

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.М. СЕЧЕНОВА
(СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)**

На правах рукописи

КАЧКО ВЕРА АЛЕКСАНДРОВНА

**КЛИНИЧЕСКИЕ, ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ
ФАКТОРЫ ПРОГНОЗА ВЫСОКОДИФФЕРЕНЦИРОВАННОГО РАКА
ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

14.01.02 - Эндокринология

14.01.12 - Онкология

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научные руководители:
доктор медицинских наук
Ванушко Владимир Эдуардович
доктор медицинских наук
Платонова Надежда Михайловна

Москва, 2019 г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5-12
----------------------	-------------

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	13-72
---------------------------------------	--------------

1.1. Актуальность проблемы, распространенность и классификация высококодифференцированного рака щитовидной железы.....	13-20
1.2. Диагностика высококодифференцированного рака щитовидной железы.....	20-31
1.3. Молекулярная диагностика новообразований щитовидной железы при неопределенных результатах цитологического заключения.....	32-49
1.4. Современные подходы к лечению высококодифференцированного рака щитовидной железы.....	49-64
1.5. Послеоперационное наблюдение пациентов с высококодифференцированным раком щитовидной железы.....	64-67
1.6. Прогностическое значение молекулярно-генетических маркеров при высококодифференцированном раке щитовидной железы.....	67-71
1.7. Заключение.....	71-72

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	73-82
---	--------------

2.1. Дизайн исследования.....	73-74
2.2. Клиническая характеристика включенных в исследование групп.....	74-76
2.3. Описание медицинского вмешательства.....	77
2.4. Методы регистрации исходов.....	78-81
2.5. Статистический анализ.....	81-82

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....83-109

- 3.1. Определение частоты встречаемости соматических мутаций в «горячих точках» генов *BRAF*, *KRAS*, *NRAS*, *EIF1AX* и *TERT* в гистологическом материале.....83-89
- 3.2. Определение частоты встречаемости соматических мутаций в «горячих точках» генов *BRAF*, *KRAS*, *NRAS*, *EIF1AX* и *TERT* в цитологическом материале.....89-98
- 3.3. Определение частоты встречаемости соматических мутаций в «горячих точках» генов *BRAF* и *NRAS* в плазме крови.....98-99
- 3.4. Определение частоты встречаемости соматических мутаций в «горячих точках» генов *BRAF*, *KRAS*, *NRAS*, *EIF1AX* и *TERT* в гистологическом материале в группе ВДРЦЖ. Определение частоты рецидивов и оценка связи выявленных мутаций и рецидивов в группе ВДРЦЖ.....99-109

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....110-119

- 4.1. Обсуждение результатов определения частоты встречаемости соматических мутаций в «горячих точках» генов *BRAF*, *KRAS*, *NRAS*, *EIF1AX* и *TERT* в гистологическом материале.....110-111
- 4.2. Обсуждение результатов определения частоты встречаемости соматических мутаций в «горячих точках» генов *BRAF*, *KRAS*, *NRAS*, *EIF1AX* и *TERT* в цитологическом материале.....112-116
- 4.3. Обсуждение результатов определения частоты встречаемости соматических мутаций в «горячих точках» генов *BRAF* и *NRAS* в плазме крови.....116-117
- 4.4. Обсуждение результатов определения частоты встречаемости соматических мутаций в «горячих точках» генов *BRAF*, *KRAS*, *NRAS*, *EIF1AX* и *TERT* в

гистологическом материале в группе ВДРЦЖ; результатов определения частоты рецидивов и оценки связи выявленных мутаций и рецидивов в группе ВДРЦЖ.....117-119

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....120-121

ВЫВОДЫ.....122

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....123

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....124-144

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....145-146

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

Рак щитовидной железы (РЩЖ) встречается в 1% всех случаев злокачественных новообразований. Это самая частая злокачественная опухоль эндокринной системы. Злокачественные новообразования щитовидной железы (ЩЖ) весьма полиморфны по гистологическим типам, клиническому течению и прогнозу. В классификации ВОЗ, опубликованной международным агентством по изучению рака в 2004 году, злокачественная опухоль может быть представлена более чем 10 различными гистологическими типами. Большинство случаев РЩЖ (90-95%) представлено опухолями из фолликулярного эпителия с низким потенциалом опухолевой агрессии и благоприятным прогнозом – высокодифференцированными формами РЩЖ (ВДРЩЖ). В структуре гистологических типов ВДРЩЖ наиболее распространенным является папиллярный тип (около 85% случаев), на втором месте фолликулярный тип (около 10%). Цитологические и гистологические особенности типов ВДРЩЖ отражаются в поведении опухоли, однако в преобладающем большинстве случаев их сходства перевешивают различия, и морфологическая форма существенно не влияет на прогноз ВДРЩЖ.

Диагностика РЩЖ остается сложной проблемой и в настоящее время. Стандартным методом дооперационной диагностики РЩЖ после ультразвукового исследования (УЗИ) является прицельная тонкоигольная аспирационная биопсия (ТАБ) с цитологическим исследованием пунктата. ТАБ позволяет оценить риск злокачественного потенциала и определить четкие показания для оперативного лечения. Однако, данный метод имеет недостатки: результат зависит от точности попадания в очаг, а также имеет ряд ограничений, в частности, дифференциальная диагностика фолликулярных новообразований ЩЖ (ФНО). Подобные заключения цитологического исследования встречаются приблизительно в 10-40% случаев и обуславливают необходимость хирургических вмешательств с диагностической

целью, хотя лишь в 10-15% случаев при гистологическом исследовании подтверждается злокачественный процесс.

Вынужденное хирургическое лечение из-за отсутствия возможности гарантировать доброкачественный характер узлов, зачастую оказывающиеся неоправданным постфактум, при этом оно ассоциировано со всеми операционными рисками, необходимостью приёма заместительной терапии на протяжении всей дальнейшей жизни пациента. В связи с этим, по всему миру активно ведутся исследования, имеющие своей целью уточнить характер образований и показания к оперативному лечению с помощью высокоинформативных опухолевых маркеров.

В течение последних 60 лет опухолевые маркеры исследовали преимущественно иммунохимическими методами. Эти методы, хотя и не инвазивны и имеют относительно невысокую стоимость проведения анализа, характеризуются недостаточной чувствительностью в выявлении РЦЖ на ранних стадиях. Кроме того, иммунохимические онкомаркеры по определению имеют ограниченную специфичность, поскольку являются нормальными компонентам плазмы крови. При злокачественных новообразованиях увеличивается их концентрация, но такой эффект может быть вызван и воспалительными процессами.

В настоящее время активно развивается новое направление в современной медицине - молекулярно-генетическая диагностика. В отличие от иммунохимических онкомаркеров, молекулярно-генетические онкомаркеры обычно являются мутантными генами опухолевого происхождения, изменения в которых имеют как качественный, так и количественный характер. Выявление молекулярно-генетических онкомаркеров основано на исследовании нуклеиновых кислот плазмы крови. Опухолевые клетки выделяют свою дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК) в кровоток, причем количество ДНК в плазме крови онкологических пациентов обычно намного больше, чем у здоровых. При исследовании ДНК в опухоли и в плазме крови обнаруживаемые мутации в генах-онкомаркерах идентичны, в то время как при исследовании ДНК в плазме

крови здоровых пациентов (не имеющих онкологического диагноза) такие мутации не выявляются. Высокая специфичность является принципиальным преимуществом молекулярно-генетических онкомаркеров перед иммунохимическими. Таким образом, расширение наших представлений о генетической природе опухолей ЩЖ может существенно улучшить результаты их лечения.

На XI Российском онкологическом конгрессе и IV Всероссийском тиреоидологическом конгрессе в связи с отсутствием единых подходов к диагностике и лечению больных дифференцированным РЩЖ, а также необходимостью адаптации ряда международных клинических рекомендаций в России были утверждены первые национальные клинические рекомендации, в 2017 году они были обновлены. Ранее стандартным объемом хирургического вмешательства было принято считать экстрафасциальную тиреоидэктомию (ТЭ). В настоящий момент гемитиреоидэктомия – адекватный объем операции у пациентов с папиллярным раком щитовидной железы (ПРЩЖ) группы низкого риска (без семейного анамнеза РЩЖ и облучения головы и шеи). Удаление лимфоузлов центральной зоны (VI уровень) (ЦЛАЭ) показано лишь при имеющихся дооперационных данных о наличии метастазов в этой зоне или при выявлении их интраоперационно. Преимущества профилактического удаления этих лимфатических узлов спорны, в связи с отсутствием достоверных данных о снижении рисков летального исхода и персистенции РЩЖ. Однако, частота метастатического поражения не измененных по данным дооперационного обследования лимфатических узлов центральной зоны составляет 25-30%. В связи с этим необходимо проведение дополнительных исследований для решения вопроса о необходимости профилактического удаления лимфоузлов центральной зоны, направленное на анализ риска рецидива ВДРЩЖ.

Удаление остаточной ткани ЩЖ с помощью радиойодтерапии (РЙТ) облегчает раннее выявление прогрессирования заболевания при изучении сывороточного ТГ и скинтиграфии всего тела с изотопами йода в дальнейшем. РЙТ позволяет уничтожить микроскопические остатки опухоли, оказывает

положительное влияние на прогноз. Однако для пациентов группы низкого риска (пациенты с солитарной опухолью T1N0M0 (размером менее 2 см, без признаков экстраатиреоидного распространения) она рутинно не показана в связи с тем, что ее значение до конца не выяснено (не были выявлены достоверные данные о снижении частоты рецидивов и риска летального исхода) при благоприятном прогнозе. Таким образом, необходимо проведение дополнительного исследования для оценки необходимости проведения РЙТ после оперативного лечения у пациентов в группе низкого риска.

Цель исследования

Разработка персонализированного подхода к диагностике и лечению пациентов с новообразованиями щитовидной железы с использованием молекулярно-генетического тестирования.

Задачи исследования

1. Определить возможность использования молекулярно-генетического исследования для дифференциальной диагностики новообразований ЩЖ;
2. Проанализировать возможность применения молекулярно-генетического исследования для дооперационной диагностики и неинвазивного послеоперационного мониторинга течения рака щитовидной железы в группе пациентов ВДРЩЖ по циркулирующей ДНК плазмы крови;
3. Проанализировать целесообразность проведения молекулярно-генетического исследования для выделения группы пациентов с неблагоприятным прогнозом в группе пациентов ВДРЩЖ;
4. Определить частоту рецидивов в группе пациентов ВДРЩЖ низкого риска в четырех группах лечения: тиреоидэтомии; тиреоидэктомии и профилактического удаления лимфоузлов центральной зоны (VI уровень); тиреоидэктомии и послеоперационной РЙТ; тиреоидэктомии, профилактического удаления лимфоузлов центральной зоны (VI уровень) и послеоперационной РЙТ.

Научная новизна

Впервые в России определена возможность использования панели молекулярно-генетических маркеров (на наличие соматических мутаций в «горячих точках» генов *BRAF*, *KRAS*, *NRAS*, *EIF1AX* и *TERT*) для диагностики и лечения пациентов с новообразованиями ЩЖ.

Впервые в России проведено проспективное исследование, направленное на оценку прогноза ВДРЩЖ в зависимости от различных вариантов лечения (тиреоидэктомия (ТЭ), тиреоидэктомия и центральная лимфодиссекция (VI уровень), тиреоидэктомия и центральная лимфодиссекция (VI уровень) и радиойодтерапия, тиреоидэктомия и радиойодтерапия).

Практическая значимость

Введение молекулярно-генетического тестирования в алгоритм диагностики и лечения пациентов может принести практическую значимость в нескольких направлениях. Во-первых, выявление специфических молекулярных маркеров, решит проблему дифференциальной диагностики ФНО с неопределенным цитологическим заключением Bethesda III-V (2009, 2017), что приведет к сокращению неоправданных операций. Во-вторых, применение молекулярно-генетической панели приведет к разработке более точных прогностических критериев для выбора оптимальной тактики лечения таких пациентов, что позволит обосновать как органосохраняющие операции, так и более агрессивные вмешательства, включая показания к ТЭ, ЦЛАЭ, РЙТ и супрессивной терапии. В-третьих, молекулярно-генетические маркеры, могут быть использованы для мониторинга персистенции РЩЖ в дополнение к имеющимся иммунохимическим маркерам (тиреоглобулин (ТГ), антитела к ТГ (АТ-ТГ)).

Положения, выносимые на защиту

1. Определение мутаций в «горячих точках» гена *BRAF* в цитологическом материале может быть использовано в качестве дополнительного маркера

для уточнения характера новообразований ЩЖ у пациентов с цитологическим заключением III-V категории (Bethesda Thyroid Classification, 2009, 2017).

2. Молекулярно-генетическое исследование для дооперационной диагностики и неинвазивного послеоперационного мониторинга течения рака щитовидной железы в группе пациентов ВДРЩЖ по циркулирующей ДНК плазмы крови.
3. Использование молекулярно-генетического исследования для выделения группы пациентов с неблагоприятным прогнозом в группе пациентов ВДРЩЖ не целесообразно.
4. Более агрессивные вмешательства с профилактическим удалением лимфоузлов центральной зоны (VI уровень) и/или проведением РЙТ в сравнении группой тиреоидэктомии не имеют клинически значимых преимуществ перед тиреоидэктомией в группе пациентов ВДРЩЖ низкого риска.

Апробация работы и публикации

Работа выполнена на базе ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). Набор пациентов проводился в отделе хирургии Института клинической эндокринологии ФГБУ «НМИЦ эндокринологии». Молекулярно-генетические исследования выполнены в ООО «Евроген Лаб». Апробация диссертации состоялась на совместном заседании сотрудников кафедры эндокринологии Института клинической медицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) и научных сотрудников ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России 5 сентября 2019 года.

По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ, из них 6 входят в перечень отечественных рецензируемых журналов, рекомендуемых для публикации основных результатов исследований. Основные положения

диссертации были представлены на национальных специализированных медицинских конференциях и конгрессах.

1. Информативность мутационных тестов при малых опухолях щитовидной железы. XX Российский онкологический конгресс (Москва, 2016 г.)
2. Диагностический и прогностический потенциал мутационных тестов при микрокарциномах щитовидной железы. IX Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Молекулярная диагностика» (Москва, 2017 г.)
3. Клинические и молекулярно-генетические факторы прогноза высокодифференцированного рака щитовидной железы. III Всероссийский эндокринологический конгресс с международным участием «Инновационные технологии в эндокринологии» (Москва, 2017 г.)

Личное участие диссертанта в получении научных результатов, изложенных в работе

Отбор больных для исследования по критериям включения и исключения; обсуждение методов обследования и подписание информированного добровольного согласия пациента на участие в исследовании; клиническое обследование пациентов, анализ предоставленной медицинской документации и набор первичного клинического материала; разработка и заполнение таблицы-базы данных пациентов; статистическая обработка полученных данных, обобщение и анализ производились лично автором на всех этапах диссертационного исследования. Автором самостоятельно проведен аналитический обзор литературы по изучаемой проблеме.

Кроме того, в процессе работы автор лично производил подготовку биологического материала к молекулярно-генетическим исследованиям, выделение ДНК и РНК, постановку ПЦР для определения концентраций выделенной ДНК, а также производил постановку ПЦР в реальном времени с обогащением по мутациям (WTB-PCR) с последующим секвенированием для определения мутаций в горячих точках генов *KRAS*, *NRAS*, *BRAF* и простую ПЦР

(Sanger) с последующим секвенированием для определения мутаций *TERT*, *EIFAX*. Автор в процессе работы был обучен для оценки результатов данных видов ПЦР с последующим контролем опытным сотрудником лаборатории для исключения ошибок.

Изданные научные работы, в том числе написанные в соавторстве, представляют результат преимущественно личного научного вклада диссертанта.

Источник финансирования

Исследование выполнено при финансовой поддержке Гранта Российского Научного Фонда (РНФ): проект № 14-35-00105 с названием «Комплексное исследование молекулярной эволюции злокачественных опухолей для разработки персонализированных подходов к ведению онкологических больных».

Этическая экспертиза

Протокол исследования был рассмотрен Межвузовским Комитетом по Этике. Выписка из протокола № 02-12 Межвузовского комитета по Этике от 16.02.2012 гласит, что комитет, на основе консенсуса постановил: «Одобрить клиническое исследование в рамках диссертационной работы «Клинические, иммунологические и генетические факторы прогноза высокодифференцированного рака щитовидной железы».

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 146 страницах печатного текста. Работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, изложения результатов собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций и списка литературы (12 отечественных и 175 зарубежных источника). Диссертация написана на русском языке, содержит 22 таблицы, 11 рисунков.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Актуальность проблемы, распространенность и классификация высокодифференцированного рака щитовидной железы

Одной из актуальных проблем современной эндокринологии является диагностика и лечение новообразований ЩЖ. В структуре узловых образований коллоидный зоб (УКЗ) встречается до 80%, доброкачественные фолликулярные опухоли до 10–15%, а РЩЖ до 5% [1]. РЩЖ встречается в 1% всех случаев злокачественных новообразований. Согласно данным Российского Центра информационных технологий и эпидемиологических исследований в области онкологии в составе МНИОИ им. П.А. Герцена на конец отчетного 2016 года в структуре больных с онкологией РЩЖ составляет 4,4%. Это наиболее распространенное онкологическое заболевание среди опухолей эндокринных органов. Заболеваемость РЩЖ в последние десятилетия растет по всему миру [2–4]. Заболеваемость РЩЖ в США составляет 12,2 новых случаев на 100000 населения в год [5], и по данным Howlader N. 2016 г., с 1975–2013 гг. в США выявление РЩЖ выросло на 211% [6].

По данным Американского общества борьбы с раковыми заболеваниями (The American Cancer Society), заболеваемость РЩЖ увеличивается ежегодно более чем на 5%, среди мужчин и женщин, делая его одним из самых быстро растущих с эпидемиологической точки зрения. Связано ли это с фактическим ростом заболеваемости РЩЖ или отражает улучшение диагностических методов? Этот вопрос остается спорным, однако все больше фактов свидетельствует о последнем [6–9]. Часть авторов считает, что рост заболеваемости РЩЖ обусловлен в основном увеличением выявляемости микрокарцином, в связи с повсеместным и зачастую необоснованным, применением скринингового ультразвукового исследования (УЗИ) [2].

Показатели заболеваемости в разных странах зависят от обеспеченности диагностическими ресурсами и в первую очередь от доступности УЗИ. Наиболее высокие показатели заболеваемости (а, по сути, выявляемости) демонстрируют экономически развитые государства благодаря высокому уровню развития здравоохранения в целом и диагностики заболеваний ЩЖ в частности. Неуклонный рост заболеваемости РЩЖ связан в первую очередь с выявлением образований малого размера, которые ранее не выявлялись. Это подтверждают данные эпидемиологических исследований, свидетельствующие о смещении за последние десятилетия клинического спектра опухолей в сторону группы низкого клинического риска при сохранении показателей летальности [10].

H.S. Ahn с соавт. [11] проанализировал заболеваемость РЩЖ по данным центрального ракового реестра Южной Кореи, а также смертность от РЩЖ по данным государственной статистики причин смерти. Заболеваемость РЩЖ увеличивалась медленно в течение 1990-х годов, а затем стала быстро расти после 1999 года. Данные представлены на рисунке 1 [11]. В 2011 году было выявлено в 15 раз больше пациентов с РЩЖ, чем в 1993 году, преимущественно за счет опухолей менее 1 см. При этом, несмотря на резкое увеличение заболеваемости, смертность от РЩЖ оставалась стабильной. Исследователи считают, что увеличение заболеваемости связано с увеличением выявляемости при УЗИ в рамках скрининга РЩЖ. [12].

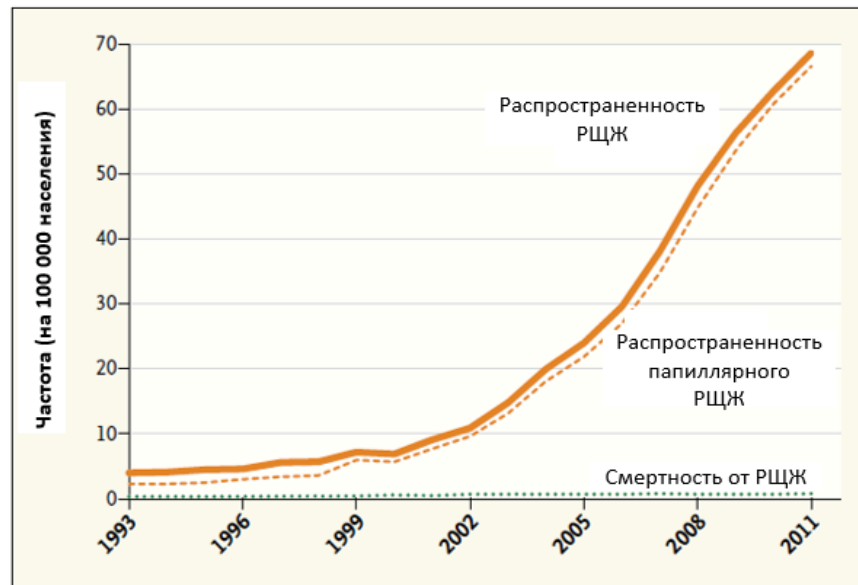


Рисунок 1 - Заболеваемость РЩЖ и смертность от него в Южной Корее, 1993-2011

R. Udelsman и соавт. [13] проанализировали статистические данные, полученные из Национального регистра США по заболеваемости раком за 1999-2009 гг., и сопоставили их с обеспеченностью населения эндокринологами и доступностью УЗИ. Полученные данные подтвердили гипотезу, что высокий уровень заболеваемости связан с выявлением заболевания на тех стадиях, которые ранее не выявлялись, и получили корреляцию между частотой выявления рака и обеспеченностью эндокринологами и применением УЗИ шеи.

Также стало более точным изучение гистологических образцов, в пользу этого говорит то, что повысилась частота выявления папиллярных микрокарцином ЩЖ [14-19].

D.T. Hughes и соавт. [20] в США выполнено ретроспективное исследование для оценки влияния возраста на увеличение заболеваемости папиллярным раком. Было отмечено, что за 15-летний период, с 1988 по 2003 год, выявление папиллярного рака всех размеров выросло во всех возрастных группах, причем наибольшее увеличение частоты микрокарцином у больных старше 45 лет. В этой возрастной группе 43% опухолей были < 1 см, а в группе моложе 45 лет 34%

опухолей были < 1 см. Кроме того, за 2003 год было зарегистрировано почти 20 000 случаев РЦЖ, из них 24% были папиллярными микрокарциномами у больных в возрасте старше 45. Таким образом, главным выводом данного исследования является то, что количество папиллярных микрокарцином < 1 см возрастает во всех возрастных группах, но чаще всего встречается у пациентов старше 45 лет.

Однако часть исследований показывает в том числе увеличение частоты выявления опухолей с регионарными и отдаленными метастазами и опухолей больших размеров [4]. Так, L. Enewold с соавт. [21] предположил, что если увеличение заболеваемости раком происходило из-за улучшенной диагностики болезни, то это привело бы к снижению выявления больших опухолей. Они исследовали 48403 пациентов с диагностированным РЦЖ за 25-летний период с 1980 по 2005 гг. Оказалось, что только для папиллярного рака заболеваемость последовательно увеличивалась во всех этнических группах, а между 1992-1995 и 2003-2005 гг. заболеваемость папиллярным раком увеличилась на 100% среди белых латиноамериканцев, меньшие цифры были у других этнических групп. Увеличение касалось прежде всего микрокарцином, однако выявление опухолей больших размеров с регионарными и отдаленными метастазами также повысилось.

L. Davies и соавт. [22] указывают, что в США заболеваемость РЦЖ с 1975 по 2004 г. увеличилась с 3,6 до 8,7 на 100 000 населения в год, т.е. в 2,4 раза. При этом практически весь прирост обусловлен увеличением заболеваемости папиллярным раком ЦЖ (с 2,7 до 7,7 на 100 000 населения в год) и в основном за счет обнаружения образований размером менее 2 см. Не было выявлено никаких существенных изменений в заболеваемости РЦЖ других гистологических типов: медуллярным и анапластическим. Показатель смертности от РЦЖ был стабильным в период между 1973 и 2002 г. и составил 0,5 на 100 000 населения в год.

Таким образом, рост заболеваемости ВДРЦЖ отмечается во всем мире, наибольший рост отмечен среди ПРЦЖ, в том числе за счет папиллярных микрокарцином, что можно объяснить повышением качества диагностики и медицинского наблюдения населения.

Течение заболевания и прогноз пациентов с микрокарциномами очень вариабельны. В литературе чаще клиницисты называют микрокарциномами все РЦЖ, размером ≤ 1 см в наибольшем измерении, не учитывая особенности определения по классификации TNM и ВОЗ. В TNM-классификации UICC (Международный противораковый союз) и AJCC (Американский объединенный комитет по онкологическим заболеваниям) микрокарциномы определялись, как T1, опухоль 1 см или меньше в наибольшем измерении до 2002 года. В 2002 году в 6-м издании TNM [23], изменили определение T1 опухоли на 2 см или менее в наибольшем диаметре. В 2006 году редакция 6-го издания TNM-классификации подразделила T1 на T1a – опухоль не более 1 см и T1b – опухоль 1-2 см, что было также сохранено и в 7-м издании UICC в 2010 г. Микрокарцинома определяется в гистологической классификации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) 2004 года как морфологический вариант РЦЖ, являющийся злокачественной опухолью ≤ 1 см в диаметре при отсутствии мультифокального роста, регионарных и отдаленных метастазов [14, 24]. Таким образом, микрокарциномы в клинической классификации имеют стадийный эквивалент T1a. Некоторые исследователи отступают от классификации ВОЗ, расценивая микрокарциному как опухоль размерами от 0,5 до 1,5 см [25]. В литературе термин микрокарцинома, в зависимости от метода диагностики и клинического течения, встречается как "малый рак", "оккультный", "скрытый", "латентный", "субклинический", "ранний", "малообъемный", "патоморфологическая инциденталомы", "микрорака"[26]. Есть мнение, что для пациентов младше 19 лет термин «микрокарцинома» не используется, что объясняется большой агрессивностью опухолевого процесса в данной возрастной группе [14].

Злокачественные новообразования ЩЖ весьма полиморфны по гистологическим типам. В классификации ВОЗ, опубликованной международным агентством по изучению рака в 2004 году, злокачественная опухоль может быть представлена более чем 10 различными гистологическими типами. Большинство случаев РЦЖ (90-95%) представлено опухолями из фолликулярного эпителия с низким потенциалом опухолевой агрессии и благоприятным прогнозом – ВДРЦЖ.

