНК-31 – более –1,74; микроРНК-551b – более –39,13. При наличии спектра и уровня экспрессии микроРНК вне указанных интервалов значений, новообразование расценивалось как опухоль с

доброкачественными молекулярно-генетическими характеристиками. Проведенный анализ показал, что в 62 (63,27 %) наблюдениях в ткани опухоли зарегистрирован спектр микроРНК, характерный для злокачественных новообразований. В остальных 36 (36,73 %) случаях спектр и уровень экспрессии микроРНК не были характерны для злокачественной опухоли, следовательно, соответствовали молекулярно-генетическому профилю доброкачественного новообразования. При этом соотношение ФОНЗП, идентифицированных как «условно доброкачественные», и «условно злокачественных» ФОНЗП, имело вид 1:1,72.

Результаты исследования профиля микроРНК представлены в Таблицах 3.1 и 3.2.

Таблица 3.1 – Нормировка содержания микроРНК на геометрическое среднее 3 референсных микроРНК (miR-197, -23a и -29b) ФОНЗП с молекулярно-генетическим профилем, характерным для злокачественных фолликулярно-клеточных неоплазий

HMGA2	miR-144	miR-145	miR-146bm3	miR-155m3	miR-183	miR-199bm2	miR-221m2	miR-31m3	miR-375m4	miR-451am2	miR-551bm2	miR-7m2	miR-21/125b	мтДНК
0,00	-320,84	-6,35	-3,70	-6,94	-70,80	-24,18	-62,06	-7,49	-119,07	2,11	-678,26	1,18	0,90	2164,77
0,01	-406,98	-5,42	-10,19	-53,03	-39,91	-39,91	-27,26	-23,90	-164,14	1,41	-575,55	1,53	0,42	3213,66
0,00	-613,45	-5,74	-13,09	-30,29	-27,30	-85,67	-216,89	-88,08	-41,96	-1,22	-704,67	1,16	0,93	94,35
0,00	-45011,72	-6,05	-13,62	-40,73	-58,81	-27,63	-200,58	-14,10	-71,41	-1,16	-1095,99	-5,02	0,68	3541,14
0,00	-349,55	-6,06	-7,31	-20,53	-24,07	-20,67	-113,72	-23,25	-58,87	3,18	-490,92	-1,67	0,56	3492,39
0,08	-48,95	-3,93	-1,91	-3,54	-41,45	-8,65	-12,07	-4,73	-3,71	6,62	-32168,26	-2,78	1,46	8719,32
0,05	-3120,47	-43,64	1,30	-70,40	-96,17	-68,00	-8,15	-96,17	-3,15	-1,98	-1465,88	-4,78	0,42	2033,85
0,54	-3292,19	-29,14	4,42	-64,21	-105,77	-56,29	-9,88	-2,42	-11,59	-3,42	-277,21	-11,92	0,30	1379,57
0,01	-19155,68	-50,76	-7,98	-47,69	-51,82	-35,40	-43,88	-6,80	-6,30	1,02	-149,65	-2,45	0,67	1992,00
0,00	-20056,98	-11,49	-10,00	-20,70	-65,43	-13,95	-79,99	-16,70	-32,49	-3,30	-557,11	-32,49	0,56	3191,46
0,01	-1759,94	-38,09	-7,27	-15,79	-280,39	-9,46	-84,53	-19,04	-1,58	1,36	-653,17	-10,00	0,37	1552,09
0,01	-939,40	-14,78	-6,71	-14,38	-228,43	-14,68	-11,05	-5,92	-32,35	-2,92	-222,18	-33,72	0,38	2740,08
0,01	-214,83	-31,49	-5,45	-34,23	-79,73	-21,36	-45,16	-14,39	-7,35	2,02	-570,87	-1,44	0,57	2048,00
0,00	-279,75	-5,77	-12,80	-31,30	-25,60	-26,50	-28,40	-24,56	-55,25	3,01	-287,62	1,44	0,40	2091,03
0,01	-277,85	-5,89	-10,18	-33,32	-80,90	-14,81	-45,83	-16,77	-74,45	6,51	-250,41	1,93	1,21	2469,49

HMGA2	miR-144	miR-145	miR-146bm3	miR-155m3	miR-183	miR-199bm2	miR-221m2	miR-31m3	miR-375m4	miR-451am2	miR-551bm2	miR-7m2	miR-21/125b	мгДНК
0,00	-65152,81	-36,54	-5,74	2,60	-117,10	-22,65	-36,04	-28,67	-28,08	2,05	-335,82	-96,44	14,83	1278,29
0,12	-2257,42	-3,07	-3,07	-4,17	-138,18	-19,17	-22,48	-5,86	-49,54	1,19	-136,28	-75,61	1,93	670,92
0,00	-1009,86	-3,53	-6,06	-8,34	-63,12	-12,29	-84,45	-14,32	-11,96	1,16	-219,78	-2,36	2,77	1595,73
0,00	-1462,40	-2,98	-7,38	-12,68	-45,07	-28,13	-7,18	-6,21	-33,92	-1,47	-215,89	-4,27	0,76	5256,91
0,02	-40,07	-5,04	-9,03	-77,40	-66,46	-24,66	-12,77	-17,44	-30,36	10,03	-290,89	2,61	0,75	1858,60
0,01	-1737,97	-4,45	-7,23	-62,82	-456,10	-25,69	-43,81	-8,19	-28,31	1,67	-195,79	-1,23	0,45	2272,40
0,03	-516,71	-5,48	-27,34	-41,16	-187,82	-18,55	-21,01	-44,73	-194,44	3,99	-422,61	-36,08	0,66	1820,35
0,02	-651,60	-5,27	-11,45	-78,13	-91,64	-16,09	-169,82	-10,69	-27,82	1,45	-277,79	2,22	0,50	2836,70
0,08	-923,21	-1,55	-9,39	-418,91	-33,60	-23,76	-8,82	-4,96	-3,16	-1,40	-282,19	-10,86	0,76	1152,06
0,07	-7319,79	-3,33	-8,33	-69,92	-57,19	-96,84	-45,81	-6,22	-3,60	-1,18	-390,07	2,43	0,75	2005,85
0,05	-361,05	-2,40	1,05	-49,05	-25,56	-10,03	-5,26	-5,64	-2,60	3,54	-74,86	-4,04	0,53	1192,69
0,00	-318,56	-3,47	-5,33	-27,39	-137,70	-10,82	-72,27	-4,21	-48,35	1,81	-312,00	-3,35	0,54	1675,06
0,00	-2355,04	-3,46	-12,31	-26,38	-67,72	-68,67	-16,02	-5,86	-101,23	-1,31	-79,43	1,17	0,51	962,07
0,05	-776,37	-6,82	-1,65	-24,77	-24,26	-50,94	-5,78	-12,47	-25,82	-1,40	-36,02	-26,37	0,57	10369,08
0,02	-2619,22	-4,84	-3,02	-41,50	-33,24	-21,63	-26,44	-9,48	-27,57	-2,20	-275,31	2,63	0,82	1618,00
0,00	-446,92	-5,71	-11,34	-19,75	-14,06	-46,33	-19,08	-59,46	-4,90	3,60	-851,51	-1,24	0,42	5330,30
0,04	-240,42	-2,73	-2,28	-5,31	-237,11	-14,92	-33,81	-11,87	-16,67	-1,61	-90,47	-37,00	1,45	1192,69
0,70	-986,04	-5,92	2,02	-55,93	-104,37	-39,82	-3,99	-9,35	-7,14	-5,12	-15,09	-19,37	0,30	1379,57

HMGA2	miR-144	miR-145	miR-146bm3	miR-155m3	miR-183	miR-199bm2	miR-221m2	miR-31m3	miR-375m4	miR-451am2	miR-551bm2	miR-7m2	miR-21/125b	мгДНК
0,01	-452,45	-4,54	-12,74	-89,98	-58,96	-12,65	-172,64	-14,54	-40,83	1,84	-352,53	1,40	0,43	1782,89
0,65	-401,80	-10,41	-1,65	-32,23	-41,08	-48,85	-2,16	-46,54	-32,68	1,90	-69,09	-40,80	0,80	580,04
0,27	-1768,45	-5,42	9,66	-43,36	-83,19	-7,20	-2,05	1,35	-5,09	1,80	-52,65	-13,53	0,67	3304,00
0,08	-1378,11	-6,58	1,04	-33,79	-19,27	-209,16	-1,48	-49,13	-2,16	-3,36	-193,81	-2,39	0,56	2019,80
0,00	-132,88	-3,00	-23,98	-11,42	-71,70	-19,21	-62,85	-42,93	-81,79	3,52	-434,72	1,64	1,32	1924,14
0,11	-272,96	-5,95	-6,65	-15,70	-128,22	-16,94	-27,14	-33,65	-38,39	5,97	-235,98	-21,74	2,20	1541,37
0,05	-825,34	-5,31	-2,67	-5,13	-156,37	-9,06	-20,10	-11,46	-77,11	-1,06	-57,63	-15,12	2,27	724,08
0,00	-341,74	-5,57	-5,12	-14,79	-90,93	-18,59	-118,34	-8,92	-67,97	1,49	-334,71	-10,75	0,80	942,27
0,18	-151,23	-3,61	-9,79	-48,86	-232,42	-28,45	-8,82	-37,03	-4546,68	9,85	-404,67	-6,59	1,20	1618,00
0,00	-19520,28	-11,98	-12,93	-39,74	-14,96	-267,37	-1,34	-114,78	-97,86	-5,22	-81,72	-176,40	0,46	19893,37
0,00	-848,29	-4,43	-7,99	-26,69	-119,30	-7,05	-43,06	-10,40	-161,84	1,33	-261,09	-4,43	0,51	2503,97
0,02	-117,39	-3,00	-11,51	-177,93	-24,17	-66,49	-207,24	-15,40	-200,00	-1,52	-111,83	3,26	0,41	1845,76
0,06	-658,77	-9,81	1,42	-4,74	-91,37	-12,50	-4,61	-6,04	-17,07	-1,61	-12,76	-6,21	0,90	955,43
0,00	-276,83	-5,25	-13,96	-31,62	-78,40	-15,17	-134,63	-32,74	-380,79	4,31	-472,07	-4,27	0,49	2368,90
0,00	-131,06	-3,72	-9,88	-36,36	-91,40	-10,73	-41,19	-6,17	-253,20	3,45	-202,83	-1,61	0,43	2368,90
0,00	-206,45	-6,82	-5,90	-14,62	-30,69	-39,12	-88,63	-20,25	-183,50	5,86	-401,61	-3,18	1,02	2210,26
0,02	-250,83	-6,73	-6,97	-17,39	-17,52	-16,92	-25,12	-73,04	-109,18	2,43	-136,29	-5,03	0,84	1897,65
0,01	-186,95	-5,34	-4,31	-23,37	-75,93	-18,33	-50,09	-19,52	-52,22	4,33	-163,88	-29,58	1,88	2033,85

HMGA2	miR-144	miR-145	miR-146bm3	miR-155m3	miR-183	miR-199bm2	miR-221m2	miR-31m3	miR-375m4	miR-451am2	miR-551bm2	miR-7m2	miR-21/125b	мгДНК
0,00	-9371,37	-5,33	-2,11	-9,47	-211,43	-10,15	-47,97	-4,61	-46,66	1,18	-492,52	-19,08	0,67	3350,13
0,02	-459,79	-3,99	-8,91	-55,52	-281,08	-7,70	-61,17	-8,78	-86,51	2,63	-225,16	-13,98	0,34	675,59
0,00	-1873,44	-4,57	-8,01	-2,27	-383,07	-4,63	-36,80	-20,99	-50,97	-1,27	-259,84	-42,56	9,99	1360,57
0,01	-464,07	-5,38	-20,37	-26,87	-72,92	-14,11	-36,97	-19,54	-102,41	2,06	-493,94	1,82	0,41	2646,74
0,08	-166,37	-4,85	-1,94	-22,76	-22,13	-33,09	-7,99	-3,48	-1,89	4,70	-154,15	-1,32	0,80	6382,92
0,28	-585,80	-7,03	-8,25	-18,69	-290,88	-11,43	-33,00	-11,51	-7,64	2,08	-343,52	-7,13	1,09	3061,45
0,05	-56,62	-5,29	-6,70	-15,38	-85,23	-15,82	-71,67	-38,41	-103,49	23,70	-462,51	-5,44	0,84	1698,45
0,00	-584,03	-5,82	-6,54	-12,04	-88,03	-16,68	-116,96	-11,00	-1617,90	2,75	-458,22	-3,86	1,07	2721,15
0,04	-106,76	-2,46	-2,29	-14,91	-17,98	-53,38	-1,81	-10,04	-1,93	13,66	-219,53	-4,49	0,51	15286,81
0,13	-518,24	-3,55	-1,66	-8,33	-36,69	-40,43	-1,68	-1,50	-8,15	2,52	-3,38	-30,01	0,35	15608,02
0,05	-1612,59	-8,43	-1,91	-114,18	-58,29	-59,10	-19,23	-61,61	-2,88	-1,22	-336,66	-1,36	0,31	4240,45

Таблица 3.2 – Нормировка содержания микроРНК на геометрическое среднее 3 референсных микроРНК (miR-197, -23a и -29b) ФОНЗП с молекулярно-генетическим профилем, не характерным для злокачественных фолликулярно-клеточных неоплазий

HMGA2	miR-144	miR-145	miR-146bm3	miR-155m3	miR-183	miR-199bm2	miR-221m2	miR-31m3	miR-375m4	miR-451am2	miR-551bm2	miR-7m2	miR-21/125b	мтДНК
0,02	-19307,46	-11,69	-4,91	-24,54	-165,06	-64,31	-42,43	-19,52	-40,70	-4,71	-238,34	-1,90	1,15	797,86
0,00	-10358,97	-12,20	-5,13	-24,40	-268,47	-24,91	-125,24	-6,72	-41,31	-2,36	-319,26	-3,55	0,65	1052,79
0,03	-31266,36	-8,95	-12,57	-116,35	-51,35	-104,86	-37,85	-56,58	-38,38	-5,21	-553,46	2,25	0,42	1287,18
0,01	-5289,00	-12,72	-3,97	-11,30	-197,92	-19,55	-61,34	-7,46	-44,59	-3,07	-404,16	-2,60	0,54	1722,16
0,00	-10254,81	-7,03	-15,18	-138,53	-220,41	-34,39	-140,46	-40,90	-87,06	-1,48	-706,24	-4,33	0,37	1722,16
0,01	-995,20	-12,03	-9,31	-26,52	-98,97	-15,77	-57,24	-27,07	-967,99	1,16	-342,24	3,08	1,27	4182,07
0,00	-1361,59	-11,32	-10,71	-40,53	-116,25	-17,40	-219,96	-27,12	-159,91	-1,01	-622,13	-3,39	0,44	2194,99
0,00	-2236,92	-11,77	-14,29	-77,56	-40,15	-28,59	-166,26	-6,90	-70,88	-2,28	-1087,87	-15,86	0,79	3875,05
0,00	-107,40	-32,38	-5,09	-10,32	-93,50	-8,86	-103,02	-17,59	-35,43	6,65	-406,42	-2,51	0,88	1379,57
0,01	-2153,81	-33,89	-4,24	-20,15	-134,61	-4,70	-38,13	-6,47	-18,80	1,09	-313,58	-5,71	0,85	1663,49
0,01	-980,99	-25,60	-5,49	-14,91	-63,04	-13,44	-41,30	-18,61	-98,91	-1,80	-497,34	2,21	1,15	2225,63
0,00	-6682,79	-31,92	-17,46	-39,29	-61,66	-98,10	-376,43	-53,31	-107,35	-3,60	-244,93	1,26	0,44	2210,26
0,00	-431,42	-24,98	-4,27	-17,67	-43,50	-6,88	-10,22	-16,95	-37,87	1,52	-1411,43	-7,33	0,48	4482,23
0,17	-3275,48	-14,90	-10,54	-41,00	-143,76	-12,27	-36,95	-15,97	-10,76	-1,70	-110,47	-7,40	1,14	2759,13
0,03	-819,35	-11,94	-3,07	-4,85	-92,95	-17,13	-39,35	-23,08	-114,43	1,58	-764,48	1,59	1,06	1884,54

HMGA2	miR-144	miR-145	miR-146bm3	miR-155m3	miR-183	miR-199bm2	miR-221m2	miR-31m3	miR-375m4	miR-451am2	miR-551bm2	miR-7m2	miR-21/125b	мтДНК
0,00	-221,94	-15,28	-8,02	-1,60	-31,00	-5,29	-72,71	-10,73	-10,73	9,55	-119,76	-3,77	6,23	2683,69
0,00	-324,32	-2,00	-2,21	-9,79	-71,57	-14,84	-35,78	-2,57	-24,78	5,57	-284,30	-2,53	1,27	1408,55
0,00	-11151,02	-7,92	-10,45	-45,41	-82,99	-111,81	-161,44	-24,00	-47,67	-3,59	-316,24	1,11	0,86	1964,57
0,00	-3083,69	-1,65	-18,77	-87,45	-18,90	-51,64	-78,27	-5,78	-21,12	-1,68	-468,02	-19,30	1,41	1243,34
0,00	-189,25	-1,47	-6,38	-26,99	-62,86	-22,85	-21,77	-20,31	-36,61	2,47	-220,43	2,80	0,69	1710,26
0,01	-2123,06	-12,31	-4,26	-9,73	-50,63	-20,14	-21,89	-13,76	-38,37	-1,62	-254,57	-1,17	0,49	661,68
0,00	-167,93	-2,40	-2,40	-10,64	-41,41	-9,46	-17,77	-2,10	-10,42	6,72	-2167,39	1,04	0,64	962,07
0,00	-402,16	-2,35	-8,64	-26,20	-28,08	-29,07	-92,51	-5,66	-23,78	2,60	-709,97	1,55	0,94	1168,14
0,00	-201,54	-11,27	-11,20	-17,45	-21,33	-19,09	-5,44	-28,15	-71,25	2,18	-610,95	-3,28	0,99	28724,62
0,00	-8455,42	-2,44	-5,08	-16,63	-287,15	-15,30	-67,45	-19,50	-200,00	-2,09	-257,01	-6,80	0,57	861,08
0,03	-32,35	-9,16	-11,05	-40,39	-91,51	-26,64	-39,28	-55,55	-115,02	26,99	-316,44	4,21	0,64	1698,45
0,00	-137,65	-9,75	-4,07	-10,81	-28,15	-11,12	-36,63	-16,17	-67,88	2,86	-127,55	-4,18	1,38	1618,00
0,00	-233,85	-8,87	-9,71	-27,08	-289,90	-5,98	-71,48	-6,19	-30,05	2,57	-122,74	-2,38	0,33	2288,20
0,00	-349,74	-24,76	-12,91	-9,38	-13,93	-34,54	-2,85	-261,41	-11,31	2,13	-1217,88	-23,43	0,57	88292,30
0,33	-130,94	-9,47	-46,94	-5,51	-76,79	-10,36	-26,04	-93,24	-309,29	3,62	-178,88	-14,05	2,07	2876,30
0,00	-539,65	-9,89	-6,30	-8,09	-31,04	-17,34	-10,67	-94,74	-181,76	1,11	-238,17	2,44	2,38	20594,91
0,00	-3600,06	-22,22	-9,94	-45,37	-10,01	-129,23	-41,46	-19,21	-29,12	-5,44	-794,45	2,01	0,62	3258,52
0,00	-53,32	-11,21	-7,71	-3,96	-28,97	-6,76	-20,20	-53,69	-24,19	27,35	-248,40	-3,20	3,32	2469,49

HMGA2	miR-144	miR-145	miR-146bm3	miR-155m3	miR-183	miR-199bm2	miR-221m2	miR-31m3	miR-375m4	miR-451am2	miR-551bm2	miR-7m2	miR-21/125b	мтДНК
0,00	-316,80	-2,42	-9,83	-37,46	-96,83	-20,08	-27,62	-28,20	-490,27	2,76	-451,14	-3,57	0,80	5442,30
0,00	-21112,62	-8,61	-4,68	-12,60	-95,39	-20,91	-105,11	-8,85	-65,61	-5,26	-406,14	-8,79	0,59	2076,59
0,02	-1146,67	-8,53	-2,47	-29,72	-51,74	-55,84	-119,70	-28,90	-1178,91	-1,39	-91,34	-5,71	0,47	2179,83

Как видно из Таблиц 3.1 и 3.2, анализ установленных различий в уровне экспрессии микроРНК методом ПЦР в режиме реального времени позволил сформировать в группе 98 наблюдений ФОНЗП две группы исследования, отличающиеся по характеру прогноза течения заболевания: «условно злокачественные» ФОНЗП (1-я группа, 62 наблюдения) и «условно доброкачественные» ФОНЗП (2-я группа, 36 наблюдений). Распределение пациентов с ФОНЗП по группам представлено на графике (Рисунок 3.4). Дальнейшие сравнительные клинико-эпидемиологические, морфологические, морфометрические, гистохимические и иммуногистохимические исследования проводили между этими группами.