Большинство случаев РЩЖ высоко дифференцированы и имеют низкий уровень смертности, особенно при обнаружении на начальных стадиях. Ранее считалось, что высокодифференцированный ПРЩЖ, наиболее часто наблюдаемый вариант, выявляют 60-80% от всех злокачественных новообразований ЩЖ, фолликулярный РЩЖ выявляют в 10-20% [27]. Цитологические и гистологические особенности типов ВДРЩЖ отражаются в поведении опухоли, однако в преобладающем большинстве случаев их сходства перевешивают различия, и морфологическая форма не влияет на прогноз ВДРЩЖ. Пациенты с анапластическим (недифференцированным), низкодифференцированным, медуллярным РЩЖ, а также при выявлении на поздних стадиях заболевания имеют больший риск рецидива и высокий уровень смертности. Анапластический РЩЖ выявляют в 10-15% и медуллярный РЩЖ выявляют в 5-10% случаев [28].

По данным Fagin JA, опубликованным в 2016 г. структура рака ЩЖ несколько изменилась и представлена на рисунке 2 [29].

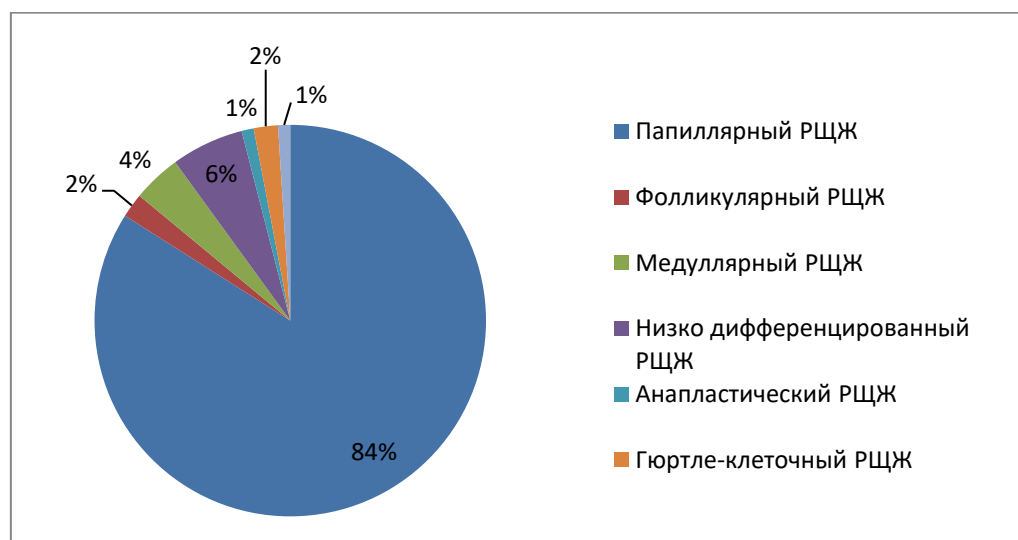


Рисунок 2 - Гистологические варианты рака щитовидной железы

Обновленная классификация ВОЗ опухолей эндокринных органов (4-е издание) была выпущена Международным агентством по изучению рака (International Agency for Research on Cancer (IARC)) также в 2017 г. В новой

классификации новообразований ЩЖ было уделено значительное внимание. В номенклатуре опухолей ЩЖ произошли изменения, основанные на полученных за истекший период результатах клинических, морфологических и молекулярно-генетических исследований и соответствующих новых взглядах на злокачественный потенциал и прогноз ряда новообразований.

Обновленная гистологическая классификация опухолей ЩЖ относит к категории доброкачественных эпителиальных опухолей фолликулярную и Гюртлеклеточную аденому; атипическая аденома была исключена. В категорию пограничных опухолей была перенесена гиалинизирующая трабекулярная опухоль. Кроме того, была выделена новая группа: “другие инкапсулированные фолликулярного строения опухоли”. В нее было включено три категории: “неинвазивная фолликулярная опухоль с ядрами папиллярного типа” (“noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features” (NIFTP)), “высокодифференцированная опухоль неопределенного злокачественного потенциала” и “фолликулярная опухоль неопределенного злокачественного потенциала”. Категорией “инкапсулированная ангиоинвазивная карцинома” была дополнена фолликулярная карцинома [30-32].

В 2016 г. Nikiforov YE и соавт. опубликовали результаты международного мультицентрового исследования с рекомендацией переименования категории неинвазивного фолликулярного варианта папиллярного рака [33]. Основные выводы были сделаны при сравнительном исследовании результатов лечения 101 пациента с фолликулярным вариантом папиллярного рака с инвазивным ростом и 109 пациентов с NIFTP. Авторитетным коллективом соавторов были разработаны воспроизводимые критерии диагностики NIFTP и статистически обоснована необходимость пересмотра номенклатуры инкапсулированных неинвазивных опухолей и даны рекомендации по предотвращению необоснованной радикальности хирургического лечения и снижению финансовых затрат на последующую адъювантную терапию (РЙТ) и психологические последствия тотального удаления ЩЖ [33].

Появление новой категории NIFTP привели к изменениям в классификации Bethesda [30-35]. По данным Fagin JA, NIFTP в структуре папиллярного рака ЩЖ составляет до 17%, все варианты микрокарцином составляют треть всех вариантов ПРЩЖ, что представлено на рисунке 3 [29].

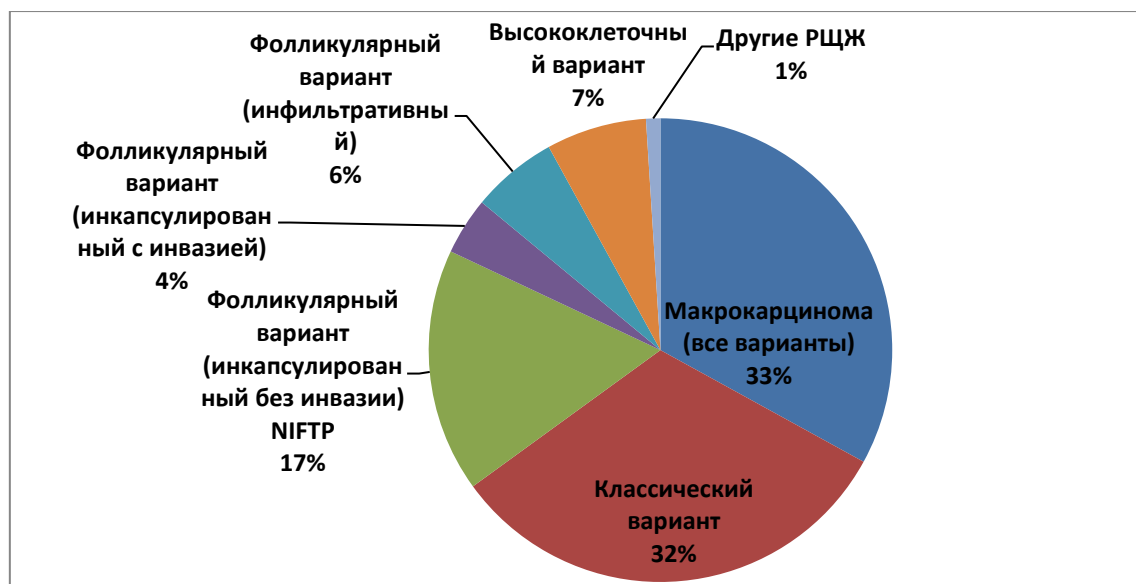


Рисунок 3 - Гистологические варианты папиллярного РЩЖ

1.2. Диагностика высокодифференцированного рака щитовидной железы

Диагностика РЩЖ остается сложной проблемой и в настоящее время. Стандартным методом дооперационной диагностики РЩЖ после УЗИ является ТАБ с цитологическим исследованием пунктата. Однако данный метод имеет недостатки: ее результат зависит от точности попадания в очаг, что может быть затруднительным при микрокарциномах, а также имеет ряд ограничений, в частности, дифференциальная диагностика фолликулярных новообразований. Проблемы при интерпретации результатов ТАБ в основном связаны с неопределенными результатами, к которым относятся диагностические категории Bethesda III-V. По данным исследований [36, 37] от 35 до 45% ТАБ щитовидной

железы остаются безрезультатными, что объясняется либо неинформативностью материала, либо неясной цитологической картиной категории Bethesda III-IV. Подобные заключения цитологического исследования обуславливают необходимость хирургических вмешательств с диагностической целью. При этом лишь в 10-15% «фолликулярных неоплазий» при гистологическом исследовании подтверждается злокачественный процесс.

Ультразвуковое исследование новообразований ЩЖ

Для диагностики узловых образований ЩЖ в первую очередь проводится клиническое обследование и пальпация ЩЖ и региональных лимфоузлов. Пальпаторно узловые образования ЩЖ выявляют в 4-8% случаев. Пальпация шеи является очень неточным методом в части определения размеров и не дает никакого представления о морфологии, однако именно пальпируемое образование на шее является основным показанием к проведению УЗИ [38].

УЗИ определяет узлы ЩЖ в 19-67% случаев в популяции и это один из самых точных методов выявления узловых образований; однако, данный метод имеет низкую точность в дифференциации доброкачественных и злокачественных поражений [39]. Подозрительные ультразвуковые признаки узла ЩЖ, связанные с высокой вероятностью злокачественности включают: гипоэхогенность, неровные, нечеткие границы, микрокальцинаты, переднезадний размер образования больше его ширины (“выше/чем/шире”).

Для стратификации риска злокачественности новообразований ЩЖ по УЗИ, была предложена система TI-RADS (Thyroid Imaging Reporting and Data Systems [40]. Термин TI-RADS был впервые использован Horvath E. и соавт [41].

В 2009 г. E. Horvath с соавторами опубликовали результаты восьмилетнего проспективного трехэтапного исследования, целью которого было создание единой УЗИ-классификации. Авторы проанализировали эхограммы в общей сложности 1959 пациентов с узловыми образованиями ЩЖ. Всем пациентам была проведена ТАБ, а затем проанализирована корреляция результатов цитологического и гистологического исследования и найденных ультразвуковых

признаков образований. На основе этих данных была создана классификация TI-RADS. Было описано 10 моделей УЗИ узловых образований ЩЖ, которые объединили в группы по риску злокачественности. За основу была взята система ультразвуковой оценки новообразований молочной железы. Первоначальная цель TI-RADS заключалась в оптимизации показаний к ТАБ, при этом чувствительность, специфичность, положительная прогностическая ценность (positive predictive value (PPV)), отрицательная прогностическая ценность (negative predictive value (NPV)) и точность составили 88%, 49%, 49%, 88% и 94%, соответственно [40].

В 2011 г. корейские исследователи предложили более простую в использовании модель, основанную на подсчете количества подозрительных ультразвуковых признаков. Эта модель была названа K-TI-RADS (Korean Thyroid Imaging Reporting and Data System). В настоящий момент в клинической практике применяются несколько модификаций TI-RADS: чилийская, украинская, корейская и французская. Эти модификации не имеют принципиальных отличий. Специалисты УЗИ используют также шкалы, разработанные Американской (American Thyroid Association (ATA), Statement on Preoperative Imaging for Thyroid Cancer Surgery, 2014) и Британской (British Thyroid Association (BTA) Тиреоидными Ассоциациями, Ultrasound assessment of thyroid nodules, 2014). Однако, на сегодняшний день TI-RADS и её различные модификации являются самыми популярными.

По результатам проведенного Xi Wei метаанализа TI-RADS [42], чувствительность и специфичность этого диагностического инструмента составили 79% и 71% соответственно; это указывает на то, что категории TI-RADS являются эффективным инструментом для оценки доброкачественных и злокачественных узлов щитовидной железы и для принятия решения о дальнейшей биопсии.

В марте 2017 г. Journal of American College of Radiology опубликовал новую версию TI-RADS (ACR TI-RADS) и рекомендации к ее использованию [43]. Еще более упрощенная, новая схема подразумевает, что каждому приведенному

признаку (структура, эхогенность, эхогенные очаги, форма и контуры) будет присвоено определенное количество баллов, а затем по результатам подсчета найденное образование можно будет отнести к одной из существующих категорий: TR1 - доброкачественное образование (0 баллов), TR2 - нет подозрения на малигнизацию (2 балла), TR3 - незначительное подозрение на малигнизацию (3 балла), TR4 - умеренное подозрение на малигнизацию (4-6 баллов), TR5 - серьезное подозрение на малигнизацию (7 и более баллов).

Для разработки новых рекомендаций были использованы данные литературы, результаты программы SEER (Surveillance, Epidemiology, and End Results) Национального Института Рака США и оценка существующих классификационных систем.

По заявлению Комитета TI-RADS, новые критерии должны:

- быть легко воспроизводимыми;
- снизить количество проводимых биопсий узловых образований ЩЖ с низким риском злокачественности;
- давать возможность оценить все возможные узловые образования;
- базироваться на уже разработанном лексиконе;
- быть простыми в применении специалистами УЗИ-диагностики.

ACR TI-RADS согласуется с большинством других рекомендаций, устанавливающих показания для биопсии образований высокого риска размером 1 см и более. Однако, порог для образований среднего и умеренного риска (2,5 и 1,5 см соответственно) выше, чем рекомендованные ATA и Korean Society of Thyroid Radiology.

Авторы рекомендуют определять эхоструктуру образования как губчатую только в том случае, если оно более чем на 50% состоит из небольших кистозных включений. В новой классификации понятия преимущественно солидного и преимущественно кистозного образования объединены в графу смешанного образования, так как само появление солидного компонента оказалось более прогностически важным, чем их соотношение. Кроме того, хотя определение кровотока во включении с помощью доплеровского картирования не вошло в

критерии новой классификации, авторы рекомендуют использовать его, чтобы отличить истинно солидный компонент от включений и кровоизлияния.

Наличие или отсутствие гидрофильной границы (halo) также было опущено в новой версии TI-RADS. Но появился термин “границы плохо определяются” (“ill defined”). Это нововведение позволит классифицировать большее количество образований. Термин “неровный дольчатый край” (“lobulated or irregular margin”) включает в себя зубчатые края, с протрузией в окружающую паренхиму или без нее. Могут возникнуть трудности с распознаванием данного критерия, когда контур не определяется, или эхогенность окружающей узел ткани ЩЖ неоднородна или, когда узловых образований много и они «упираются» краями друг в друга. Выход контура образования за пределы железы обычно классифицируют при описании как обширный или минимальный. Обширное экстраатиреоидное распространение, которое характеризуется выраженным прорастанием в смежные мягкие ткани и/или сосудистые структуры, является очень надёжным признаком злокачественности и неблагоприятным прогностическим фактором. Минимальное экстраатиреоидное распространение может быть заподозрено по выпячиванию контура железы или снижению его эхогенности в месте образования, однако прогностическая ценность этого критерия дискуссионна. Авторы рекомендуют с осторожностью определять минимальное экстраатиреоидное распространение, особенно когда по другим критериям образование доброкачественное. В случае если не удаётся оценить внутреннюю структуру образования из-за кальцинатов, дающих сильные акустические тени, авторы рекомендуют считать их солидными.

Примечательно, что небольшие эхогенные включения, обнаруживаемые в губчатых узлах, чаще всего представляют собой задние стенки мелких кист. Такие включения не должны учитываться при подсчете баллов.

В протоколе исследования следует особо указывать на локализацию образования в критических местах: если узел расположен близко к трахее или к возвратному гортанному нерву. Важной частью протокола УЗИ является сонографическая оценка шейных лимфоузлов. Если пациенту ранее проводили

оперативное вмешательство и/или биопсию ЩЖ, это также должно быть указано в протоколе.

Тонкоигольная аспирационная биопсия ЩЖ, цитологическое и гистологическое исследования

ТАБ узлов щитовидной железы в настоящее время является неотъемлемой частью обследования и включается в рекомендации Американской Тиреоидологической Ассоциации (АТА) и Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению высокодифференцированного РЩЖ для оценки узловых новообразований ЩЖ благодаря своей высокой чувствительности и специфичности [38,44-45].

Преимущество ТАБ напрямую связано с ее точностью. Количество ложноположительных результатов ТАБ сравнительно невелико и варьирует от 1,0 до 7,7%, количество ложноотрицательных результатов составляет 0,5–11,5%. Чувствительность и специфичность ТАБ составляют 65–98% и 47–100%, PPV и NPV 52–98% и 89–96% соответственно [46].

В настоящее время существует несколько классификационных систем описания цитологического результата: в Великобритании (the UK system, UK Royal College of Pathologists); Италии (the Italian system, Italian Societies of Endocrinology, the Italian Society for Anatomic Pathology and Cytology совместно с Italian Division of the International Academy of Pathology); Японии (the Japan system, Japan Thyroid Association (JTA)). ВОЗ для унификации описания результатов цитологического исследования рекомендует использовать единую терминологическую классификацию Bethesda (The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology), разработанную в Национальном институте рака в США (National Cancer Institute, NCI) в 2009 году. В связи с этим патологоанатомы разных стран постарались адаптировать свои системы. Но, тем не менее, они различны и причины несоответствий и споров касаются в основном категории фолликулярных образований неопределенного значения, допустимого процентного соотношения групп, а также рисков малигнизации в различных группах. В 2010 году в Европе и

в США был выпущен атлас с классификацией, сопровождающейся определениями, диагностическими критериями, изображениями и пояснениями [36].

В недавнем метаанализе оценивали эффективность системы отчетности Bethesda и выявили чувствительность 97%, специфичность 50,7% и диагностическая точность 68,8%, NPV и PPV 96,3% и 55,9% соответственно [47,48].

В 2017 г. классификация Bethesda была пересмотрена, и в 2018г опубликована пересмотренная версия классификации [49,50], основные изменения, которые произошли в ней связаны с обновлением данных по рискам злокачественности новообразований и, соответственно, по тактике ведения пациентов. Кроме того, в рекомендации по дальнейшему ведению пациентов в диагностические категории неопределенного значения (DC3 и DC4) были включены рекомендации по проведению молекулярно-генетического исследования. Эти изменения произошли в том числе и в связи с пересмотром в 2017 г патоморфологической классификации [30].

Классификации Bethesda 2017 г. также, как и версия 2010 г. включает 6 пунктов, названия которых были сохранены [36,50], в таблице 1 представлены диагностические категории Bethesda и тактика ведения пациентов 2017 г., и сравнение рисков злокачественности 2017 и 2010 гг.

Введение в практику классификации Bethesda для интерпретации результатов цитологического исследования ЩЖ привело к повышению чувствительности и специфичности ТАБ, однако и оно сопряжено со сложностями в использовании той или иной категории из-за отсутствия достаточного количества критериев для пограничных групп образцов. Проблемы при интерпретации результатов ТАБ в основном связаны с неопределенными результатам, к которым относятся диагностические категории Bethesda III-V. По данным исследований [36,37] от 35 до 45% ТАБ щитовидной железы остаются безрезультатными, что объясняется либо неинформативностью материала, либо неясной цитологической картиной категории Bethesda III-IV.

Таблица 1 - Диагностические категории и тактика ведения пациентов Bethesda 2017 г., сравнение риска злокачественности 2010 и 2017 гг.

DC	Характеристика Bethesda 2017	Риск злокачественности, если NIFTP \neq (не равно) карцинома, Bethesda 2017, %	Риск злокачественности, если NIFTP = (равно) карцинома, Bethesda 2017, %	Тактика ведения пациента Bethesda 2017	Риск злокачественности Bethesda 2010, %
DC I	Неинформативный материал (недиагностический или неудовлетворительный – кровь, содержимое кисты или практически бесклеточный образец и др.)	5-10	5-10	Повторная ТАБ под контролем УЗИ	-
DC II	Доброкачественное образование (доброкачественные фолликулярные новообразования, включая аденоматоидные узлы, коллоидные узлы, лимфоцитарный тиреоидит (тиреоидит Hashimoto), гранулематозный (подострым) тиреоидит и др.)	0-3	0-3	Клиническое и УЗИ наблюдение	0-3

Продолжение таблицы 2

DC	Характеристика Bethesda 2017	Риск злокачественно сти, если NIFTP ≠ (не равно) карцинома, Bethesda 2017, %	Риск злокачественно сти, если NIFTP = (равно) карцинома, Bethesda 2017, %	Тактика ведения пациента Bethesda 2017	Риск злокачест венности Bethesda 2010, %
DC III	Фолликулярное поражение неопределенного значения/атипия неопределенного значения	6-18	~10-30	Повторная ТАБ, молекулярно- генетическое тестирование или проведение гемитиреоидэктомии	5-15
DC IV	Фолликулярная неоплазия/подозрение на фолликулярную неоплазию (наличие клеток Гюртле)	10-40	25-40	Молекулярно- генетическое тестирование или проведение гемитиреоидэктомии	15-30

Продолжение таблицы 2

DC	Характеристика Bethesda 2017	Риск злокачественно сти, если NIFTP ≠ (не равно) карцинома, Bethesda 2017, %	Риск злокачественно сти, если NIFTP = (равно) карцинома, Bethesda 2017, %	Тактика ведения пациента Bethesda 2017	Риск злокачест венности Bethesda 2010, %
DC V	Подозрение на злокачественность (подозрение на папиллярную, медуллярную, метастатическую карциному или лимфому и др.)	45-60	50-75	Тиреоидэктомия или гемитиреоидэктомия	60-75
DC VI	Злокачественное новообразование (папиллярный, низко дифференцированный, медуллярный, анapластический РЩЖ, неходжкинская лимфома и др.)	94-96	97-99	Тиреоидэктомия или гемитиреоидэктомия	97-99

Классификация 2017 г. имеет более четкое описание и критерии для каждой категории, что, безусловно, будет помогать клиницистам в персонализированном подходе к лечению пациентов.

Сцинтиграфия, компьютерная томография, магнитно-резонансная томография

В некоторых странах для идентификации неопределенных образований ЩЖ используется сцинтиграфия ЩЖ с (99m) Tc-метокси-изобутил-изонитрил ((99m) Tc-MIBI). Данный метод применяется для оценки метаболизма холодных узлов ЩЖ, повышение поглощения узлов отражает увеличение количества активно функционирующих митохондрий и, следовательно, его окислительной нагрузки. Британскими исследователями Wale A. с соавт был проведен метаанализ нескольких исследований, включивших 712 пациентов, чувствительность, специфичность, PPV и NPV визуальной оценки (99m) Tc-MIBI-сцинтиграфии в диагностике злокачественных новообразований составили 96 %, 46 %, 34 % и 97 %, соответственно [51]. Благодаря высокой NPV данный метод может использоваться для исключения злокачественных новообразований, но из-за низкой специфичности не может применяться в качестве исследования первой линии. При комбинации (99m) Tc-MIBI-сцинтиграфии с ТАБ Riazі A показал чувствительность 66,66%, специфичность 100%, NPV 95.72%, PPV 100%, и точность 96,06% [52]. В исследовании [53] производилась количественная оценка вымывания (99m) Tc-MIBI при оценке холодных узлов в сравнении между 10 и 60 минутами. Было установлено, что данная методика помогает в дифференцировке между доброкачественными и злокачественными узлами, при индексе вымывания -19% узел является злокачественным со 100% чувствительностью и 90,9% специфичностью метода. Таким образом, применение количественного анализа (99m) Tc-MIBI-сцинтиграфии может быть оправданным при неопределенных образованиях для стратификации риска малигнизации и при индексе вымывания -19% пациент должен быть направлен на операцию.

Компьютерная томография и магнитно-резонансная томография согласно рекомендациям АТА 2015 г [45], а также российским клиническим рекомендациям по диагностике и лечению ВДРЩЖ у взрослых 2017 г [38] применяется по индивидуальным показаниям при большом размере новообразования, экстра tireоидном распространении, подозрении на метастазы и др.

Таким образом, на основании проанализированных литературных данных, УЗИ и ТАБ остаются основными диагностическими методами при узловых новообразованиях ЩЖ. Правильная интерпретация этих двух исследований помогает врачу снизить риск ненужных инвазивных процедур и помогает в идентификации пациентов с повышенным риском рака [46]. При неопределенных результатах цитологического заключения АТА рекомендует проведение повторной пункции и/или молекулярных тестов. Повторение ТАБ может помочь установить диагноз в 72-80% неопределенных образований [45]. Однако при цитологическом исследовании невозможно определить капиллярную или сосудистую инвазию опухоли.

Если повторная ТАБ или молекулярные анализы не проводились или не дали требуемых результатов, рекомендована либо диагностическая операция, а именно гемитиреоидэктомия, или активное наблюдение. При диагностических операциях, по данным исследований, большинство узлов оказывается доброкачественными. Для этой категории пациентов необходимы более точные маркеры, которые можно было бы использовать в клинической практике для диагностики, оценки агрессивности опухоли, прогноза пациентов, которые стали бы подспорьем в персонализированном лечении пациентов. Возлагают надежды на молекулярно-генетические методы диагностики.

1.3. Молекулярная диагностика новообразований щитовидной железы при неопределенных результатах цитологического заключения

Согласно российским клиническим рекомендациям 2017 г. по диагностике и лечению ВДРЩЖ у взрослых, для дифференциальной диагностики опухолей ЩЖ в рамках цитологического заключения III, IV и V групп по Bethesda Thyroid Classification (2009) может быть полезным генетическое тестирование на BRAF и другие маркеры (*RAS*, *RET/PTC*, *PAX8/PPAR-γ*, *TERT* и др.). Данный метод имеет ограниченные возможности и необходимо накопление дополнительных данных перед тем, как использовать его в рутинной практике [38].

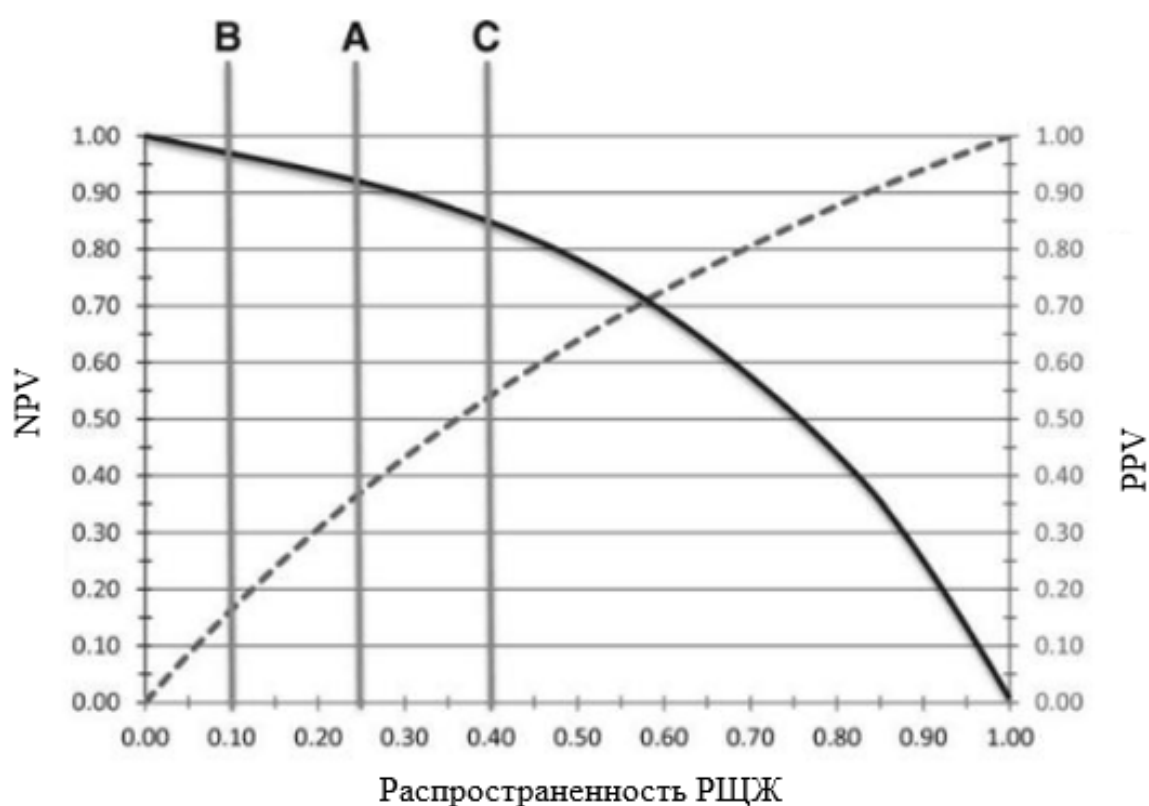
Согласно рекомендациям 2015 г. Американской Тиреоидологической Ассоциации (American Thyroid Association, ATA) [45] и 2016 г. Американской ассоциации клинических эндокринологов (American Association of Clinical Endocrinologists, AACE), применение молекулярно-генетического тестирования можно рассмотреть при неопределённых результатах ТАБ (Bethesda DC3 и DC4) [46]. Однако, данных о долгосрочных результатах применения молекулярных тестов для принятия лечебных решений в настоящее время нет, и молекулярные тесты существенно не влияют на показания к хирургическому вмешательству. По данным исследований, только у 7,2-8,4% пациентов изменяется тактика лечения в результате молекулярного тестирования [42]. Молекулярное тестирование рекомендуется в дополнение к цитологической оценке при неопределенных новообразованиях (рекомендация класса А), но только тогда, когда “результаты, как ожидается, повлияют на ведение пациентов” (рекомендация класса А). Рекомендуется исследование на *BRAF*, *RET/PTC*, *PAX8/PPRG*, и можно рассмотреть мутации *RAS* (рекомендация класса В). Кроме того, за исключением *BRAF V600E*, нет достаточных доказательств “рекомендовать в пользу или против” использования молекулярно-генетического тестирования в качестве критерия для определения объема хирургического вмешательства (рекомендация класса А). Главное, молекулярные исследования не рекомендуются пациентам с

новообразованиями ЩЖ неопределенного значения, если присутствуют другие показания к операции, такие как размер новообразования более 4 см, симптомы компрессии или личные предпочтения пациента. Ограничение касается использования молекулярных маркеров среди детей (≤ 18 лет), поскольку нет достаточных данных, чтобы рекомендовать их использование у данной группы пациентов [46].

Определение значимости молекулярных тестов

Значимость молекулярных тестов при исследовании неопределенных узловых образований щитовидной железы может быть оценена на основе чувствительности, специфичности, отрицательной и положительной прогностической ценности каждого теста. При получении отрицательного результата в молекулярном тесте с высокой чувствительностью и NPV, можно предположить, что пациент с высокой вероятностью имеет доброкачественный узел и может оставаться под активным наблюдением. Положительный результат молекулярного теста с высокой специфичностью и PPV предполагает, что пациент, вероятно, имеет рак щитовидной железы, и ему показано оперативное лечение. Важно отметить, что, хотя специфичность и чувствительность зависят только от производительности теста, NPV и PPV зависят и от распространенности заболевания в исследуемой популяции. Как можно наблюдать из рисунка 4, если распространенность злокачественных новообразований ЩЖ составляет 40% (вертикальная линия “С”), то PPV конкретного теста может быть 54% и NPV 85%, тогда как, при распространенности рака ниже 10% (вертикальная линия “А”) PPV падает до 17%, а NPV возрастает до 96% [54]. Чем реже встречается заболевание, тем с большей уверенностью можно говорить, что отрицательный тест указывает на отсутствие заболевания, и с меньшей уверенностью - что положительный тест действительно указывает на наличие заболевания. В силу сказанного, прогностические значения, полученные в одном исследовании, не являются универсальными. Если распространенность болезни очень низка, то

положительное прогностическое значение не будет близко к 1, даже если и чувствительность, и специфичность высоки. Таким образом, при проведении скрининговых обследований неизбежно то, что у многих людей с положительными результатами теста эти результаты окажутся ложно положительными. Таким образом, популяционные различия в частоте злокачественности, предоставляемые при каждом цитологическом диагнозе, могут привести к значительному изменению NPV и PPV, поэтому они должны быть приняты во внимание при клиническом исследовании любого молекулярного теста [54,55].



Результат теста, основанный на распространенности заболевания:

При распространенности РЦЖ 25%, NPV=92%, PPV=38%

При распространенности РЦЖ 10%, NPV=96%, PPV=17%

При распространенности РЦЖ 40%, NPV=85%, PPV=54%

Рисунок 4 - Влияние изменения распространенности заболевания на прогностическую ценность теста. PPV (пунктирная линия - - -) NPV (сплошная линия —)

Варианты молекулярно-генетических исследований

На основе данных, полученных за последние несколько десятков лет, разработано множество вариантов молекулярно-генетических исследований, которые могут быть использованы для повышения точности диагностики и уже применяются в клинической практике: иммуногистохимические маркеры, белки, точечные генные мутации и перестройки, классификаторы экспрессии генов с использованием микро-РНК [56,57]. По сути, молекулярно-генетические тесты можно разделить на два основных класса: целенаправленный, который заключается в поиске известных мутаций в «горячих точках» и «слепой», при использовании которого измеряется генная экспрессия.

Материалом для исследования на дооперационном этапе могут быть различные биологические жидкости (кровь, плазма, слюна, моча), цитологический материал или смыв из иглы после цитологического исследования; на послеоперационном этапе молекулярно-генетические исследования проводятся с использованием гистологического материала. Основные задачи, которые будут решаться при этом, на дооперационном этапе это установить диагноз и/или оценить риск злокачественности и учесть его при планировании и проведении оперативного лечения и на послеоперационном этапе это прогноз пациентов с новообразованиями ЩЖ, решение о назначении дополнительной терапии РЦЖ.

Основные молекулярные маркеры новообразований ЩЖ

Широко исследуемые ранее иммуногистохимические маркеры такие как галектин-3, HBME-1, фибронектин-1, СITED-1, и цитокератин 19 показали низкую специфичность и отсутствие воспроизводимости среди различных лабораторий, что делает иммуногистохимические исследования трудными для использования в качестве ежедневного диагностического инструмента для диагностики

новообразований ЩЖ [58]. Исследование же генетических мутаций является воспроизводимым.

Патогенез РЩЖ связан с нарушением регуляции сигнальных путей митоген-активируемой протеиназы (МАРК) и фосфатидилинозитол-3 киназы (PI3K/АКТ).

МАРК наиболее часто активируется при РЩЖ вследствие точечных мутаций генов *BRAF*, *RAS* и *RET/PTC* и *TRK* перестроек, являющихся взаимоисключающими молекулярными событиями (то есть носят альтернативный характер).

Зарецкий А.Р. на XX Российском онкологическом конгрессе 2016 г. [59] предложил условно разделить основные молекулярные тесты РЩЖ на несколько групп в зависимости от их диагностической значимости и оказываемых ими эффектов (табл. 2). Гены-драйверы - это гены, приводящие к усилению опухолевого роста, а гены-модификаторы - это гены, не проявляющие собственного действия, но усиливающие или ослабляющие эффекты действия других генов.

Таблица 2 - Группы генов, мутации которых встречаются при РЩЖ, в зависимости от их диагностической значимости

Гены	Индикаторы злокачественности опухоли	Индикаторы “пограничности” Опухоли (>1 мут. → злокач.)	Индикаторы доброкачественности опухоли
Гены-драйверы	<i>ARAF, BRAF, CRAF (RAF1), RET, CCND1</i>	<i>KRAS, NRAS, HRAS</i>	<i>GNAS</i>
Гены-модификаторы	<i>PTEN, TP53, PIK3CA, AKT1, CTNNB1, TERT</i>	<i>TSHR, EIF1AX, MAP2K1, MAP2K2, MAPK1</i>	-

Гены-драйверы, индикаторы злокачественности опухоли – это маркеры, которые не выявляют в доброкачественных новообразованиях. Имеют высокую PPV. К этой группе относится *BRAF*, *RET*.

BRAF является серин-треонин киназой, которая, активируя RAS, активирует MEK и последующие эффекторы MAPK пути, приводя к его постоянной стимуляции. Точечная мутация *BRAF* почти во всех случаях (98-99%) связана с нуклеотидом 1799 и приводит к замене валина на глутамат в 600 кодоне V600E. Всего в 1-2% случаев *BRAF* обнаруживаются замены K601E за счет вставки или делеции в 600 кодоне и *AKAP9/BRAF*. Точечные мутации *BRAF* выявляются в 30%-67% случаев папиллярного РЩЖ [45,55]. Перестройка *BRAF-AKAP9* редко встречается при спорадическом РЩЖ, однако у пациентов с историей облучения встречается с частотой до 11% [60].

По данным мета-анализ 18 исследований точечная мутация *BRAF* была выявлена в 581 случае из 2766 образцов ТАБ ЩЖ. При этом в 580 из 581 *BRAF*-позитивных образцов, был обнаружен ПРЩЖ [61]. Таким образом, частота злокачественных опухолей в *BRAF*-позитивных образцах составила 99,8%. По данным исследований, от 15 до 39% образцов с неясной цитологической картиной ТАБ оказываются *BRAF*-позитивными. Из чего можно сделать вывод, что тестирование образцов ТАБ на точечную мутацию *BRAF V600E* может значительно улучшить точность дооперационной диагностики новообразований ЩЖ [62-64].

RET ген, кодирующий рецепторную тирозинкиназу, экспрессирован в С-клетках ЩЖ и не экспрессируется в фолликулярных клетках. Наиболее распространенным типом перестройки являются *RET/PTC1* (70% случаев) и *RET/PTC3* (до 30% случаев). Транслокации *RET/PTC1* и *RET/PTC3* обнаруживают в 10-20% случаев папиллярного РЩЖ [4]. Есть данные о том, что перестройки *RET/PTC* чаще выявляются у детей или молодых пациентов, перенесших облучение. Мутация *RET* выявляется в 40-50% случаев медулярного РЩЖ, как семейной, так и спорадической форм [55].

Среди спорадических случаев медулярного РЩЖ, мутации *RET M918T* (замена метионина на треонин) является наиболее распространенной, на нее

приходится более 75% всех соматических мутаций *RET*, найденных в этих опухолях [65]. Мутация *RET M918T* также является наиболее распространенной мутацией при синдроме MEN2B, в то время как при синдроме MEN2A и семейной форме медуллярного РЩЖ мутации в *RET*, как правило, происходят в одном из пяти кодонов цистеина. Определение специфических мутаций *RET* при медуллярном РЩЖ помогает установить диагноз и определить наследственные формы заболевания [66].

Гены-модификаторы, индикаторы злокачественности опухоли - это маркеры, которые выявляют при злокачественных новообразованиях и имеют плохой прогноз. Имеют высокую PPV. К данной группе относятся *PIK3*, *PTEN*, *TP53*, *CTNNB1*, *TERT*.

Значимость *PI3K/AKT* пути в онкогенезе ЩЖ стала признаваться в последнее десятилетие, он может быть активирован мутациями в *PIK3CA* и *AKT1*, а также при инактивации гена *PTEN*.

Активирующие мутации *PIK3*, которые как правило, происходят в горячих точках экзона 9 и 20 и были определены при фолликулярном и анапластическом РЩЖ. Мутации *AKT1* были выявлены при метастатическом распространении РЩЖ [55].

Соматические мутации *PTEN* были выявлены при фолликулярном и анапластическом РЩЖ. При наследовании мутаций *PTEN* у пациентов с синдромом Каудена, повышен риск развития фолликулярного РЩЖ [67].

TP53 является опухолевым супрессором, который играет важную роль в регуляции клеточного цикла и репарации ДНК. Точковые мутации *TP53* обнаруживаются в 50–80% анапластического РЩЖ. В одном исследовании *TP53* мутации были найдены также и в 22% фолликулярного РЩЖ [67].

CTNNB1 (бета-катенин) вовлечен в Wnt сигнальный путь. Мутации *TP53* и *CTNNB1* выявляются при более агрессивном течении ВДРЩЖ, а также при низкодифференцированном и анапластическом раке. При анапластическом РЩЖ более чем в 60% случаев могут встречаться точковые мутации в экзоне 3 гена *CTNNB1*.

STRN/ALK гибридный ген был недавно идентифицирован при RNA-Seq анализе агрессивных форм РЩЖ. Слияние стриагин (*STRN*) гена и гена киназы анапластической лимфомы (*ALK*) было выявлено в 9% случаев низко дифференцированного РЩЖ, 4% анапластического РЩЖ, и 1,2% высоко дифференцированного РЩЖ [68]. В одном из японских исследований *STRN/ALK* была выявлена в 10 из 19 случаев (52%) радиационно-индуцированного папиллярного РЩЖ [69].

TERT также недавно обнаруженный молекулярный маркер, мутация промотора теломеразы обратной транскриптазы [70-72]. *TERT* мутации имеют высокую специфичность, они не были найдены при доброкачественных узловых образованиях ЩЖ, и во всех исследованиях показали связь с более агрессивным течением РЩЖ и неблагоприятным прогнозом [73-75]. В исследовании, выполненном Landa I. и соавт., мутации *TERT* были обнаружены в 40% случаев при низкодифференцированном РЩЖ и в 73% случаев при анапластическом РЩЖ [75] [60].

Гены-драйверы, индикаторы “пограничности” опухоли - маркеры, которые выявляют и в доброкачественных и в злокачественных новообразованиях, в связи с чем их выявление требует проведения дополнительных исследований. Имеют низкую PPV. К данной группе относятся гены *RAS* каскада, *PAX8/PPAR γ* .

RAS гены (*H*-, *K*- и *NRAS*) относятся к протоонкогенам и кодируют цитоплазматические белки, участвующие во внутриклеточной передаче сигнала от рецепторов факторов роста. Они распространяют сигналы по MAPK, *PI3K/AKT* и другим сигнальным путям. Точечные мутации *RAS* генов как правило происходят в 12, 13, и 61 кодонах. *H*-, *K*- и *NRAS* мутации чаще обнаруживаются в фолликулярных клетках опухолей ЩЖ и выявляются в 40-50% случаев фолликулярного РЩЖ, 10-20% папиллярного РЩЖ карцином (чаще при его фолликулярном варианте), в 20-40% случаев фолликулярных аденом. Мутации *HRAS* и *KRAS* также выявляют при медулярном РЩЖ. Обнаружение *RAS* мутации в ЩЖ не устанавливает степень злокачественности, однако мутации *RAS* часто

являются маркером фолликулярного варианта папиллярного рака, который наиболее трудно диагностируется при ТАБ [55,66].

Перестройка *PAX8/PPAR γ* , является нарушением в генах, кодирующих факторы дифференцировки, является взаимоисключающей с генами RAS каскада. *PAX8/PPAR γ* выявляется в 30-40% фолликулярного РЩЖ, с более низкой частотой при фолликулярном варианте папиллярного РЩЖ и фолликулярных аденомах [55].

NTRK является рецептором тирозинкиназы и при перестройках, активирует сигнальные пути MAPK. *NTRK* перестройки выявляются примерно 1-5% папиллярного РЩЖ и с более высокой частотой у пациентов с историей облучения [76].

По данным исследований, при полном транскриптомном анализе RNA-Seq был открыт новый гибридный ген РЩЖ *ETV6-NTRK3*, данная хромосомная перестройка, встречается в 2% спорадических случаев папиллярного РЩЖ и 14,5% случаев при радиационно-индуцированном РЩЖ [77].

Гены-модификаторы, индикаторы “пограничности” опухоли - маркеры, которые выявляют и в доброкачественных и в злокачественных новообразованиях, в связи с чем их выявление требует проведения дополнительных исследований. К данной группе относятся *TSHR*, *EIF1AX*, *MAP2K1*, *MAP2K2*, *MAPK*.

Соматические мутации *TSHR* часто выявляются в автономно функционирующих узлах ЩЖ. Тем не менее, точечные мутации *TSHR* были обнаружены и при РЩЖ [67].

EIF1AX кодирует фактор инициации трансляции eIF1A. Мутации *EIF1AX* были выявлены как при доброкачественных изменениях, так и при анапластическом РЩЖ [78].

Гены-драйверы, индикаторы доброкачественности опухоли – маркеры, идентификаторы, они выявляются в основном при доброкачественных новообразованиях. Имеют высокую NPV. К данной группе относится мутация гена *GNAS* [55].

Мутации гена *GNAS*, который кодирует альфа-субъединицу гетеротримерных белковых комплексов G, выявляются преимущественно в

доброкачественных гиперплазированных узлах. Таким образом, изолированная мутация *GNAS* может быть маркером доброкачественных образований.

Кроме того, в последних исследованиях изучалась взаимосвязь между мутациями, например, такими как *BRAF V600E* и *TERT*, *RAS* и *TERT*. Так сочетание *BRAF V600E* и мутации *TERT* ассоциировался с ухудшением прогноза у пациентов с РЩЖ, в том числе рецидивами и смертностью. Сочетание мутаций *RAS* и *TERT* ассоциировалось с более агрессивным течением ФРЩЖ [79].

Выше приведены лишь основные гены, мутации в которых более исследованы и имеют клиническую значимость. Однако в настоящее время описано более 60 генов, принимающих участие в регуляции процессов канцерогенеза РЩЖ [80].

Диагностическое значение молекулярно-генетических исследований

Применение молекулярно-генетических панелей

Раньше исследование редких мутаций было трудно применить для образцов ТАБ из-за высокой стоимости и необходимости большого количества ДНК и/или РНК. В настоящее время есть возможность использования секвенатора нового поколения (next generation sequencing) (NGS), это и удобно, и экономически более выгодно при необходимости обнаружения нескольких точечных мутаций и перестроек генов.

Точечные мутации *BRAF* и *RAS*, транслокации *RET/PTC* и *PAX8/PPAR γ* , являются наиболее распространенными генетическими изменениями, найденными при дифференцированном РЩЖ. На их основе была создана первая молекулярная панель для диагностики РЩЖ в узлах с неопределенным цитологическим заключением ТАБ, включающая семь (или восемь) мутаций, изначально названная компанией Asuragen как miRInform: *BRAF*, *KRAS*, *HRAS*, *NRAS* и *RET/PTC1*, *RET/PTC3*, *PAX8/PPAR γ* , (и *TRK*). В нескольких проспективных исследованиях было показано, что выявление любой мутации, за исключением *RAS*, имеет

высокую специфичность, высокую PPV, а отсутствие мутаций показало высокую NPV 94%. Соответственно, выявление любой мутации, за исключением *RAS*, может являться показанием к тотальной тиреоидэктомии при неопределенном цитологическом результате ТАБ. При отсутствии мутаций возможно проведение менее агрессивного лечения. По сравнению с мутацией *BRAF* или перестройками *RET/PTC* и *PAX8/PPAR γ* , мутации *RAS* показали более низкую PPV в диагностике РЩЖ от 74% до 87%. При высокой специфичности 7-генная панель показала низкую чувствительность, поскольку не все новообразования ЩЖ имеют специфичные маркеры [56,61].

Открытие новых генов, вовлеченных в канцерогенез щитовидной железы, появление технологий с высокой пропускной способностью, таких как NGS, привело к расширению молекулярно-генетических исследований, которые можно использовать для образцов с неопределенным цитологическим заключением ТАБ. Применение расширенных панелей повысило чувствительность и NPV существующих панелей. Так Thyroseq® V2 панель была расширена до 15-генов за счет новых клинически значимых генов, таких как *PIK3CA*, *TP53*, *TSHR*, *PTEN*, *GNAS*, *CTNNB1*, *AKT1* и *RET* [66]. При неопределенных цитологических заключениях (Bethesda III-V) тест показал чувствительность 90–91%, специфичность 92–93%, PPV 77–83%, и NPV 96–97%.

Изменение набора микроРНК (miRNA) приводит к нарушению регуляции экспрессии генов в процессе злокачественной трансформации фолликулярных клеток ЩЖ. Наборы микроРНК, экспрессирующихся в клетках при доброкачественных поражениях, папиллярном или фолликулярном, или других гистологических типах РЩЖ различны. При папиллярном РЩЖ было выявлено значительное повышение экспрессии miR-146b, miR-155, miR-181b, miR-221, miR-222 и miR-224. При этом, экспрессия некоторых микроРНК могла увеличиваться при наличии драйверных мутаций. При фолликулярном РЩЖ было выявлено изменение экспрессии miR-155, miR-197, miR-224 и miR-346, а при анапластическом раке – miR-26a, miR-30a-5p, miR-30d и miR-125b [80].

Чтобы определить профиль экспрессии микроРНК в новообразованиях ЩЖ был создан генный классификатор Afirma Gene Expression Classifier (GEC). Генный классификатор оценивает экспрессию 142 генов и распределяет узлы щитовидной железы с неопределенными результатами ТАБ на доброкачественную или злокачественную категории. Гены, используемые в панели экспрессии генов, участвуют во многих клеточных процессах, в том числе энергетического обмена, клеточной дифференцировки и роста [80-84].

При неопределенных цитологических заключениях/подозрительных на злокачественные новообразования ЩЖ (Bethesda III-V категории) тест показал высокую чувствительность 92% и NPV 93% при низкой специфичность 52% и PPV 47%. Соответственно, тест не может точно определить злокачественное новообразование.

В одном из исследований [57] была проведена оценка нового диагностического алгоритма, сочетающего комбинированное использование экспрессии генов и генных панелей, обнаружение мутаций и экспрессии микроРНК, для улучшения диагностической ценности молекулярных тестов: ThyGenX Thyroid Oncogene Panel и ThyraMIR Thyroid miRNA Classifier. Хирургические образцы и образцы ТАБ 638 пациентов были исследованы на 10 микроРНК: miR-29b-1-5p, miR-31-5p, miR-138-1-3p, miR-139-5p, miR-146b-5p, miR-155, miR-204-5p, miR-222-3p, miR-375, and miR-551b-3p и на 7 генов: *BRAF*, *HRAS*, *KRAS*, *NRAS* и перестройки *PAX8-PPARG*, *RET-PTC1*, *RET-PTC3*. С неопределенным цитологическим заключением было 109 образцов. Набор образцов производился в 12 эндокринологических центрах США.

В итоге мутации были обнаружены в 69% случаев злокачественных новообразований. Среди образцов, в которых не было выявлено мутаций, при исследовании микроРНК правильно определены 64% случая злокачественных новообразований и 98% случаев доброкачественных образований. Диагностическая чувствительность и специфичность комбинированного алгоритма составила 89% (95% доверительный интервал (ДИ), 73-97%) и 85% (95% ДИ, 75-92%), соответственно. При распространенном РЩЖ 32%, 61% результатов

молекулярных тестов были доброкачественными с NPV 94% (95% ДИ, 85-98%). Тест повышает диагностическую значимость диагностики истинных доброкачественных поражений, что может привести к снижению количества неоправданных операций на 69% [57].

В настоящий момент во всем мире применяются готовые наборы-панели для молекулярного тестирования новообразований ЩЖ. Данные представлены в таблице 3.

Заключение, предоставляемое в результате врачу, содержит информацию о мутациях и/или вероятность злокачественности в %. Однако, доступность молекулярно-генетического тестирования в настоящий момент имеет ограничения по стоимости и распространенности использования.

Основываясь на анализе данных, полученных при исследовании 7-генной мутационной панели(МП) miRInform [56], 15-генной МП Thyroseq® V2 [66] и генного классификатора Afirma [83], АТА в 2015 г. включила их использование для дополнительной оценки новообразований ЩЖ при неопределенных результатах ТАБ. В зависимости от риска злокачественности, были даны рекомендации по объему хирургического вмешательства с использованием данных молекулярных тестов. Вероятность злокачественности основывалась на исследованиях, использованных для создания классификации Bethesda (2009) представлена в таблице 4 [54].