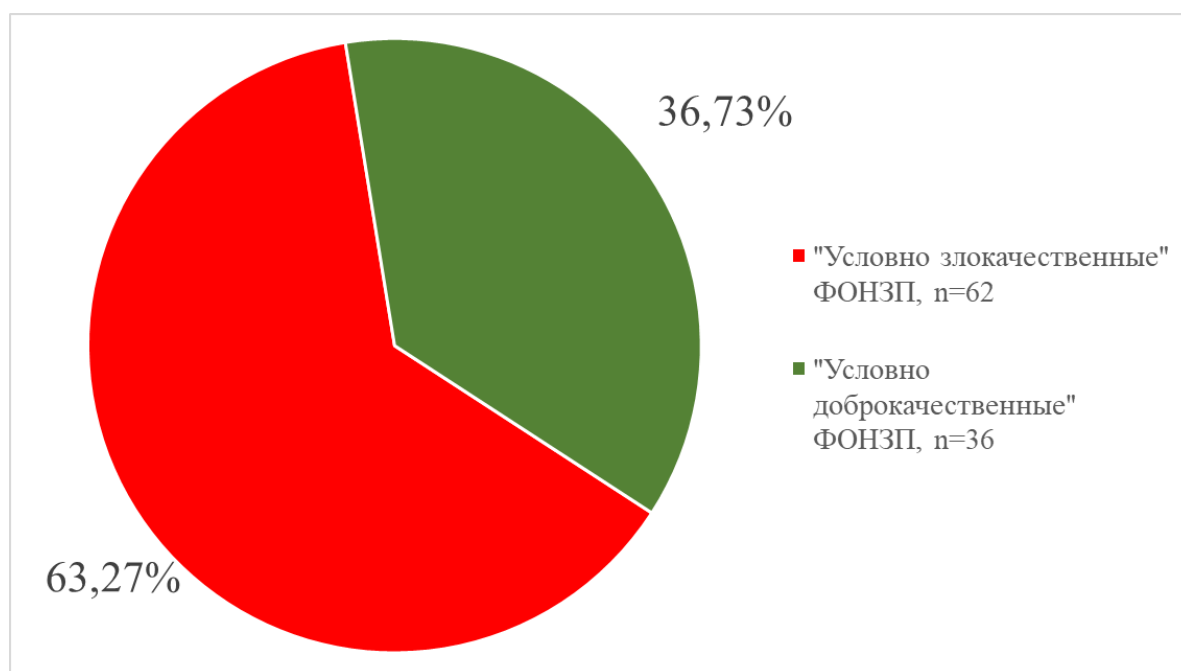


Рисунок 3.4 – Распределение пациентов с ФОНЗП на группы с учётом прогноза течения заболевания

Распределение групп исследования по возрасту и полу представлены на Рисунках 3.5 и 3.6.

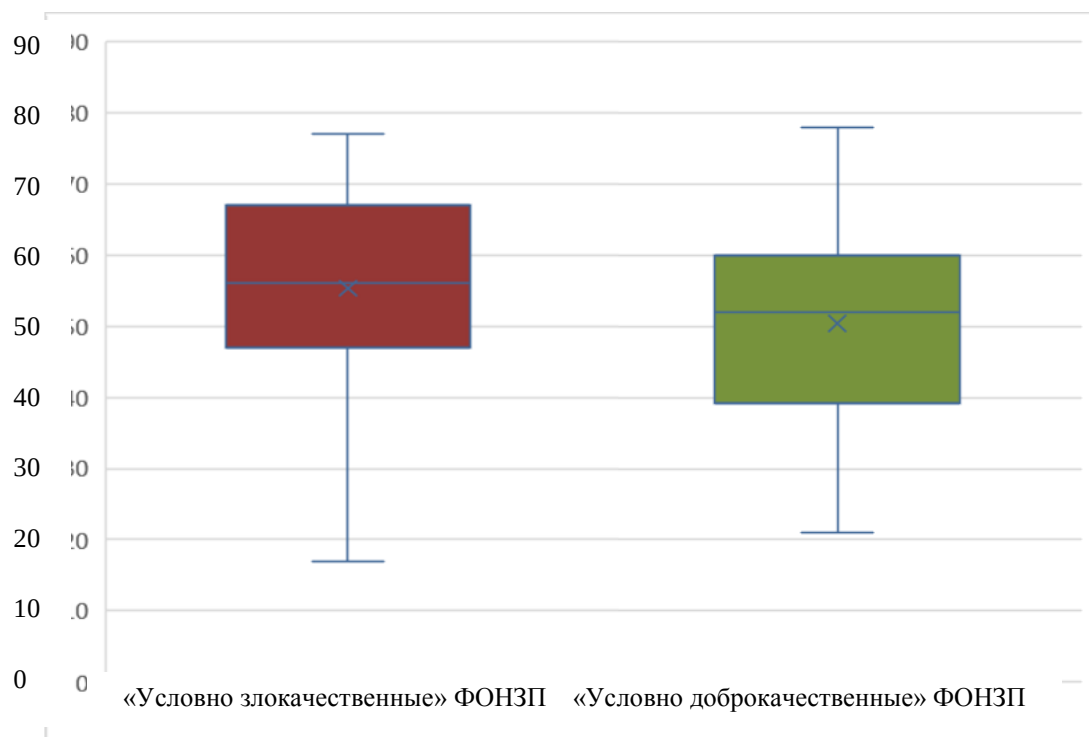


Рисунок 3.5 – Распределение групп исследования по возрасту (полных лет)

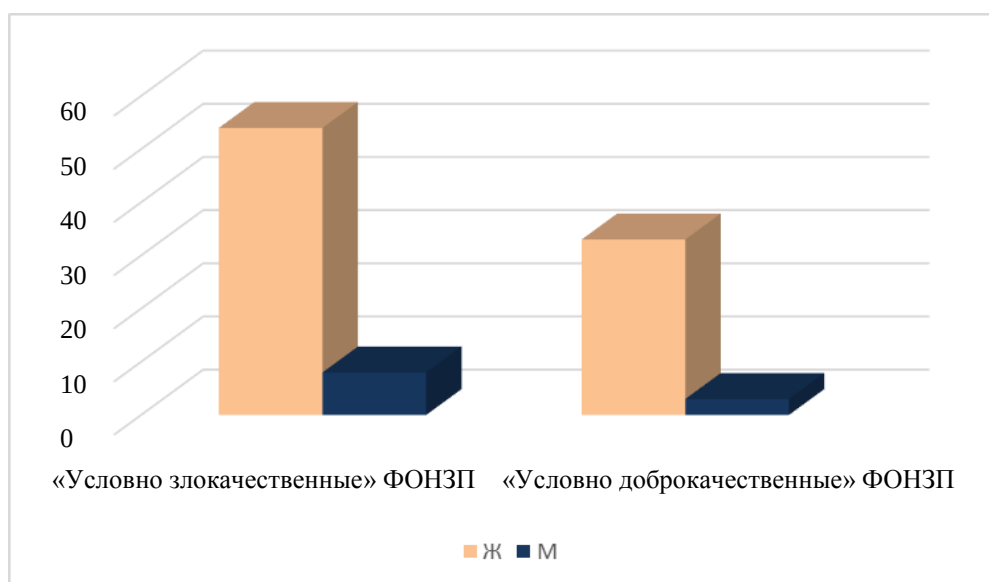


Рисунок 3.6 – Распределение пациентов в группах исследования по полу

Как видно из Рисунков 3.5 и 3.6, в группе «условно злокачественных» ФОНЗП средний возраст пациентов составил 56,0 [47,0; 67,0] лет, что выше средних значений в группе «условно доброкачественных» 52,0 [39,3; 60,0] ($p = 0,091$). Количество женщин в обеих группах преобладало ($p = 0,492$).

На Рисунке 3.7 представлено распределение пациентов сравниваемых контингентов по возрастным группам (ВОЗ).

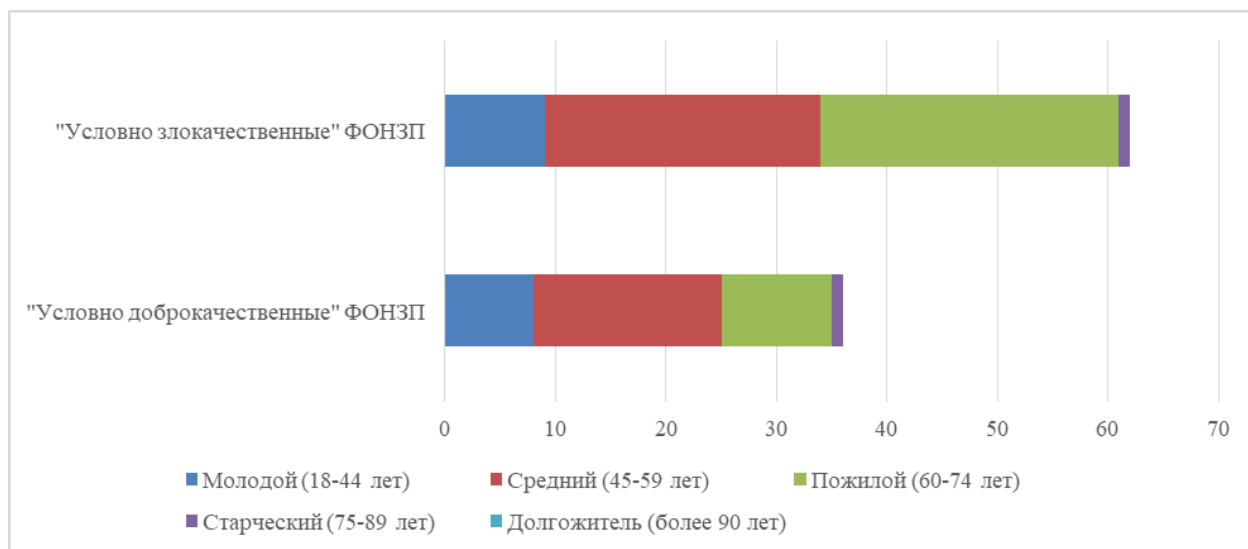


Рисунок 3.7 – Распределение пациентов в группах исследования по возрастным группам

Как видно из Рисунка 3.7, в обеих группах преобладали пациенты среднего и пожилого возрастов ($p = 0,158$).

Сравнительные структурные характеристики опухолевой ткани в группах исследования в зависимости от полученных результатов молекулярно-генетического исследования будут рассмотрены в главе 4.

Материалы данной главы отражены в следующих публикациях:

1. Современные представления о фолликулярной опухоли щитовидной железы неопределённого злокачественного потенциала: обзор литературы и собственные материалы / Е. Л. Казачков, Т. Е. Ильина, С. В. Сергейко,

С. А. Лукьянов, С. Е. Титов // Таврический медико-биологический вестник. – 2022. – Т. 25, № 3. – С. 182–188.

2. Лукьянов, С. А. Посттранскрипционные микро-РНК в диагностике и персонализации лечения больных опухолями щитовидной железы: обзор литературы / С. А. Лукьянов, С. В. Сергейко, Т. Е. Ильина // Пермский медицинский журнал. – 2022. – Т. 29, № 5. – С. 80–92.

3. Казачков, Е. Л. Перспективы использования уровня экспрессии микроРНК и параметров областей ядрышковых организаторов в выборе хирургической тактики при фолликулярной опухоли щитовидной железы неопределенного злокачественного потенциала / Е. Л. Казачков, Т. Е. Ильина, С. В. Сергейко // Эндокринная хирургия. – 2023. – Т. 17, № 3. – С. 4–5.

ГЛАВА 4 СРАВНИТЕЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФОЛЛИКУЛЯРНЫХ ОПУХОЛЕЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НЕОПРЕДЕЛЁННОГО ЗЛОКАЧЕСТВЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА С МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИМ ПРОФИЛЕМ МИКРОРНК, ХАРАКТЕРНЫМ ДЛЯ «УСЛОВНО ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ» И «УСЛОВНО ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫХ» НОВООБРАЗОВАНИЙ

В настоящей главе проведен морфологический и морфометрический анализ 98 случаев ФОНЗП, которые, с учётом профиля микроРНК, были разделены на две группы: 1-я группа (62 наблюдения) – «условно злокачественные» и 2-я группа (36 случаев) – «условно доброкачественные» ФОНЗП.

Выполнено сравнение результатов исследования структурных параметров клеток опухолей соответственно выделенным группам, которые в новообразованиях человека принято считать маркёрами состояния пролиферативной потенции [5; 12; 18; 134]: площадь и периметр опухолевой клетки, площадь и периметр клеточного ядра, наибольший и наименьший размеры ядра и клетки, ядерно-цитоплазматическое соотношение, среднее количество и площадь районов ядрышковых организаторов, процентное соотношение клеток I–III типов по J. Crocker et al. [71]. При анализе соотношения клеток I–III типов учитывали представительство различных их типов в ядрах и цитоплазме опухолевых клеток с вычислением следующих отношений: площадь ядра/среднее количество AgNORs и площадь ядра/средняя площадь AgNORs.

На Рисунке 4.1 изображен поиск программой QuPath границ клеток и ядра внутри заданной аннотации (выделение искомой репрезентативной области).

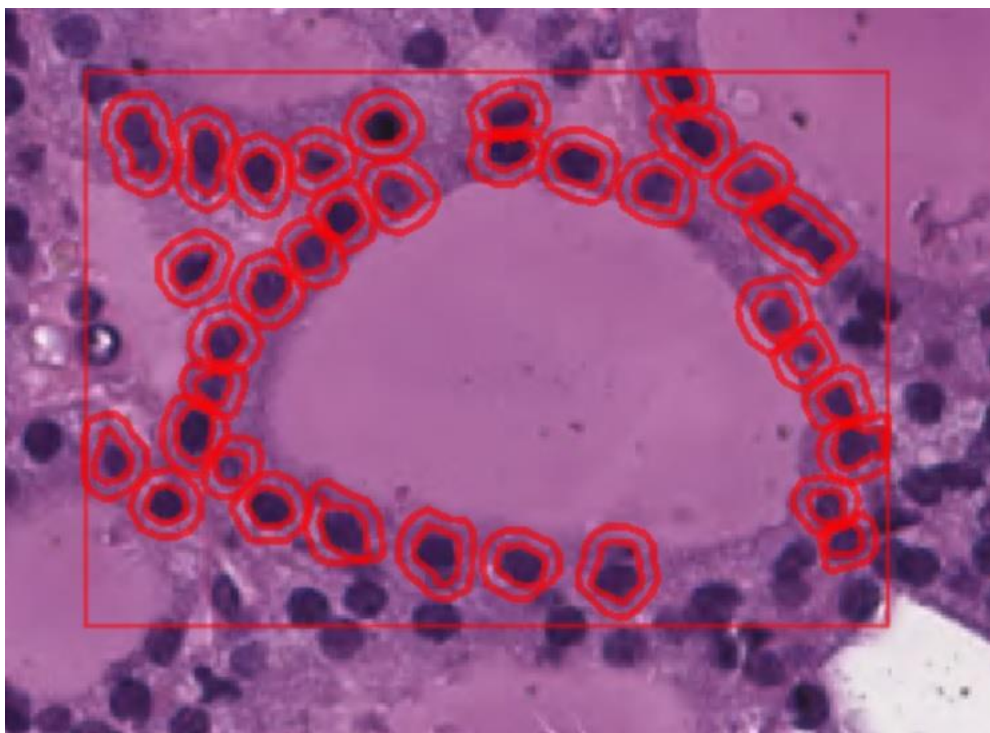


Рисунок 4.1 – Рабочий этап изучения морфометрических показателей опухолевых клеток в ФОНЗП с применением автоматизированного алгоритма подсчета QuPath. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 1\,000$

В основе работы программы лежит анализ цифровых изображений с высоким разрешением, установленными алгоритмами и открытым исходным кодом для возможной разработки индивидуального аналитического метода. На первом этапе выполнения этого раздела морфометрического исследования применялся пакетный скрипт для автоматического определения микроскопических структур (см. Рисунок 4.1). На следующем этапе, при необходимости, проводилась ручная корректировка отдельных элементов изучаемой структуры, после чего программа позволяла извлечь сводную аналитику полученных параметров в виде Таблицы.

На Рисунках 4.2 (А–В) представлены средние значения морфометрических характеристик клетки, их ядер и ядерно-цитоплазматического соотношения в ФОНЗП 1-й и 2-й группы.

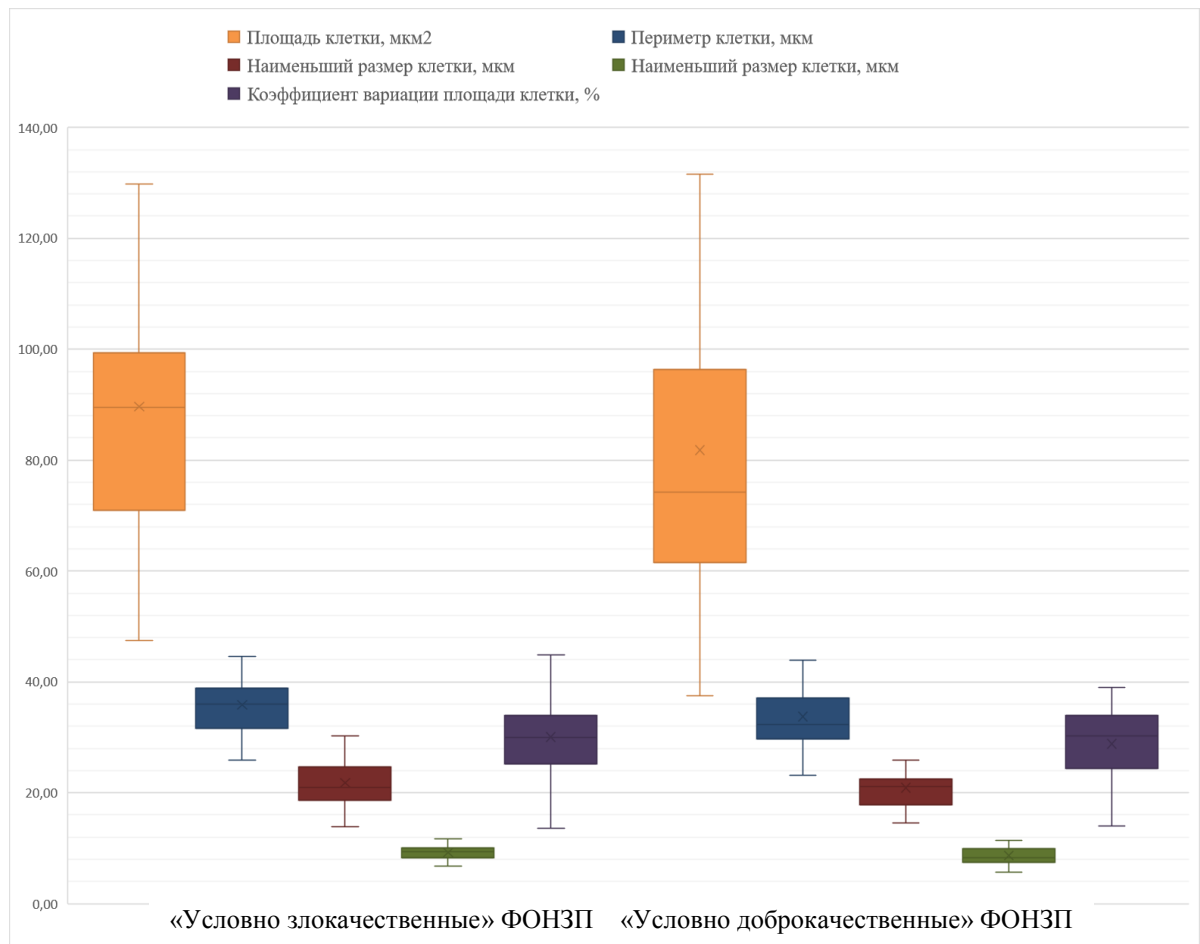


Рисунок 4.2 (А) – Средние значения параметров паренхиматозных клеток ФОНЗП
(площадь, периметр, наибольший и наименьший размеры)
1-й и 2-й группы