Таблица 3 - Различные варианты молекулярно-генетических панелей, представленные в мире

	Название	Производитель
1	ThyroSeq® - Thyroid Cancer Next-Generation Sequencing Panel	Univ. of Pittsburgh Medical Center Division of Molecular & Genomic Pathology MGP Laboratory, Питтсбург, США
2	ThyGenX - thyroid oncogene panel	Interpace Diagnostics -PDI Inc, Нью-Джерси, США
3	The Archer® VariantPlex™ Comprehensive Thyroid and Lung (CTL) Kit	ArcherDX, Inc, Boulder, Колорадо, США
4	Sentosa SQ Thyroid Cancer Panel	Vela Diagnostics, Сингапур, США, Германия
5	Thyroid Cancer Mutation Panel	Cleveland Clinic Laboratories, Кливленд, США
6	Afirma Gene Expression Classifier (GEC), Afirma Malignancy Classifiers (AMCs)	Veracyte Inc, Калифорния, США
7	ThyraMIR miRNA gene expression classifier	Interpace Diagnostics PDI Inc, Нью-Джерси, США
8	RosettaGX Reveal Thyroid microRNA Classifier	Rosetta Genomics Ltd.Rehovot, Израиль, Калифорния, Филадельфия, Пенсильвания, США

Таблица 4 - Оценка риска злокачественности новообразований ЩЖ при неопределенных результатах ТАБ и рекомендации по хирургической тактике и применению

Категория Bethesda	Дополнительный тест	Оценка молекулярного теста	Оценка риска злокачественности, диапазон %	Рекомендации
DC III	Не проводится		6-48(14)	Повторная ТАБ, дополнительные тесты или гемитиреоидэктомия
	КЭГ	Подозрительный	38	гемитиреоидэктомия
		Доброкачественный	5	Активное наблюдение
	7-генная МП	Положительный	88	тиреоидэктомия
		Отрицательный	6	Активное наблюдение или гемитиреоидэктомия
DC IV	Не проводится		14-34(25)	Активное наблюдение или гемитиреоидэктомия
	КЭГ	Подозрительный	37	гемитиреоидэктомия
		Доброкачественный	6	Активное наблюдение
	7-генная МП	Положительный	87	тиреоидэктомия
		Отрицательный	14	гемитиреоидэктомия
	15-генная МП	Положительный	87	тиреоидэктомия
		Отрицательный	5	Наблюдение

Продолжение таблицы 4

Категория Bethesda	Дополнительный тест	Оценка молекулярного теста	Оценка риска злокачественности, диапазон %	Рекомендации
DC V	Не проводится		53-87(70)	Дополнительные тесты или тиреоидэктомия
	КЭГ	Подозрительный	76	тиреоидэктомия
		Доброкачественный	15	гемитиреоидэктомия
	7-генная МП	Положительный	95	Тиреоидэктомия
		Отрицательный	28	гемитиреоидэктомия

КЭГ – классификатор экспрессии генов, МП – мутационная панель

Возможности использования свободно циркулирующей ДНК

Анализ внеклеточной ДНК (жидкостная биопсия), выделение свободно циркулирующей ДНК (сцДНК) — перспективное направление в современной медицине, особенно в онкологии. Этот метод позволяет преодолеть ограничения, связанные с получением образцов опухолевой ткани и работой с ними, являясь идеальным инструментом для исследования молекулярно-генетических нарушений у пациентов [85]. Взятие пробы крови является минимально инвазивной процедурой, которая может быть осуществлена в любое время в течение курса терапии, что позволяет наблюдать за молекулярными изменениями в опухоли в динамике [86,87].

При развитии онкологических заболеваний, содержание сцДНК в крови достоверно повышается, но при этом не зависит от локализации опухоли [88]. Имеются данные о связи содержания сцДНК в крови с клиническим течением онкологического заболевания [89]. Более высокое по сравнению с нормой содержание сцДНК в крови часто наблюдается уже на ранних стадиях опухолевого процесса, а также может резко возрастать при метастазировании [90]. Концентрация сцДНК может сильно отличаться у разных пациентов [91]. Содержание циркулирующей опухолевой ДНК (цоДНК) в плазме крови крайне низкое: ее количество зависит от стадии заболевания и часто составляет менее 1 % от общего количества сцДНК [91-92]. В связи с этим для обнаружения молекулярно-генетических нарушений в цоДНК необходимы высокочувствительные методы анализа, такие как секвенирование нового поколения (next generation sequencing, NGS) и цифровая полимеразная цепная реакция (ПЦР; droplet digital polymerase chain reaction, ddPCR). Высокая чувствительность этих методов при анализе соматических мутаций в сцДНК плазмы крови была неоднократно подтверждена [93-95]. Однако, их рутинное применение в онкологии ограничено из-за крайне высокой стоимости одного исследования, а в случае с NGS — также из-за неоправданной избыточности получаемой информации. Одним из перспективных методов анализа сцДНК плазмы крови является метод усиленной аллель-специфической ПЦР,

разработанный компанией «Евроген» (Россия) специально для работы с биологическими образцами, содержащими небольшое количество мутантной ДНК. Принцип метода заключается в сочетании аллель-специфической ПЦР с блокадой амплификации аллеля «дикого типа» — так же, как при использовании метода мутационно-специфической ПЦР [96, 97].

1.4. Современные подходы к лечению высокодифференцированного рака щитовидной железы

Стратификация рисков

Согласно современным подходам к выбору тактики лечения больных с высокодифференцированным раком щитовидной железы (ВДРЩЖ), первостепенным является удаление первичной опухоли и пораженных метастазами лимфоузлов, при этом объем хирургического лечения определяется на предоперационном этапе и может уточняться на интраоперационном этапе диагностики с учетом распространенности опухоли и наличия неблагоприятных прогностических факторов.

Дальнейшая стратегия лечения определяется с учетом потенциала агрессивности, а именно – группы клинического риска рецидива заболевания, для чего была разработана система стратификации рисков. Эта трехуровневая система основана на распределении больных по группам, учитывая возраст, стадию, характер роста, гистологический вариант и размер опухоли, наличие отдаленных метастазов [98, 99-103].

Существующие клинические рекомендации стратификации рисков для пациентов с ВДРЩЖ (7-е издание UICC, 2010 г.) (Thyroid cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up, 2010):

Группа низкого риска – солитарная опухоль T1a (≤ 1 см) N0M0 с характеристиками: нет ангиоинвазии, нет прорастания капсулы ЩЖ нет агрессивного гистопатологического варианта опухоли, для таких пациентов

рекомендовано хирургическое лечение: радикальная операция по диагностированной распространенности, радиойодтерапия не показана, но после тиреоидэктомии иногда выполняется.

Группа умеренного риска – опухоль T1 b (> 1 и ≤ 2 см) N0M0 или T3N0-1aM0, или первично-множественная опухоль T1aN0-1aM0, с характеристиками: ангиоинвазия может быть или нет, микроскопические признаки инвазии в окружающие ткани могут быть или нет, возраст менее 45 лет, рекомендовано хирургическое лечение: радикальная операция по диагностированной распространенности, показана радиойодтерапия.

Группа высокого риска – T4N0M0 либо, выраженный инвазивный рост, наличие региональных или отдаленных метастазов при любой опухоли T любая N1b или M1, возраст старше 45 лет рекомендовано хирургическое лечение: радикальная или нерадикальная операция по диагностированной распространенности, показана радиойодтерапия.

На основании данных Ardito G, выживаемость пациентов с ВДРЩЖ в группе низкого риска составляет 99%, в группе умеренного риска – 87%, в группе высокого риска – 57% [104].

Первые российские национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению ВДРЩЖ, принятые на XI Российском онкологическом конгрессе и на IV Всероссийском тиреоидологическом конгрессе [105] имели несколько иные характеристики в оценке стадии заболевания после операции, необходимой для оценки индивидуального прогноза и выбора протокола дальнейшего ведения пациента:

Группа низкого риска – пациенты с солитарной опухолью T1N0M0 (размером менее 2 см, без признаков экстра tireоидного распространения); группа промежуточного риска – пациенты с опухолью T2N0M0 или первично-множественный РЩЖ T1N0M0; группа высокого риска - пациенты с любой опухолью T3, T4, N1 или M1, персистенцией РЩЖ, а также пациенты после паллиативных операций. Таким образом, различия в основном касаются размеров образования. В группе низкого риска европейские и американские рекомендации

T1aN0M0(≤ 1 см), а российские рекомендации T1bN0M0 (≤ 2 см), однако все сходятся во мнении, что образование не должно иметь признаков экстра tireоидного распространения.

Современные принципы стадирования послеоперационного риска, изложенные в российских рекомендациях 2017 г. [38], основаны на рекомендациях АТА 2009 в модификации АТА 2015. Выделяют три группы: высокого, промежуточного и низкого риска [38, 100].

Группа низкого риска: ПРЦЖ без локорегионарных или отдаленных метастазов; удалена макроскопически вся опухолевая ткань; отсутствие экстра tireоидной инвазии; отсутствие сосудистой инвазии; неагрессивный гистологический вариант; отсутствие метастатических очагов по данным первой сцинтиграфии с ^{131}I ; cN0 или pN1 при поражении не более 5 лимфоузлов, микрометастазы ($<0,2$ см в наибольшем измерении); интратиреоидный, высокодифференцированный фолликулярный РЦЖ с капсулярной инвазией или без нее и минимальной сосудистой инвазией (<4 очагов); интратиреоидная папиллярная микрокарцинома, унифокальная или мультифокальная, независимо от мутации *BRAFV600E*.

Группа промежуточного риска: агрессивный гистологический вариант; интратиреоидный папиллярный рак <4 см при наличии мутации *BRAFV600E*; cN1 или pN1 при поражении более 5 лимфоузлов, макрометастазы ($<3,0$ см в наибольшем измерении); микроскопическая экстра tireоидная инвазия; Папиллярный рак с сосудистой инвазией; мультифокальная папиллярная микрокарцинома с микроскопической экстра tireоидной инвазией и мутацией *BRAFV600E*; наличие метастатических очагов на шее, накапливающих радиоактивный йод по данным первой сцинтиграфии с ^{131}I .

Группа высокого риска: резидуальная опухоль; опухоль при сочетании индуцирующих агрессивное течение мутаций (*TERT* \pm *BRAF*); pN1 с любым метастатическим лимфоузлом >3 см в наибольшем измерении; макроскопическая экстра tireоидная инвазия; широко инвазивный фолликулярный рак (>4 очагов);

доказанные отдаленные метастазы; высокая концентрация ТГ, характерная для отдаленных метастазов.

При опухолях размером более 1 см, существующие клинические рекомендации, а также мнения специалистов по ведению больных солидарны в том, что показана тиреоидэктомия и по показаниям радиойодтерапия [38, 98, 100, 106]. Однако, при микрокарциномах мнения специалистов значительно варьируются, в зависимости от того, в какую группу клинического риска относится образование.

Н. Takami с соавт. [107] проанализировал исследования, которые были проведены после принятия японским обществом хирургии ЩЖ (JSTS) и японской ассоциации эндокринных хирургов (JAES) в 2010 г рекомендаций по лечению опухолей ЩЖ. Были накоплены данные о лечении папиллярных микрокарцином низкого риска. Японские исследователи пришли к выводу, что наблюдение папиллярной микрокарциномы низкого риска у больных пожилого возраста является приемлемой альтернативой. Оптимальный объем операции при микрокарциномах низкого риска является спорным. В Японии, из-за юридических ограничений большинство пациентов не проходят абляции радиоактивным йодом и имеют хороший прогноз.

Мультифокальные микрокарциномы

С. Zafon с соавт. [108] сравнил клиническое течение и гистологические данные папиллярных микрокарцином и папиллярного рака большего размера. Он обнаружил, что при микрокарциномах очаги во второй доле были обнаружены в 27% случаев. Поэтому исследователи считают предпочтительным у пациентов группы низкого риска тотальную тиреоидэктомию и абляцию радиоактивным йодом.

По данным К. Lee и соавт. [109], общая частота билатерального поражения при папиллярном раке составляет 29,8%: у пациентов с размером опухоли ≥ 1 см составляет 36,8%, у пациентов с микрокарциномами 25,7%. В данном

исследовании диагноз билатерального поражения был основан на гистологическом исследовании у 5,5% пациентов. Таким образом, автор рекомендует пациентам группы низкого риска тотальную тиреоидэктомию.

N. Küşük с соавт. [17] выявил мультифокальность в 15% наблюдений в обследуемой группе пациентов с папиллярными микрокарциномами. Предпочтительным методом лечения считает тиреоидэктомию. В своем исследовании всем пациентам провел абляцию остаточной тиреоидной ткани радиоактивным йодом. При динамическом наблюдении у 7% пациентов был диагностирован рецидив с метастазами в регионарные лимфоузлы, при этом исходно часть пациентов имела монофокальную опухоль, без поражения лимфоузлов. В связи с этим был сделан вывод, что лечение папиллярных микрокарцином не должно отличаться от лечения пациентов с папиллярным раком большего размера.

По данным различных авторов мультифокальность обнаруживается от 15 до 35,6% случаев микрокарцином и является важным прогностическим фактором персистенции [17,108,109,110,111,112,113], учитывая, что при мультифокальности высока вероятность билатерального поражения (25-27% случаев), при микрокарциномах рекомендуют проведение тотальной тиреоидэктомии.

Микрокарциномы с метастатическим поражением лимфоузлов

J. Giotakis с соавт. [15] рекомендует при микрокарциномах тиреоидэктомию, лимфодиссекцию проводит при подтвержденном поражении лимфоузлов. Терапию радиоактивным йодом проводит при наличии таких факторов, как мультицентричность опухоли, метастатическое поражение регионарных лимфоузлов, инвазия в капсулу ЩЖ или в сосуды.

В исследовании M. Pelizzo с соавт. [113] при микрокарциномах, на дооперационном этапе регионарные метастазы были выявлены у 5,6% пациентов. В своем исследовании, чтобы оценить отдаленные результаты хирургического лечения, были выделены три группы пациентов: микрокарциномы менее 5 мм в

наибольшем измерении, микрокарциномы более 5 мм и микрокарциномы с регионарными метастазами. Все три группы имели разные стратегии лечения. При динамическом наблюдении в группах без метастатического поражения лимфоузлов не наблюдалось ни одного случая рецидива заболевания, из чего исследователи сделали вывод, что при отсутствии метастазов в лимфатические узлы пациенту возможно проведение гемитиреоидэктомии.

Z. Li и соавт. [114] провели исследование частоты поражения лимфоузлов центральной зоны у пациентов с папиллярным РЩЖ. При этом метастазы в центральную зону шеи были диагностированы у 23,4% пациентов с микрокарциномой. Авторы пришли к выводу, что необходимым объемом операции является тиреоидэктомия с профилактической лимфодиссекцией центральной зоны шеи.

Еще несколько исследований сообщили, что наличие метастазов в лимфатические узлы при микрокарциномах является одним из наиболее важных прогностических показателей. По данным литературы, метастатическое поражение лимфоузлов было выявлено в 25-30% [105,115-120].

Микрокарциномы, случайно выявленные на аутопсии или после операции на щитовидной железе

В работе I.D. Naу с соавт. [110] представлено исследование за 60-летний период наблюдения 900 случаев папиллярной микрокарциномы, которая стала случайной послеоперационной находкой. Всем пациентам было проведено оперативное лечение в различном объеме (тиреоидэктомия, предельно-субтотальная резекция, субтотальная резекция, гемитиреоидэктомия), хирургическое вмешательство на лимфоузлах центральной зоны шеи проведено у 50% пациентов, удаление тиреоидного остатка с применением радиоiodтерапии у 17% пациентов. Ни у одного из 892 пациентов с исходной полной резекцией опухоли не выявлено персистенции заболевания в течение 20 послеоперационных лет. Двадцатилетняя частота рецидивов опухоли составила 6% и 40-летняя 8%.

Более высокие темпы рецидивов были замечены с мультифокальной опухолью ($P = 0,004$), и у пациентов с метастазами в лимфоузлы ($p < 0,001$). I.D. Нау установил, что ни увеличение объема операции, ни радиойодтерапия не снижали частоту возникновения рецидивов, по сравнению с гемитиреоидэктомией.

Он сделал вывод, что более 99% пациентов с микрокарциномами папиллярного РЩЖ имеют очень низкий риск персистенции или смерти от рака. Радиойодтерапия после тиреоидэктомии не улучшает прогноз. Однако для лечения больных даже с низким риском папиллярного РЩЖ, диагностированного на дооперационном этапе, оптимальной стратегией автор считает тиреоидэктомию с удалением лимфоузлов центральной зоны шеи, поскольку это позволит предотвратить повторные операции.

J.D. Lin с соавт. [121] в своем исследовании сравнил клиническое течение и отдаленные результаты наблюдения двух групп: пациентов, прооперированных по поводу папиллярных микрокарцином ЩЖ и пациентов у которых микрокарциномы были случайно выявлены после хирургического вмешательства по поводу другого заболевания. Они пришли к выводу, что гемитиреоидэктомия и тиреоидэктомия без проведения абляции радиоактивным йодом - вполне адекватное лечение для пациентов со случайно установленным диагнозом микрокарциномы, а для пациентов с диагностированной на дооперационном этапе папиллярной микрокарциномой показано проведение терапии радиоактивным йодом. По данным J.D. Lin смертность при папиллярных микрокарциномах составляет от 0 до 4 %. Большинство смертельных случаев взаимосвязаны с диагностированными на дооперационном этапе отдаленными метастазами.

Множество микрокарцином случайно выявляются при плановом гистологическом исследовании. По данным катализа аутопсийных исследований Y.S. Lee и соавт. [122], скрытые микрокарциномы выявляются в 1,0 - 35,6% случаев. Клинически папиллярные микрокарциномы чаще диагностируются у женщин, а на аутопсии соотношение мужчин и женщин составляет 1:1. Пациенты со случайно выявленными микрокарциномами были старше и имели очаги рака 0,1-0,3 см с явлениями склероза. Lee и соавторы дают

этому объяснение двухступенчатой теорией возникновения: карцинома формируется под влиянием различных факторов, в том числе экологических и генетических, она не имеет никаких клинических проявлений, минимального размера. Но под воздействием других активирующих факторов проявляется клиническая картина заболевания.

Таким образом, авторы делают вывод о различии клинического течения скрытых форм и микрокарцином.

Агрессивное лечение микрокарцином или их агрессивное течение?

Т. Wang с соавт. [123] проанализировал данные 29 512 пациентов, прооперированных в США за 1998-2010 года по поводу папиллярной микрокарциномы. Оказалось, что средний возраст пациентов составил 48,5 лет, средний размер образования 0,53 см, 73,4% пациентов была проведена тиреоидэктомия, 31,3% проведена абляция радиоактивным йодом. Тиреоидэктомию чаще выполняли при наличии регионарного или отдаленного метастазирования. Терапию радиоактивным йодом проводили при мультифокальных микрокарциномах. В целом 5-ти и 10-ти летняя выживаемость составила 99,6 и 99,3%. То есть смертность пациентов с микрокарциномой была не выше общей смертности населения в США. Таким образом Т. Wang делает вывод, что возможно части пациентов проводится более агрессивное лечение, чем требуется, без доказанного повышения выживаемости.

G. Ardito и соавт. [104] проанализировали данные, полученные после 5,4 лет наблюдения 149 пациентов с микрокарциномами. Терапия радиоактивным йодом в ходе лечения проводилась 49 (33%) пациентам. У 28 (19%) были выявлены рецидивы заболевания, все были повторно прооперированы и получили терапию радиоактивным йодом. При анализе данных, было выявлено, что большинство микрокарцином имеют благоприятный долгосрочный прогноз, но у некоторых пациентов возможно агрессивное клиническое течение. Была выявлена корреляция с некоторыми гистопатологическими особенностями (экстратиреоидное

распространение, мультифокальность опухоли, отсутствие капсулы). Таким образом, при наличии описанных факторов, пациенту рекомендуется проведение тиреоидэктомии с удалением лимфоузлов центральной зоны шеи, с последующей терапией радиоактивным йодом.

N. Chéreau с соавт. [124] в своем исследовании сравнил риск рецидива у пациентов с неинвазивной и инвазивной папиллярной микрокарциномами и РЩЖ больше 1 см. В исследование были включены все пациенты, прооперированные по поводу папиллярного РЩЖ с января 1978 года по декабрь 2011. В большинстве случаев была выполнена тиреоидэктомия с удалением лимфоузлов центральной зоны шеи, некоторым пациентам проводилась терапия радиоактивным йодом. Средний срок наблюдения составил 6,7 лет. Всего в исследование были включены 2482 пациента: 1771 с микрокарциномами низкого риска, 178 с микрокарциномами с экстракапсулярной инвазией и 533 с РЩЖ больше 1 см. Персистенция была выявлена у 36 пациентов первой группы (2%), 14 пациентов второй группы (7,9%), 124 больных третьей группы (23,3%). В группе с инвазивной микрокарциномой частота персистенции была выше у пациентов с метастазами в лимфоузлы, чем у пациентов без метастазов 14,8 против 4,8%; $p < 0,01$. Таким образом, у пациентов с микрокарциномами с экстракапсулярной инвазией при наличии метастазов самый высокий риск персистенции, и они должны подвергаться более агрессивному лечению.

C. Page с соавт. [125] показал, что микрокарциномы могут быть такими же агрессивными, как и папиллярный рак большего размера. Пациенты были выбраны по следующим критериям: микрокарциномы 0,5-1 см, многоочаговые, с капсульной или сосудистой инвазией, или с наличием метастазов в лимфоузлы. Всем пациентам была проведена тиреоидэктомия и радиойодтерапия. Части пациентов были выполнены центральная и боковая лимфодиссекции, нескольким пациентам была выполнена двусторонняя боковая лимфодиссекция. При динамическом наблюдении рецидивы не выявлены. Таким образом, авторы пришли к выводу, что тиреоидэктомия является оптимальным объемом операции

при микрокарциномах, лимфодиссекция выполняется при подтвержденном метастатическом поражении лимфоузлов соответствующих уровней шеи.

Большинство авторов считают, что хирургическая стратегия при различных типах микрокарцином должна отличаться. Факторы риска рецидива микрокарцином различны, из них выделяют мужской возраст, мультифокальность, инвазию в капсулу [14,126,127]. При этом мультифокальность обнаруживается от 7 до 56% случаев микрокарцином [17,108,109,110,111,112,113]. Несколько исследований сообщили, что наличие метастазов в лимфатические узлы при микрокарциномах является одним из наиболее важных прогностических факторов, тогда как другие считают, что поражение лимфатических узлов существенно не влияет на прогноз пациента. Метастатическое поражение лимфоузлов при микрокарциномах было выявлено в 26-56% случаев. [115-120].

Клинически по типу манифестации Н. Dralle и А. Machens [52] предложили выделить три формы папиллярных микрокарцином и предположить различную тактику ведения: папиллярная микрокарцинома мультифокальная с метастазами в региональные лимфатические узлы или без; папиллярная микрокарцинома, расположенная интратиреоидно, представляющая собой одиночный узел, без метастатического поражения лимфоузлов; папиллярная микрокарцинома как случайная находка при проведении окончательного гистологического исследования.

Хирургическое лечение

Согласно российским рекомендациям 2017 г., показания к гемитиреоидэктомии, ТЭ и ЦЛАЭ определены достаточно четко [38]. При опухоли от 1 до 4 см без экстраиреоидной инвазии (определяемой клинически или по данным УЗИ) и/или метастатических лимфоузлов (cN0) возможна как тиреоидэктомия, так и гемитиреоидэктомия. Гемитиреоидэктомия – адекватный объем операции у пациентов с ПРЦЖ группы низкого риска (без семейного анамнеза РЦЖ и облучения головы и шеи). Возможный выбор тиреоидэктомии

связан с решением о послеоперационной РЙТ и упрощенным наблюдением или предпочтениями пациента. При опухоли более 4 см или при опухоли с выраженной экстра tireоидной инвазией (клинически T4), клинически выраженными метастазами (cN1) или отдаленными метастазами (M1) первичное лечение – тиреоидэктомия с максимальной хирургической аблацией опухолевой ткани в пределах возможных противопоказаний. Удаление лимфатических узлов центральной зоны (VI уровень) показано, если по данным дооперационного обследования есть подозрение на наличие метастазов в этой зоне (cN1) или они выявлены интраоперационно.

Однако, спорным вопросом все еще остается тактика лечения микрокарцином. Так тиреоидэктомия является оптимальным выбором при мультифокальной микрокарциноме, поскольку при гемитиреоидэктомии очень высок риск рецидива в контрлатеральной доле. Даже первичное образование ЩЖ малых размеров может давать метастазы в лимфатические узлы с обширным распространением и вовлечением другой стороны шеи. Хирургическая стратегия при таких опухолях включает тиреоидэктомию и удаление лимфоузлов центральной или боковой группы. При подтверждении поражения лимфоузлов, лечение необходимо продолжить и провести аблацию остаточной тиреоидной ткани радиоактивным йодом [115-120,121, 125,126].

Большинство экспертов против тиреоидэктомии и лимфодиссекции при одиночной микрокарциноме без метастатического поражения лимфоузлов, потому что частота рецидивов после гемитиреоидэктомии низкая [14,113,115,116,128-130], часть экспертов считает необходимым объемом тотальную тиреоидэктомию, которую можно дополнить терапией радиоактивным йодом [110,121,125,126].

Множество микрокарцином случайно выявляют при плановом гистологическом исследовании, что напрямую зависит от толщины среза тиреоидной ткани. По данным Y.S. Lee с соавторами [122] частота выявления скрытых микрокарцином варьирует в различных аутопсийных исследованиях от 1,0 до 35,6% случаев. Случайно выявленные микрокарциномы, в отличие от клинически подтвержденных микрокарцином папиллярного РЩЖ, имеют лучший

прогноз независимо от экстракапсулярной инвазии или степени хирургического вмешательства, поэтому для данной группы достаточно проведение гемитиреоидэктомии [121,14,107,113].

Таким образом, поскольку нет единого мнения по поводу объема хирургического лечения папиллярных микрокарцином, то важно учитывать не только размер опухоли, но и другие факторы риска рецидива заболевания: мультифокальность, инвазию в капсулу или сосуды, поражение лимфоузлов. При этом только полное удаление ЩЖ позволяет проводить лечение радиоактивным йодом и осуществлять адекватное наблюдение с использованием тиреоглобулина – основного маркера персистенции РЩЖ [17,131-133]. Профилактическое удаление лимфоузлов центральной зоны позволяет избежать повторных операций в этой зоне при развитии метастазов, уточнить стадию заболевания и оптимизировать дальнейшую тактику ведения больного.

Радиойодтерапия

Широко обсуждаются показания к проведению радиойодтерапии (РЙТ), оптимальный вариант стимуляции захвата (повышения ТТГ), оптимальную активность радиоiodа (^{131}I) и эффективность процедуры.

Показания к РЙТ

Давно известно, что РЙТ снижает частоту рецидивов и улучшает выживаемость пациентов [134,135]. Однако, это утверждение не всегда подтверждается данными крупных рандомизированных исследований [136]. Целесообразность её использования определяется следующим:

Разрушение при РЙТ микроскопических фокусов опухоли, оставшихся после операции, может снизить вероятность рецидива и уровень летальности [135,137-139].

Абляция ^{131}I резидуальной нормальной тиреоидной ткани облегчает раннюю диагностику рецидива, которая базируется на мониторинге уровня ТГ в сыворотке крови и периодическом выполнении диагностической сцинтиграфии всего тела (СВТ).

Высокая активность ^{131}I позволяет проводить высокочувствительную послеоперационную СВТ, через 2–5 дней после его введения, а также выявлять прежде недиагностированные очаги опухоли.

РЙТ показана больным группы промежуточного и высокого риска, так как достоверно уменьшает вероятность прогрессирования заболевания и увеличивает выживаемость, но может отличаться режимом дозирования и кратностью выполнения. В связи с отсутствием влияния на показатели смертности, РЙТ в группе низкого риска не показана [38]. Использование РЙТ у пациентов с микрокарциномами по-прежнему является предметом спора. Ученые сходятся во мнении, что монофокальная интратиреоидная микрокарцинома при наличии благоприятной гистологической формы и отсутствии метастазов в лимфатические узлы (минимальный риск) не требует РЙТ [98, 100]. При этом, по данным литературы, РЙТ при папиллярных микрокарциномах применяется в 31-100% случаев [104,123,125]. Несомненными показаниями к РЙТ являются: наличие регионарных и отдаленных метастазов, неполная резекция опухоли, группа высокого риска рецидива или летальности при полной резекции опухоли (Т3, Т4, М1, UICC, 7-е издание, 2010 г.) [98, 21, 100]. В Японии из-за юридических ограничений большинство пациентов не проходят абляции радиоактивным йодом и имеют хороший прогноз [107].

R. Gallicchio с соавт. [140] провел ретроспективное исследование 91 случая с микрокарциномы низкого риска с моно- или мультифокальным ростом без других факторов риска, которым не проводили РЙТ. Пациентам выполнено диагностическое сканирование всего тела (СВТ) и однофотонная эмиссионная компьютерная томография (SPECT-CT). Период наблюдения составил в среднем 14 ± 2 месяца после первичного исследования. Gallicchio получил следующие результаты: все опухоли были pT1a. Средний размер образований составил $0,68 \pm$

0,23 см. Из анализа были исключены 6 пациентов, поскольку у них были заподозрены регионарные метастазы в лимфоузлы по данным УЗИ. Из 85 пациентов в 30 наблюдениях (35%) выявлено метастатическое поражение лимфоузлов по данным СВТ, что было подтверждено при последующем проведении SPECT-СТ у большей части пациентов 26 из 30 (86%). В целом подтверждено SPECT-СТ метастатическое поражение лимфоузлов у 34 пациентов и у 9 из них (26%) диагноз был подтвержден ТАБ. Таким образом, авторы сделали вывод, что значительная часть пациентов с микрокарциномами группы низкого риска может иметь метастатическое поражение лимфоузлов, которое подтверждается при СВТ. Этот факт необходимо учитывать при формировании показаний к РЙТ.

Подготовка к РЙТ и рекомбинантный человеческий тиреотропный гормон (рчТТГ)

Поскольку пролиферация фолликулярных клеток и захват ими йода зависят от уровня тиреотропного гормона (ТТГ), эффективная тиреоидная абляция требует адекватной стимуляции ТТГ. Уровень ТТГ в сыворотке крови должен измеряться до назначения ^{131}I и быть выше эмпирически установленного >30 мЕд/л [141]. Существуют два метода стимуляции, эндогенный и экзогенный. Эндогенный - это отмена тиреоидных гормонов за 4-5 недель с развитием гипотиреоза. Экзогенный - это назначение рчТТГ (Тироген - Genzyme Transgenics Corporation, Кембридж, США.) на фоне продолжения пациентом терапии L-T4, [142].

Подготовка к РЙТ с помощью рчТТГ позволяет улучшить качество жизни пациентов, а также является экономически выгодной по сравнению с отменой тиреоидных гормонов [142-144].

В крупном ретроспективном исследовании не выявлено различий в частоте абляции при подготовке пациентов с помощью отмены тиреоидных гормонов или с применением рчТТГ [145]. Систематический обзор рандомизированных контролируемых исследований подтвердил, что использование рчТТГ и отмена

тиреоидных гормонов при подготовке к РЙТ имеют одинаковую эффективность [146]. Во Франции и Великобритании проведено два крупных рандомизированных многоцентровых исследования [147,148], результаты которых свидетельствуют о сходной частоте аблации при использовании рчТТГ и отмене тиреоидных гормонов, а также при использовании ^{131}I с активностью 30 или 100 мКи (1,1 или 3,7 ГБк).

Поскольку исследования по изучению рчТТГ проводились только при участии взрослых, вопрос использования препарата у детей и подростков остается открытым. Однако, есть сообщения, что дети хорошо переносят рчТТГ, поэтому коррекция дозы препарата для детей и подростков, по всей видимости, не требуется [149,150].

Активность ^{131}I при РЙТ

Назначаемая активность ^{131}I варьирует в различных медицинских учреждениях и клиниках от 1,1 ГБк (30 мКи) (низкая активность) и 3,7 ГБк, или от 100 мКи до 300 мКи и даже более (высокая активность) [147,148, 151]. Часть клиницистов предпочитает использовать фиксированную активность, которая варьирует от 1,036 ГБк (28 мКи) до 7,4 ГБк (200 мКи) в зависимости от особенностей учреждения или пациента. Оптимальная активность ^{131}I для проведения РЙТ по-прежнему обсуждается [147,148, 151]. Использование высокой фиксированной активности, особенно у пожилых пациентов, может привести к ухудшению переносимости (потеря аппетита, постлучевые поражения желудка, яичек, мочевого пузыря) [152]. Некоторые авторы считают, что низкая активность ^{131}I приводит к снижению частоты аблации, но большинство авторов предпочитают использовать низкую активность ^{131}I , что позволяет: сократить сроки госпитализации; стоимость лечения; снизить токсичность для других тканей; уменьшить загрязнение окружающей среды. Pacini F с соавт. [153] выполнен метаанализ 5 рандомизированных исследований. Результаты анализа подтвердили, что высокая активность ^{131}I ничем не уступает низкой активности в отношении

эффективности РЙТ. Однако, оценить другие конечные точки, например, частоту рецидивов и нежелательные явления, связанные с активностью радионуклида, не удалось. Представленные результаты подтверждаются данными еще одного исследования, в ходе которого у 80% пациентов абляция была выполнена при активности 30 мКи (1,1 ГБк) [154].

Таким образом, выявлено противоречие с общепринятыми рекомендациями: папиллярная микрокарцинома при наличии благоприятной гистологической формы и отсутствии метастазов в лимфатические узлы не требует проведения РЙТ, однако применение радиоактивного йода при микрокарциномах отмечается в 31-100% случаев.

Согласно последним данным, использование рчТТГ для проведения РЙТ по эффективности ничем не уступает отмене тиреоидных гормонов, а высокая активность ^{131}I (100 мКи) ничем не уступает низкой активности (30 мКи).

1.5. Послеоперационное наблюдение пациентов с высокодифференцированным раком щитовидной железы

Основным методом динамического наблюдения радикально пролеченных пациентов является определение ТГ и АТ-ТГ.

С недавних пор стали доступны новые методы измерения ТГ в сыворотке крови с чувствительностью $<0,1$ нг/мл. Некоторые авторы пишут об отсутствии необходимости измерения стимулированного ТГ, так как по их данным неопределяемый базальный ТГ ($<0,1$ нг/мл) дает необходимую информацию [155-156]. В клинической практике при базальном уровне ТГ $<0,1$ нг/мл и отсутствии остаточной ткани ЩЖ по данным УЗИ шеи, пациенты могут быть отнесены к группе с ремиссией заболевания.

Вопреки этому, при базальном уровне ТГ $>0,1$ нг/мл, но $<1,0$ нг/мл, сделать вывод о наличии или отсутствии заболевания невозможно. В этих случаях необходимо сделать тест со стимуляцией уровня ТГ [157].

Вопрос о том, нужно ли повторно выполнять тест с определением ТГ после стимуляции ТТГ у пациентов в ремиссии остается дискуссионным. В некоторых исследованиях [158-162] сообщается, что примерно в 98% случаев повторная стимуляция ТТГ не нужна (таблица 5).

Таблица 5 - Частота рецидивов у пациентов с ремиссией заболевания по данным первого контроля, основанного на определении ТГ после введения рчТТГ, УЗИ шеи и СBT после проведения первичного лечения

Исследование	Число больных	Метод стимуляции ТТГ	Длительность наблюдения (года)	Рецидив (%)
Kloos et al. [161]	68	рчТТГ	3,3	1,4
Castagna et al. [159]	68	рчТТГ	3	1,5
Crocetti et al. [160]	89	рчТТГ	3	1,1
Brassard et al. [158]	715	проба с отменой/рчТТГ	7	1,1
Klubo-Gwiedzinska et al. [162]	278	рчТТГ	6,3	2

Наблюдение за пациентами с положительными антителами к тироглобулину

Антитела к ТГ выявляются приблизительно у 20% пациентов с ВДРЦЖ и не влияют на исход заболевания [163-164]. АТ-ТГ взаимодействуют с ТГ в сыворотке при анализе, снижая цифры ТГ при анализе во время наблюдения за этими пациентами. Однако, серийное измерение АТ-ТГ может быть использовано при динамическом наблюдении: уменьшение или исчезновение сывороточных АТ-ТГ связано с полной ремиссией несмотря на то, что разница во времени между исчезновением антигена и антитела может достигать 3 лет, а увеличение титра указывает на рецидив заболевания [165-166]. Таким образом, наблюдение за

пациентами с положительными АТ-ТГ должно основываться на дополнительном применении современных методов визуализации (УЗИ шеи, СВТ) [98, 167].

Наблюдение за пациентами, которым была проведена гемитиреоидэктомия или тиреоидэктомия, но без радиойодтерапии

Пациентам с монофокальной папиллярной микрокарциномой чаще проводится гемитиреоидэктомия. После операции уровень тиреоглобулина у них может свидетельствовать как об остаточной ткани железы, так и о раке. Увеличение уровня ТГ с течением времени может указывать на возможность рецидива заболевания [168], хотя может говорить и о разрушении ткани ЩЖ. У пациентов после тиреоидэктомии без последующей аблации, уровень ТГ в сыворотке в большинстве случаев не определяется или является очень низким, С. Durante с соавт. [169] предлагает расценивать отсутствие выявления ТГ в таких случаях как ремиссию заболевания. В заключение, наблюдение за пациентами, не подвергавшихся радикальному лечению, должно основываться на исследовании УЗИ шеи.

Терапия левотироксином

Супрессивная терапия левотироксином является существенной частью лечения папиллярных микрокарцином ЩЖ. Сразу же после хирургического лечения назначается терапия гормонами ЩЖ в супрессивных дозах. Показано, что для подавления секреции ТГ достаточен уровень ТТГ в пределах 0,4 мЕ/л [100, 166]. Насколько велик терапевтический потенциал интенсивной супрессии ТТГ ($<0,1$ или $0,1-0,4$ мЕ/л) и длительность супрессии пока остается спорным вопросом. Целевые значения ТТГ в клинических рекомендациях Европейской и Американской тиреоидных ассоциаций несколько отличаются (таблица 6).

Таблица 6 - Рекомендации Европейской тиреоидологической ассоциации и Американской тиреоидологической ассоциации по уровню ТТГ при супрессивной терапии левотироксином у больных ВДРЩЖ

Группы пациентов	Уровень ТТГ (мЕ/л)	
	АТА	ЕТА
Пациенты с персистенцией заболевания, а также с определяемым (> 2 нг/мл) уровнем ТГ	$< 0,1$	$\leq 0,1$
Пациенты высокой и умеренной групп риска без признаков персистенции/рецидива опухоли	0,1–0,5 в течение 10 лет	$\leq 0,1$ в течение 5 лет
Пациенты низкой группы риска при отсутствии признаков персистенции/ рецидива опухоли	0,3–2	0,5–1

Супрессивная терапия левотироксином особенно показана пациентам с высоким риском рецидива, у которых это может привести к уменьшению прогрессирования метастатического процесса. Однако в клинической группе низкого риска доказательств эффективности супрессивной терапии не было продемонстрировано ни в одном исследовании. [170-173].

1.6. Прогностическое значение молекулярных маркеров при высокодифференцированном раке щитовидной железы

Оценка соматических мутаций в горячих точках генов *BRAF*, *KRAS*, *NRAS*, *EIF1AX*, *TERT* также важна, поскольку их обнаружение ассоциировано не только с РЩЖ, но и с более агрессивным течением заболевания.

Данные исследований влияния мутации в гене *BRAF* на прогноз свидетельствуют о том, что в целом *BRAF V600E* позитивные опухоли имеют более высокий риск агрессивного течения заболевания, рецидива и смертности. Изолированно, *BRAF V600E* является относительно чувствительным, но не специфическим маркером рецидива опухоли и связанной с ней смертности [174-

175].

Мета-анализ 14 исследований, включающий в общей сложности 2470 пациентов, показал, что мутация *BRAF V600E* встречалась в целом в 45% случаев, была статистически значимо связана с рецидивом опухоли, метастазами в лимфатические узлы, экстракраниальным распространением. Более агрессивное течение заболевания встречалось в 25% случаев *BRAF* позитивных опухолей в сравнении с 13% *BRAF* негативных опухолей [176].

Кроме того, в большом многоцентровом исследовании 1849 пациентов было показано, что наличие мутации *BRAF V600E* значительно связано с увеличением смертности от папиллярного РЩЖ (ПРЩЖ). Общая смертность составила 5% у пациентов с мутацией *BRAF V600E* и 1% у пациентов с без мутации *BRAF* [177].

Согласно данным обзора Howell G. 2013г. [178] мутации *RAS* являются вторыми по распространенности после *BRAF*, однако, их роль до конца не понятна, поскольку они встречаются при всех патоморфологических типах новообразований ЩЖ от доброкачественных до анапластического рака. Гены *NRAS* и *KRAS* кодируют цитоплазматические белки, участвующие во внутриклеточной передаче сигнала от рецепторов факторов роста. Ген *NRAS* относится к протоонкогенам и активирующие соматические мутации обнаруживаются в этом гене примерно в 15% случаев всех злокачественных опухолей человека. Мутации *NRAS* чаще всего локализируются в экзоне 3 (кодоны 59 и 61) и реже в экзоне 2 (кодоны 12 и 13) или в экзоне 4 (кодоны 117 и 146). Ген *KRAS* также относится к протоонкогенам, активирующие соматические мутации в этом гене обнаруживаются примерно в 30-40% случаев всех злокачественных опухолей человека. Мутации *KRAS* чаще всего локализируются в экзоне 2 (кодоны 12 и 13) и реже в экзоне 3 (кодоны 59 и 61) или в экзоне 4 (кодоны 117 и 146) [174-175].

Суммируя данные нескольких исследований, частота выявления мутаций *RAS* составила 26% (54/207) при фолликулярных аденомах (ФА), 40% (71/179) при фолликулярном РЩЖ (ФРЩЖ), 11% (22/206) при ПРЩЖ, 33% (24/73) при низкодифференцированном РЩЖ, 53% (22/47) при анапластическом РЩЖ. На

сегодняшний день данные о прогностической значимости *RAS* позитивных РЦЖ противоречивы. В некоторых исследованиях выявлена клинически значимая ассоциация между *RAS* мутацией и риском отдаленных метастазов, и снижением выживаемости. Кроме того, частота выявления *RAS* мутаций при низкодифференцированном и анапластическом РЦЖ выше, чем при других типах РЦЖ [178].

Ген *TERT* кодирует каталитическую субъединицу теломеразной обратной транскриптазы, ядерный белок, выполняющий ключевую роль в реакции поддержания длины теломер.

Мутации гена *TERT* являются перспективными, новыми диагностическими и прогностическими генетическими маркерами РЦЖ, как сами по себе, так и в сочетании с мутацией *BRAF V600E* или другими генетическими маркерами (например, мутациями *RAS*). Они оказываются клинически значимыми при лечении РЦЖ [179-181].

Мутация *TERT* ассоциирована с более агрессивным течением РЦЖ. Частота встречаемости мутации *TERT* в исследовании Liu X. 2013г. [70] составила для мутации С228Т 0% (0/85) случаев доброкачественных новообразований, 11,7% (30/257) ПРЦЖ и 37,5% (3/8) низко дифференцированного РЦЖ, 42,6% (23/54) анапластического рака и 66,7% (8/12) и для обеих мутаций С228Т и С250Т (которая является менее распространенной) 13,9% (11/79) для фолликулярного РЦЖ, 46,3% (25/54) анапластического рака. Не было выявлено мутации *TERT* ни в одном из 16 образцов медуллярного РЦЖ. Мутация С228Т была ассоциирована с *BRAF V600E* мутацией при ПРЦЖ: была обнаружена в 18,3% (19/104) *BRAF* позитивного ПРЦЖ и в 7,2% (11/153) *BRAF* негативного ПРЦЖ [70].

В обзоре Liu R. 2016г. [182] представлены данные об онкогенной роли мутации *TERT*, в нем также повторяются данные о том, что частота встречаемости мутации С228Т гораздо выше, чем С250Т. В обзоре показана ассоциация с агрессивными типами РЦЖ: общая распространенность мутаций составляет в среднем: 0% в доброкачественных опухолях ЩЖ, 11,3% при ПРЦЖ, 17,1% при

ФРЦЖ, 43,2% при низкодифференцированном РЦЖ, и 40,1% при анапластическом РЦЖ. Мутации *TERT* связаны с агрессивными характеристиками опухоли ЦЖ, рецидивом опухоли и смертностью пациентов, а также мутацией *BRAF V600E*. Сосуществующие мутации промотора *TERT* и *BRAF V600E* оказывают сильное синергетическое влияние на агрессивность ПРЦЖ, включая увеличение риска рецидива и смертности пациентов, в то время как любая мутация сама по себе оказывает скромное влияние [182].

В обзоре Jin A. 2018 г. [183] было показано, что распространенность мутации *TERT* при дифференцированных типах РЦЖ составляет 10% (425/4240), из них С228Т составляет 86,1% мутаций, С250Т - 12,0% и другие типы - 2,1 %. Наличие мутации ассоциировано со значительно возрастающим риском более агрессивного течения РЦЖ. Частота встречаемости мутации *TERT* достигает 56,8% при анапластическом РЦЖ, 38,5 % при низкодифференцированном РЦЖ, 9,2% при фолликулярном РЦЖ, 7,2 % при ПРЦЖ и 0% при медуллярном РЦЖ. Статистически значимые ассоциации были найдены также между мутацией *TERT* и большим размером опухоли, старшим возрастом, экстракраниальным распространением, метастазами в лимфатические узлы, отдаленными метастазами, продвинутой стадией TNM, рецидивом опухоли и мутацией *BRAF*. При одновременном обнаружении мутаций *TERT* и *BRAF* более вероятен плохой прогноз и исход [183].

Ген *EIF1AX* кодирует цитоплазматический белок, участвующий в трансляции (синтезе белка на матрице мРНК). Мутации гена *EIF1AX* были обнаружены ранее только при ПРЦЖ и анапластическом РЦЖ. Распространенность этих мутаций при других видах РЦЖ и в доброкачественных новообразованиях была неизвестна. Однако в исследовании Karunamurthy A. 2016 г. [78] была проанализирована частота мутаций *EIF1AX* в экзонах 2, 5 и 6 гена в серии 266 опухолей ЦЖ. Мутации *EIF1AX* были обнаружены в 2,3% (3/86) ПРЦЖ, 25% (1/4) анапластического РЦЖ, 0% (0/53) ФРЦЖ, 0% (0/12) медуллярного РЦЖ, 7,4% (2/27) ФА и 1,3% (1/80) гиперпластических узлах ЦЖ. Таким образом, данное исследование показало, что мутации *EIF1AX* обнаруживаются не только

при РЩЖ, но и при доброкачественных новообразованиях. Кроме того, в нескольких случаях РЩЖ было обнаружено сочетание мутаций в генах *EIF1AX* и *RAS*. Так, при фолликулярных опухолях ЩЖ одновременное обнаружение мутаций в генах *EIF1AX* и *RAS* однозначно говорит о злокачественном характере опухоли. При анапластическом РЩЖ наличие мутации в гене *EIF1AX* является предиктором особенно агрессивного течения заболевания [78].

1.7. Заключение

Увеличение заболеваемости высокодифференцированным раком ЩЖ обусловлено в первую очередь с увеличением выявляемости при широкой распространенности УЗИ, которое в настоящее время назначается часто необоснованно или в рамках скрининга. Большая часть новообразований представлена микрокарциномами. Существует множество различных мнений по тактике ведения и степени агрессивности терапии микрокарцином, с учетом хорошего прогноза и низкой смертности, однако конкретные клинические рекомендации до сих пор отсутствуют. А в связи с увеличением частоты их встречаемости в клинической практике, это становится важным вопросом и следует учитывать, что течение данного заболевания может быть очень вариабельным и не следует при оценке степени риска полагаться на размер образования, необходимо учитывать сопутствующие факторы риска (экстратиреоидное распространение, мультифокальность опухоли, отсутствие капсулы).

В последние годы произошел пересмотр всех основных рекомендаций по диагностике и ведению пациентов с новообразованиями ЩЖ, это коснулось УЗИ, ТАБ, цитологических и гистологических исследований. Кроме того, в рекомендации по ведению пациентов с неопределенными цитологическими заключениями включено использование молекулярно-генетических маркеров.

За последние несколько лет был достигнут значительный прогресс в понимании молекулярно-генетических механизмов развития рака щитовидной

железы и в развитии молекулярно-генетических тестов для дифференциальной диагностики опухолей ЩЖ. Возможность использования NGS приводит к надежному обнаружению большинства этих генетических изменений в образцах с ограниченным количеством клеток, полученных при ТАБ, предлагая значительное повышение точности обнаружения РЩЖ, по сравнению с имеющимися в настоящее время диагностическими методами.

Вполне вероятно, что в ближайшем будущем молекулярные тесты, основанные на NGS смогут предсказать риск злокачественности с очень высокой точностью, что позволит сократить количество неопределенных цитологических заключений ТАБ, а регулярное использование молекулярных тестов будет более целесообразным и экономически выгодным, так как приведет к снижению неоправданных хирургических операций при опухолях ЩЖ. Дополнительно, молекулярные маркеры должны оказать существенное влияние на прогнозирование течения рака ЩЖ, что так же будет необходимо при персонализированном подходе к лечению каждого пациента.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Дизайн исследования

Проведено проспективное, наблюдательное, когортное, выборочное, одноцентровое, открытое, контролируемое нерандомизированное клиническое исследование, схема представлена на рисунке 5.

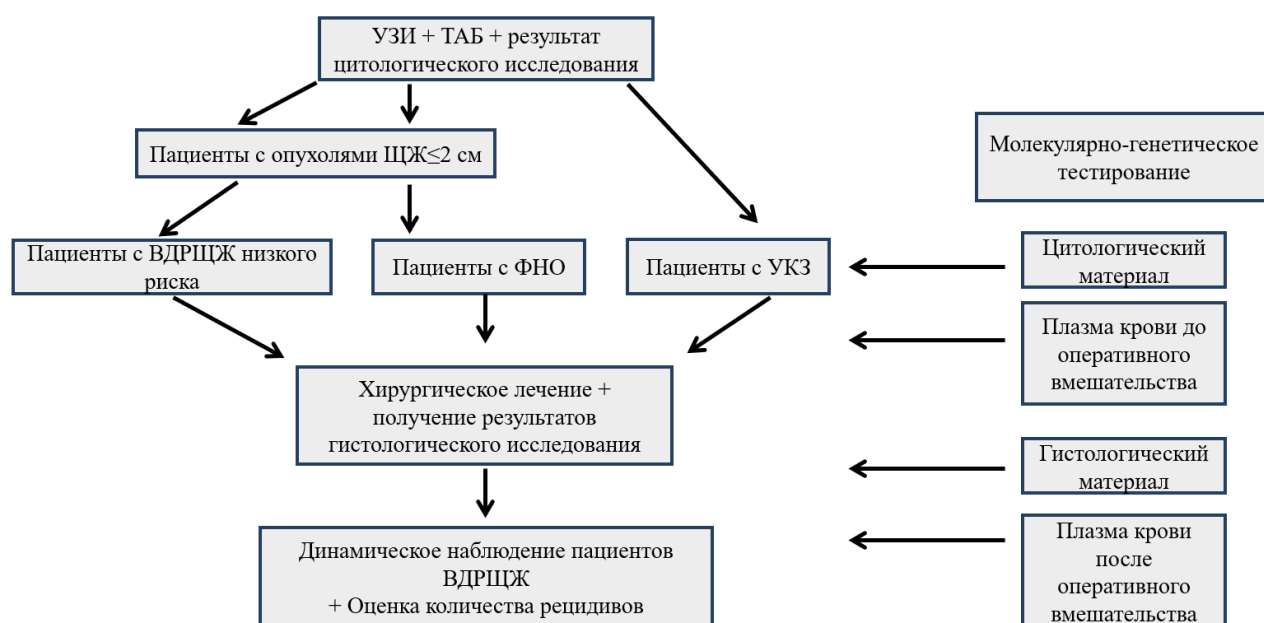


Рисунок 5 - Схема исследования

Критерии соответствия

Для группы ВДРЩЖ были: пациенты обоих полов, возрастом старше 18 лет, размер новообразования ЩЖ менее 2 см, отсутствие признаков метастазирования или экстракapsулярного распространения по данным УЗИ, что соответствовало стадии T1 низкого риска (по версии TNM 2009 г., 7-я редакция), диагноз ВДРЩЖ

по результатам гистологического заключения. Критериями включения в группу ФНО был размер образования менее 2 см. В группу УКЗ набирали пациентов с коллоидными образованиями любых размеров, требующих хирургического лечения.

Критериями исключения для всех групп были: некомпенсированный тиреотоксикоз, проведенная ранее операция на ЩЖ, отягощенный анамнез по наследственным формам заболеваний ЩЖ, повышенный уровень кальцитонина.

Условия проведения

В исследование включали пациентов, находившихся на лечении в хирургическом отделении ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России.

Продолжительность исследования

Набор пациентов в группы продолжался в течение трех лет – с 2012 по 2014 гг. После проведенного лечения пациентов группы ВДРЩЖ наблюдали на протяжении 43 – 68 месяцев; медиана составила 56 [50; 61] месяцев.

2.2 Клиническая характеристика включенных в исследование групп

В исследование были включены 153 больных с узловыми образованиям щитовидной железы, проходивших стационарное лечение в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России) (директор ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России – академик РАН Дедов И.И.) в период с 2012 по 2014 гг. Всем больным было проведено оперативное вмешательство в хирургическом отделении ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (руководитель – проф., д.м.н. Кузнецов Н.С.).

Пациенты были распределены на три группы в зависимости от результатов цитологического исследования: ВДРЦЖ низкого риска (n=71), ФНО (n=58), УКЗ (n=24). Группы пациентов были сопоставимы по полу, возрасту и уровню ТТГ. Данные представлены в таблице 7.

Таблица 7 - Характеристика пациентов, включенных в исследование

Показатель	УКЗ	ФНО	ВДРЦЖ	Значимость
Возраст, лет	41 [29; 58,2]	46 [36; 59]	51,5 [40,5; 58]	$H=2,679$, $p=0,262$
Пол (м/ж)	4/20	7/51	11/60	$\chi^2=0,425$, $p=0,809$
ТТГ, мЕд/л	1,2 [0,65; 1,92]	1,8 [1,0; 2,67]	1,8 [1,2; 2,8]	$H=2,645$, $p=0,266$

В таблицах 8.1-8.3 представлено распределение пациентов в различных группах по полу и возрасту.