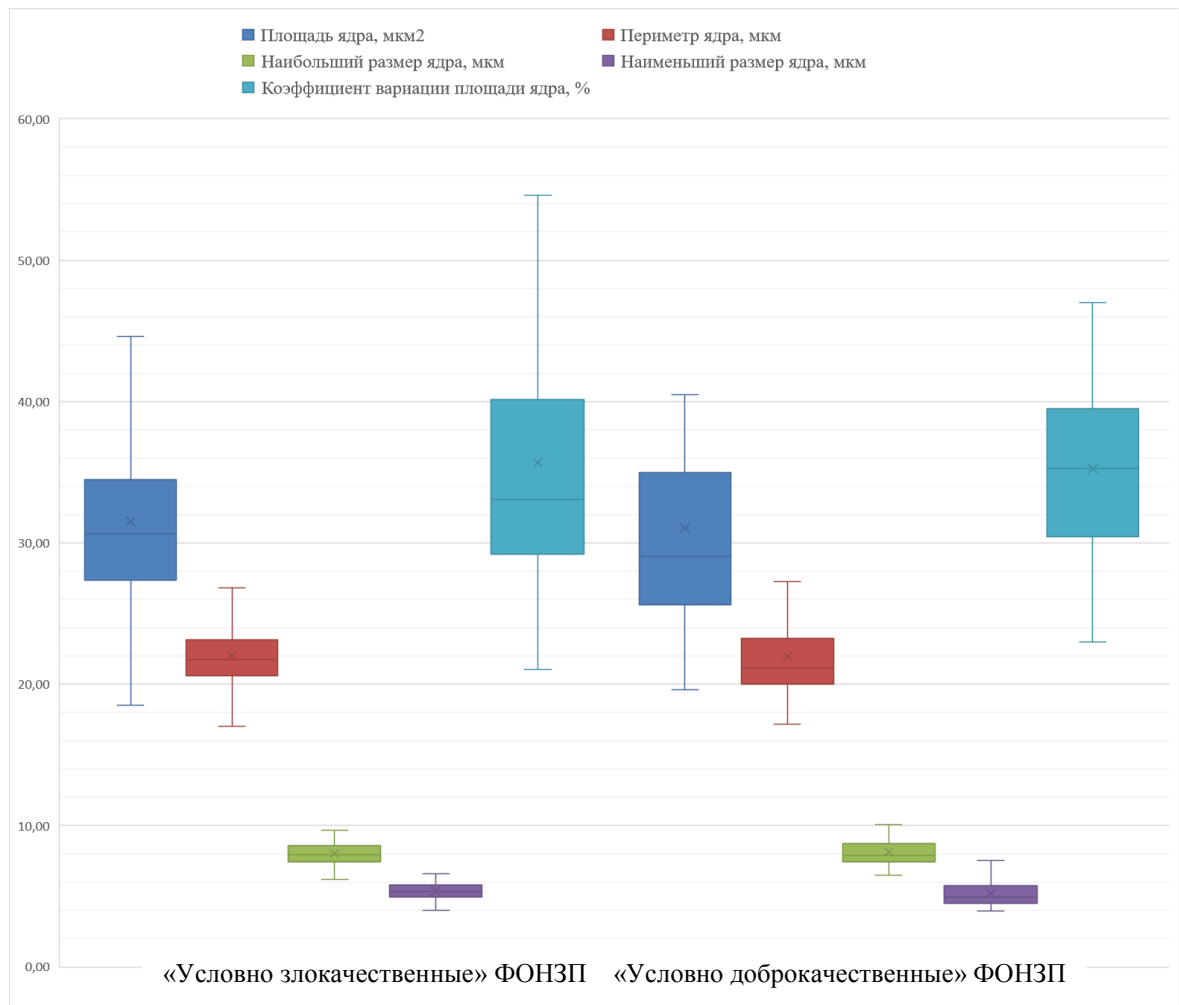


Рисунок 4.2 (Б) – Средние значения параметров ядер опухолевых клеток ФОНЗП
1-й и 2-й группы

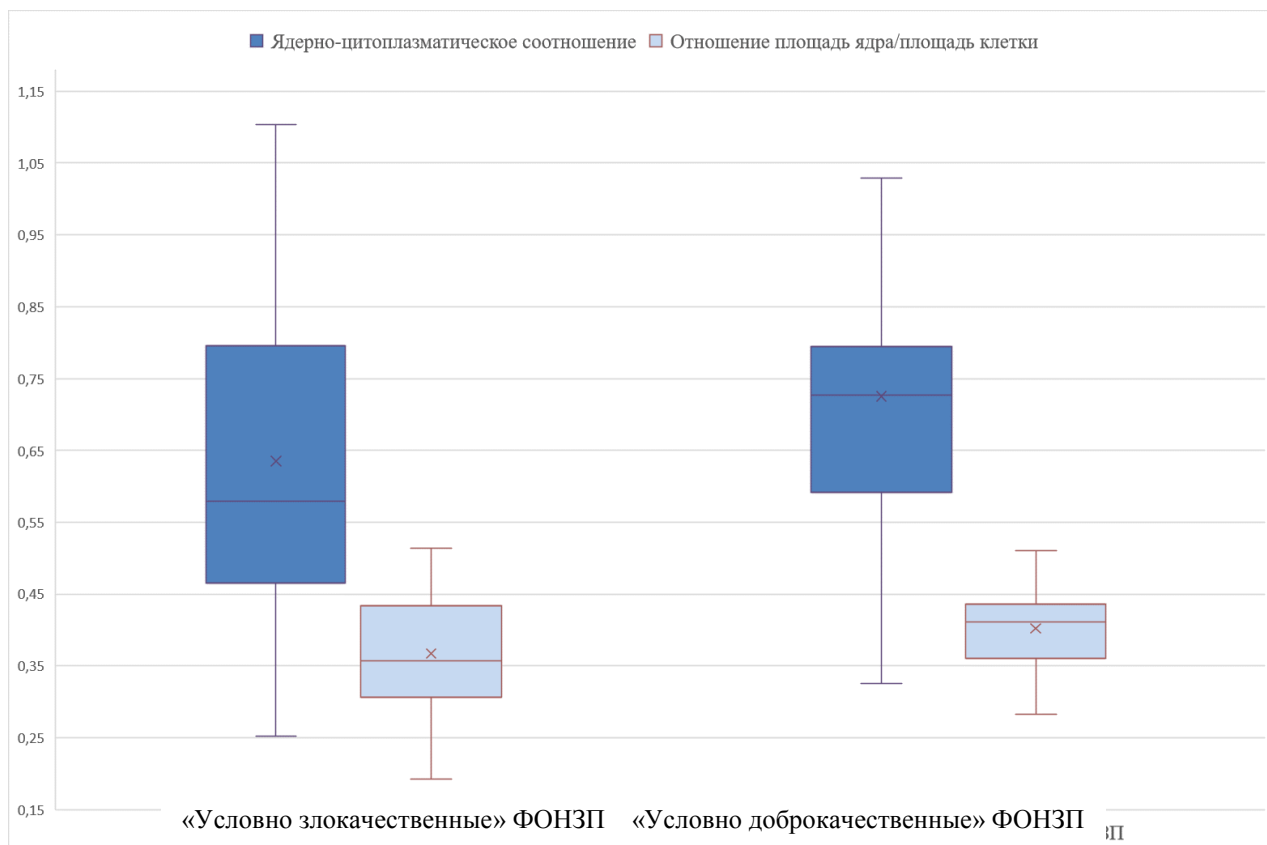


Рисунок 4.2 (В) – Средние значения ядерно-цитоплазматического соотношения и отношения площади ядра к площади цитоплазмы опухолевых клеток ФОНЗП 1-й и 2-й группы

Результаты сравнительного изучения средних значений анализируемых показателей клеток и их ядер ФОНЗП представлены в Таблице 4.1.

Таблица 4.1 – Сравнительная морфометрическая характеристика некоторых количественных параметров «условно злокачественных» (1-я группа) и «условно доброкачественных» (2-я группа) ФОНЗП

Морфометрические показатели	Me [25 %; 75 %]		p
	1-я группа, n = 62	2-я группа, n = 36	
Размер опухоли, мм	28,50 [16,75; 40,00]	22,00 [10,25; 30,00]	0,117
Площадь ядра, мкм ²	30,63 [27,38; 34,45]	29,06 [25,64; 35,00]	0,332
Периметр ядра, мкм	21,77 [20,63; 23,12]	21,13 [20,00; 23,25]	0,555
Наибольший размер ядра, мкм	7,94 [7,46; 8,60]	7,88 [7,44; 8,71]	0,848
Наименьший размер ядра, мкм	5,36 [4,96; 5,77]	5,00 [4,51; 5,77]	0,091
Площадь клетки, мкм ²	89,56 [70,86; 101,47]	74,24 60,45; 97,80]	0,600
Периметр клетки, мкм	36,01 [31,60; 38,93]	32,37 [29,74; 37,14]	0,039*
Наибольший размер клетки, мкм	21,10 [18,73;24,64]	21,08 [19,90;22,42]	0,461
Наименьший размер клетки, мкм	9,34 [8,29; 10,00]	8,30 [7,53; 9,88]	0,042*
Ядерно-цитоплазматическое соотношение	0,58 [0,42; 0,80]	0,70 [0,56; 0,76]	0,133
Коэффициент вариации ядерно-цитоплазматического соотношения, %	25,72 [21,88; 33,90]	23,95 [20,38; 27,77]	0,072
Отношение площадь ядра/площадь клетки	0,36 [0,65; 0,43]	0,42 [0,36; 0,44]	0,040*
Примечание – * – значения p менее 0,05.			

Как видно из Рисунков 4.2 (А–В) и Таблицы 4.1, из всех проанализированных морфометрических параметров были зарегистрированы статистически значимо большие показатели периметра и наименьших размеров опухолевой клетки в группе «условно злокачественных» ФОНЗП, а также меньшие значения отношения площади ядра/площадь клетки. Кроме того, отмечена тенденция к увеличению средних размеров площади ядра, наибольшего и наименьшего размеров ядра и в целом клетки от «условно доброкачественных» к «условно злокачественным» ФОНЗП.

Проведено иммуногистохимическое исследование ФОНЗП для анализа микросателлитной нестабильности (MSI) и оценки экспрессии антигенов системы исправления ошибок репликации (MMR): MLH-1; MSH-2; MSH-6; PMS-2. Установлено, что практически все клетки новообразования в обеих сравниваемых группах в ядерной и цитоплазматической локализации диффузно и равномерно экспрессировали PMS-2, MLH-1, MSH-2, MSH-6 (Рисунок 4.3).

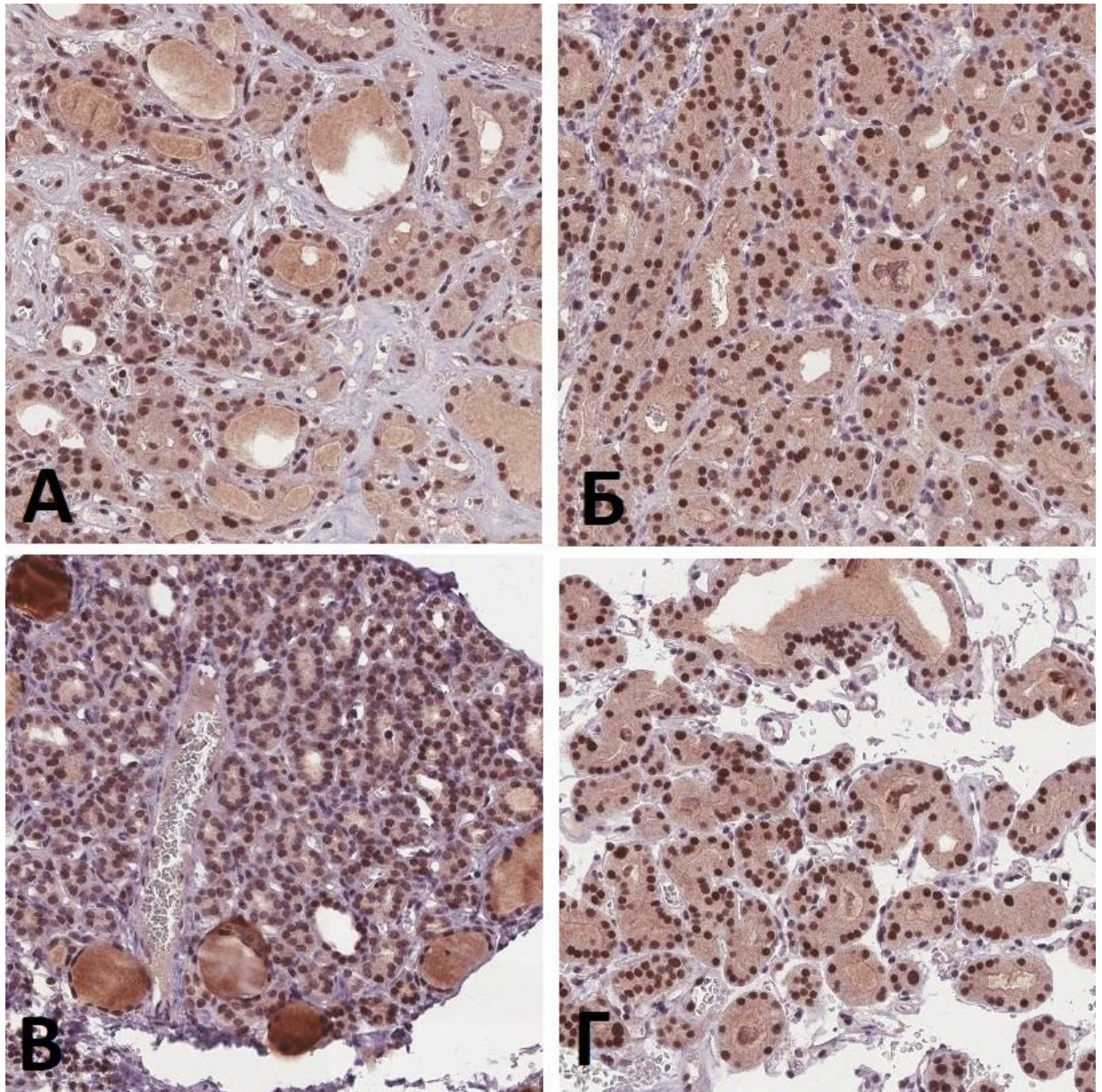


Рисунок 4.3– Диффузная равномерная экспрессия MLH-1, PMS-2, MSH-2, MSH-6 в ядрах и цитоплазме опухолевых клеток ФОНЗП 1-й группы по всей площади новообразования. Иммуногистохимический метод, $\times 100$ с антителами против: PMS-2 (А); MLH-1 (Б); MSH-2 (В); MSH-6 (Г); А-Б – $\times 100$

Как видно из Рисунка 4.3, нарушение стабильности генома из-за дефектов в системе MMR в опухолевых клетках ФОНЗП зарегистрировано не было.

Изучение состояния районов ядрышковых организаторов в клетках ФОНЗП выполнено в 38 образцах опухоли: в 20 наблюдениях 1-й группы и 18 – 2-й

группы. Структурные изменения, выявленные при этом, представлены на Рисунке 4.4.

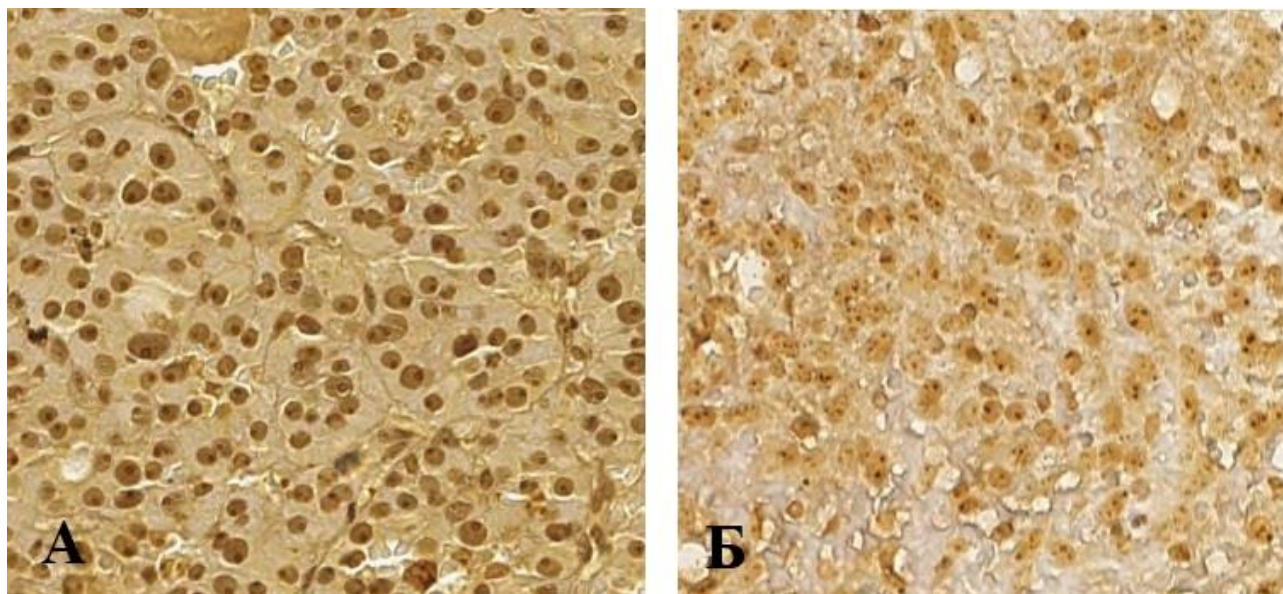


Рисунок 4.4 – Представительство AgNORs в клетках I типа (А) и II типа (Б) с применением автоматизированного алгоритма подсчета QuPath. Окраска – импрегнация 50 % коллоидным раствором серебра; $\times 400$

Как видно из Рисунка 4.4, большинство районов ядрышковых организаторов располагались внутри ядрышек примерно на одинаковом расстоянии друг от друга. При этом в обеих группах выявлены как покоящиеся клетки I типа (все районы ядрышковых организаторов округлой формой, с ровными краями, расположены внутри ядрышек,) (см. Рисунок. 4.4, А), так и клетки II типа с обнаруженными гранулами серебра как внутри, так и вне ядрышек (до 20 % – в ядрах клеток ФОНЗП 1-ой и до 50 % – 2-ой группы) (см. Рисунок 4.4, Б). Клетки III типа со свободно лежащими в ядре депозитами серебра без визуализации четких ядрышек в сравниваемых группах не обнаружены.

Результаты сравнительного изучения количественных параметров районов ядрышковых организаторов в клетках ФОНЗП соответственно группам представлены в Таблице 4.2.

Таблица 4.2 – Сравнительная количественная характеристика районов ядрышковых организаторов в опухолевых клетках «условно злокачественных» (1-я группа) и «условно доброкачественных» (2-я группа) ФОНЗП

Морфометрические показатели	Me [25 %; 75 %]		p=
	1-я группа, n = 20	2-я группа, n = 18	
Количество AgNORs	1,00 [1,00; 2,00]	1,00 [1,00; 1,00]	0,028*
Площадь AgNORs, мкм ²	0,25 [0,21; 0,51]	0,25 [0,20; 0,51]	0,903
Соотношение: площадь ядра, мкм ² / средняя площадь AgNORs, мкм ²	113,11 [70,22; 133,13]	114,50 [63,24; 142,25]	0,114
Соотношение: площадь ядра, мкм ² / среднее количество AgNORs	24,50 [15,66; 29,22]	27,06 [24,81; 29,64]	0,134
Соотношение: площадь AgNORs, мкм ² / количество AgNORs	0,18 [0,13; 0,26]	0,25 [0,20; 0,32]	0,134
Процент клеток I типа по рекомендациям J. Crocker et al.	97,50 [93,50; 97,50]	100,00 [100,00; 100,00]	0,002*
Процент клеток II типа по рекомендациям J. Crocker et al.	2,50 [0,00; 7,00]	00,00 [00,00; 00,00]	0,002*
Примечание – * – значения p менее 0,05.			

Как видно из Таблицы 4.2, при сравнении средних показателей числовых значений ядрышковых организаторов в группе «условно злокачественных» и «условно доброкачественных» ФОНЗП установлены статистически значимые различия. Так, уровень средних значений числа клеток I типа был выше во 2-й группе («условно доброкачественных») ФОНЗП ($p = 0,002$). При этом следует отметить, что клетки II типа обнаружены нами только в образцах с «условно злокачественными» характеристиками ФОНЗП ($p = 0,002$).

Исследование корреляционных взаимосвязей методом подсчета коэффициента ранговой корреляции Спирмена зарегистрировало статистически значимую линейную связь (прямую и обратную) между некоторыми

показателями. Корреляционные матрицы между микроРНК и морфометрическими показателями представлены в Таблице 4.3.

Таблица 4.3 – Корреляционная матрица между уровнем микроРНК и морфометрическими параметрами ФОНЗП

Параметры		miR-145	miR-221m2	miR-31m3	miR-375m4	miR-551bm2	miR-7m2	Площадь ядра, мкм	Периметр ядра, мкм	Наи- меньший размера ядра, мкм	Кол-во AgNORs	Соот- ношение площадь ядра/ среднее кол-во AgNORs	Средняя площадь гранул AgNORs, мкм ²
miR-145	r =	...	0,066	0,337	-0,035	0,159	0,077	0,243	0,22	0,278	0,605	0,333	0,409
	p =	...	0,52	0,001*	0,729	0,119	0,451	0,016*	0,029	0,006*	< 0,001*	0,041*	0,011*
miR-221m2	r =	—	...	0,029	0,382	0,336	-0,246	0,142	0,141	0,063	0,474	0,13	-0,067
	p =	—	...	0,779	< 0,001*	0,001*	0,015*	0,162	0,165	0,539	0,003*	0,437	0,689
miR-31m3	r =	—	—	...	0,365	0,21	-0,107	0,11	0,175	-0,023	0,408	0,035	0,061
	p =	—	—	...	< 0,001*	0,038*	0,295	0,283	0,086	0,824	0,011*	0,834	0,715
miR-375m4	r =	—	—	—	...	0,106	-0,112	0,001	0,004	-0,091	0,436	0,108	-0,08
	p =	—	—	—	...	0,299	0,273	0,992	0,969	0,375	0,006*	0,518	0,632
miR-551bm2	r =	—	—	—	—	...	-0,234	0,102	0,127	-0,008	0,462	0,183	0,069
	p =	—	—	—	—	...	0,020*	0,316	0,213	0,941	0,003*	0,272	0,679
miR-7m2	r =	—	—	—	—	—	...	-0,059	-0,128	-0,036	-0,39	0,227	0,086
	p =	—	—	—	—	—	...	0,567	0,209	0,723	0,015*	0,171	0,606
Площадь	r =	—	—	—	—	—	—	...	0,925	0,908	0,266	0,224	0,129

Параметры		miR-145	miR-221m2	miR-31m3	miR-375m4	miR-551bm2	miR-7m2	Площадь ядра, мкм	Периметр ядра, мкм	Наи- меньший размера ядра, мкм	Кол-во AgNORs	Соот- ношение площадь ядра/ среднее кол-во AgNORs	Средняя площадь гранул AgNORs, мкм ²
ядра, мкм	p =	—	—	—	—	—	—	...	< 0,001*	< 0,001*	0,106	0,177	0,44
Периметр	r =	—	—	—	—	—	—	—	...	0,781	0,282	0,151	0,187
ядра, мкм	p =	—	—	—	—	—	—	—	...	< 0,001*	0,086	0,366	0,26
Наи- меньший размера ядра, мкм	r =	—	—	—	—	—	—	—	—	...	0,256	0,163	0,115
	p =	—	—	—	—	—	—	—	—	...	0,121	0,328	0,492
Кол-во AgNORs	r =	—	—	—	—	—	—	—	—	—	...	0,206	0,252
	p =	—	—	—	—	—	—	—	—	—	...	0,216	0,127
Соотноше- ние площадь ядра/сред. кол-во AgNORs	r =	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	...	0,522
	p =	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	...	0,001*

Параметры		miR-145	miR-221m2	miR-31m3	miR-375m4	miR-551bm2	miR-7m2	Площадь ядра, мкм	Периметр ядра, мкм	Наи- меньший размера ядра, мкм	Кол-во AgNORs	Соот- ношение площадь ядра/ среднее кол-во AgNORs	Средняя площадь гранул AgNORs, мкм ²
Средняя площадь гранул AgNORs, мкм ²	r =	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	...
	p =	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	...
Примечание – r – коэффициент корреляции; * – значения p менее 0,05.													