Таблица 8.1 - Распределение пациентов ВДРЦЖ по полу и возрасту

Пол	Возраст (лет)						Всего (n)
	<20	21-30	31-40	41-50	51-60	>60	
Мужчины (n)	-	-	2	1	7	1	11
Женщины (n)	1	6	9	13	20	11	60

Таблица 8.2 - Распределение пациентов ФНО по полу и возрасту

Пол	Возраст (лет)						Всего (n)
	<20	21-30	31-40	41-50	51-60	>60	
Мужчины (n)	-	1	2	3	-	1	7
Женщины (n)	-	7	13	6	15	10	51

Таблица 8.3 - Распределение пациентов УКЗ по полу и возрасту

Пол	Возраст (лет)						Всего (n)
	<20	21-30	31-40	41-50	51-60	>60	
Мужчины (n)	-	1	1	-	1	1	4
Женщины (n)	-	7	3	3	3	4	20

Все 153 пациента были прооперированы: в 44 случаях была выполнена гемитиреоидэктомия, в 51 случае тиреоидэктомия и в 58 случаях выполнена тиреоидэктомия, дополненная удалением лимфоузлов центральной зоны шеи (VI уровень) при подозрении на наличие метастазов в регионарные лимфатические узлы. Данные об объеме оперативного вмешательства представлены в таблице 9.

Таблица 9 - Объем выполненного оперативного вмешательства пациентам, включенным в исследование (n, %)

Вид оперативного вмешательства	Количество пациентов, n (%)		
	ВДРЦЖ	ФНО	УКЗ
Гемитиреоидэктомия	0 (0%)	31 (53,4%)	13 (54,1%)
Тиреоидэктомия	24 (33,8%)	16 (27,6%)	11 (45,9%)
Тиреоидэктомия + ЦЛАЭ	47 (66,2%)	11 (19,0%)	0 (0%)

2.3 Описание медицинского вмешательства

Все пациенты до включения в исследование получали «Информацию для пациента и информированное согласие для участия в клиническом исследовании». Участие было добровольным. Всем пациентам, включенным в исследование, проводили лабораторно-инструментальный комплекс для подготовки, проведения и послеоперационного наблюдения: физикальное обследование; лабораторные исследования: определение уровня тиреотропного гормона (ТТГ), общего анализа крови и мочи, биохимического анализа крови, коагулограммы, определение уровня тиреоглобулина (ТГ), антител к ТГ (АТ-ТГ); инструментальные исследования: электрокардиограмму (ЭКГ), рентгенографию органов грудной клетки, УЗИ ЩЖ, ТАБ с цитологическим исследованием пунктата, гистологическое исследование опухоли, сцинтиграфию всего тела с радиофармпрепаратом (изотопами йода ^{131}I , ^{123}I) (СВТ).

Биохимические, иммунологические и гормональные исследования выполняли в лаборатории гормонального анализа (руководитель – проф., д.м.н. Н.П.Гончаров) и клинической биохимии (руководитель – А.В. Ильин) ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России.

Всем пациентам было проведено ультразвуковое исследование ЩЖ в отделении ультразвуковой диагностики ФГБУ ЭНЦ (руководитель – к.м.н. Солдатов Т.В.), с оценкой размеров и эхографических характеристик ЩЖ на аппаратах экспертного класса Aloka альфа 10, Toshiba Aplio XG 790.

Всем оперированным больным выполнено плановое гистологическое исследование в лаборатории патоморфологического анализа ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (зав. лабораторией – Абросимов А.Ю.). Диагноз «рак ЩЖ» формулировался в соответствии с TNM 7-й редакции.

2.4 Методы регистрации исходов

В рамках исследования пациентам проводили молекулярно-генетическое исследование цитологического, гистологического материала и плазмы крови.

Цитологические стекла были отобраны и использованы для выделения ДНК с согласия пациентов после получения результатов гистологического заключения.

Все цитологические стеклопрепараты были приготовлены методом мазка и окрашены по Гимзе–Романовскому. Предоставленные стеклопрепараты были подвергнуты пересмотру с установлением цитологического диагноза по классификации Bethesda. Для каждого образца выбирали наиболее информативные участки мазков и оценивали их на предмет соответствия критериям для достоверного молекулярного исследования опухолевых клеток. Выделение ДНК из этих образцов, т.е. из участков окрашенных цитологических стеклопрепаратов, осуществляли с помощью набора реагентов серии AllPrep (Qiagen, Hilden, Германия) в соответствии с инструкцией производителя. Концентрацию и качество выделенной ДНК оценивали с использованием набора реагентов «aXY-Детект» (ООО НПФ «Синтол», Москва, РФ) в соответствии с инструкцией производителя. Всего было отобрано 87 стеклопрепаратов от 75 пациентов. ДНК, выделенная из всех 87 образцов, по концентрации и качеству соответствовала критериям для достоверного ПЦР-анализа мутаций.

Гистологический материал был предоставлен в виде парафиновых блоков с операционным материалом. На основании данных морфологических исследований выбирали наиболее информативный блок и оценивали его на предмет соответствия критериям достоверного молекулярного исследования опухолевых клеток. Выделение ДНК из срезов с парафиновых блоков осуществляли с помощью набора реагентов «Экстракт ДНК FFPE» (ЗАО «Евроген», Москва, РФ) в соответствии с инструкцией производителя. Концентрацию и качество выделенной ДНК оценивали с использованием набора реагентов «aXY-Детект» (ООО НПФ «Синтол», Москва, РФ) в соответствии с инструкцией производителя. Всего было отобрано 153 блока от 153 пациентов. ДНК, выделенная из 153 образцов, по

концентрации и качеству соответствовала критериям для достоверного ПЦР-анализа мутаций.

Для выделения циркулирующей ДНК производили забор периферической крови за день до и на третьи сутки после оперативного вмешательства. Кровь забирали в вакуумные пробирки с консервантом на основе EDTA. Образцы крови обрабатывали в два этапа. Вначале в срок не позднее чем через 4 часа после забора крови отделяли фракцию плазмы крови методом трехэтапного центрифугирования по стандартному протоколу. Затем из плазмы крови выделяли циркулирующую ДНК с использованием набора реагентов «QiaAmp Circulating Nucleic Acids Kit» (Qiagen, Hilden, Германия) в соответствии с инструкцией производителя. Концентрацию и качество выделенной ДНК оценивали с использованием набора реагентов «aXY-Детект» (ООО НПФ «Синтол», Москва, РФ) в соответствии с инструкцией производителя. Секвенирование по Сэнгеру проводили в специализированной лаборатории ЗАО «Евроген Ру» на аппарате «ABI 3500» (Applied Biosystems – часть Thermo Fisher Scientific, США) с использованием рекомендованных производителем наборов реагентов и стандартных операционных процедур. Исследовали только образцы, из которых удалось выделить достаточное количество ДНК.

Поиск мутаций в «горячих точках» генов *BRAF* (экзон 15) и *NRAS* (экзон 3, район кодона 61) в ДНК образцов гистологического и цитологического материала проводили методом мутационно-специфической ПЦР в режиме реального времени с верификацией положительных и сомнительных результатов методом секвенирования продуктов ПЦР по Сэнгеру. Использовали наборы реагентов «Инсайдер *BRAF*» и «Инсайдер *NRAS*» (ЗАО «Евроген») в соответствии с инструкцией производителя.

Поиск мутаций в других «горячих точках» гена *NRAS* (экзон 2, район кодонов 12 и 13; экзон 3, район кодона 59; экзон 4, район кодонов 117 и 146) и в «горячих точках» гена *KRAS* (экзон 2, район кодонов 12 и 13; экзон 3, район кодонов 59 и 61; экзон 4, район кодонов 117 и 146) в ДНК части образцов гистологического и цитологического материала проводили методом мутационно-специфической ПЦР

в режиме реального времени с верификацией положительных и сомнительных результатов методом секвенирования продуктов ПЦР по Сэнгеру. Использовали набор реагентов «Инсайдер PAN-RAS» (ЗАО «Евроген») в соответствии с инструкцией производителя.

Поиск мутаций в «горячих точках» гена *TERT* (транскрипт NM_198253.2, промоторная область) в ДНК образцов гистологического и цитологического материала проводили методом ПЦР с последующим секвенированием продуктов ПЦР по Сэнгеру. Использовали набор реагентов «ГенСкан *TERT*» (ООО «Евроген Лаб») в соответствии с инструкцией производителя.

Поиск мутаций в «горячих точках» гена *EIF1AX* (экзон 6) в ДНК части образцов гистологического и цитологического материала проводили методом ПЦР с последующим секвенированием продуктов ПЦР по Сэнгеру. Использовали набор реагентов «ГенСкан *EIF1AX-6*» (ООО «Евроген Лаб») в соответствии с инструкцией производителя. Исследовали только образцы, в которых обнаруживались мутации в генах *NRAS* или *KRAS*.

Поиск мутаций в «горячих точках» экзона 15 гена *BRAF* и экзона 3 гена *NRAS* в образцах циркулирующей ДНК плазмы крови проводили методом высокочувствительной мутационно-специфической ПЦР-РВ в модификации, усиленной аллель-специфической ПЦР-РВ с одновременным подавлением амплификации аллелей «дикого типа». Использовали наборы реагентов серии «СуперИнсайдер» (ООО «Евроген Лаб», Россия) в соответствии с инструкцией производителя.

Под рецидивом/персистенцией опухоли принимали выявление заболевания не ранее, чем через 6 месяцев после первичного лечения. Рецидивы заболевания были диагностированы при динамическом наблюдении по повышению уровня ТГ > 1 нг/мл. Помимо ТГ динамически оценивали АТ-ТГ, наличие остаточной тиреоидной ткани по УЗИ, в отдельных случаях результаты СБТ. Контрольное обследование пациентов проводили в течение первых 24 месяцев с частотой 1 раз в 3 месяца, далее с частотой 1 раз в 6 месяцев. Определение уровня ТГ проводили

иммунометрическим методом с функциональной чувствительностью не менее 0,1 нг/мл.

2.5 Статистический анализ полученных данных

Размер выборки был рассчитан для уровня статистической значимости не менее 95% с ДИ \pm 5%. Учитывая небольшие объемы выборок и распределения, отличающиеся от нормального, были использованы непараметрические методы анализа данных. Для оценки значимости различий данных в группах применялся метод Манна-Уитни (для двух независимых групп) (критерий U), для сравнения более двух независимых выборок использовался тест Крускала-Уоллиса (критерий H). Для сравнения относительных показателей использовался критерий χ^2 (хи-квадрат). Статистическая обработка результатов исследования выполнена с использованием пакета прикладных программ Statistica v 10.0 for Windows (Dell, США). Данные в тексте и в таблицах представлены в виде медианы и межквартильного размаха. 95% доверительный интервал рассчитан модифицированным методом Вальда. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05.

Оценка диагностической точности молекулярно-генетических тестов проводилась путем расчета их чувствительности, специфичности, точности, а также PPV и NPV. Чувствительность, специфичность и точность не зависят от распространенности заболевания в популяции. Показатели прогностической значимости напрямую определяются долей больных лиц в популяции. Поскольку в анализируемой выборке доля злокачественных образований отличалась от распространенности в общей популяции, то расчеты PPV и NPV молекулярных тестов были выполнены с учетом данных различий. Положительные и отрицательные прогностические значения (PPV и NPV) для любой распространенности заболевания были рассчитаны следующим образом: $PPV = \frac{\text{чувствительность} * \text{распространенность}}{(\text{чувствительность} * \text{распространенность}) + (1 - \text{специфичность}) * (1 - \text{распространенность})}$ и $NPV =$

$$\frac{(\text{специфичность} * (1 - \text{распространенность}))}{((1 - \text{чувствительность}) * \text{распространенность} + \text{специфичность} * (1 - \text{распространенность}))}$$
 [184]. Поскольку в структуре узловых образований РЦЖ встречается до 5% случаев [1], при расчетах PPV и NPV распространенность РЦЖ принимали за 5%.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Определение частоты встречаемости соматических мутаций в «горячих точках» генов *BRAF*, *KRAS*, *NRAS*, *EIF1AX* и *TERT* в гистологическом материале

Объекты (участники) исследования

В исследование было включено 153 пациента. Они были распределены на три группы в зависимости от результатов цитологического исследования: ВДРЦЖ (n=71), ФНО (n=58), УКЗ (n=24). В группу ВДРЦЖ были включены пациенты только низкого риска на основании цитологического заключения и других клинических данных, таких как размер образования до 2 см и отсутствие распространения по данным УЗИ. В группу ФНО были включены пациенты размер образования до 2 см с размером образования до 2 см. В группу УКЗ были включены пациенты, у которых показаниями к оперативному вмешательству были косметический дефект или синдром компрессии трахеи.

После получения результатов гистологического исследования количественное соотношение в группах изменилось за счет увеличения доли пациентов в группе ВДРЦЖ с 71 до 90 (с 46 до 59%) и УКЗ с 24 до 30 (с 16 до 20%). Из 24 пациентов, исходно вошедших в группу УКЗ, на основании гистологического исследования был диагностирован папиллярный РЦЖ (ПРЦЖ) в 1 случае и фолликулярная аденома (ФА) в 1 случае, в остальных 22 случаях диагноз УКЗ был подтвержден. Из 58 пациентов, включенных в группу ФНО, по результатам гистологического исследования в 17 случаях был выявлен ПРЦЖ, в 2 – фолликулярный РЦЖ, в 31 – ФА, в 8 – УКЗ. В группе пациентов с ВДРЦЖ диагноз был подтвержден в 70 случаях, в 1 случае была диагностирована ФА с перстневидными клетками.

На рисунках 6 и 7 представлено распределение пациентов по группам на основании цитологического заключения и распределение гистологических

заклучений в группе ФНО и распределение пациентов по группам на основании гистологического заключения.

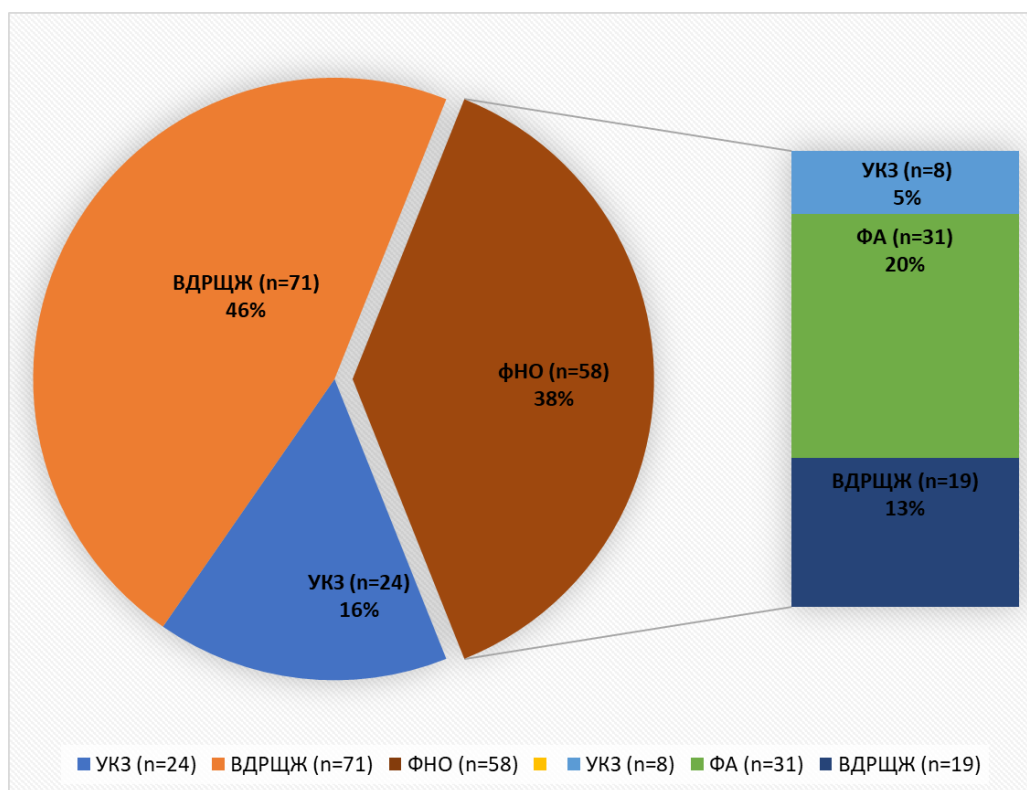


Рисунок 6 - Распределение пациентов по группам на основании цитологического заключения (n=153, %) и распределение гистологических заключений в группе ФНО: УКЗ – узловой коллоидный зоб, ВДРЦЖ – высокодифференцированный рак щитовидной железы, ФНО – фолликулярное новообразование, ФА – фолликулярная аденома

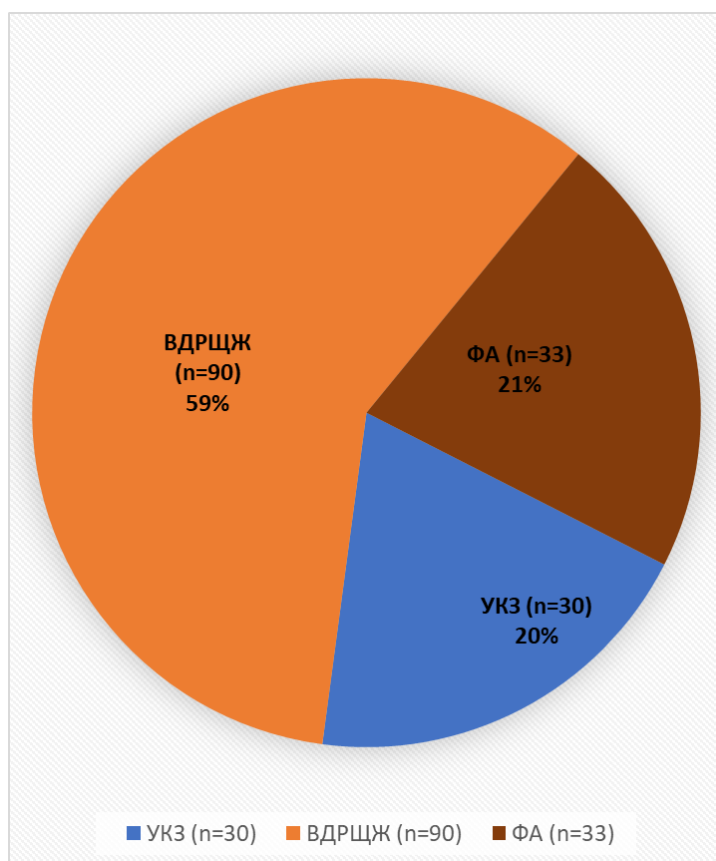


Рисунок 7 - Распределение пациентов по группам на основании гистологического заключения (n=153, %): УКЗ – узловой коллоидный зоб, ВДРЩЖ – высококодифференцированный рак щитовидной железы, ФА – фолликулярная аденома

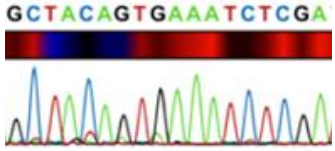
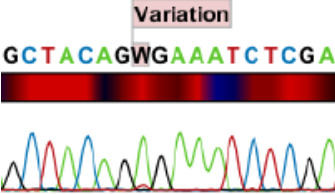
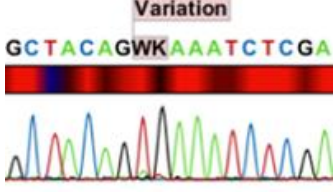
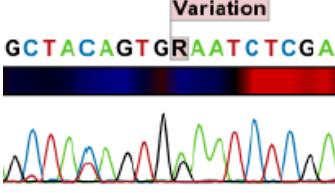
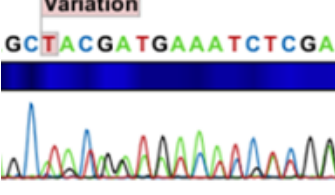
Результаты молекулярного тестирования гистологического материала *BRAF*

Поиск мутаций в «горячих точках» гена *BRAF* (экзона 15, район кодонов 600–601) выполнен в образцах ДНК, выделенной из гистологического материала 153 пациентов.

Мутации обнаружены в 54 случаях из 153, в том числе: с.1799T>A, p.(Val600Glu, V600E) [COSMIC ID 476] - у 51 пациента; с.1799_1800TG>AT, p.(Val600Asp, V600D) [COSMIC ID 477] - у 1 пациента; с.1801A>G, p.(Lys601Glu, K601E) [COSMIC ID 478] - у 1 пациента; с.1794_1796delTAC, p.(Thr599del,

T599del) [COSMIC ID 1169497] - также у 1 пациента. Данные представлены в таблице 10.

Таблица 10 - Частота встречаемости мутаций в «горячих точках» гена *BRAF* (экзона 15, район кодонов 600–601) в гистологическом материале

Вариант мутации	Секвенограмма	Мутации в гистологическом материале (n=153, n <i>BRAF</i> + =54 (35,3%))		
		УКЗ (n=30)	ФА (n=33)	ВДРЦЖ(n=90)
Нет мутации (дикий тип)		29	33	37
c.1799T>A, p.(Val600Glu, V600E) [COSMIC ID 476]		1	-	50
c.1799_1800TG>AT, p.(Val600Asp, V600D) [COSMIC ID 477]		-	-	1
c.1801A>G, p.(Lys601Glu, K601E) [COSMIC ID 478]		-	-	1
c.1794_1796delTAC, p.(Thr599del, T599del) [COSMIC ID 1169497]		-	-	1

По результатам гистологического исследования операционного материала у 53 пациентов с мутациями в гене *BRAF* был выявлен папиллярный РЩЖ и в 1 случае выявлен узловой коллоидный зоб (УКЗ). Среди 99 пациентов без мутации в гене *BRAF* злокачественные опухоли были выявлены еще у 37 пациентов. Таким образом, чувствительность, специфичность, точность теста составили (53/90) 58,9%, 95%ДИ [48%;68%], (62/63) 98,4%, 95%ДИ [91%;99%] и ((53+62)/153) 75,2%, 95%ДИ [68%;81%], соответственно. С учетом распространенности РЩЖ в популяции, обнаружение мутаций в «горячих точках» экзона 15 гена *BRAF* (район кодонов 600–601) показало не высокую предсказательную силу в отношении злокачественного характера опухоли PPV = 65,6%; отсутствие мутаций показало высокую предсказательную силу в отношении доброкачественного характера опухоли NPV = 94,9%. Без учета распространенности РЩЖ в популяции PPV в отношении злокачественного характера опухоли составила PPV = (53/54) 98,2%, 95%ДИ [79%;100%], NPV в отношении доброкачественного характера опухоли NPV = (62/99) 62,6%, 95%ДИ [52%;71%].

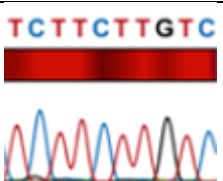
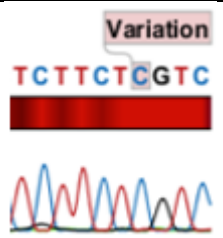
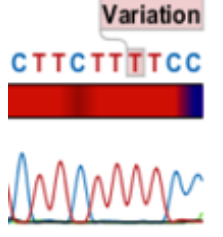
NRAS

Поиск мутаций в «горячих точках» гена *NRAS* (экзон 3, район кодона 61) выполнен в образцах ДНК, выделенной из гистологического материала 153 пациентов. Мутации обнаружены в 12 случаях, в том числе: с.182A>G, р.(Gln61Arg, Q61R) [COSMIC ID 584] - у 11 пациентов; с.181C>A, р.(Gln61Lys, Q61K) [COSMIC ID 580] - у 1 пациента. Данные представлены в таблице 11.

По результатам гистологического исследования операционного материала злокачественные опухоли ЩЖ, а именно ПРЩ, были обнаружены у 4 пациентов с мутациями в гене *NRAS*, фолликулярная аденома (ФА) - у 6 и УКЗ - у 2; среди 141 пациентов без мутации в гене *NRAS* злокачественные опухоли ЩЖ были выявлены в 86 случаях. Таким образом, чувствительность, специфичность, точность теста составили (4/90) 4,4%, 95%ДИ [1,4%;11%], (55/141) 39,0%, 95%ДИ [31%;47%] и ((4+55)/153) 38,6% 95%ДИ [31%;46%] соответственно. С учетом распространенности РЩЖ в популяции, обнаружение мутаций в «горячих точках»

экзона 3 гена *NRAS* (район кодона 61) имеет низкую предсказательную силу в отношении злокачественного характера опухоли ЦЖ $PPV = 0,38\%$; отсутствие мутаций показало достаточно высокую предсказательную силу в отношении доброкачественного характера опухоли ЦЖ $NPV = 88,1\%$. Без учета распространенности РЦЖ в популяции PPV в отношении злокачественного характера опухоли составила $PPV = (4/12) 33,3\%$, $95\%ДИ [14\%;61\%]$, NPV в отношении доброкачественного характера опухоли $NPV = (55/63) 87,3\%$, $95\%ДИ [77\%;94\%]$, NPV в отношении злокачественного характера опухоли ЦЖ составила $NPV = (86/90) 95,6\%$, $95\%ДИ [89\%;99\%]$.

Таблица 11 - Частота встречаемости мутаций в «горячих точках» гена *NRAS* (экзон 3, район кодона 61) в гистологическом материале

Вариант мутации	Секвенограмма	Мутации в гистологическом материале (n=153, n <i>NRAS</i> +=12 (7,8%))		
		УКЗ (n=30)	ФА (n=33)	ВДРЦЖ(n=90)
Нет мутации (дикий тип)		28	27	86
c.182A>G, p.(Gln61Arg, Q61R) [COSMIC ID 584]		2	5	4
c.181C>A, p.(Gln61Lys, Q61K) [COSMIC ID 580]		-	1	-

В целом частота выявления мутаций *BRAF* (район кодонов 600–601) и *NRAS* (кодон 61) в гистологическом материале представлена в таблице 12.

Таблица 12 - Частота встречаемости *BRAF*, *NRAS* мутаций в гистологическом материале (n, %)

Гистологический материал (n=153)		<i>BRAF</i> статус		<i>NRAS</i> статус	
Группа (n, %)		<i>BRAF</i> +	<i>BRAF</i> -	<i>NRAS</i> +	<i>NRAS</i> -
УКЗ, ХАИТ	30 (19,6%)	1 (3,3%)	29 (96,7%)	2 (6,7%)	28 (93,3%)
ФА	33 (21,6%)	0 (0%)	33 (100%)	6 (21,2%)	27 (81,8%)
ВДРЦЖ	90 (58,8%)	53 (58,9%)	37 (41,1%)	4 (4,5%)	86 (95,5%)

Частота обнаружения мутации *BRAF* в гистологическом материале была значимо выше в группе ВДРЦЖ по сравнению с группами УКЗ и ФНО ($p < 0,001$).