Как следует из Таблицы 4.3, имеется прямая слабая корреляционная связь (0,1–0,3 по шкале Чеддока) между такими показателями, как уровни экспрессии микроРНК-551- и -31, между уровнем экспрессии микроРНК-145 и площадью с наименьшим размером ядра опухолевых клеток. Обнаружена также обратная слабая связь между уровнями экспрессии микроРНК -7 и 221, -7 и -551.

Отмечена умеренная прямая корреляционная связь (0,3–0,5 по шкале Чеддока) между уровнями экспрессии микроРНК -31 и -145, -375 и -221, -375 и -31, -551 и -221, -551 и -31, а также между количеством районов ядрышковых организаторов и уровнями экспрессии микроРНК (-145, -221, -31-, 375, -551, -7).

Установлена сильная прямая корреляционная связь (0,7–0,9 по шкале Чеддока) между такими показателями, как наименьший размер ядра и площадь ядра, а также весьма высокая (0,9–1,0 по шкале Чеддока) между наименьшим размером и периметром ядра клеток ФОНЗП.

Нами проведен сравнительный анализ морфометрических показателей в 1-й, 2-й группах наблюдений ФОНЗП с одноимёнными параметрами опухолей групп сравнения (1-я группа сравнения – аденомы щитовидной железы, 2-я группа сравнения – папиллярная карцинома щитовидной железы).

Результаты проведенного анализа представлены в Таблице 4.4.

Таблица 4.4 – Сравнительная характеристика средних морфометрических показателей в 1-й и 2-й группах ФОНЗП и одноимённых параметров групп сравнения (аденома, папиллярная карцинома щитовидной железы)

Морфометрические показатели	Me [25 %; 75 %]					p
	1-я подгруппа основной группы,	2-я подгруппа основной группы,	1-я группа сравнения (аденома щитовидной железы)	2-я группа сравнения (папиллярная карцинома щитовидной железы)	3-я группа сравнения (норм. ткань щитовидной железы)	
	n = 62	n = 36	n = 20	n = 20	n=15	
Площадь ядра, мкм ²	30,63 [27,38;34,45]	29,06 [25,64;35,00]	28,04 [24,12;30,42]	36,97 [33,30;40,80]	21,01 [21,02;25,19]	$p^1/p^2 = 0,332$
						$p^1/p^3 = 0,012$
						$p^1/p^4 = 0,006^*$
						$p^2/p^3 = 0,166$
						$p^2/p^4 = 0,006^*$
						$p^1/p^5 < 0,001^*$
						$p^2/p^5 = 0,001^*$
Периметр ядра, мкм	21,77 [20,63;23,12]	21,13 [20,00;23,25]	20,6 [19,51;21,21]	24,87 [23,00;25,84]	19,3 [17,43;20,25]	$p^1/p^2 = 0,555$
						$p^1/p^3 = 0,002^*$
						$p^1/p^4 < 0,001^*$
						$p^2/p^3 = 0,045^*$
						$p^2/p^4 < 0,001^*$
						$p^1/p^5 = 0,001^*$
						$p^2/p^5 = 0,005^*$
Наибольший размер ядра, мкм	7,94 [7,46;8,60]	7,88 [7,44;8,71]	7,54 [7,31;7,78]	9,15 [8,45;9,51]	7,02 [6,71;8,30]	$p^1/p^2 = 0,848$
						$p^1/p^3 = 0,008^*$
						$p^1/p^4 < 0,001^*$
						$p^2/p^3 = 0,017$
						$p^2/p^4 = 0,001^*$
						$p^1/p^5 = 0,024$

Морфометрические показатели	Me [25 %; 75 %]					p
	1-я подгруппа основной группы,	2-я подгруппа основной группы,	1-я группа сравнения (аденома щитовидной железы)	2-я группа сравнения (папиллярная карцинома щитовидной железы)	3-я группа сравнения (норм. ткань щитовидной железы)	
	n = 62	n = 36	n = 20	n = 20	n=15	
						$p^2/p^5=0,023$
Наименьший размер ядра, мкм	5,36 [4,96;5,77]	5,00 [4,51;5,77]	5,17 [4,49;5,37]	5,85 [5,18;6,18]	4,49 [3,70;4,55]	$p^1/p^2= 0,091$
						$p^1/p^3=0,038$
						$p^1/p^4=0,053$
						$p^2/p^3=0,620$
						$p^2/p^4=0,023$
						$p^1/p^5 < 0,001^*$
						$p^2/p^5= 0,005^*$
Площадь клетки, мкм ²	89,56 [70,86; 101,47]	74,24 [60,45;97,80]	77,36 [61,97;87,80]	106,6 [97,58; 111,86]	58,05 [53,30; 63,59]	$p^1/p^2= 0,060$
						$p^1/p^3=0,038^*$
						$p^1/p^4=0,009^*$
						$p^2/p^3=0,905$
						$p^2/p^4<0,001^*$
						$p^1/p^5 < 0,001^*$
						$p^2/p^5= 0,009^*$
Периметр клетки, мкм ²	36,01 [31,60;38,93]	32,37 [29,74;37,14]	33,54 [29,93;35,68]	40,05 [38,22;41,34]	29,00 [27,41; 30,16]	$p^1/p^2= 0,039^*$
						$p^1/p^3=0,075$
						$p^1/p^4=0,005^*$
						$p^2/p^3=0,905$
						$p^2/p^4<0,001^*$
						$p^1/p^5 < 0,001^*$
						$p^2/p^5= 0,011^*$

Морфометрические показатели	Me [25 %; 75 %]					p
	1-я подгруппа основной группы,	2-я подгруппа основной группы,	1-я группа сравнения (аденома щитовидной железы)	2-я группа сравнения (папиллярная карцинома щитовидной железы)	3-я группа сравнения (норм. ткань щитовидной железы)	
	n = 62	n = 36	n = 20	n = 20	n=15	
Наибольший размер клетки, мкм	20,99 [18,73;24,64]	21,08 [17,90;22,42]	11,9 [10,73;12,87]	14,43 [13,60;14,77]	10,26 [9,82;11,31]	$p^1/p^2 = 0,461$
						$p^1/p^3 < 0,001^*$
						$p^1/p^4 < 0,001^*$
						$p^2/p^3 < 0,001^*$
						$p^2/p^4 < 0,001^*$
						$p^1/p^5 < 0,001^*$
						$p^2/p^5 < 0,001^*$
Наименьший размер клетки, мкм	9,34 [8,29;10,00]	8,30 [7,53;9,88]	8,57 [7,64;9,20]	10,06 [9,50;10,62]	7,58 [6,77;7,69]	$p^1/p^2 = 0,042$
						$p^1/p^3 = 0,030$
						$p^1/p^4 = 0,019$
						$p^2/p^3 = 0,986$
						$p^2/p^4 = 0,001^*$
						$p^1/p^5 < 0,001^*$
						$p^2/p^5 = 0,019$
Ядерно-цитоплазматическое соотношение	0,58 [0,45;0,80]	0,70 [0,56;0,76]	0,61 [0,53;0,66]	0,54 [0,46;0,60]	0,65 [0,57;0,72]	$p^1/p^2 = 0,133$
						$p^1/p^3 = 0,821$
						$p^1/p^4 = 0,157$
						$p^2/p^3 = 0,021^*$
						$p^2/p^4 < 0,001^*$
						$p^1/p^5 = 0,971$
						$p^2/p^5 = 0,073$

Морфометрические показатели	Me [25 %; 75 %]					p
	1-я подгруппа основной группы,	2-я подгруппа основной группы,	1-я группа сравнения (аденома щитовидной железы)	2-я группа сравнения (папиллярная карцинома щитовидной железы)	3-я группа сравнения (норм. ткань щитовид-ной железы)	
	n = 62	n = 36	n = 20	n = 20	n=15	
Отношение площадь ядра/площадь клетки	0,36 [0,31;0,43]	0,41 [0,36;0,44]	0,36 [0,34;0,40]	0,36 [0,34;0,38]	0,38 [0,37;0,40]	p ¹ /p ² = 0,040*
						p ¹ /p ³ =0,987
						p ¹ /p ⁴ =0,650
						p ² /p ³ =0,013
						p ² /p ⁴ =0,001*
						p ¹ /p ⁵ = 0,810
						p ² /p ⁵ = 0,078
Примечание – * значения p менее 0,05 (с учетом поправки Бонферрони).						

Как видно из Таблицы 4.4, площадь и периметр ядра и клетки увеличивается от нормальной ткани щитовидной железы к доброкачественным новообразованиям (аденома, «условно доброкачественные» ФОНЗП) и далее к злокачественным новообразованиям («условно злокачественные» ФОНЗП, карцинома). Наибольшие и наименьшие размеры ядра и клетки аналогичным образом в среднем меньше в неопухолевой ткани щитовидной железы, большие – в новообразованиях.

Увеличение некоторых абсолютных показателей (площадь и периметр ядра, площадь и периметр клетки, наибольший размер ядра) регистрируется в следующем порядке изученных образцов: нормальная неопухолевая ткань щитовидной железы → аденома → «условно доброкачественные» ФОНЗП → «условно злокачественные» ФОНЗП → карцинома. Полученные результаты указывает на возможность использования этих характеристик в процессе дифференциальной диагностики ФОНЗП с доброкачественными и

злокачественными фолликулярно-клеточными неоплазиями соответственно (аденомами и карциномами). При этом большие размеры будут указывать на высокую вероятность злокачественного потенциала, меньшие – доброкачественного.

Проведенным анализом полученных результатов установлено, что при регистрации гистологических критериев ФОНЗП для уточнения вероятности злокачественности можно использовать такие показатели, как периметр клетки («условно злокачественные» ФОНЗП > «условно доброкачественные» ФОНЗП, ($p = 0,039$), наименьший размер клетки («условно злокачественные» ФОНЗП > «условно доброкачественные» ФОНЗП, ($p = 0,042$), отношение площадь ядра/площадь клетки («условно доброкачественные» ФОНЗП > «условно злокачественные» ФОНЗП, ($p = 0,040$)).

Таким образом, при комплексном морфологическом изучении характеристики опухолевых клеток ФОНЗП установлено, что в целом в группе «условно злокачественных» ФОНЗП клетки и ядра крупнее. Однако ядерно-цитоплазматическое соотношение и отношение площадь ядра/площадь клетки при этом больше в группе «условно доброкачественных» ФОНЗП ввиду того, что площадь ядер в группах различается незначительно ($0,64 \text{ мкм}^2$, $p = 0,555$), как и площадь клетки в целом ($15,32 \text{ мкм}^2$, $p = 0,060$).

В обеих группах исследования отмечено преобладание клеток I типа, что установлено с учётом рекомендаций J. Crocker et al [71]. Однако в группе «условно злокачественных» ФОНЗП регистрируется появление клеток II типа по J. Crocker et al. ($p = 0,002$) в совокупности с увеличением среднего количества AgNORs ($p = 0,028$).

Полученные данные в совокупности отражают процессы онкогенеза в ткани щитовидной железы.

Оценка возможности использования полученных результатов на дооперационном этапе обследования пациентов с целью персонализации тактики ведения пациентов будут рассмотрены в главе 5.

Материалы данной главы отражены в следующих публикациях:

1. Современные представления о фолликулярной опухоли щитовидной железы неопределённого злокачественного потенциала: обзор литературы и собственные материалы / Е. Л. Казачков, Т. Е. Ильина, С. В. Сергийко, С. А. Лукьянов, С. Е. Титов // Таврический медико-биологический вестник. – 2022. – Т. 25, № 3. – С. 182–188.
2. Лукьянов, С. А. Постранскрипционные микро-РНК в диагностике и персонализации лечения больных опухолями щитовидной железы: обзор литературы / С. А. Лукьянов, С. В. Сергийко, Т. Е. Ильина // Пермский медицинский журнал. – 2022. – Т. 29, № 5. – С. 80–92.
3. Казачков, Е. Л. Перспективы использования уровня экспрессии микроРНК и параметров областей ядрышковых организаторов в выборе хирургической тактики при фолликулярной опухоли щитовидной железы неопределённого злокачественного потенциала / Е. Л. Казачков, Т. Е. Ильина, С. В. Сергийко // Эндокринная хирургия. – 2023. – Т. 17, № 3. – С. 4–5.
4. Казачков, Е. Л. Предиктивная оценка уровня экспрессии микро-РНК и количества районов ядрышковых организаторов при фолликулярной опухоли щитовидной железы неопределённого злокачественного потенциала / Е. Л. Казачков, Т. Е. Ильина, С. В. Сергийко // Уральский медицинский журнал. – 2023. – Т. 22, № 2. – С. 74–83.

ГЛАВА 5 АЛГОРИТМ ОБОСНОВАНИЯ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ ЛЕЧЕБНОЙ ТАКТИКИ И ПОКАЗАНИЙ К ХИРУРГИЧЕСКОМУ ЛЕЧЕНИЮ ПАЦИЕНТОВ С ФОЛЛИКУЛЯРНОЙ ОПУХОЛЬЮ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НЕОПРЕДЕЛЕННОГО ЗЛОКАЧЕСТВЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА. ВОЗМОЖНОСТИ ДООПЕРАЦИОННОГО ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА ФОЛЛИКУЛЯРНЫХ ОПУХОЛЕЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

5.1 Выявление предиктивно значимых морфологических показателей в ретроспективной группе исследования

Данные, полученные при сравнительном анализе морфологических характеристик ФОНЗП соответственно группам исследования, были использованы для построения предиктивной модели злокачественного потенциала ФОНЗП в зависимости от морфометрических показателей опухолевых клеток (модель 1) и среднего количества аргентофильных гранул AgNORs (модель 2) с помощью метода логистического регрессионного анализа.

Модель 1.

Переменная отклика – злокачественный потенциал опухоли, предикторная переменная – средние значения отношение площадь ядра/площадь клетки опухолевых элементов. Уравнение простой логистической регрессии:

$$P = 1 / (1 + e^{-\text{logit}P}), \quad (1)$$

где $\text{logit}P = 3,023 - 6,446 \times X1$,

P – вероятность исхода;

$X1$ – предикторная переменная (отношение площадь ядра/площадь клетки опухолевых элементов).

Если ($p > 0,63$), то модель предсказывает злокачественность. Доля правильно спрогнозированных результатов составила 62,2 %.

Отчет о регрессионной модели представлен в Таблице 5.1.

Таблица 5.1 – Табличный отчет о простой логистической регрессионной модели, анализирующей взаимосвязь между вероятностью злокачественности узлового новообразования щитовидной железы и средним значением отношения площадь ядра/площадь клетки в опухолевых элементах

Переменная	Коэффициент	Стандартная ошибка	Статистика критерия Вальда	Р-значение	ОШ и 95 % ДИ
Константа	3,023	1,190	—	—	—
Отношение площадь ядра/площадь клетки (X1)	–6,446	3,012	4,582	0,032*	0,002 [0,001-0,581]
Примечания: 1. * – значение р менее 0,05. 2. ДИ – доверительный интервал; ОШ – отношение шансов. 3. Чувствительность 61,3 %; специфичность 63,9 %; разделяющее значение 0,63. 4. AUC = 0,625 [0,513; 0,736].					

Как видно из Таблицы 5.1, если значение предиктора увеличивается на 0,01, то вероятность злокачественности уменьшается на 6,3 %.

Модель 2.

Переменная отклика – злокачественный потенциал опухоли, предикторная переменная – среднее количество гранул AgNORs.

Уравнение простой логистической регрессии:

$$P = 1 / (1 + e^{-\text{logit}P}), \quad (2)$$

где $\text{logit}P = -2,088 + 1,731 \times X$

P – вероятность исхода;

X – предикторная переменная (среднее количество гранул AgNORs).

Если ($p < 1,73$), то модель предсказывает злокачественность. Доля правильно спрогнозированных результатов составила 63,2 %.

Отчет о регрессионной модели представлен в Таблице 5.2.

Таблица 5.2 – Табличный отчет о простой логистической регрессионной модели, анализирующей взаимосвязь между вероятностью злокачественности узлового новообразования щитовидной железы и средним количеством гранул AgNORs

Переменная	Коэффициент	Стандартная ошибка	Статистика критерия Вальда	P-значения	ОШ и 95 % ДИ
Константа	-2,088	1,077	—	—	—
Среднее количество гранул AgNORs	1,731	0,882	3,850	0,050*	5,65 [1,002-31,842]
Примечания: 1. * – значение p менее 0,05. 2. ДИ – доверительный интервал; ОШ – отношение шансов. 3. Чувствительность 40,0 %; специфичность 88,9 %; разделяющее значение 1,73. 4. AUC = 0,661 [0,487; 0,835].					

Как видно из Таблицы 5.2, если значение предиктора увеличивается на 0,01, то вероятность злокачественности увеличивается на 17,3 %.

С помощью метода бинарной логистической регрессии исследовалась зависимость дихотомической переменной (вероятность злокачественного потенциала) от независимой переменной [19]. Как видно из Таблицы 5.1 и Таблицы 5.2, полученные модели можно использовать в качестве диагностического теста, результатом которого будет значение в интервале от 0 до 1, причем, значение близкое к 0 будет указывать на малую вероятность наступления интересующего нас исхода (злокачественного потенциала), а значение близкое к 1 – на высокую вероятность [13].

Анализ диагностической ценности морфометрических показателей опухолевых клеток представлен на Рисунке 5.1 и в Таблице 5.3.