Значимых отличий по частоте выявления мутации *NRAS* между группами не было ($p = 0,06$).

KRAS*, *EIF1AX*, *TERT

Мутации в других «горячих точках» гена *NRAS* (экзон 2, район кодонов 12 и 13; экзон 3, район кодона 59; экзон 4, район кодонов 117 и 146), а также в «горячих точках» гена *KRAS* (экзон 2, район кодонов 12 и 13; экзон 3, район кодонов 59 и 61; экзон 4, район кодонов 117 и 146), *EIF1AX* (экзоны 1, 2 и 6) и *TERT* (транскрипт NM_198253.2, промоторная область, район позиций с.1-146 – с.1-124) не обнаружены ни в одном образце.

3.2. Определения частоты встречаемости соматических мутаций в «горячих точках» генов *BRAF*, *KRAS*, *NRAS*, *EIF1AX* и *TERT* в цитологическом материале.

Объекты (участники) исследования

В исследование было включено 74 пациента. Они были распределены на три группы в зависимости от результатов цитологического исследования: ВДРЦЖ

низкого риска (n=29), ФНО (n=29), УКЗ (n=16). Группы пациентов были несколько различны по возрасту и сопоставимы по полу и уровню ТТГ (таблица 13).

Таблица 13 - Характеристика пациентов, включенных в исследование

Показатель	УКЗ	ФНО	ВДРЦЖ	Значимость
Возраст, лет	34 [28,5; 55]	51[34; 59]	52 [46; 59,5]	$H= 6.083, p = 0,048$
Пол (м/ж)	3/13	3/26	2/27	$\chi^2= 1,305, p = 0,521$
ТТГ, мЕд/л	1,55 [1,0; 2,52]	1,8 [1,0; 2,42]	1,6 [1,0; 2,5]	$H= 2,627, p = 0,268$

Все 74 пациента были прооперированы. Пациентам, в зависимости от клинической ситуации были выполнены гемитиреоидэктомия, тиреоидэктомия или тиреоидэктомия, дополненная удалением лимфоузлов центральной зоны шеи (VI уровень) при подозрении на наличие метастазов в регионарные лимфатические узлы. Пациентам с фолликулярным новообразованием выполняли диагностическую гемитиреоидэктомию и по результатам срочного интраоперационного морфологического исследования принимали решение о дальнейшем объеме оперативного вмешательства.

Для молекулярно-генетического исследования использован цитологический материал 74 пациентов.

После получения результатов гистологического исследования количественное соотношение в группах изменилось за счет увеличения доли пациентов в группе ВДРЦЖ с 29 до 40 (с 39 до 53%) и УКЗ с 16 до 20 (с 23 до 27%). Из 16 пациентов, исходно вошедших в группу УКЗ, на основании гистологического исследования был диагностирован папиллярный РЦЖ (ПРЦЖ) в 1 случае и фолликулярная аденома (ФА) в 1 случае, в остальных случаях диагноз УКЗ был подтвержден. Из 29 пациентов, включенных в группу ФНО, по результатам гистологического исследования в 10 случаях был выявлен ПРЦЖ, в 13 – ФА, в 5 – УКЗ и в 1 – ХАИТ. В группе пациентов с ВДРЦЖ диагноз был подтвержден во всех случаях. Данные по распределению пациентов по группам на

основании цитологического заключения и распределение гистологических заключений в группе ФНО представлены на рисунке 8. Итоговое распределение пациентов по группам на основании гистологического заключения представлено на рисунке 9.

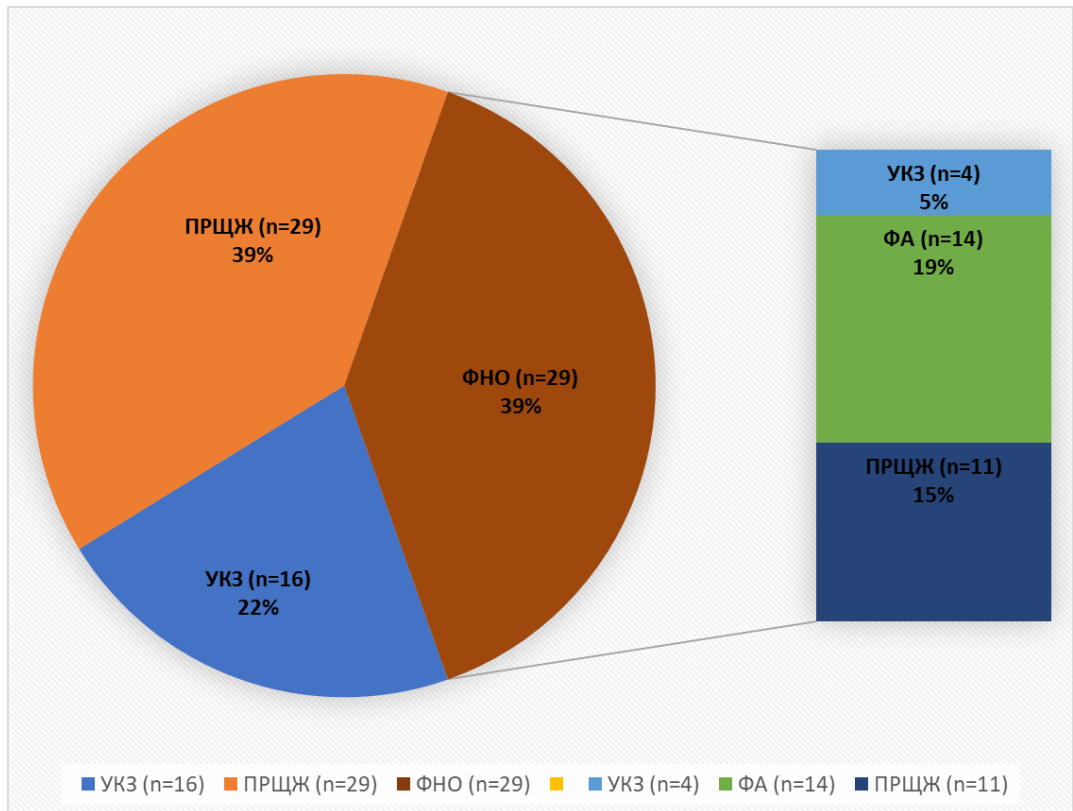


Рисунок 8 - Распределение пациентов по группам на основании цитологического заключения (n=74, %) и распределение гистологических заключений в группе ФНО

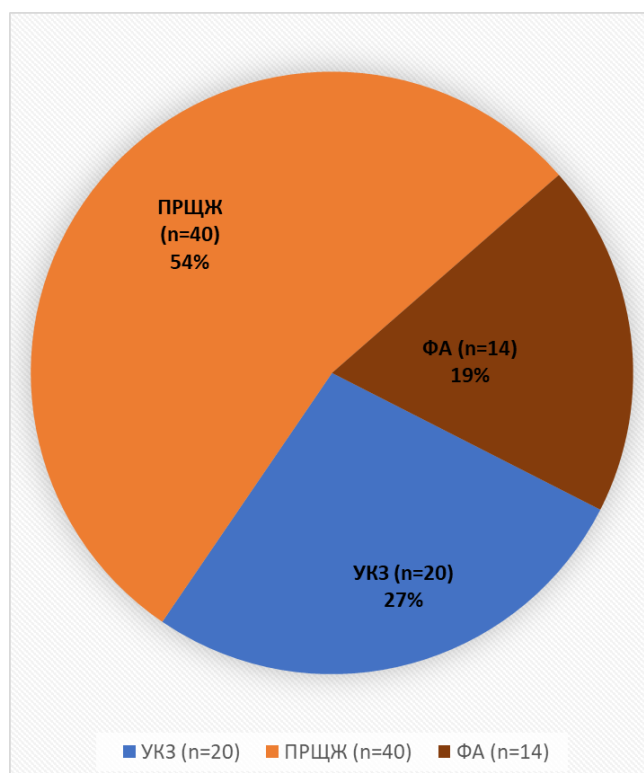


Рисунок 9 - Распределение пациентов по группам на основании гистологического заключения (n=74, %)

BRAF

Молекулярно-генетическое исследование цитологического материала

Поиск мутаций в «горячих точках» гена *BRAF* (экзона 15, район кодонов 600–601) выполнен в образцах ДНК, выделенной из цитологического материала 74 пациентов.

Мутации *BRAF* в цитологическом материале обнаружены в 29 случаях из 74, в том числе: с.1799T>A, p.(Val600Glu, V600E) - у 27 пациентов; с.1799_1800TG>AT, p.(Val600Asp, V600D) - у 1 пациента; с.1794_1796delTAC, p.(Thr599del, T599del) - также у 1 пациента (таблица 14). По результатам гистологического исследования операционного материала у всех 29 пациентов с мутациями в гене *BRAF* был выявлен ПРЩЖ. Среди 45 пациентов без мутации в гене *BRAF* злокачественные опухоли были выявлены еще у 11 пациентов. Таким образом, чувствительность, специфичность и точность теста составили (29/40)

72,5%, 95%ДИ [57%;84%], (34/34) 100%, 95%ДИ [88%;100%] и ((29+34)/74) 85,1% 95%ДИ [75%;92%], соответственно. С учетом распространенности РЦЖ в популяции, прогностическая ценность мутационного теста, выполняемого на цитологическом материале в отношении злокачественного характера опухоли, составила $PPV = 100\%$. А прогностическая значимость отрицательного результата этого теста в отношении доброкачественного характера опухоли $NPV = 95\%$. Без учета распространенности РЦЖ в популяции PPV в отношении злокачественного характера опухоли составила $PPV = (29/29) 100\%$, 95%ДИ [86%;100%], NPV в отношении доброкачественного характера опухоли $NPV = (35/46) 76,0\%$, 95%ДИ [62%;86%].

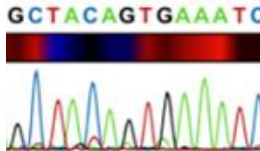
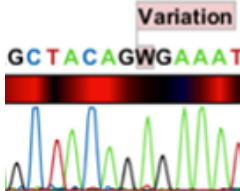
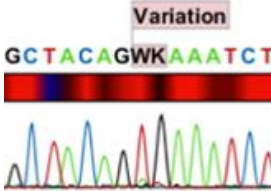
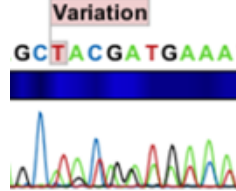
Для группы ФНО в 7 случаях из 29 была выявлена мутация в гене *BRAF*. По результатам гистологического исследования операционного материала у всех 7 пациентов *BRAF*⁺ был подтвержден ПРЦЖ. Таким образом, в группе ФНО удалось установить диагноз ПРЦЖ в 24% случаев. Чувствительность, специфичность и точность теста для группы ФНО составили (7/11) 63,6%, 95%ДИ [35%;85%], (18/18) 100%, 95%ДИ [79%;100%], и ((7+18)/29) 86,2%, 95%ДИ [69%;95%], соответственно. Обнаружение мутации в «горячих точках» экзона 15 гена *BRAF* (район кодонов 600–601) показало высокую предсказательную силу в отношении злокачественного характера опухоли $PPV = 100\%$. Отсутствие мутаций показало высокую предсказательную силу в отношении доброкачественного характера опухоли (с учетом распространенности РЦЖ в группе ФНО 10-15%) $NPV = 96-93,9\%$. Без учета распространенности РЦЖ в группе ФНО $PPV = 100\%$, 95%ДИ [59%;100%], $NPV = 82\%$, 95%ДИ [61%;93%].

Молекулярно-генетическое исследование соответствующего цитологическому гистологическому материалу

Поиск мутаций в «горячих точках» гена *BRAF* (экзона 15, район кодонов 600–601) выполнен в образцах ДНК, выделенной из гистологического материала 74 пациентов. Мутации обнаружены в 29 случаях из 74, в том числе: с.1799T>A, p.(Val600Glu, V600E) [COSMIC ID 476] - у 27 пациентов; с.1799_1800TG>AT,

p.(Val600Asp, V600D) [COSMIC ID 477] - у 1 пациента; c.1794_1796delTAC, p.(Thr599del, T599del) [COSMIC ID 1169497] - у 1 пациента (таблица 14).

Таблица 14 - Частота встречаемости мутаций в «горячих точках» гена *BRAF* (экзона 15, район кодонов 600–601) в цитологическом и гистологическом материале

Вариант мутации	Нет мутации (дикий тип)	c.1799T>A, p.(Val600Glu, V600E) [COSMIC ID 476]	c.1799_1800TG>AT, p.(Val600Asp, V600D) [COSMIC ID 477]	c.1794_1796delTAC, p.(Thr599del, T599del) [COSMIC ID 1169497]
Секвенограмма				
Мутации в цитологическом материале (n=74, n <i>BRAF</i> + = 29 (39,2%))				
УКЗ (n=16)	16, из них по гистологии 14 - УКЗ, 1 - ПРЦЖ и 1 - ФА	-	-	-
ФНО (n=29)	22, из них по гистологии 4 - ПРЦЖ, 13 - ФА, 5 - УКЗ	5, по гистологии все ПРЦЖ	1, по гистологии ПРЦЖ	1, по гистологии ПРЦЖ
ВДРЦЖ (n=29)	7, из них по гистологии все ПРЦЖ	22, из них по гистологии все ПРЦЖ	-	-
Мутации в гистологическом материале (n=74, n <i>BRAF</i> + = 29 (39,2%))				
УКЗ (n=20)	19	1	0	0
ФА (n=14)	14	0	0	0
ВДРЦЖ (n=40)	12	26	1	1

При сопоставлении данных молекулярно-генетического тестирования гистологического материала с данными гистологического исследования в 28 случаях *BRAF*+ был выявлен ПРЦЖ и в одном случае УКЗ. Среди 45 пациентов без мутации в гене *BRAF* злокачественные опухоли были выявлены еще у 12 пациентов. Таким образом, чувствительность, специфичность, точность теста

составили (28/40) 70%, (33/34) 97,1% и ((28+33)/74) 82,4% соответственно. С учетом распространенности РЦЖ в популяции, прогностическая ценность мутационного теста, выполняемого на гистологическом материале, в отношении злокачественного характера опухоли ЦЖ составила $PPV = 56\%$. Прогностическая ценность отрицательного результата мутационного теста в отношении доброкачественного характера опухоли ЦЖ составила $NPV = 94,8\%$.

NRAS

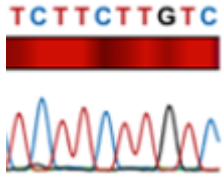
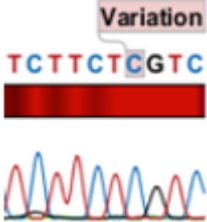
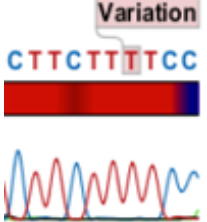
Молекулярно-генетическое исследование цитологического материала

Поиск мутаций в «горячих точках» гена *NRAS* (экзон 3, район кодона 61) выполнен в образцах ДНК, выделенной из цитологического материала 74 пациентов. Мутации *NRAS* в цитологическом материале обнаружены в 7 случаях, в том числе: с.182A>G, р.(Gln61Arg, Q61R) - у 5 пациентов; с.181C>A, р.(Gln61Lys, Q61K) - у 2 пациентов (таблица 15). По результатам гистологического исследования операционного материала злокачественные опухоли ЦЖ не были обнаружены ни у одного из 7 пациентов с мутациями в гене *NRAS* (в 4 случаях был выявлен УКЗ, в 3 - ФА); среди 67 пациентов без мутации в гене *NRAS* злокачественные опухоли ЦЖ были выявлены в 37 случаях. Таким образом, чувствительность, специфичность, точность теста составили (0/40) 0%, 95%ДИ [0%;10%], (27/34) 79,4%, 95%ДИ [63%;90%] и ((0+27)/74) 36,5%, 95%ДИ [26%;48%], соответственно. С учетом распространенности РЦЖ в популяции, прогностическая ценность мутационного теста, выполняемого на цитологическом материале, в отношении злокачественного характера опухоли ЦЖ составила $PPV = 0\%$, а прогностическая ценность отрицательного результата данного теста в отношении доброкачественного характера опухоли ЦЖ составила $NPV = 93,8\%$. Без учета распространенности РЦЖ в популяции PPV в отношении злокачественного характера опухоли составила $PPV = 0\%$, NPV в отношении доброкачественного характера опухоли $NPV = (27/67) 40,3\%$, 95%ДИ [29%;52%].

Молекулярно-генетическое исследование соответствующего цитологическому гистологического материала

Поиск мутаций в «горячих точках» гена *NRAS* (экзон 3, район кодона 61) выполнен в образцах ДНК, выделенной из гистологического материала 74 пациентов. Мутация *NRAS* с.182A>G, p.(Gln61Arg, Q61R) [COSMIC ID 584] обнаружена в 5 случаях (табл. 15).

Таблица 15 - Частота встречаемости мутаций в «горячих точках» гена *NRAS* (экзон 3, район кодона 61) в цитологическом и гистологическом материале

Вариант мутации	Нет мутации (дикий тип)	с.182A>G, p.(Gln61Arg, Q61R) [COSMIC ID 584]	с.181C>A, p.(Gln61Lys, Q61K) [COSMIC ID 580]
Секвенограмма			
Мутации в цитологическом материале (n=74, n <i>NRAS</i> + = 7 (9,5%))			
УКЗ (n=16)	14, из них по гистологии 12 – УКЗ, 1 – ПРЦЖ и 1 ФА	1, по гистологии 1 -УКЗ	1, по гистологии УКЗ
ФНО (n=29)	24, из них по гистологии 11 - ПРЦЖ, 10 - ФА, 3 - УКЗ	4, из них по гистологии 3 - ФА, 1 - УКЗ	1, по гистологии УКЗ
ВДРЦЖ (n=29)	29, по гистологии все ПРЦЖ	-	-
Мутации в гистологическом материале (n=74 n <i>Nras</i> + = 5 (6,8%))			
УКЗ (n=20)	18	2	-
ФА (n=14)	11	3	-
ВДРЦЖ (n=40)	40	-	-

По результатам гистологического исследования операционного материала злокачественные опухоли ЦЖ не были обнаружены ни у одного из 5 пациентов с

мутациями в гене *NRAS* (в 1 случае был выявлен УКЗ, в 4 - ФА); среди 69 пациентов без мутации в гене *NRAS* злокачественные опухоли ЩЖ были выявлены в 40 случаях. Таким образом, чувствительность, специфичность, точность теста составили (0/40) 0%, (29/34) 85,2% и ((0+29)/74) 39,2% соответственно. С учетом распространенности РЩЖ в популяции, прогностическая ценность мутационного теста, выполняемого на гистологическом материале, в отношении злокачественного характера опухоли ЩЖ составила PPV = 0%, а прогностическая ценность отрицательного результата данного теста. в отношении доброкачественного характера опухоли ЩЖ составила NPV = 94,2%.

Мутации в других «горячих точках» гена *NRAS* (экзон 2, район кодонов 12 и 13; экзон 3, район кодона 59; экзон 4, район кодонов 117 и 146), а также в «горячих точках» гена *KRAS* (экзон 2, район кодонов 12 и 13; экзон 3, район кодонов 59 и 61; экзон 4, район кодонов 117 и 146), *EIF1AX* (экзоны 1, 2 и 6) и *TERT* (транскрипт NM_198253.2, промоторная область, район позиций с.1-146 – с.1-124) не обнаружены ни в одном образце. Частота обнаружения мутации *BRAF* и в цитологическом материале, и в гистологическом материале была значимо выше в группе ПРЩЖ по сравнению с группами УКЗ и ФНО ($p < 0,001$).

Мутации в других «горячих точках» гена *NRAS* (экзон 2, район кодонов 12 и 13; экзон 3, район кодона 59; экзон 4, район кодонов 117 и 146), а также в «горячих точках» гена *KRAS* (экзон 2, район кодонов 12 и 13; экзон 3, район кодонов 59 и 61; экзон 4, район кодонов 117 и 146), *EIF1AX* (экзоны 1, 2 и 6) и *TERT* (транскрипт NM_198253.2, промоторная область, район позиций с.1-146 – с.1-124) не обнаружены ни в одном образце.

Совпадение мутантного статуса между разными образцами одного и того же пациента (цитология – гистология)

При сопоставлении данных молекулярно-генетического тестирования цитологического материала с данными молекулярно-генетического тестирования гистологического материала из 74 пар было отобрано 72 парных образца (два цитологических образца по результатам сравнительного молекулярного

тестирования методом мультиплексного STR-анализа были идентифицированы как не принадлежащие одним и тем же пациентам). Из них в 6 парах были обнаружены расхождения (8%):

- мутация *BRAF* с.1799T>A, p.(Val600Glu, V600E) [COSMIC ID 476] обнаружена в двух образцах цитологии, но не выявлены в соответствующих образцах гистологии;
- мутация *BRAF* с.1799T>A, p.(Val600Glu, V600E) [COSMIC ID 476] обнаружена в двух образцах гистологии, но не выявлены в соответствующих образцах цитологии;
- мутация *NRAS* с.182A>G, p.(Gln61Arg, Q61R) [COSMIC ID 584] обнаружена в одном образце цитологии, но не выявлена в соответствующем образце гистологии;
- мутация *NRAS* с.181C>A, p.(Gln61Lys, Q61K) [COSMIC ID 580] обнаружена в одном образце цитологии, но не выявлена в соответствующем образце гистологии.

Кроме того, мы сопоставили данные молекулярно-генетического тестирования цитологического материала 12 случаев пар цитологических стеклопрепаратов одного и того же пациента. По результатам молекулярного тестирования «парных» образцов были обнаружены расхождения в 5 из 12 случаев, а именно мутация *BRAF* с.1799T>A, p.(Val600Glu, V600E) [COSMIC ID 476] обнаружена в образцах, но не обнаружена в парных.

3.3. Определение частоты встречаемости соматических мутаций в «горячих точках» генов *BRAF* и *NRAS* в плазме крови

Объекты (участники) исследования

В исследование было включено 66 пациентов, у всех пациентов по данным молекулярного тестирования гистологического материала была выявлена мутация *BRAF* (n=54) или *NRAS* (n=12).

Поиск мутаций в «горячих точках» гена *BRAF* (экзон 15, район кодонов 600–601) и *NRAS* (экзон 3, район кодона 61) в образцах ДНК, выделенной из плазмы

крови до операции, выполнен у 66 пациентов, из плазмы крови после операции - у 35 пациентов. Поиск мутаций производился только в образцах крови пациентов, у которых по данным молекулярно-генетического тестирования гистологического материала были выявлены таргетные мутации генов *BRAF* и *NRAS*.

Мутация *BRAF* с.1799T>A, p.(Val600Glu, V600E) [COSMIC ID 476] обнаружена в 1 случае в плазме крови до операции. По результатам гистологического исследования операционного материала у этого пациента с мутацией в гене *BRAF* был выявлен ПРЦЖ.

Мутация *NRAS* с.182A>G, p.(Gln61Arg, Q61R) [COSMIC ID 584] не обнаружена ни в одном образце. Мутация *NRAS* с.181C>A, p.(Gln61Lys, Q61K) [COSMIC ID 580] обнаружена в 1 случае в плазме крови пациента как до, так и после операции. По результатам гистологического исследования операционного материала был выявлен УКЗ.

Таким образом, чувствительность мутационного теста по гену *BRAF*, выполняемого на плазме крови в отношении злокачественного характера опухоли ЩЖ, составила (1/54) 1,8%. Чувствительность мутационного теста по гену *NRAS* выполняемого на плазме крови, в отношении злокачественного характера опухоли ЩЖ составила 0%.

При сопоставлении данных молекулярно-генетического тестирования гистологического материала с данными молекулярно-генетического тестирования плазмы крови выявленная мутация *BRAF* с.1799T>A, p.(Val600Glu, V600E) [COSMIC ID 476] плазмы крови была подтверждена молекулярным профилем гистологического материала, выявленная мутация *NRAS* с.181C>A, p.(Gln61Lys, Q61K) [COSMIC ID 580] плазмы крови была подтверждена молекулярным профилем гистологического материала.

3.4. Определение частоты встречаемости соматических мутаций в «горячих точках» генов *BRAF*, *KRAS*, *NRAS*, *EIF1AX* и *TERT* в гистологическом материале в группе ВДРЦЖ. Определение частоты

рецидивов и оценка связи выявленных мутаций и рецидивов в группе ВДРЦЖ

Объекты (участники) исследования

В исследование было включено 90 пациентов с ВДРЦЖ. Характеристика пациентов, включенных в исследование представлена в таблице 16.

Таблица 16 - Характеристика пациентов, включенных в исследование

Показатель	Значение
Средний возраст, лет	51 [40; 58]
Пол (м/ж)	15/75
ТТГ, мЕд/л	1,8 [1,05; 2,55]
Показатель	Значение
По данным гистологического исследования	
Количество фокусов РЦЖ	
1	68 (75,6%)
2	8 (8,9%)
3	5 (5,5%)
> 3	9 (10%)
Наличие капсулы узла	43 (47,8%)
Инвазия РЦЖ	
Нет	35 (38,9%)
Инвазия в капсулу образования	19 (21,1%)
Инвазия в капсулу/ткань ЩЖ/окружающие ткани	36 (40%)
Наличие метастазов в лимфоузлы	
Нет	80 (88,9%)
1 - 2	6 (6,7%)
> 2	4 (4,4%)
Гистологическая форма РЦЖ	
Папиллярный РЦЖ	86 (95,6%)
Фолликулярный вариант папиллярного РЦЖ	2 (2,2%)
Фолликулярный РЦЖ	2 (2,2%)

Частота рецидивов (под рецидивом/персистенцией опухоли принимали выявление заболевания не ранее, чем через 6 месяцев после первичного лечения) была оценена в группе пациентов ВДРЦЖ в четырех группах лечения: тиреоидэктомии (ТЭ); тиреоидэктомии и профилактического удаления лимфоузлов центральной зоны (VI уровень) (ТЭ + ЦЛАЭ); тиреоидэктомии и послеоперационной РЙТ (ТЭ + РЙТ); тиреоидэктомии, профилактического удаления лимфоузлов центральной зоны (VI уровень) и послеоперационной РЙТ (ТЭ + ЦЛАЭ + РЙТ). Схема комплексных методов лечения представлена на рисунке 10.