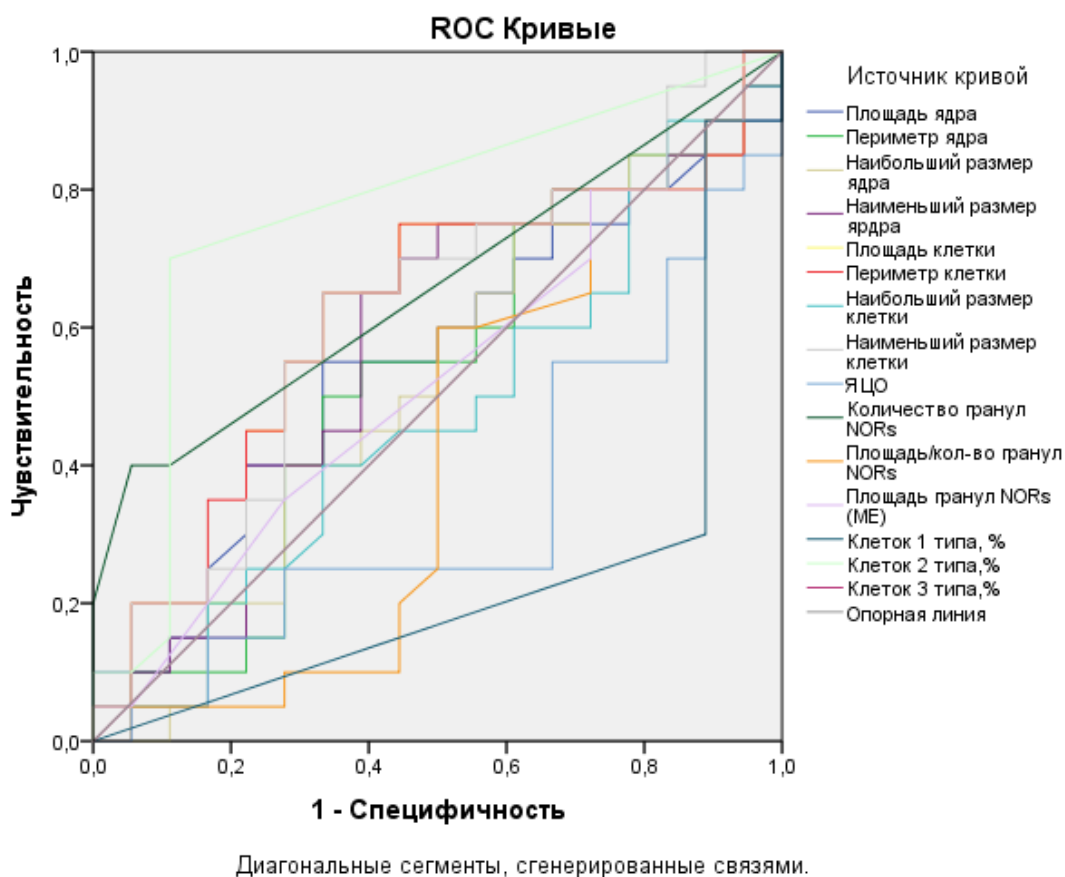


Рисунок 5.1 – ROC-кривая прогностической ценности анализируемых показателей опухолевых клеток

Таблица 5.3 – Расчёт площади под ROC анализируемых показателей опухолевых клеток

Показатель	Площадь под кривой	Стандартная ошибка	p	Нижняя граница 95 % ДИ	Верхняя граница 95 % ДИ
Площадь ядра	0,553	0,095	0,579	0,367	0,739
Периметр ядра	0,528	0,096	0,770	0,339	0,717
Наибольший размер ядра	0,519	0,096	0,838	0,331	0,708

Показатель	Площадь под кривой	Стандартная ошибка	p	Нижняя граница 95 % ДИ	Верхняя граница 95 % ДИ
Наименьший размер ядра	0,572	0,096	0,447	0,384	0,760
Площадь клетки	0,606	0,095	0,267	0,419	0,792
Периметр клетки	0,617	0,094	0,219	0,432	0,801
Наибольший размер клетки	0,472	0,095	0,770	0,285	0,659
Наименьший размер клетки	0,617	0,093	0,219	0,434	0,800
ЯЦО	0,342	0,090	0,096	0,165	0,519
Количество гранул NORs	0,661	0,089	0,090	0,487	0,835
Площадь/кол-во гранул NORs	0,419	0,098	0,397	0,228	0,611
Площадь гранул NORs (Me)	0,519	0,095	0,838	0,333	0,706
Клеток I типа, %	0,233	0,083	0,005*	0,071	0,396
Клеток II типа, %	0,768	0,082	0,005*	0,607	0,930
Клеток III типа, %	0,500	0,095	1,000	0,314	0,686
Примечание – * – значения p менее 0,05; ДИ – доверительный интервал; ЯЦО – ядерно-цитоплазматическое соотношение.					

Как видно из Рисунка 5.1 и Таблицы 5.3, ROC-кривая показателя «процент клеток II типа по рекомендациям J. Crocker et al., максимально изогнута, показатель AUC равен 0,768, что указывает на целесообразность использования данного критерия в разработке персонализированного подхода на основе морфологических характеристик. Таким образом, результаты проведенного ROC-анализа в группе исследования было показано, что наиболее диагностически важными характеристиками опухолевых клеток, позволяющих судить о потенциале злокачественности новообразования, явился такие показатели, как

процент клеток I и II типа по рекомендациям J. Crocker et al. [71]. Чувствительность определения процента клеток I типа 70,0 %, специфичность 88,9 % при пороговом значении показателя 99,50. Чувствительность определения процента клеток II типа 70,0 %, специфичность 88,9 % при пороговом значении показателя 0,50.

5.2 Оценка возможности экстраполяции полученных результатов на проспективную группу исследования

Для оценки эффективности предложенных моделей была сформирована проспективная группа пациентов. В эту группу исследования вошли 30 человек, которые проходили амбулаторное обследование в 2023 г. по поводу узлового образования щитовидной железы (средний наибольший размер узла 20,0 [17,0; 40,0] мм) с цитологическим заключением тонкоигольной аспирационной биопсии «IV категория по Bethesda». Данным пациентам проведена трепанобиопсия узлового новообразования щитовидной железы под ультразвуковым контролем с комплексным морфологическим исследованием операционного материала (изучение морфометрических характеристик опухолевого узла и представительства AgNORs), в дальнейшем все пациенты группы были прооперированы с учетом требований действующих клинических рекомендаций с последующей оценкой эффективности и работоспособности предложенного метода диагностики).

По данным рутинного микроскопического исследования трепано-биоптатов щитовидной железы, в 6 случаях не вызывал сомнений диагноз папиллярного рака щитовидной железы (зарегистрированы изменения ядер, характерные для папиллярной карциномы, nucleus score 2–3). В остальных случаях окончательный морфологический диагноз с учетом ограничения метода установить было крайне затруднительно, поэтому для уточнения потенциала злокачественности были использованы дополнительные методики, продемонстрировавшие наибольшую диагностическую ценность при изучении ретроспективной группы исследования.

Изучение морфометрических показателей и районов ядрышковых организаторов проводилось по тому же плану, что и в ретроспективных группах. По результатам комплексного морфологического исследования пациенты были разделены на две группы: в 9/30 случаях (30,0 %) были зарегистрированы микроскопические признаки злокачественности процесса – эти пациенты имели абсолютные показания к хирургическому лечению, а в 21/30 случае (70,0 %) данные признаки выявлены не были – эти пациенты, предположительно, не имели показаний к хирургическому лечению. Дальнейшее сравнение показателей проводилось между этими сформированными группами: группа № 1 (не выявлены морфологические предикторы злокачественности), группа № 2 (выявлены морфологические предикторы злокачественности) (Таблица 5.4).

Таблица 5.4 – Характеристика морфометрических показателей опухолевых клеток в биопсийном материале проспективной группы пациентов

Морфометрические показатели	Me [25%;75%]		p
	1-я группа (не выявлены предикторы злокачественности), n = 21	2-я группа (выявлены предикторы), n = 9	
Площадь ядра, мкм ²	26,08 [23,17; 35,11]	28,87 [23,17; 32,22]	0,751
Периметр ядра, мкм	20,55 [19,39; 23,08]	22,88 [20,53; 24,00]	0,129
Наибольший размер ядра, мкм	7,71 [7,25; 8,69]	8,57 [7,09; 9,07]	0,067
Наименьший размер ядра, мкм	7,71[7,25; 8,69]	4,68 [4,19; 5,31]	0,603
Площадь клетки, мкм ²	84,83 [62,67; 117,42]	99,01 [81,66; 108,75]	0,309
Периметр клетки, мкм ²	35,62 [30,23; 41,24]	40,11 [35,04; 40,71]	0,309
Наибольший размер клетки, мкм	12,94 [10,85; 14,85]	14,36 [12,77; 14,84]	0,213
Наименьший размер клетки, мкм	9,01 [7,77; 10,67]	9,81 [8,73; 10,36]	0,354
Ядерно-цитоплазматическое соотношение	0,54 [0,47; 0,67]	0,46 [0,42; 0,52]	0,050*
Отношение площадь ядра/площадь клетки	0,34 [0,31; 0,39]	0,29 [0,27; 0,34]	0,039*

Морфометрические показатели	Me [25%;75%]		p
	1-я группа (не выявлены предикторы злокачественности), n = 21	2-я группа (выявлены предикторы), n = 9	
Среднее количество гранул AgNORs	1,00 [1,00; 1,00]	2,00 [1,00; 2,00]	< 0,001*
Средняя площадь гранул AgNORs, мкм ²	0,51 [0,25; 0,51]	0,51 [0,51; 0,76]	0,006*
Соотношение средняя площадь/среднее количество гранул AgNORs, мкм ²	0,25 [0,25; 0,51]	0,38 [0,31; 0,51]	0,642
Соотношение средняя площадь ядра/количество гранул AgNORs, мкм ²	25,07 [23,11; 35,11]	25,32 [13,04; 29,56]	0,287
Соотношение средняя площадь ядра/средняя площадь гранул AgNORs	84,50 [51,00; 94,00]	50,00 [30,50; 88,13]	0,108
Клеток I типа по J. Crocker et al., %	100,00 [100,00; 100,00]	16,00 [3,25; 48,50]	< 0,001*
Клеток II типа по J. Crocker et al., %	0,00 [0,00; 0,00]	35,50 [8,00; 51,50]	< 0,001*
Клеток III типа по J. Crocker et al., %	0,00 [0,00; 0,00]	38,00 [7,25; 88,25]	< 0,001*
Примечание – * – значения p менее 0,05.			

Как видно из Таблицы 5.4, при морфологическом исследовании биоптатов отмечена тенденция к увеличению морфометрических характеристик клеток во 2-й группе. Однако средние значения ядерно-цитоплазматического соотношения и отношения площади ядра к площади клетки были статистически значимо ниже (что сопоставимо с результатами сравнения в группе исследования ФОНЗП). Кроме того, во 2-й подгруппе было выявлено статически значимо более высокое среднее значение количества и площади районов ядрышковых организаторов, а также зарегистрировано появление и преобладание клеток III типа по J. Crocker et al. [71]. Данные позиции во 2-й подгруппе нами расценены как показатели,

указывающие на высокую пролиферативную активность и критерии злокачественности узлового новообразования.

Корреляционные взаимосвязи между морфометрическими характеристиками представлены в Таблице 5.5.

Таблица 5.5 – Корреляционная матрица морфометрических характеристик опухолевых клеток в проспективной группе исследования

Параметры		Пло- щадь ядра, мкм ²	Пери- метр ядра, мкм	Наи- больш. размер ядра, мкм	Наи- меньш. размер ядра, мкм	Пло- щадь клетки, мкм ²	Наи- меньш. размер клетки, мкм	Наи- больш. размер клетки, мкм	ЯЦО	Отно- шение площадь ядра/ площадь клетки	Сред- нее кол- во AgNORs	Соот- нош. ср. площадь /сред. кол-во гранул AgNORs	Средн. площадь AgNORs мкм	% клеток I типа по J. Crocker et al.	% клеток II типа по J. Crocker et al.	% клеток III типа по J. Crocker et al.
Площадь ядра, мкм ²	Коэфф.	1,00	0,89	0,76	0,93	0,87	0,88	0,84	-0,27	-0,24	-0,05	0,34	0,27	-0,04	0,11	0,04
	p=	...	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*	0,15	0,20	0,77	0,07	0,16	0,84	0,55	0,85
Периметр ядра, мкм	Коэфф.	—	1,00	0,95	0,77	0,84	0,73	0,86	-0,24	-0,24	0,17	0,33	0,43	-0,25	0,26	0,30
	p=	—	...	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*	0,20	0,21	0,37	0,08	0,02*	0,19	0,16	0,10
Наибольш. размер ядра, мкм	Коэфф.	—	—	1,00	0,60	0,73	0,71	0,75	-0,14	-0,16	0,22	0,32	0,46	-0,29	0,29	-0,40
	p=	—	—	...	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*	0,45	0,39	0,24	0,08	0,01*	0,12	0,12	0,03*
Наименьш. размер ядра, мкм	Коэфф.	—	—	—	1,00	0,78	0,80	0,74	-0,16	-0,12	-0,14	0,29	0,16	0,10	-0,03	-0,08
	p=	—	—	—	...	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*	0,41	0,53	0,46	0,12	0,39	0,59	0,89	0,67
Площадь клетки,	Коэфф.	—	—	—	—	1,00	0,99	0,98	-0,59	-0,59	0,09	0,36	0,39	-0,20	0,24	0,14
	p=	—	—	—	—	...	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*	0,65	0,05*	0,03*	0,28	0,20	0,47

Параметры		Пло- щадь ядра, мкм ²	Пери- метр ядра, мкм	Наи- больш. размер ядра, мкм	Наи- меньш. размер ядра, мкм	Пло- щадь клетки, мкм ²	Наи- меньш. размер клетки, мкм	Наи- больш. размер клетки, мкм	ЯЦО	Отно- шение площадь ядра/ площадь клетки	Сред- нее кол- во AgNORs	Соот- нош. ср. площадь /сред. кол-во гранул AgNORs	Средн. площадь AgNORs мкм	% клеток I типа по J. Crocker et al.	% клеток II типа по J. Crocker et al.	% клеток III типа по J. Crocker et al.
мкм ²																
Наименьш. размер клетки, мкм	Коэфф.	—	—	—	—	—	1,00	0,97	−0,57	−0,57	0,06	0,42	0,41	−0,19	0,22	0,13
	p=	—	—	—	—	—	...	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*	0,76	0,02*	0,03*	0,32	0,25	0,48
Наибольш. размер клетки, мкм	Коэфф.	—	—	—	—	—	—	1,00	−0,57	−0,57	0,18	0,37	0,46	−0,26	0,26	0,21
	p=	—	—	—	—	—	—	...	< 0,001*	< 0,001*	0,35	0,04*	0,01*	0,17	0,16	0,26
ЯЦО	Коэфф.	—	—	—	—	—	—	—	1,00	0,98	−0,29	−0,15	−0,31	0,43	−0,41	−0,25
	p=	—	—	—	—	—	—	—	...	< 0,001*	0,12	0,43	0,10	0,02*	0,02*	0,18
Отнош. площадь ядра/пло- щадь	Коэфф.	—	—	—	—	—	—	—	—	1,00	−0,31	−0,17	−0,35	0,48	−0,48	−0,31
	p=	—	—	—	—	—	—	—	—	...	0,09	0,38	0,06	0,01*	0,01*	0,09

Параметры		Пло- щадь ядра, мкм ²	Пери- метр ядра, мкм	Наи- больш. размер ядра, мкм	Наи- меньш. размер ядра, мкм	Пло- щадь клетки, мкм ²	Наи- меньш. размер клетки, мкм	Наи- больш. размер клетки, мкм	ЯЦО	Отно- шение площадь ядра/ площадь клетки	Сред- нее кол- во AgNORs	Соот- нош. ср. площадь /сред. кол-во гранул AgNORs	Средн. площадь AgNORs мкм	% клеток I типа по J. Crocker et al.	% клеток II типа по J. Crocker et al.	% клеток III типа по J. Crocker et al.
клетки																
Среднее кол-во AgNORs	Коэфф.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1,00	−0,20	0,52	−0,75	0,64	0,75
	p=	—	—	—	—	—	—	—	—	—	...	0,30	0,01*	0,01*	0,01*	0,01*
Соотнош. сред. площадь/ сред. кол- во гранул AgNORs	Коэфф.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1,00	0,72	−0,07	0,06	0,05
	p=	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	...	<0,001*	0,73	0,76	0,79
Средняя площадь AgNORs, мкм	Коэфф.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		1,00	−0,55	0,47	0,56
	p=	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		...	<0,001*	0,01*	<0,001*

Параметры		Пло- щадь ядра, мкм ²	Пери- метр ядра, мкм	Наи- больш. размер ядра, мкм	Наи- меньш. размер ядра, мкм	Пло- щадь клетки, мкм ²	Наи- меньш. размер клетки, мкм	Наи- больш. размер клетки, мкм	ЯЦО	Отно- шение площадь ядра/ площадь клетки	Сред- нее кол- во AgNORs	Соот- нош. ср. площадь ь/сред. кол-во гранул AgNORs	Средн. площадь ь AgNORs мкм	% клеток I типа по J. Crocker et al.	% клеток II типа по J. Crocker et al.	% клеток III типа по J. Crocker et al.
% клеток I типа по J. Crocker et al.	Коэфф.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1,00	−0,95	−0,91
	p=	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	...	<0,001*	<0,001*
% клеток II типа по J. Crocker et al.	Коэфф.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1,00	0,82
	p=	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	...	< 0,001*
% клеток III типа по J. Crocker et al.	Коэфф.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1,00
	p=	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	...

Примечание – * – значения p менее 0,05; ЯЦО – ядерно-цитоплазматическое соотношение.

Как видно из Таблицы 5.5, имеет место прямая умеренная корреляционная связь (0,3–0,5 по шкале Чеддока) между средней площадью AgNORs и периметром, наибольшим размером ядра, площадью, наибольшим и наименьшим размерами клетки. Отмечена также прямая умеренная корреляционная связь между относительным показателем представительства клеток I типа по J. Crocker et al. (покоящиеся клетки) и ядерно-цитоплазматическим соотношением, с параметром отношения площадь ядра/площадь клетки, а также обратная умеренная связь между процентом I и II типа по J. Crocker et al. (пролиферирующие клетки) и аналогичными показателями.

Все пациенты проспективной группы, независимо от результатов исследования трепанобиоптатов щитовидной железы, были прооперированы в соответствии с существующими показаниями («IV категория по Bethesda») и действующими клиническими рекомендациями.

Результаты гистологических заключений после исследования операционного материала пациентов проспективной группы представлены в Таблице 5.6.

Таблица 5.6 – Сравнение результатов морфологического исследования биопсийного (трепанобиопсия) и операционного материала в проспективной группе исследования

Результат гистологического исследования операционного материала	Результат морфологического исследования трепанобиоптатов щитовидной железы	
	1-я группа (не выявлены предикторы злокачественности), n = 21	2-я группа (выявлены предикторы злокачественности), n = 9
Фолликулярная аденома	11	0
Онкоцитарная аденома	2	0
Фолликулярно-узловая болезнь щитовидной железы	7	0

Результат гистологического исследования операционного материала	Результат морфологического исследования трепанобиоптатов щитовидной железы	
	1-я группа (не выявлены предикторы злокачественности), n = 21	2-я группа (выявлены предикторы злокачественности), n = 9
Узловая форма аутоиммунного тиреоидита Хасимото	1	0
Папиллярная карцинома	0	6
Онкоцитарная карцинома	0	1
Неинвазивная фолликулярная опухоль щитовидной железы с ядрами папиллярного типа	0	2
Совпадение предварительного заключения и окончательного диагноза	100 %	100 %

Как видно из Таблицы 5.6, в 1-й группе (трепанобиоптаты без микроскопических морфологических предикторов злокачественности) по данным исследования операционного материала после проведенного хирургического лечения были верифицированы изменения щитовидной железы, характерные для доброкачественных поражений органа (варианты аденомы, фолликулярно-узловая болезнь щитовидной желез, узловая форма тиреоидита Хасимото). Во 2-й группе (трепанобиоптаты с микроскопическими морфологическими предикторами злокачественности) исследование операционного материала верифицировало изменения, характерные для злокачественных опухолей щитовидной железы (папиллярная, онкоцитарная карцинома), реже регистрировали фолликулярную опухоль щитовидной железы с ядрами папиллярного типа (в период 1977–2004 гг. эта опухоль идентифицировалась как «фолликулярный вариант папиллярного рака» ввиду доказанного её метастатического потенциала) [132]. Таким образом, результаты исследования биопсийного материала совпали с послеоперационным гистологическим исследованием в 100 % случаев. При этом в 70 % случаев (21/30)

на операционном материале верифицирован доброкачественный процесс. Следовательно, проведенная операция имела лишь диагностическое значение.

Обобщение полученных результатов позволило обнаружить морфологические предикторы злокачественности, которые коррелировали с последующей гистологической верификацией злокачественного новообразования, что демонстрирует целесообразность использования предложенной модели для прогнозирования вероятности злокачественности узлового образования щитовидной железы на дооперационном этапе диагностики.

Полученные результаты комплексного морфологического и молекулярно-генетического исследования позволяют наметить подходы для обоснованного выбора тактики ведения пациентов с фолликулярной опухолью щитовидной железы – хирургическое лечение при выявлении морфологических предикторов злокачественности либо активное динамическое наблюдение при их отсутствии.

Полагаем, что представленная доказательная база для уточнения потенций злокачественности фолликулярной опухоли щитовидной железы может способствовать снижению числа операций (на 70 %, исходя из полученных нами результатов), проведенных с диагностической целью и риска послеоперационных осложнений, что положительно отразится на качестве жизни пациентов.

Материалы данной главы отражены в следующих публикациях:

1. Казачков, Е. Л. Перспективы использования уровня экспрессии микроРНК и параметров областей ядрышковых организаторов в выборе хирургической тактики при фолликулярной опухоли щитовидной железы неопределенного злокачественного потенциала / Е. Л. Казачков, Т. Е. Ильина, С. В. Сергейко // Эндокринная хирургия. – 2023. – Т. 17, № 3. – С. 4–5.

ГЛАВА 6 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые предложение о необходимости выделения ФОНЗП в отдельную нозологическую форму прозвучало в рабочей группе Чернобыльского банка тканей на основе того, когда было отмечено, что в ряде случаев общепринятые позиции для гистологической дифференциальной диагностики фолликулярно-клеточных неоплазий не позволяют однозначно судить о нозологической принадлежности отдельных видов новообразований, обладающих сомнительными признаками капсулярной инвазии. Данный вид опухоли авторы предложили вынести в отдельную группу под названием Follicular tumor of uncertain malignant potential (FT-UMP) [30; 131], что нашло отображение в классификации опухолей щитовидной железы ВОЗ от 2017 года [129].

С тех пор на протяжении многих лет разными авторами рассматривается вопрос об улучшении морфологической диагностики и унификации диагностических критериев для верификации опухолей щитовидной железы, в частности, ФОНЗП [14; 81; 83; 73].

Однако, несмотря на частый пересмотр ряда позиций в вопросах дифференциальной диагностики, все же остаются нерешенными ряд вопросов, связанных с ФОНЗП, например, как улучшить дооперационную диагностику, грамотно и обоснованно выбрать тактику ведения пациента, что из микроскопических характеристик опухоли брать за основные опорные пункты морфологической верификации?

Целью нашего исследования было изучение структурных особенностей ФОНЗП щитовидной железы на основе комплексного морфологического анализа и исследования молекулярно-генетического профиля для обоснования выбора персонализированной лечебной тактики и показаний к хирургическому лечению.

Исследование проводилось в период 2021–2023 гг. на кафедре Патологической анатомии и судебной медицины имени профессора

В. Л. Коваленко ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, и ее клинической базе ГАУЗ ОТКЗ ГKB № 1, г. Челябинск.

Исследование носило характер нерандомизированного со смешанной когортой (ретроспективная и проспективная), включало историко-архивный, морфологические, статистические методы.

Для изучения морфологической характеристики хирургической патологии щитовидной железы и места ФОНЗП в структуре тиреоидопатий по материалам областного центра хирургической эндокринологии г. Челябинска проведен анализ 3 960 направлений на прижизненное патологоанатомическое исследование и протоколов прижизненного патолого-анатомического исследования биопсийного (операционного) материала за 2018–2021 гг. в архиве патологоанатомического отделения ГАУЗ ОТКЗ ГKB № 1, г. Челябинск. Из общего числа заключений была отобрана ретроспективная группа исследования (98 случаев). Кроме того, сформировано 2 группы сравнения (20 случаев аденомы, 20 случаев папиллярной карциномы щитовидной железы) и группа контроля (15 случаев нормальной ткани щитовидной железы, полученной при проведении аутопсии лиц, умерших от заболеваний, не затрагивающих данных органов).

Проспективную группу исследования составили 30 пациентов с клиническим диагнозом «узловой нетоксический зоб» и цитологическим заключением «IV категория по Bethesda» для исследования тканевых образцов на дооперационном (биопсийный материал) и послеоперационном (операционный материал) этапах.

Для разделения сформированной ретроспективной выборки на группы сравнения было использовано молекулярно-генетическое исследование (определение профиля микроРНК новообразований) методом ПЦР в режиме реального времени проведена на базе ФГБУН «Институт молекулярной и клеточной биологии» СО РАН, г. Новосибирск. В ходе изучения профиля микроРНК в группе исследования были выделены «условно доброкачественные» (36 случаев) и «условно злокачественные» (62 случая) ФОНЗП. Дальнейшие сравнения в группе исследования проводились между этими группами.

Для проведения сравнительного статистического анализа в ретроспективной группе был отобран ряд морфометрических показателей: площадь и периметр ядра и клетки; наибольший и наименьший размеры ядра и клетки; ядерно-цитоплазматическое соотношение; отношение площадь ядра/площадь клетки при изучении микропрепаратов, окрашенных гематоксилином и эозином; характеристика районов ядрышковых организаторов (среднее количество и площадь AgNORs, процентное соотношение клеток I–III типов по классификации J. Crocker et al. [71], ядерно-цитоплазматическое соотношение, площадь ядра/средняя площадь AgNORs, площадь ядра/среднее количество AgNORs, площадь ядра/среднее количество AgNORs) при импрегнации срезов 50 % коллоидным раствором нитрата серебра, а также результаты изучения характера MSI опухолевых клеток, идентифицированные методом ИГХ-исследования.

Установлено, что в группе исследования средние абсолютные морфометрические характеристики клеток опухоли и их ядер были больше в группе «условно злокачественных» ФОНЗП (по показателю периметра клетки – ($p = 0,039$); по показателю наименьшего размера клетки – ($p = 0,042$)), однако ядерно-цитоплазматическое соотношение и отношение площадь ядра/площадь клетки в этой группе было ниже ($p = 0,040$), чем в группе «условно–доброкачественных» ФОНЗП.

Возрастание величин анализируемых морфометрических показателей клеток объясняет повышение уровня средних значений

ядерно-цитоплазматического соотношения, причём в большей степени в группе «условно доброкачественных» ФОНЗП ($p = 0,040$). Установленные закономерности согласуются с результатами исследования М. А. Razavi et al. [110], в котором авторы указывают на отсутствие выявления статистически значимой связи при исследовании 8 морфометрических параметров опухолевых клеток (площадь ядра, периметр, округлость по формуле $4\pi \cdot \text{area} / \text{perimeter}^2$, соотношение сторон, максимальный/минимальный размер или диаметр Ферета) 45 узловых новообразований щитовидной железы с цитологическим заключением III и IV категория по классификации Bethesda. При этом, согласно данным

авторов, размеры ядер и клеток были больше в группе доброкачественных узлов. Другие исследователи [108] указывают на увеличение (удлинение) ядер клеток кубической формы в аденомах щитовидной железы, иногда с наложением их друг на друга и приобретением неправильных контуров. При этом при описании аденом, особенно гиперфункционирующих, часто отмечают обильную, богатую органеллами цитоплазму и округлые однородные небольшие ядра [89]. В совокупности эти данные могут косвенно указывать на возможность обнаружения больших абсолютных размеров и соотношений количественных характеристик ядра и цитоплазмы в доброкачественных опухолях (аденомах) щитовидной железы в сравнении с карциномами фолликулярно-клеточного происхождения.

В обеих группах опухолевые клетки обладали иммунофенотипом микросателлитной стабильности, что позволяет предположить отсутствие в онкогенезе данных новообразований патогенетического звена, базирующегося на гипермутабельности и иммуногенности [34].

Полученные нами результаты согласуются с данными других авторов. Так, A. J. Bauer et al. [80] установлено отсутствие MSI в папиллярных карциномах, Y. E. Nikiforov et al. [105] – в фолликулярном раке щитовидной железы. С подобными явлениями сталкивались и другие исследователи. Так, L. K. Genutis et al. [101] проанализировали тканевые образцы от 485 злокачественных новообразований щитовидной железы разных гистологических подтипов (195 – папиллярных, 156 – фолликулярных, 50 – анапластических, 65 – медуллярных и 17 – низкодифференцированных карцином). При этом авторы указывают на низкий процент (2,5 %) выявления MSI и лишь в клетках фолликулярных карцином. Ряд авторов [88; 127] дают комплексную геномную характеристику папиллярного рака щитовидной железы, однако указаний на выявленную MSI в этих новообразованиях в данных работах нет, что подтверждается результатами нашего исследования.

При изучении районов ядрышковых организаторов установлена статически значимая связь между средним количеством AgNORs (средние значения больше в

группе «условно злокачественных» ФОНЗП) и процентным соотношением покоящихся (I типа) и пролиферирующих (II типа) клеток по J. Crocker et al. [71]. Клетки, характерные для злокачественных новообразований (III типа по J. Crocker et al. [71]), в ткани ФОНЗП не были выявлены.

Полученные результаты изучения районов ядрышковых организаторов в нашем исследовании указывают на значимые различия между сравниваемыми группами. Исходя из полученных данных, можно заключить, что увеличение среднего количества AgNORS и соотношения площади ядра к числу гранул азотнокислого серебра, а также бóльший процент клеток II типа по J. Crocker et al. [71] во 2-ой группе наблюдений ФОНЗП, свидетельствует о возрастании пролиферативной активности клеток опухоли от «условно доброкачественных» к «условно злокачественным».

Известно, что представительство AgNORs является маркером скорости клеточной пролиферации, так как ядрышковые организаторы участвуют в регуляции митотического цикла [8, 15]. При этом при поражениях щитовидной железы различного характера более низкие показатели количества районов ядрышковых организаторов регистрируются при зобных изменениях органа и тиреоидитах ($(2,0 \pm 0,03)$ – при диффузном коллоидном зобе, $(2,3 \pm 0,01)$ – при узловом зобе, $(3,5 \pm 0,03)$ – при пролиферирующем зобе, при разных формах аутоиммунного тиреоидита – от 1,6 до 3,2), а при наличии карциномы щитовидной железы показатели AgNORs существенно возрастают – от 5,04 до 7,67 в зависимости от степени дифференцировки новообразования.

Наши данные согласуются с материалами других исследователей. Так, J. Ruschoff et al. [74] указывают на диагностическую ценность данной морфологической характеристики, особенно при изучении злокачественных фолликулярно-клеточных неоплазий. Исследователями было обнаружено увеличение размера ядра и количества AgNORs от нормальной ткани щитовидной железы до фолликулярной аденомы, а также от фолликулярной карциномы до анапластического рака. Помимо этого авторами зарегистрирована неоднородность данного показателя в группе атипичных аденом – из 4 случаев,

вошедших в исследование, в 2 количество ядрышковых организаторов было в диапазоне, отнесенных исследователями к аденомам, а в 2 – фолликулярной карциномы.

Обнаружение статистически значимых различий среднего количества AgNORs между подгруппами позволило нам создать предиктивную модель злокачественного потенциала ФОНЗП с помощью метода логистического регрессионного анализа и разработать программу для ЭВМ. Результатом расчета программы является значение в интервале от 0 до 1, причем значение, близкое к 0, будет указывать на малую вероятность злокачественного потенциала, а значение близкое к 1 – на высокую вероятность.

Исследование корреляционных взаимосвязей методом подсчета коэффициента ранговой корреляции Спирмена зарегистрировало ряд значимых линейных связей (прямой либо обратной) между некоторыми показателями. Так, корреляция между уровнями экспрессии микроРНК-31 и -145 может указывать на явления фиброобразования в опухолевой ткани и пролиферативной активности клеток новообразования. Корреляция таких переменных, как уровень экспрессии микроРНК -375 и -221, микроРНК -375 и -31, микроРНК -551 и -31 подчеркивает однонаправленное действие данных микроРНК, являющихся маркерами канцерогенеза [59; 66; 96; 104; 125].

Корреляционная связь между изменением экспрессии микроРНК-551 и -221 позволяет судить о взаимосуществующих процессах апоптоза и пролиферативной активности. Отрицательная связь между уровнями экспрессии микроРНК-7 с -221 и -551 может свидетельствовать о подавлении противоопухолевого иммунитета в процессе формирования неоплазии [100].

Следует отметить также зарегистрированную нами корреляционную связь между экспрессией отдельных микроРНК (-145, -221, -31, -375, -551, -7) и количеством районов ядрышковых организаторов, что косвенно подчеркивает факт наличия признаков пролиферативной активности в опухолевых клетках.

Таким образом, проведенное нами комплексное морфологическое, гистохимическое, иммуногистохимическое, морфометрическое,

молекулярно-генетическое исследование со статистической обработкой полученных данных позволяет предложить алгоритм комплексного морфологического подхода к выбору персонализированной тактики ведения пациентов, который представлен на Рисунке 6.1.

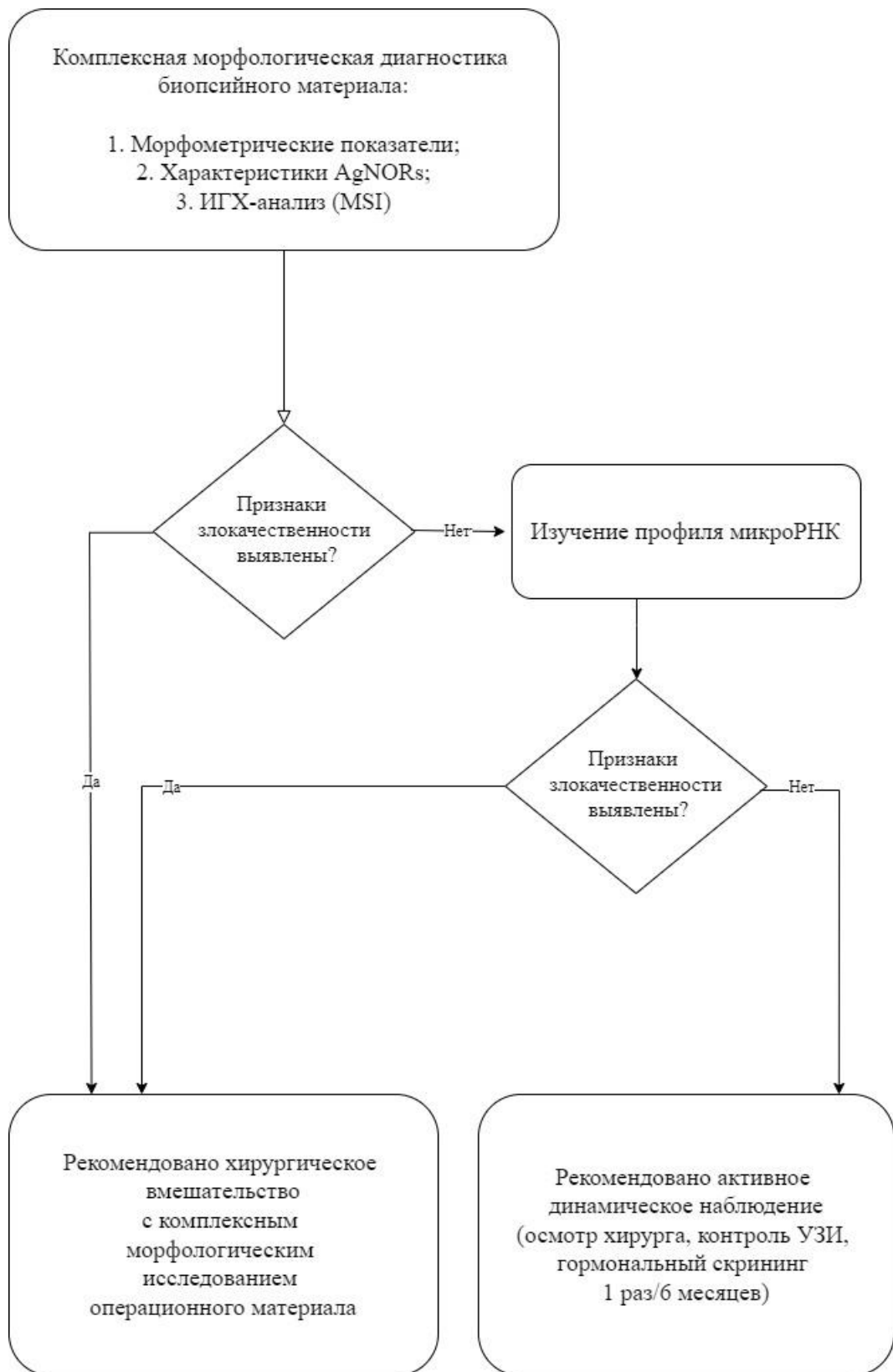


Рисунок 6.1 – Алгоритм обоснования персонализированной лечебной тактики и показаний к хирургическому лечению пациентов с фолликулярной опухолью щитовидной железы с цитологическим заключением «IV категория по Bethesda»

Первый этап предложенного алгоритма включает: а) изучение морфологических характеристик опухолевой ткани в биопсийном материале (замеры и анализ средних значений площади, периметра, наибольшего и наименьшего значения ядра и клетки, ядерно-цитоплазматическое соотношение, отношения площадь ядра/площадь клетки); б) исследование характеристик районов ядрышковых организаторов (количество и площадь AgNORs, соотношение: площадь ядра/ средняя площадь AgNORs, соотношение: площадь ядра / среднее количество AgNORs, соотношение: площадь ядра, количество AgNORs), оценка процентного соотношения клеток I-III типа по рекомендациям J. Crocker et al. [71]; в) установление иммуннофенотипа микросателлитной стабильности либо нестабильности новообразования. Если при этом обнаруживаются структурные изменения, характерные для злокачественного новообразования, считаем, что пациенту показано хирургическое вмешательство. Если в опухоли щитовидной железы фолликулярного строения морфологических предикторов злокачественности не обнаружено, отсутствуют изменения ядер, характерные для папиллярной карциномы, и нет признаков капсулярной и/или сосудистой инвазии, в соответствии с международными рекомендациями диагностируется ФОНЗП [130].

На втором этапе предложенного алгоритма проводится молекулярно-генетическое исследование новообразования с изучением профиля микроРНК. При выявлении молекулярно-генетических предикторов злокачественности целесообразно хирургическое вмешательство с последующим комплексным морфологическим исследованием операционного материала. При невыявлении молекулярно-генетических предикторов злокачественности при отсутствии иных противопоказаний считаем целесообразной выжидательную тактику с активным динамическим наблюдением за пациентом (осмотр хирурга, УЗИ шеи с оценкой по ультразвуковой классификации EU-TIRADS, гормональный скрининг, оценка симптомов компрессии органов шеи).

Стоит подчеркнуть, что молекулярно-генетическое исследование на текущий момент не является рутинным и общедоступным. Предлагаемая

методика позволяет сократить число исследований, проводимых вне программы обязательного медицинского страхования.

Полагаем, что разработанный диагностический алгоритм, основанный на комплексном морфологическом и молекулярно-генетическом исследовании биоптатов щитовидной железы у пациентов с фолликулярными опухолями с цитологическим заключением «IV категория по Bethesda», полученных на этапе планирования лечения, позволит снизить количество операций, проводимых с диагностической целью и сопряженных с ними послеоперационных осложнений (на 70 %, исходя из полученных нами результатов), и персонализировать лечебную тактику, что положительно скажется на результатах лечения и качестве жизни пациентов.

ВЫВОДЫ

1. Частота встречаемости фолликулярных опухолей щитовидной железы неопределённого злокачественного потенциала среди оперированных пациентов по поводу новообразований этого органа в Челябинской области в период 2018–2021 гг. составляет 98/2063 (4,75 %).

2. Среди пациентов с фолликулярными опухолями щитовидной железы неопределённого злокачественного потенциала абсолютно преобладают женщины, а также лица среднего и пожилого возраста, в большинстве случаев (70,41 %) проживающие в условиях крупных городов. Каждый второй пациент является служащим либо занятым в производстве, страдает гипертонической болезнью (46,90 %) и/или сахарным диабетом (13,27 %).

3. Результаты анализа особенностей экспрессии и профиля микроРНК фолликулярных опухолей щитовидной железы неопределённого злокачественного потенциала свидетельствуют о молекулярно-генетической неоднородности новообразования и позволяют выделять опухоли с молекулярно-генетическими характеристиками, соответствующими и не соответствующими злокачественному новообразованию фолликулярно-клеточного происхождения («условно доброкачественные» и «условно злокачественные» варианты этого новообразования) в соотношении 1 : 1,72.

4. Повышение уровня средних показателей площади, периметра ядра и клетки, а также увеличение ядерно-цитоплазматического соотношения опухолевых клеток являются прогностическими показателями злокачественных потенциалов фолликулярных опухолей щитовидной железы неопределённого злокачественного потенциала.

5. Увеличение среднего количества AgNORs, а также появление клеток II типа при фолликулярных опухолях щитовидной железы неопределённого злокачественного потенциала, свидетельствуют о возрастании пролиферативной активности клеток опухоли от «условно доброкачественных» к «условно злокачественным».

6. Использование разработанного и предложенного алгоритма обоснования персонализированной лечебной тактики и показаний к хирургическому лечению пациентов с фолликулярной опухолью щитовидной железы с цитологическим заключением «IV категория по Bethesda» позволит уменьшить количество диагностических операций и сопряженных с ними осложнений на 70 %, что положительно отразится на качестве жизни пациентов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для снижения количества диагностических операций и послеоперационных осложнений следует использовать разработанный алгоритм обоснования персонализированной лечебной тактики и показаний к хирургическому лечению пациентов с фолликулярной опухолью щитовидной железы с цитологическим заключением «IV категория по Bethesda», основанный на комплексном гистологическом, гистохимическом, морфометрическом, иммуногистохимическом, молекулярно-генетическом исследовании тканевого образца.

2. При изучении операционного (биопсийного) материала щитовидной железы и подозрении на фолликулярную опухоль неопределённого злокачественного потенциала целесообразно проведение молекулярно-генетического исследования для определения профиля микроРНК в новообразовании.

3. При исследовании морфометрических характеристик клеток фолликулярной опухоли щитовидной железы неопределённого злокачественного потенциала следует учитывать такие параметры, как площадь, периметр, наибольший и наименьший размеры ядра и клетки, ядерно-цитоплазматическое соотношение, отношение площади ядра к площади клетки и сравнить их с референсными значениями для объективизации суждения о степени злокачественной потенции опухоли.

4. При изучении районов ядрышковых организаторов выявление клеток с пролиферативной активностью, увеличение среднего количества и площади районов ядрышковых организаторов следует считать дополнительным аргументом, свидетельствующим о злокачественной потенции фолликулярной опухоли щитовидной железы неопределённого злокачественного потенциала.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВОЗ	Всемирная организация здравоохранения
ВИЧ	вирус иммунодефицита человека
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
ИГХ-анализ	иммуногистохимический анализ
МКБ-10	Международная классификация болезней 10-го пересмотра
РЩЖ	рак щитовидной железы
ТАБ	тонкоигольная аспирационная биопсия
УЗИ	ультразвуковое исследование
ФОНЗП	фолликулярная опухоль щитовидной железы неопределенного злокачественного потенциала
ЩЖ	щитовидная железа
РНК	рибонуклеиновая кислота
ПЦР	полимеразная цепная реакция
ЯЦО	ядерно-цитоплазматическое соотношение
AAES (The American Association of Endocrine Surgeons)	американская ассоциация эндокринных хирургов
AgNORs	белковые гранулы в районах, ассоциированных с ядрышковыми организаторами
ETA (The European Thyroid Association)	европейская ассоциация щитовидной железы
FT-UMP	фолликулярная опухоль щитовидной железы неопределенного злокачественного потенциала
MMR	системы исправления ошибок репликации
MSI (microsatellite instability)	микросателлитная нестабильность
NOR (nucleolus organizer regions)	районы ядрышковых организаторов

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абросимов, А. Ю. Инкапсулированные фолликулярные опухоли щитовидной железы неопределенного злокачественного потенциала в новой международной гистологической классификации / А. Ю. Абросимов // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. – 2017. – Т. 13, № 4. – С. 9–15.
2. Абросимов, А. Ю. Морфологическая диагностика заболеваний щитовидной железы: цветной атлас / А. Ю. Абросимов, И. А. Казанцева, Е. Ф. Лушников. – 2-е изд. – Москва, 2019. – 240 с. – ISBN 978-5-91894-081-5.
3. Абросимов, А. Ю. Новая международная гистологическая классификация опухолей щитовидной железы / А. Ю. Абросимов // Архив патологии. – 2018. – Т. 80, № 1. – С. 37–45.
4. Абросимов, А. Ю. Фолликулярно-клеточные опухоли щитовидной железы: цитогистологические сопоставления в контексте новой международной классификации / А. Ю. Абросимов, Ф. М. Абдулхабирова, Б. М. Шифман. – DOI: 10.17116/patol20208201115. – Текст : электронный // Архив патологии. – 2020. – Т. 82, № 1. – С. 15–22. – URL: <https://www.mediasphera.ru/issues/arkhiv-patologii/2020/1/1000419552020011015> (дата обращения: 12.12.2024).
5. Автандилов, Г. Г. Медицинская морфометрия. Руководство / Г. Г. Автандилов. – Москва : Медицина, 1990. – 384 с. – ISBN 5-225-00753-8.
6. Автандилов, Г. Г. Основы патологоанатомической практики / Г. Г. Автандилов. – Москва : Медицина, 1994. – 510 с. – ISBN 5-7249-0286-9.
7. Борнер, С. Интерпретация биопсий щитовидной железы / С. Борнер, С. Эйса ; пер. с англ. – Москва : Практическая медицина, 2020. – 360 с. – ISBN 978-5-98811-616-5.
8. Боташева, В. С. Характер морфологических изменений при эндемическом зобе / В. С. Боташева, А. А. Калоева, Л. Д. Эркенова // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 1–1. – С. 36–40.
9. Взаимосвязь аргирофильных белков ядрышкообразующих районов с клинико-морфологическими параметрами и выживаемостью больных при

немелкоклеточном раке легкого / Д. С. Кобяков, Е. Ю. Бычкова, А. М. Авдалян [и др.] // Онкология. Журнал им. П. А. Герцена. – 2014. – Т. 3, № 4. – С. 19–24.

10. Волченко, Н. Н. Цитологические критерии диагностики рака щитовидной железы / Н. Н. Волченко, Е. Н. Славнова // Сибирский онкологический журнал. – 2006. – № 3. – С. 5–7.

11. Волченко, Н. Н. Возможности иммуноцитохимического исследования в предоперационной диагностике опухолей / Н. Н. Волченко, М. В. Савостикова // Российский онкологический журнал. – 2006. – № 5. – С. 22–26.

12. Воробьева, О. В. Количественная морфометрия параметров эндометриоидного рака яичников при прогнозе метастазирования опухоли / О. В. Воробьева, Е. В. Новичков // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2015. – Т. 3, № 39. – С. 254–258.

13. Григорьев, С. Г. Роль и место логистической регрессии и ROC-анализа в решении медицинских диагностических задач / С. Г. Григорьев, Ю. В. Лобзин, Н. В. Скрипченко // Журнал инфектологии. – 2016. – Т. 8, № 4. – С. 36–45.

14. Двинских, Н. Ю. Морфологическая и иммуногистохимическая оценка злокачественности опухолей щитовидной железы : специальность 14.03.02 «Патологическая анатомия» : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Двинских Нина Юрьевна. – Москва, 2010. – 30 с.

15. Джикаев, Г. Д. Морфологические критерии диагностики хронического аутоиммунного тиреоидита : специальность 14.03.02 «Патологическая анатомия» : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Джикаев Григорий Давидович. – Волгоград, 2016. – 18 с.

16. Диагностика новообразований щитовидной железы / В. А. Качко, Г. В. Семкина, Н. М. Платонова [и др.] // Эндокринная хирургия. – 2018. – Т. 12. – № 3. – С. 109–127.

17. Дифференцированный рак щитовидной железы. Клинические рекомендации / Утв. Минздравом РФ. – Москва, 2020. – 56 с. – URL: <https://protiv->

raka.ru/wp-content/uploads/2021/07/kr-differenczirovannyj-rak-shhitovidnoj-zhelezy-vzroslye.pdf (дата обращения: 12.12.2024). – Текст : электронный.

18. Емельянова, О. А. Классификация тиреоидной опухоли фолликулярного строения с помощью морфометрии / О. А. Емельянова, В. А. Кириллов // Медико-биологические проблемы жизнедеятельности. – 2012. – Т. 1, № 7. – С. 18–24.

19. Жилина, Е. В. Использование бинарной логистической регрессии для оценки качества адаптивного теста / Е. В. Жилина // Вестник Томского государственного университета. – 2010. – № 334. – С. 106–109.

20. Заболевания и состояния, связанные с дефицитом йода. Клинические рекомендации 2020 (17.02.2021) / Утв. Минздравом РФ. – Москва, 2022. – 46 с. – URL: http://disuria.ru/_ld/9/985_kr20DefIodMZ.pdf (дата обращения: 12.12.2024). – Текст : электронный.

21. Зубаровский, И. Н. «Фолликулярная опухоль» щитовидной железы: особенности диагностики и хирургического лечения / И. Н. Зубаровский, М. В. Михайлова, С. К. Осипенко // Вестник хирургии имени И. И. Грекова. – 2014. – Т. 73, № 4. – С. 101–105.

22. Иммуноцитохимическое исследование в цитологической диагностике папиллярного рака и доброкачественных образований щитовидной железы / Н. Н. Волченко, И. В. Решетов, Е. И. Славнова [и др.] // Российский онкологический журнал. – 2008. – № 6. – С. 17–21.

23. Касаткина, Э. П. Радиационная патология щитовидной железы у детей и подростков. Лекция 1. Эффект малых доз облучения и концепция риска отдаленных последствий Чернобыльской катастрофы / Э. П. Касаткина, Д. Е. Шилин // Проблемы эндокринологии. – 1997. – Т. 43, № 4. – С. 24–29.

24. 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 [и др.] // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. – 2011. – Т. 7, № 2. – С. 49–56.

25. Консенсус по лечению больных узловым/многоузловым зобом / И. В. Решетов, А. Ф. Романчишен, К. В. Вабалайте [и др.]. – Doi: 10.25792/HN.2023.11.3.77-84. – Текст : электронный // Голова и шея. – 2023. – Т. 11, № 3. – С. 77–84. – URL: https://hnj.science/wp-content/uploads/2023/09/Pages-from_1-116-12.pdf (дата обращения: 24.11.2024).
26. Коржевский, Д. Э. Основы гистологической техники / Д. Э. Коржевский, А. В. Гиляров. – Санкт-Петербург : СпецЛит, 2010. – 95 с. – ISBN 978-5-299-00438-0.
27. Ланг, Т. А. Как описывать статистику в медицине. Руководство для авторов, редакторов и рецензентов / Т. А. Ланг, М. Сессик ; пер. с англ. – Москва : Практическая медицина, 2011. – 480 с. – ISBN 987-5-98811-173-3.
28. Линдберг, М. Р. Гистология для патологоанатомов / М. Р. Линдберг, Л. В. Лэмпс ; пер. с англ. – Москва : Практическая медицина, 2022. – 492 с. – ISBN 978-5-98811-692-9.
29. Майстренко, Н. А. Современные подходы к диагностике и хирургическому лечению заболеваний щитовидной железы / Н. А. Майстренко, П. Н. Ромашенко, Д. С. Криволапов. – DOI: 10.17816/RMMJ72873. – Текст : электронный // Военно-медицинский журнал. – 2018. – Т. 339, № 1. – С. 37–46. – URL: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_32809267_20424325.pdf (дата обращения: 11.12.2024).
30. Международный проект «Чернобыльский банк тканей»: результаты и перспективы изучения радиационно-индуцированной патологии щитовидной железы / А. П. Шинкаркина, А. Ю. Абросимов, Е. Ф. Лушников [и др.] // Медицинская радиология и радиационная безопасность. – 2011. – Т. 56, № 6. – С. 30–41.
31. Мерабишвили, В. М. Состояние онкологической помощи в России: однолетняя выживаемость больных злокачественными новообразованиями и летальность на первом году жизни по всем локализациям опухолей. (Популяционное исследование на уровне федерального округа) / В. М. Мерабишвили, А. М. Беляев. – DOI: 10.37469/0507-3758-2023-69-1-55-66. –

Текст : электронный // Вопросы онкологии. – 2023. Т.69, №1. – С. 55–66. – URL: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_50391745_12396066.pdf (дата обращения: 14.12.2024).

32. МикроРНК – перспективные молекулярные маркеры обнаружения рака в узлах щитовидной железы / О. С. Сердюкова, С. Е. Титов, Е. С. Малахина, О. Д. Рымар // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. – 2018. – Т. 14, № 3. – С. 140–148.

33. МикроРНК как клинические биомаркеры в диагностике онкологических заболеваний / Н. Н. Колесников, С. Е. Титов, Е. С. Малахина [и др.] // Репродуктивные технологии в онкологии : материалы междунар. науч.-практ. конф. (Обнинск, Россия 22–23 мая 2015 г.) // Исследования и практика в медицине. – 2015. – Т. 2, № S1. – С. 55.

34. Микросателлитная нестабильность как уникальная характеристика опухолей и предиктор эффективности иммунотерапии / А. А. Трякин, М. Ю. Федянин, А. С. Цуканов [и др.]. – DOI: 10.18027/2224-5057-2019-9-4-59-69. – Текст : электронный // Злокачественные опухоли. – 2019. – Т. 9, № 4. – С. 59–69. – URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_42740624_76206033.pdf (дата обращения: 25.11.2024).

35. Микросателлитная нестабильность: нюансы лабораторной диагностики (позиция Межрегиональной организации молекулярных генетиков в онкологии и онкогематологии) / И. А. Демидова, М. Л. Филипенко, А. С. Цуканов, Е. Н. Имянитов // Вопросы онкологии. – 2023. – Т. 69, № 2. – С. 174–179.

36. Молекулярно-генетические исследования в дооперационной диагностике и выборе хирургической тактики у больных новообразованиями щитовидной железы / П. Н. Ромашенко, Н. А. Майстренко, А. И. Иванов [и др.] // Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2021. – Т. 23, № 4. – С. 153–160.

37. Молекулярно-генетические исследования в хирургии щитовидной железы / П. Н. Ромашенко, Н. А. Майстренко, Д. С. Криволапов, М. С. Симонова // Таврический медико-биологический вестник. – 2021. – Т. 24, № 2. – С. 118–126.

38. Наследов, А. SPSS 19: профессиональный статистический анализ данных / А. Наследов. – Санкт-Петербург : Питер, 2011. – 400 с. – ISBN 987-5-459-00344-4.

39. Неймарк, М. И. Неотложные состояния в раннем послеоперационном периоде у больных с заболеваниями щитовидной железы / М. И. Неймарк, А. П. Калинин, Н. К. Вьет // Проблемы Эндокринологии. – 2001. – Т. 47, № 6. – С. 36–38.

40. Обзор зарубежных клинических рекомендаций по выполнению тонкоигольной аспирационной биопсии узлов щитовидной железы / В. Г. Петров, А. А. Нелаева, Е. В. Моложавенко, Е. Г. Ивашина // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. – 2019. – Т. 15, № 3. – С. 96–109.

41. Патент № 2569154 Российская Федерация, МПК C12Q 1/00 (2006.01), C12Q 1/68 (2006.01). Способ дифференциальной диагностики новообразований щитовидной железы человека : № 2014140764/10 : заявл. 08.10.2014: опубл. 20.11.2015 / Колесников Н. Н., Титов С. Е., Ахмерова Л. Г. [и др.]. – Бюл. № 32.

42. Патент № 2757347 Российская Федерация, МПК G01N 33/58 (2006.01), G01N 33/574 (2006.01). Способ дифференциальной диагностики узловых образований щитовидной железы человека : № 2021102961 : заявл. 08.02.2021: опубл. 13.10.2021 / Титов С. Е., Веряскина Ю. А. – Бюл. № 29.

43. Петрик, С. В. Чрескожная пункционная биопсия опухолей различных локализаций под ультразвуковым контролем : учеб. пособие для обучающихся в системе высш. и доп. проф. образования / С. В. Петрик, А. В. Васильев; под ред. М. В. Рогачева. – Санкт-Петербург : НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова, 2018. – 42 с. – ISBN 978-5-6041252-1-2.

44. Понкина, О. Н. Классификация опухолей щитовидной железы (ВОЗ, 2017): акцент на прогноз / О. Н. Понкина // Инновационная медицина Кубани. – 2017. – Т. 8, № 4 – С. 53–59.

45. Пономарев, А. Б. Методология научных исследований : учеб. пособие / А. Б. Пономарев, Э. А. Пикулева. – Пермь : Изд-во Пермск. нац. исслед. политех. ун-та, 2014. – 186 с. – ISBN 978-5-398-01216-3.

46. Причины возникновения, принципы лечения и профилактики послеоперационного рецидивного зоба / В. А. Белобородов, С. П. Шевченко, О. С. Олиферова [и др.] // Вестник НГУ. Сер.: Биология, клиническая медицина. 2007. – Т. 5, № 1. – С. 35–41.

47. Прогнозирование течения высокодифференцированного рака щитовидной железы на основании дооперационного определения уровня экспрессии натрий-йодного симпортера / М. Е. Борискова, Д. Ю. Семенов, У. В. Фарафонова [и др.] // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. – 2015. – Т. 11, № 3. – С. 54–59.

48. Прогностические возможности молекулярногенетического тестирования для оценки риска рецидива папиллярного рака щитовидной железы у детей / С. В. Сергийко, С. А. Лукьянов, С. Е. Титов [и др.] // Вопросы онкологии. – 2021. – Т. 67, № 4. – С. 511–517.

49. Роль компьютерной морфометрии зон ядрышкового организатора рибосом в алгоритме ведения пациентов с простатической интраэпителиальной неоплазией / В. В. Гордеев, А. Г. Антонов, А. Н. Евсеев [и др.] // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2011. – Т. 1 (43). – С. 23–25.

50. Роль молекулярной диагностики при опухолях щитовидной железы / В. А. Качко, Н. М. Платонова, В. Э. Ванушко, Б. М. Шифман. – DOI: 10.14341/probl12491. – Текст : электронный // Проблемы эндокринологии. – 2022. – Т. 66, № 3. – С. 33–46. – URL: <https://www.probl-endojournals.ru/jour/article/view/12491> (дата обращения: 11.12.2024).

51. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / под ред. С. В. Петрова, Н. Т. Райхлина. – 4-е изд., перераб. и доп. – Казань, 2012. – 624 с. – ISBN 987-5-85247-559-6.

52. Связь микро-РНК кластера miR-143/145 с онкогенезом: тканевой и клеточный контекст / Е. Н. Воропаева, Т. И. Поспелова, А. М. Нестерец, В. Н. Максимов. – DOI: 10.21294/1814-4861-2023-22-3-134-143. – Текст : электронный // Сибирский онкологический журнал. – 2023. – Т. 22, № 3. – С. 134–

143. – URL: <https://www.siboncoj.ru/jour/article/view/2586> (дата обращения: 18.12.2024).

53. Симонова, М. С. Обоснование применения интегральной диагностической шкалы в хирургии щитовидной железы : специальность 3.1.9 «Хирургия» : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Симонова Мария Сергеевна. – Санкт-Петербург, 2023. – 24 с.

54. Современные диагностические и малоинвазивные технологии в хирургии щитовидной железы / П. Н. Ромащенко, Н. А. Майстренко, Д. С. Криволапов [и др.] // Инновационные технологии в хирургии и урологии : материалы Всерос. науч.-практ. конф. (Санкт-Петербург, 07–08 февраля 2019 г.) // Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2019. – № S1. – С. 101–105.

55. Состояние онкологической помощи населению России в 2023 году (заболеваемость и смертность) / под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, А. О. Шахзадовой. – Москва : МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2023. – 276 с. – ISBN 978-5-85502-283-4.

56. Участие микроРНК в развитии ишемической болезни сердца / Н. Г. Кукава, Р. М. Шахнович, Г. Ж. Осьмак [и др.] // Кардиология. – 2019. – Т. 59, № 10. – С. 78–87.

57. Хмельницкий, О. К. Цитологическая и гистологическая диагностика заболеваний щитовидной железы. Руководство / О. К. Хмельницкий. – Санкт-петербург : СОТИС, 2002. – 288 с. – ISBN 5-85503-004-0.

58. A clinicopathologic study of minimally invasive follicular carcinoma of the thyroid gland with a review of the English literature / L. D. R. Thompson, J. A. Wieneke, E. Paal [et al.] // Cancer. – 2001. – Vol. 91, N 3. – P. 505–524.

59. Activation of miR-31 function in already-established metastases elicits metastatic regression / S. Valastyan, A. Chang, N. Benaich [et al.] // Genes Dev. – 2011. – Vol. 25, N 6. – P. 646–659.

60. Ali, S. Z. The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology: Definitions, Criteria, and Explanatory / S. Z. Ali, E. S. Cibas // *Thyroid*. – 2017. – Vol. 27, N 11. – P. 1341–1346.
61. Almeida, M. I. The miR-143/miR-145 cluster and the tumor microenvironment: unexpected roles / M. I. Almeida, G. A. Calin // *Genome Med*. – 2016. – Vol. 8, N 1. – P. 29.
62. Altered expression of miR-21, miR-31, miR-143 and miR-145 is related to clinicopathologic features of colorectal cancer / O. Slaby, M. Svoboda, P. Fabian [et al.] // *Oncology*. – 2007. – Vol. 72, N 5–6. – P. 397–402.
63. American Thyroid Association management guidelines for adult patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer: the American Thyroid Association Guidelines Task Force on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer, 2015 / B. R. Haugen, E. K. Alexander, K. C. [et al.] // *Thyroid*. – 2016. – Vol. 26, N 1. – P. 1–133.
64. Asa, S. L. The evolution of differentiated thyroid cancer / S. L. Asa // *Pathology*. – 2017. – Vol. 49, N 3. – P. 229–237.
65. Assessment of iodine deficiency disorders and monitoring their elimination : A guide for programme managers, Third edition (updated 1st September 2008) / World Health Organization. – Geneva, 2001 // World Health Organization : [website]. – URL: http://whqlibdoc.who.int/publications/2007/9789241595827_eng.pdf?ua=1 (date of access: 22.11.2024). – Text : electronic.
66. Baroukh, N. N. Function of microRNA-375 and microRNA-124a in pancreas and brain / N. N. Baroukh, E. Van Obberghen // *FEBS J*. –2009. – Vol. 276, N 22. – P. 6509–6521.
67. Bergamaschi, A. Tamoxifen downregulation of miR-451 increases 14-3-3 and promotes breast cancer cell survival and endocrine resistance / A. Bergamaschi, B. Katzenellenbogen // *Oncogene*. – 2012. – Vol. 31, N 1. – P. 39–47.
68. Classification of thyroid follicular cell tumors: with special reference to borderline lesions / K. Kakudo, Y. Bai, Z. Liu [et al.] // *Endocr. J*. – 2012. – Vol. 59, N 1. – P. 1–12.

69. Clinical outcomes of follicular tumor of uncertain malignant potential of the thyroid: real-world data / Y. Ito, M. Hirokawa, T. Hayashi [et al.]. – DOI: 10.1507/endocrj.EJ21-0723. – Text : electronic // Endocr. J. – 2022. – Vol. 69, N 7. – P. 757–761. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35082189/> (date of access: 12.12.2024).
70. Comparative Evaluation of Argyrophilic Nucleolar Organizer Regions Parameters in Benign and Malignant Breast Tumors / M. Koksall, S. Dogan, R. Eroz [et al.] // Acta Fac. Med. Naissen. – 2023. – Vol. 40, N 1. – P. 90–101.
71. Crocker, J. How should we count AgNORs? Proposals for standardized approach / J. Crocker, D. A. Boldy, M. J. Egan. // J. Pathol. – 1989. – Vol. 158, N 3. – P. 185–188.
72. Crocker, J. Nucleolar organizer regions in lymphomas / J. Crocker, P. Nar // J. Pathol. – 1987. – Vol. 151, N 2. – P. 111–118.
73. Detection and assessment of capsular invasion, vascular invasion and lymph node metastasis volume in thyroid carcinoma using microCT scanning of paraffin tissue blocks (3D whole block imaging): a proof of concept / B. Xu, A. Teplov, K. Ibrahim [et al.]. – DOI: 10.1038/s41379-020-0605-1. – Text : electronic // Mod. Pathol. – 2022. – Vol. 33, N 12. – P. 2449–2457. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32616872/> (date of access: 12.12.2024).
74. Diagnostic value of AgNOR staining in follicular cell neoplasms of the thyroid: comparison of evaluation methods and nucleolar features / J. Riuschoff, C. Prasser, T. Cortez [et al.] // Am. J. Surg. Pathol. – 1993. – Vol. 17, N 12. – P. 1281–1288.
75. DNA Repair proteins may differentiate papillary thyroid cancer from chronic lymphocytic thyroiditis and nodular colloid goiter / B. Evren, S. Yılmaz, N. Karadag [et al.]. – DOI: 10.1038/s41598-021-89403-0. – Text : electronic // Sci. Rep. – 2021. – Vol. 11, N 1. – P. 9932. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33976347/> (date of access: 12.12.2024).
76. Downregulated Serum Exosomal miR-451a Expression Correlates With Renal Damage and Its Intercellular Communication Role in Systemic Lupus

Erythematosus / L. Tan, M. Zhao, H. Wu [et al.] // Front. Immunol. – 2021. – Vol. 12. – P. 630112.

77. Dyussenbayev, A. Age Periods Of Human Life / A. Dyussenbayev // Adv. Soc. Sci. Res. J. – 2017. – Vol. 4, N 6. – P. 258–263.

78. European Thyroid Association Clinical Practice Guidelines for thyroid nodule management, 2023 / C. Durante, L. Hegedüs, A. Czarniecka [et al.] // Eur. Thyroid J. – 2023. – Vol. 12, N 5. – P. e230067.

79. European Thyroid Association Guidelines for Ultrasound Malignancy Risk Stratification of Thyroid Nodules in Adults: The EU-TIRADS / G. Russ, S. J. Bonnema, M. F. Erdogan [et al.] // Eur. Thyroid J. – 2017. – Vol. 6. – P. 225–237.

80. Evaluation of adult papillary thyroid carcinomas by comparative genomic hybridization and microsatellite instability analysis / A. J. Bauer, L. R. Cavalli, J. D. Rone [et al.] // Cancer Genet. Cytogenet. – 2002. – Vol. 135, N 2. – P. 182–186.

81. Follicular thyroid carcinoma invades venous rather than lymphatic vessels / X. Lin, B. Zhu, Y. Liu, J. F. Silverman // Diagn. Pathol. – 2010. – Vol. 22, N 5. – P. 8.

82. Furlan, J. C. Clinicopathologic significance of histologic vascular invasion in papillary and follicular thyroid carcinomas / J. C. Furlan, Y. C. Bedard, I. B. Rosen // J. Am. Coll. Surg. – 2004. – Vol. 198, N 3. – P. 341–348.

83. Ghossein, R. Update to the College of American Pathologists reporting on thyroid carcinomas / R. Ghossein // Head Neck Pathol. – 2009. – Vol. 3, N 1. – P. 86–93.

84. Hedinger, C. Histological typing of thyroid tumours / C. Hedinger, L. H. Sobin. – Geneva : World Health Organization, 1974. – 28 p.

85. Heffess, C. S. Minimally invasive follicular thyroid carcinoma / C. S. Heffess, L. D. Thompson // Endocr. Pathol. – 2001. – Vol. 12, N 4. – P. 417–422.

86. Histopathologic Assessment of Capsular Invasion in Follicular Thyroid Neoplasms-an Observer Variation Study / Y. Li, C. K. Jung, D. E. Song [et al.]. – DOI: 10.1007/s12022-020-09620-7. – Text : electronic // Endocr. Pathol. – 2020. – Vol. 31, N 2. – P. 132–140. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32236857/> (date of access: 12.12.2024).

87. Identification of maternal serum microRNAs as novel non-invasive biomarkers for prenatal detection of fetal congenital heart defects / S. Zhu, L. Cao, J. Zhu [et al.] // *Clin. Chim. Acta.* – 2013. – Vol. 424. – P. 66–72.
88. Integrated genomic characterization of papillary thyroid carcinoma / Cancer Genome Atlas Research Network // *Cell.* – 2014. – Vol. 159, N 3. – P. 676–690.
89. Johannessen, J. V. The fine structure of follicular thyroid adenomas / J. V. Johannessen, M. Sobrinho-Simoes // *Am. J. Clin. Pathol.* – 1982. – Vol. 78, N 3. – P. 299–310.
90. Livak, K. J. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method / K. J. Livak, T. D. Schmittgen // *Methods.* – 2001. – Vol. 25, N 4. – P. 402–408.
91. McHenry, C. R. Follicular adenoma and carcinoma of the thyroid gland / C. R. McHenry, R. Phitayakorn // *Oncologist.* – 2011. – Vol. 16, N 5. – P. 585–593.
92. Mete, O. Pathological definition and clinical significance of vascular invasion in thyroid carcinomas of follicular epithelial derivation / O. Mete, S. L. Asa // *Mod. Pathol.* – 2011. – Vol. 24, N 12. – P. 1545–1552.
93. Mete, O. Thyroid Tumor Capsular Invasion: the Bottom Line or Much Ado About Nothing? / O. Mete, S. L. Asa // *Endocr. Pathol.* – 2020. – Vol. 31, N 2. – P. 141–142.
94. MicroRNA profile in neosquamous esophageal mucosa following ablation of Barrett's esophagus / L. Sreedharan, G. C. Mayne, D. I. Watson [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2017. – Vol. 23, N 30. – P. 5508–5518.
95. MicroRNA signature in thyroid fine needle aspiration cytology applied to «atypia of undetermined significance» cases / R. Shen, S. Liyanarachchi, W. Li [et al.] // *Thyroid.* – 2012. – Vol. 22, N 1. – P. 9–16.
96. MicroRNA-145 promotes the epithelial-mesenchymal transition in peritoneal dialysis-associated fibrosis by suppressing fibroblast growth factor 10 / J. Wu, Q. Huang, P. Li [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2019. – Vol. 294, N 41. – P. 15052–15067.

97. MicroRNA-31 Can Positively Regulate the Proliferation, Differentiation and Migration of Keratinocytes / F. Wang, Y. Gao, Y. Yuan [et al.] // Biomed. Hub. – 2020. – Vol. 5, N 2. – P. 1–12.
98. MicroRNA-451 A conditional switch controlling glioma cell proliferation and migration / G. Jakub, B. Agnieszka, N. Michal [et al.] // Cell Cycle. – 2010. – Vol. 9, N 14. – P. 2742–2748.
99. MicroRNA-451 Regulates Macrophage Migration Inhibitory Factor Production and Proliferation of Gastrointestinal Cancer Cells / E. Bandres, N. Bitarte, F. Arias [et al.] // Clin. Cancer Res. – 2009. – Vol. 15, N 7. – P. 2281–2290.
100. MicroRNA-7: A New Intervention Target for Inflammation and Related Diseases / C. Chen, M. Guo, X. Zhao [et al.]. – DOI: 10.3390/biom13081185. – Text : electronic // Biomolecules. – 2023. – Vol. 13, N 8. – P. 1185. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37627250/> (date of access: 12.12.2024).
101. Microsatellite Instability Occurs in a Subset of Follicular Thyroid Cancers / L. K. Genutis, J. Tomsic, R. A. Bundschuh [et al.]. – DOI: 10.1089/thy.2018.0655. – Text : electronic // Thyroid. – 2019. – Vol. 29, N 4. – P. 523–529. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30747051/> (date of access: 12.12.2024).
102. MiR551b regulates colorectal cancer progression by targeting the ZEB1 signaling axis / K. S. Kim, D. Jeong, I. N. Sari [et al.] // Cancers (Basel). – 2019. – Vol. 11, N 5. – P. 735.
103. MiRNA profiling, detection of BRAF V600E mutation and RET-PTC1 translocation in patients from Novosibirsk oblast (Russia) with different types of thyroid tumors / S. E. Titov, M. K. Ivanov, E. V. Karpinskaya [et al.] // BMC Cancer. – 2016. – Vol. 6, N 20. – P. 201.
104. Molecular testing for miRNA, mRNA, and DNA on fine-needle aspiration improves the preoperative diagnosis of thyroid nodules with indeterminate cytology / E. Labourier, A. Shifrin, A. E. Busseniers [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2015. – Vol. 100, N 7. – P. 2743–2750.

105. Nikiforov, Y. E. Prevalence of minisatellite and microsatellite instability in radiation-induced post-Chernobyl pediatric thyroid carcinomas / Y. E. Nikiforov, M. Nikiforova, J. A. Fagin // *Oncogene*. – 1998. – Vol. 17, N 15. – P. 1983–1988.

106. Nikiforova, M. N. MicroRNA expression profiles in thyroid tumors. *Endocrine Pathology* / M. N. Nikiforova, S. I. Chiosea, Y. E. Nikiforov // *Endocr. Pathol.* – 2009. – Vol. 20, N 2. – P.85–91.

107. Nishino, M. Invasion in thyroid cancer: Controversies and best practices / M. Nishino, J. Jacob // *Semin. Diagn. Pathol.* – 2020. – Vol. 37, N 5. – P. 219–227.

108. Nomenclature Revision for Encapsulated Follicular Variant of Papillary Thyroid Carcinoma: A Paradigm Shift to Reduce Overtreatment of Indolent Tumors / Y. E. Nikiforov, R. R. Seethala, G. Tallini [et al.] // *JAMA Oncology*. – 2016. – Vol. 2, N 8. – P. 1023–1029.

109. Nuclear morphometry and texture analysis on cytological smears of thyroid neoplasms: a study of 50 cases / L. Deka, S. Gupta, R. Gupta [et al.] // *Malays. J. Pathol.* – 2017. – Vol. 39, N 1. – P. 33–37.

110. Nuclear morphometry in indeterminate thyroid nodules / M. A. Razavi, J. Wong, M. Akkera [et al.] – DOI: 10.21037/gs.2020.02.02. – Text : electronic // *Gland Surg.* – 2020. – Vol. 9, N 2. – P. 238–244. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32420247/> (date of access: 12.12.2024).

111. Overview of the 2022 WHO Classification of Thyroid Neoplasms. *Endocrine Pathology* / Z. W. Baloch, S. L. Asa, J. A. Barletta [et al.]. – DOI: 0.1007/s12022-022-09707-3. – Text : electronic // *Endocr. Pathol.* – 2022. – Vol. 33, N 1. – P. 27–63. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35288841/> (date of access: 12.12.2024).

112. Pan, X. The potential role of miR-451 in cancer diagnosis, prognosis, and therapy / X. Pan, R. Wang, Z-X. Wang // *Mol. Cancer Ther.* – 2013. – Vol. 12, N 7. – P. 1153–1162.

113. Preoperative detection of malignancy in fine-needle aspiration cytology (FNAC) smears with indeterminate cytology (Bethesda III, IV) by a combined

molecular classifier / S. Titov, Y. A. Veryaskina, M. K. Ivanov [et al.] // J. Clin. Pathol. – 2020. – Vol. 73, N 11. – P. 722–727.

114. Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Carcinomas of the Thyroid Gland, 2023 / O. Mete, S. L. Asa, Z. W. Baloch [et al.] // CAP.ORG : [Internet]. – URL: https://documents.cap.org/documents/Thyroid_4.4.0.0.REL_CAPCP.pdf (date of access: 12.10.2024). – Text: electronic.

115. QuPath: Open source software for digital pathology image analysis / P. Bankhead, M. B. Loughrey, J. A. Fernandez [et al.] // Sci. Rep. – 2017. – Vol. 7. – P. 6878.

116. Regulation of ITGA3 by the anti-tumor miR-199 family inhibits cancer cell migration and invasion in head and neck cancer / K. Koshizuka, T. Hanazawa, N. Kikkawa [et al.] // Cancer Sci. – 2017. – Vol. 108, N 8. – P. 1681.

117. Santiago, K. Differential MicroRNA-Signatures in Thyroid Cancer Subtypes / K. Santiago, Y. Chen Wongworawat, S. Khan. – DOI: 10.1155/2020/2052396. – Text : electronic // J. Oncol. – 2020. – N 2052396. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32565797/> (date of access: 12.12.2024).

118. Selection of reference genes for quantitative analysis of microRNA expression in three different types of cancer / Y. A. Veryaskina, S. E. Titov, I. F. Zhimulev [et al.]. – DOI: 10.1371/journal.pone.0254304. – Text : electronic // PLoS One. – 2022. – Vol. 17, N 2. – P. e0254304. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35176014/> (date of access: 12.12.2024).

119. Tang, X. Mesonephric adenocarcinoma in the uterine corpus: A case report and review of the literature / X. Tang, L. Li, Y. He // Indian J. Pathol. Microbiol. – 2021. – Vol. 64, N 4. – P. 806–809.

120. The American Association of Endocrine Surgeons Guidelines for the Definitive Surgical Management of Thyroid Disease in Adults / K. N. Patel, L. Yip, C. C. Lubitz [et al.]. – DOI: 10.1097/SLA.0000000000003580. – Text : electronic // Ann. Surg. – 2020. – Vol. 271, N 3. – P. e21–e93. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32079830/> (date of access: 12.12.2024).

121. The microRNA miR-31 inhibits CD8(+) T cell function in chronic viral infection / M. Howell, C. Adam, K. Hye-Jung [et al.] // *Nat. Immunol.* – 2017. – Vol. 18, N 7. – P. 791–799.

122. The proportion of cores with high-grade prostatic intraepithelial neoplasia on extended pattern needle biopsy is significantly associated with prostate cancer on site-directed repeat biopsy / A. Akhavan, J. D. Keith, S. I. Bastacky [et al.] // *BJU Int.* – 2007. – Vol. 99, N 4. – P. 765–769.

123. The role of microRNA genes in papillary thyroid carcinoma / H. He, K. Jazdzewski, W. Li Zhu [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* – 2005. – Vol. 102, N 52. – P. 19075–19080.

124. Thyroid FNA cytology in Asian practice-Active surveillance for indeterminate thyroid nodules reduces overtreatment of thyroid carcinomas / K. Kakudo, M. Higuchi, M. Hirokawa [et al.] // *Cytopathology.* – 2017. – Vol. 28, N 6. – P. 455–466.

125. Thyroid tumours of uncertain malignant potential: frequency and diagnostic reproducibility / V. Hofman, S. Lassalle, C. Bonnetaud [et al.] // *Virchows Arch.* – 2009. – Vol. 455, N 1. – P. 21–33.

126. Thyroseq v3, Afirma GSC, and microRNA Panels Versus Previous Molecular Tests in the Preoperative Diagnosis of Indeterminate Thyroid Nodules: A Systematic Review and Meta-Analysis / C. A. Silaghi, V. Lozovanu, C. E. Georgescu [et al.]. – DOI: 10.3389/fendo.2021.649522. – Text : electronic // *Front. Endocrinol. (Lausanne).* – 2021. – N 12. – P. 649522. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34054725/> (date of access: 12.12.2024).

127. Tomczak, K. The Cancer Genome Atlas (TCGA): an immeasurable source of knowledge / K. Tomczak, P. Czerwińska, M. Wiznerowicz // *Contem. Oncol.* – 2015. – Vol. 19, N 1A. – P. A68–77.

128. Upregulation of microRNA-451 increases cisplatin sensitivity of non-small cell lung cancer cell line (A549) / H. B. Bian, X. Pan, J. S. Yang [et al.] // *J. Exp. Clin. Cancer Res.* – 2011. – Vol. 30, N 1. – P. 20.

129. WHO Classification of Tumours of Endocrine Organs / R. V. Lloyd, R. Y. Osamura, G. Kloppel, J. Rosai. – Lyon : IARC Press, 2017. – 355 p. – ISBN 9789283244936.

130. WHO Classification of Tumours. Endocrine and neuroendocrine tumours. – Lyon, 2022 // International Agency for Research on Cancer : [Internet]. – URL: <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/53> (date of access: 29.03.2024). – Text: electronic.

131. Williams, E. D. Guest Editorial: Two Proposals Regarding the Terminology of Thyroid Tumor / E. D. Williams // Int. J. Surg. Pathol. – 2000. – Vol. 8, N 3. – P. 181–183.

132. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of Endocrine Organs / R. A. DeLellis, R. V. Lloyd, P. U. Heitz [et al.]. – Lyon : IARC Press, 2004. – 320 p. – ISBN-13978-92-32-2416-7.

133. Yang, J. Fine-needle aspiration of thyroid nodules: a study of 4703 patients with histologic and clinical correlations / J. Yang, V. Schnadig, R. Logrono, P. G. Wasserman // Cancer. – 2007. – Vol. 111, N 5. – P. 306–315.

134. Yashaswini, R. Cytological evaluation of thyroid lesions by nuclear morphology and nuclear morphometry / R. Yashaswini, T. N. Suresh, A. Sagayaraj // J. Cytol. – 2017. – Vol. 34, N 4. – P. 197–202.

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

1.	Рисунок 2.1.1 – Дизайн исследования.	С. 30
2.	Рисунок 3.1 – Распределение пациентов с ФОНЗП по полу.	С. 44
3.	Рисунок 3.2 – Распределение пациентов с ФОНЗП по возрастным группам согласно классификации ВОЗ.	С. 45
4.	Рисунок 3.3 – Коморбидная патология у пациентов группы исследования.	С. 46
5.	Рисунок 3.4 – Распределение пациентов с ФОНЗП на группы с учётом прогноза течения заболевания.	С. 55
6.	Рисунок 3.5 – Распределение групп исследования по возрасту (полных лет)	С. 56
7.	Рисунок 3.6 – Распределение пациентов в группах исследования по полу.	С. 56
8.	Рисунок 3.7 – Распределение пациентов в группах исследования по возрастным группам.	С. 57
9.	Рисунок 4.1 – Рабочий этап изучения морфометрических показателей опухолевых клеток в ФОНЗП с применением автоматизированного алгоритма подсчета QuPath. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 1000$	С. 60
10.	Рисунок 4.2 (А) – Средние значения параметров паренхиматозных клеток ФОНЗП (площадь, периметр, наибольший и наименьший размеры) 1-й и 2-й группы.	С. 61
11.	Рисунок 4.2 (Б) – Средние значения параметров ядер опухолевых клеток ФОНЗП 1-й и 2-й группы.	С. 62
12.	Рисунок 4.2 (В) – Средние значения ядерно-цитоплазматического соотношения и отношения площади ядра к площади цитоплазмы опухолевых клеток ФОНЗП 1-й и 2-й группы.	С. 63
13.	Рисунок 4.3– Диффузная равномерная экспрессия MLH-1, PMS-2, MSH-2, MSH-6 в ядрах и цитоплазме опухолевых клеток ФОНЗП	

- 1-й группы по всей площади новообразования. Иммуногистохимический метод, $\times 100$ с антителами против: PMS-2 (А); MLH-1 (Б); MSH-2 (В); MSH-6 (Г); А-Б – $\times 100$ С. 66
14. Рисунок 4.4 – Представительство AgNORs в клетках I типа (А) и II типа (Б) с применением автоматизированного алгоритма подсчета QuPath. Окраска – импрегнация 50 % коллоидным раствором серебра; $\times 400$ С. 67
15. Рисунок 5.1 – ROC-кривая прогностической ценности анализируемых показателей опухолевых клеток. С. 83
16. Рисунок 6.1 – Алгоритм обоснования персонализированной лечебной тактики и показаний к хирургическому лечению пациентов с фолликулярной опухолью щитовидной железы с цитологическим заключением «IV категория по Bethesda» С. 103
17. Таблица 1.1.1 – Критерии диагностики инкапсулированных опухолей щитовидной железы фолликулярного строения (по А.Ю. Абросимову и соавт. [2]). С. 14
18. Таблица 3.1 – Нормировка содержания микроРНК на геометрическое среднее 3 референсных микроРНК (miR-197, -23a и -29b) ФОНЗП с молекулярно-генетическим профилем, характерным для злокачественных фолликулярно-клеточных неоплазий С. 48
19. Таблица 3.2 – Нормировка содержания микроРНК на геометрическое среднее 3 референсных микроРНК (miR-197, -23a и -29b) ФОНЗП с молекулярно-генетическим профилем, не характерным для злокачественных фолликулярно-клеточных неоплазий. С. 52
20. Таблица 4.1 – Сравнительная морфометрическая характеристика некоторых количественных параметров «условно злокачественных» (1-я группа) и «условно доброкачественных» (2-я группа) ФОНЗП. С. 64

21. Таблица 4.2 – Сравнительная количественная характеристика районов ядрышковых организаторов в опухолевых клетках «условно злокачественных» (1-я группа) и «условно доброкачественных» (2-я группа) ФОНЗП. С. 68
22. Таблица 4.3 – Корреляционная матрица между уровнем микроРНК и морфометрическими параметрами ФОНЗП. С. 70
23. Таблица 4.4 – Сравнительная характеристика средних морфометрических показателей в 1-й и 2-й группах ФОНЗП и одноимённых параметров групп сравнения (аденома, папиллярная карцинома щитовидной железы) С. 74
24. Таблица 5.1 – Табличный отчет о простой логистической регрессионной модели, анализирующей взаимосвязь между вероятностью злокачественности узлового новообразования щитовидной железы и средним значением отношения площадь ядра/площадь клетки в опухолевых элементах. С. 81
25. Таблица 5.2 – Табличный отчет о простой логистической регрессионной модели, анализирующей взаимосвязь между вероятностью злокачественности узлового новообразования щитовидной железы и средним количеством гранул AgNORs. С. 82
26. Таблица 5.3 – Расчёт площади под ROC анализируемых показателей опухолевых клеток. С. 83
27. Таблица 5.4 – Характеристика морфометрических показателей опухолевых клеток в биопсийном материале проспективной группы пациентов. С. 86
28. Таблица 5.5 – Корреляционная матрица морфометрических характеристик опухолевых клеток в проспективной группе исследования. С. 89
29. Таблица 5.6 – Сравнение результатов морфологического исследования биопсийного (трепанобиопсия) и операционного материала в проспективной группе исследования. С. 93