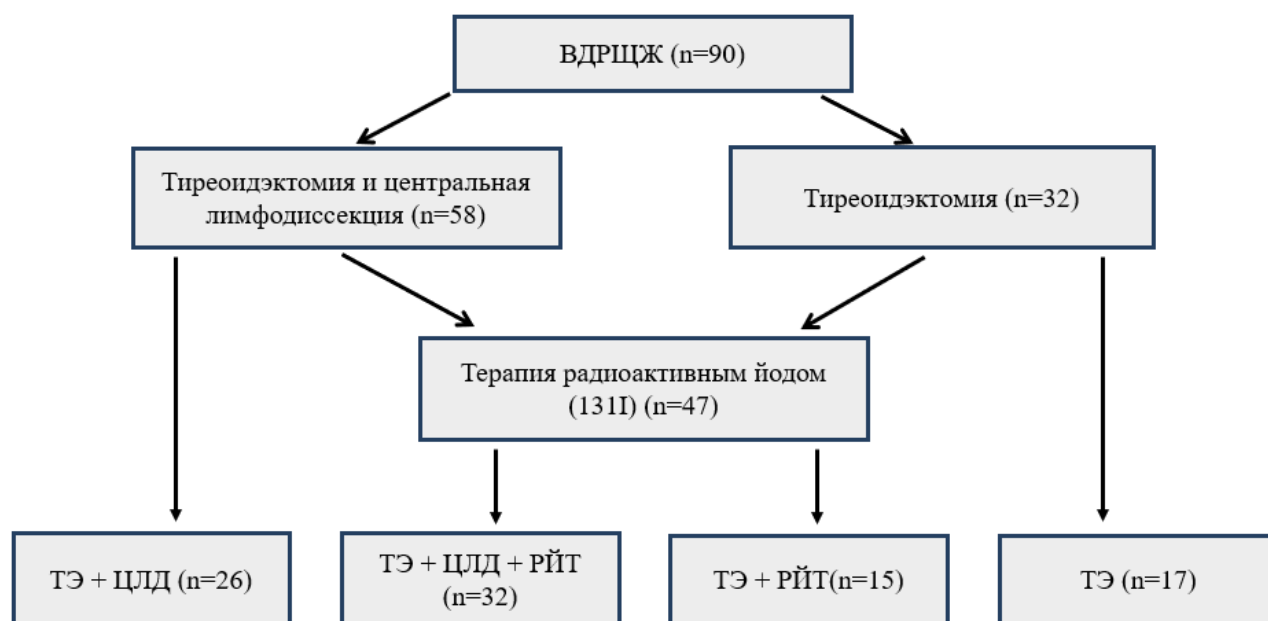


Рисунок 10 - Схема: комплексные методы лечения

Характеристика пациентов группы ВДРЦЖ, разделенных на группы в зависимости от проведенного лечения приведена в таблице 17. Значимых отличий между группами по возрасту, полу и исходному уровню ТТГ не было. По результатам проведенного гистологического исследования материала закономерно выше была распространённость метастазов в регионарные лимфоузлы в группах терапии с использованием радиоактивного йода ($p < 0,01$), отличий по инвазии опухоли в капсулу и ткань ЩЖ, максимальному размеру фокуса, встречаемости более 1 фокуса РЦЖ между группами не было ($p > 0,05$)

Таблица 17 - Характеристика пациентов группы ВДРЦЖ, разделенных на группы в зависимости от проведенного лечения

Показатель	ТЭ (n=17)	ТЭ + ЦЛАЭ (n=26)	ТЭ + ЦЛАЭ + РЙТ (n=32)	ТЭ + РЙТ (n=15)	Значение p
Возраст, лет	54 [45; 58]	50 [40,7; 55,7]	48 [38; 58]	52 [37,5; 60]	$H=1,856$, $p=0,825$
Пол (м/ж)	2/15	2/24	8/24	3/12	$\chi^2 = 3,522$, $p=0,318$
ТТГ на момент операции, мЕд/л	1,45 [1,02; 1,87]	1,55 [1,07; 2,87]	1,8 [0,9; 2,5]	2,8 [2,0; 3,5]	$H=4,728$, $p=0,257$
<i>По данным гистологического исследования</i>					
Более 1 фокуса РЦЖ (n, %)	1 (5,9%)	6 (23%)	10 (31,2%)	6 (15%)	$\chi^2 = 5,733$, $p=0,126$
Наличие метастазов в лимфатические узлы (n, %)	0 (0%)	0 (0%)	9 (28,1%)	1 (6,7%)	$\chi^2 = 37,66$, $p<0,01$
Инвазия в капсулу/ткань ЩЖ (n, %)	8 (47%)	14 (53,8%)	24 (75%)	9 (60%)	$\chi^2 = 4,595$, $p=0,272$
Максимальный размер узла, см	1,5 [0,95; 2,75]	1,1 [0,9; 1,7]	1,35 [1,1; 1,67]	1,05 [0,8; 1,52]	$H=6,065$, $p=0,143$

Молекулярно-генетическое исследование гистологического материала в группе ВДРЦЖ

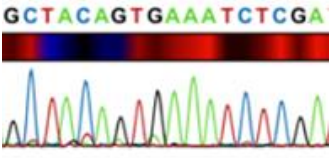
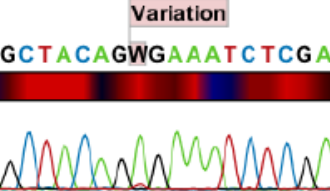
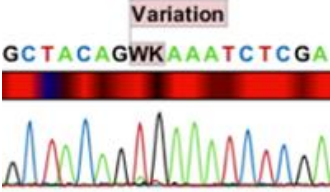
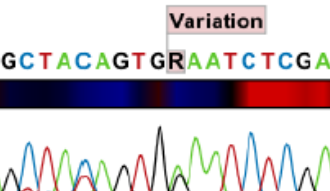
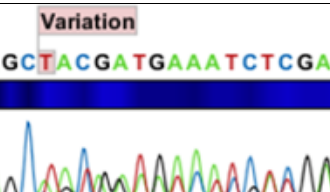
BRAF

Поиск мутаций в «горячих точках» гена *BRAF* (экзона 15, район кодонов 600–601) выполнен в образцах ДНК, выделенной из гистологического материала 90 пациентов ВДРЦЖ. Данные представлены в таблице 18.

Мутации обнаружены в 53 случаях, в том числе: с.1799T>A, p.(Val600Glu, V600E) [COSMIC ID 476] - у 50 пациентов; с.1799_1800TG>AT, p.(Val600Asp, V600D) [COSMIC ID 477] - у 1 пациента; с.1801A>G, p.(Lys601Glu, K601E)

[COSMIC ID 478] - у 1 пациента; c.1794_1796delTAC, p.(Thr599del, T599del)
[COSMIC ID 1169497] - также у 1 пациента.

Таблица 18 - Частота встречаемости мутаций в «горячих точках» гена *BRAF* (экзона 15, район кодонов 600–601) в гистологическом материале

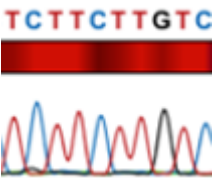
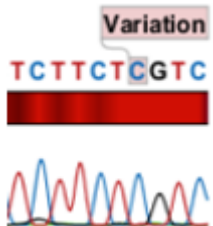
Вариант мутации	Секвенограмма	Мутации в гистологическом материале (n=90, n <i>Braf</i> + = 53 (58,9%))
Нет мутации (дикий тип)		37
c.1799T>A, p.(Val600Glu, V600E) [COSMIC ID 476]		50
c.1799_1800TG>AT, p.(Val600Asp, V600D) [COSMIC ID 477]		1
c.1801A>G, p.(Lys601Glu, K601E) [COSMIC ID 478]		1
c.1794_1796delTAC, p.(Thr599del, T599del) [COSMIC ID 1169497]		1

По результатам гистологического исследования операционного материала у 53 пациентов с мутациями в гене *BRAF* был выявлен ПРЦЖ. Таким образом частота встречаемости мутации в гистологическом материале составила 58,9%.

NRAS

Поиск мутаций в «горячих точках» гена *NRAS* (экзон 3, район кодона 61) выполнен в образцах ДНК, выделенной из гистологического материала 90 пациентов ВДРЦЖ. Мутации обнаружены в 4 случаях, в том числе: с.182A>G, p.(Gln61Arg, Q61R) [COSMIC ID 584] - у 4 пациентов. Данные представлены в таблице 19.

Таблица 19 - Частота встречаемости мутаций в «горячих точках» гена *NRAS* (экзон 3, район кодона 61) в гистологическом материале

Вариант мутации	Секвенограмма	Мутации в гистологическом материале (n=90, n <i>Nras</i> +4 (4,4%))
Нет мутации (дикий тип)		86
с.182A>G, p.(Gln61Arg, Q61R) [COSMIC ID 584]		4

По результатам гистологического исследования операционного материала у 4 пациентов с мутациями в гене *NRAS* был выявлен папиллярный РЦЖ. Таким образом частота встречаемости мутации в гистологическом материале составила 4,4%.

KRAS, EIF1AX, TERT

Мутации в других «горячих точках» гена *NRAS* (экзон 2, район кодонов 12 и 13; экзон 3, район кодона 59; экзон 4, район кодонов 117 и 146), а также в «горячих точках» гена *KRAS* (экзон 2, район кодонов 12 и 13; экзон 3, район кодонов 59 и 61;

экзон 4, район кодонов 117 и 146), *EIF1AX* (экзоны 1, 2 и 6) и *TERT* (транскрипт NM_198253.2, промоторная область, район позиций с.1-146 – с.1-124) не обнаружены ни в одном образце.

Определение частоты рецидивов

После проведенного лечения пациентов наблюдали на протяжении 43 – 68 месяцев; медиана 56 [50; 61] месяцев. Длительность наблюдения не отличалась между группами терапии (данные представлены в таблице 20). В наблюдаемой группе пациентов с ВДРЩЖ у 12 пациентов (13,3 %) развился рецидив РЩЖ.

При сравнении всех четырех групп лечения (ТЭ, ТЭ + ЦЛАЭ, ТЭ + ЦЛАЭ + РЙТ, ТЭ + РЙТ) получены различия между группами терапии ($p=0,044$). Однако, при попарном сравнении отличий между ТЭ и ТЭ + ЦЛАЭ не получено ($p=0,496$), между ТЭ и ТЭ + ЦЛАЭ + РЙТ не получено ($p=0,210$), между ТЭ и ТЭ + РЙТ не получено ($p=0,088$).

Таблица 20 - Длительность динамического наблюдения, частота рецидивов и частота встречаемости *BRAF* мутации при различных вариантах лечения (n, %)

Показатель	ТЭ (n=17)	ТЭ + ЦЛАЭ (n=26)	ТЭ + ЦЛАЭ + РЙТ (n=32)	ТЭ + РЙТ (n=15)	Значение p
Длительность наблюдения, мес.	53 [49; 60]	58 [51; 62]	56 [50; 61]	59,5 [54; 62,7]	$H=2,723$, $p=0,594$
Развитие рецидива в общей когорте (n, %)	3 (17,6%)	7 (26,9%)	2 (6,25%)	0 (0%)	$\chi^2 = 8,126$, $p=0,04$
Наличие <i>BRAF</i> мутации, n (%)	9 (52,9%)	16 (61,5%)	22 (68,7%)	6 (40,0%)	$p=0,282$
Развитие рецидива (n, %)	2 <i>BRAF</i> ⁺ и 1 <i>BRAF</i> ⁻	5 <i>BRAF</i> ⁺ и 2 <i>BRAF</i> ⁻	2 <i>BRAF</i> ⁺	0 (0%)	-

Соответственно, группы более агрессивного вмешательства с профилактическим удалением лимфоузлов центральной зоны (VI уровень) и/или проведением РЙТ не показали клинически значимых преимуществ перед тиреоидэктомией у пациентов ВДРЩЖ группы низкого риска.

При сравнении групп, в которых проводилась ТЭ (n=32) или ТЭ+ЦЛАЭ (n=58) статистически значимых отличий по частоте развития рецидивов не получено ($p=0,412$). При сравнении групп, в которых проводилась РЙТ (n=47) или не проводилась РЙТ (n=43) получены статистически значимые отличия по частоте развития рецидивов ($p=0,009$). Это может объяснять полученные различия между всеми группами лечения. Однако, в связи с небольшим числом пациентов в группах, не является основанием для категорических утверждений.

Большая часть рецидивов была отмечена через 6 месяцев после первичного лечения, после 24 месяцев наблюдения рецидивов зарегистрировано не было. Все рецидивы ответили на РЙТ и персистенции заболевания не наблюдается ни в одном случае, на основании чего можно сделать заключение о том, что течение заболевания у пациентов ВДРЦЖ группы низкого риска отличается крайне благоприятным прогнозом даже в случае раннего рецидива.

Время до развития рецидива, *BRAF*+/*NRAS*+ в образцах пациентов с рецидивом представлено на рисунке 11.

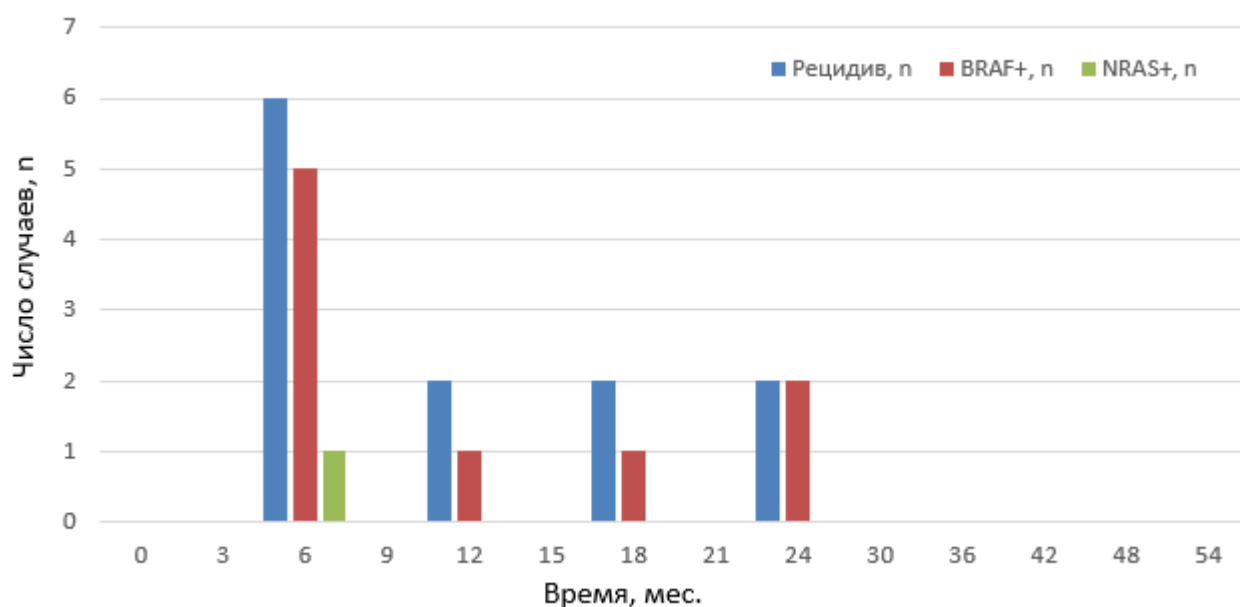


Рисунок 11 - Время до развития рецидива и встречаемость мутаций *BRAF* и *NRAS* в образцах пациентов с рецидивом

Группы без рецидива/с рецидивом не отличались по полу, возрасту и длительности наблюдения. Характеристика пациентов в зависимости от развития рецидива представлена в таблице 21.

Значимых отличий по частоте рецидивов между группами *BRAF*⁺/*BRAF*⁻ не выявлено, однако обращает на себя внимание тот факт, что подавляющее число рецидивов является *BRAF*⁺. В связи с небольшим количеством пациентов с выявленной мутацией *NRAS* сделать вывод о значимости отличий по частоте рецидивов между группами *NRAS*⁺/*NRAS*⁻ не представляется возможным.

Таким образом, не получено данных за информативность использования тестов на мутации в «горячих точках» генов *BRAF*, *KRAS*, *NRAS*, *EIF1AX* и *TERT* для выделения группы пациентов с неблагоприятным прогнозом. Однако, в нашем исследовании отсутствие выявления генов агрессивного течения заболевания или их комбинаций, возможно, связано с характером набранной группы и/или указывает на благоприятный прогноз у данных пациентов.

Таблица 21 - Характеристика пациентов с ВДРЦЖ (n=90) в зависимости от развития рецидива

Показатель	Нет рецидива	Рецидив	Значение <i>p</i>
Пациенты, <i>n</i>	78	12	
Возраст, лет	52[42;58]	43[37;58]	<i>p</i> = 0,261
Пол (м/ж)	65/13	10/2	<i>p</i> = 1
Тиреотропный гормон (ТТГ), мЕд/л	1,45 [0,82; 2,52]	2,1 [1,4; 2,5]	<i>p</i> = 0,093
Время наблюдения (месяцев)	56 [50;61]	59 [48;62]	<i>p</i> = 0,401
РЙТ, <i>n</i> (%)	45 (57,7%)	2 (16,6%)	<i>p</i> = 0,009
ТГ (нг/мл) (Среднее ±СКО)	0,12±0,09	9,02±30,25	<i>p</i> < 0,000002
АТ-ТГ (ед/мл) (Среднее ±СКО)	28,11±36,30	29,58±16,22	<i>p</i> = 0,11
Остаточная ткань по УЗИ	0 (0%)	5 (41,7%)	<i>p</i> < 0,001
Ультразвуковые характеристики узловых образований			
Максимальный размер узла, см	1,30[0,90;1,63]	1,15[1,00;1,90]	<i>p</i> = 0,481
Билатеральность, <i>n</i> (%)	4 (5,1%)	1 (8,3%)	<i>p</i> = 0,010
Наличие кальцинатов, <i>n</i> (%)	34 (43,5%)	8 (66,7%)	<i>p</i> = 0,136
Гипоэхогенность образования, <i>n</i> (%)	60 (76,9%)	9 (75,0%)	<i>p</i> = 0,884
Нечеткость/неровность контуров, <i>n</i> (%)	18 (23%)	1 (8,3%)	<i>p</i> = 0,244
Гистологическое исследование послеоперационного материала			
Мультифокальность (> 1 фокуса), <i>n</i> (%)	18 (23,1%)	4 (33,3%)	<i>p</i> = 0,442
Наличие метастазов в л/у, <i>n</i> (%)	8 (10,3%)	2 (16,6%)	<i>p</i> = 0,511
Наличие капсулы ВДРЦЖ, <i>n</i> (%)	32 (41,0%)	9 (75,0%)	<i>p</i> = 0,028
Инвазия РЦЖ, <i>n</i> (%)	45 (57,7%)	2 (16,6%)	<i>p</i> = 0,090
<i>BRAF</i> , <i>n</i> (%)	44 (56,4%)	9 (75,0%)	<i>p</i> = 0,224
<i>NRAS</i> , <i>n</i> (%)	3 (3,8%)	1 (8,3%)	<i>p</i> = 0,506

Оценка связи выявленных мутаций и рецидивов в группе ВДРЦЖ

Гистологическое исследование послеоперационного материала на наличие мутации *BRAF* выполнено 90 пациентам. У 53 пациентов выявлена мутация *BRAF*. Частота выявления мутации в гистологическом материале в группе ВДРЦЖ составила 58,9%.

При сравнении пациентов с выявленной *BRAF* мутацией и без нее по данным гистологического исследования значимых отличий по возрасту, полу, уровню ТТГ выявлено не было. При сравнении гистологических характеристик в группах *BRAF*+/*BRAF*- значимых отличий по частоте мультифокального поражения, метастазов в регионарные лимфоузлы, наличию капсулы и инвазии рака выявлено не было. Отмечено достоверная связь метастазов в лимфатические узлы и мутации *BRAF*. Данные представлены в таблице 22.

Таблица 22 - Характеристика пациентов с ВДРЦЖ (n=90) в зависимости от наличия у них мутации *BRAF*

Показатель	<i>BRAF</i> +	<i>BRAF</i> -	Значение <i>p</i>
Пациенты, <i>n</i>	53	37	
Возраст, лет	51 [42,5; 57]	52 [40; 60]	$U = 1459, p = 0,605$
Пол (м/ж)	6/45	5/32	$\chi^2 = 0,060, p = 0,807$
ТТГ, мЕд/л	1,45 [0,82; 2,52]	2,1 [1,4; 2,5]	$U = 608,5, p = 0,093$
Мультифокальность (> 1 фокуса), <i>n</i> (%)	14 (26,4%)	8 (21,6%)	$\chi^2 = 0,271, p = 0,603$
Наличие метастазов в л/у, <i>n</i> (%)	9 (17%)	1 (2,7%)	$\chi^2 = 4.498, p = 0,034$
Наличие капсулы ВДРЦЖ, <i>n</i> (%)	25 (47,1%)	16 (43,2%)	$\chi^2 = 0,135, p = 0,713$
Показатель	30 (56,6%)	22 (59,4%)	$\chi^2 = 0,073, p = 0,788$
Рецидив, <i>n</i> (%)	9 (17,0%)	3 (8,1%)	$\chi^2 = 1,485, p = 0,224$

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

4.1. Обсуждение результатов определения частоты встречаемости соматических мутаций в «горячих точках» генов *BRAF*, *KRAS*, *NRAS*, *EIF1AX* и *TERT* в гистологическом материале

Резюме основного результата исследования

По результатам молекулярно-генетического исследования гистологического материала можно сделать следующие выводы:

- частота обнаружения мутации *BRAF* в общей когорте составила 35,3%. Частота выявленных мутаций *BRAF* при ВДРЦЖ составила 59%;
- обнаружение мутаций в «горячих точках» экзона 15 гена *BRAF* (район кодонов 600–601) показало не высокую предсказательную силу в отношении злокачественного характера опухоли $PPV = 65,6\%$. Отсутствие мутаций показало высокую предсказательную силу в отношении доброкачественного характера опухоли $NPV = 94,9\%$;
- частота обнаружения мутации *NRAS* в общей когорте составила 7,8%;
- обнаружение мутаций в «горячих точках» экзона 3 гена *NRAS* (район кодона 61) имеет низкую предсказательную силу в отношении злокачественного характера опухоли ЦЖ $PPV = 0,38\%$. Отсутствие мутаций показало достаточно высокую предсказательную силу в отношении доброкачественного характера опухоли ЦЖ $NPV = 88,1\%$;
- не были обнаружены мутации в других «горячих точках» гена *NRAS* и генов *KRAS*, *TERT*, *EIF1AX*;

Обсуждение основного результата исследования

Частота выявленных мутаций *BRAF* при ВДРЦЖ в нашем исследовании составила 59% в гистологическом материале. В подавляющем большинстве

случаев выявлена мутация с.1799T>A, p.(Val600Glu, V600E) [COSMIC ID 476] (94,4%) и в трех случаях выявлены точечные мутации с.1799_1800TG>AT, p.(Val600Asp, V600D) [COSMIC ID 477], с.1801A>G, p.(Lys601Glu, K601E) [COSMIC ID 478], с.1794_1796delTAC, p.(Thr599del, T599del) [COSMIC ID 1169497]. Наиболее распространенный вариант мутации *BRAF* V600E, что соответствует литературным данным.

Все мутации были выявлены при ПРЦЖ, за исключением одного случая УКЗ. Выявление мутации в гене *BRAF* у пациента с УКЗ является уникальным, не вполне обычным сочетанием клинических и молекулярных параметров. В литературе подобные данные не описаны. В нашем исследовании данный факт не может быть объяснен техническими и методическими артефактами. Весьма вероятно, что у данного пациента имеет место папиллярная микрокарцинома, которая не вошла в срез гистологического стеклопрепарата.

Частота выявленных мутаций *NRAS* в нашем исследовании составила 7,8 % в гистологическом материале. В нашем исследовании были выявлены наиболее часто встречающиеся варианты мутации с.182A>G, p.(Gln61Arg, Q61R) [COSMIC ID 584] и с.181C>A, p.(Gln61Lys, Q61K) [COSMIC ID 580]. Мутации были обнаружены как при ПРЦЖ, так и при ФА и УКЗ, что соответствует данным литературы.

Не было выявлено мутаций в «горячих точках» генов *NRAS* (экзон 2, район кодонов 12 и 13; экзон 3, район кодона 59; экзон 4, район кодонов 117 и 146); *KRAS* (экзон 2, район кодонов 12 и 13; экзон 3, район кодонов 59 и 61; экзон 4, район кодонов 117 и 146), *TERT* (транскрипт NM_198253.2, промоторная область, район позиций с.1-146 – с.1-124), *EIF1AX*. Отсутствие выявления данных мутаций возможно, связано с характером набранной группы пациентов, включенных в исследование, поскольку в исследование исходно набирались пациенты ВДРЦЖ низкого риска, для которых не характерно агрессивное течение заболевания, с которым связывают выявление данных маркеров.

4.2. Обсуждение результатов определения частоты встречаемости соматических мутаций в «горячих точках» генов *BRAF*, *KRAS*, *NRAS*, *EIF1AX* и *TERT* в цитологическом материале

Резюме основного результата исследования

По результатам исследования цитологических, гистологических и образцов плазмы крови пациентов с малыми опухолями щитовидной железы можно сделать следующее заключение:

1. Частота встречаемости мутаций в цитологическом материале:

- частота обнаружения мутации *BRAF* в цитологическом материале составила 39,2% и а значимо выше в группе ПРЩЖ по сравнению с группами УКЗ и ФНО ($p < 0,001$);
- частота обнаружения мутации *NRAS* в цитологическом материале составила 9,5%. Значимых отличий по частоте выявления мутации *NRAS* между группами не было.

2. Частота встречаемости мутаций в гистологическом материале:

- частота обнаружения мутации *BRAF* в гистологическом материале составила 39,2% и значимо выше в группе ПРЩЖ по сравнению с группами УКЗ и ФНО ($p < 0,001$);
- частота обнаружения мутации *NRAS* в гистологическом материале составила 6,8%, значимых отличий по частоте выявления мутации *NRAS* между группами не было ($p = 0,06$);
- в исследованных образцах пациентов с малыми опухолями ЩЖ не были обнаружены мутации в других «горячих точках» гена *NRAS* и генов *KRAS*, *TERT*, *EIF1AX*.

3. Совпадение мутантного статуса между разными образцами одного и того же пациента (цитология – гистология): молекулярный профиль цитологического материала в большинстве случаев совпадает с молекулярным профилем гистологического материала (92%).

4. Определение предсказательной силы мутационного теста по цитологическому материалу в отношении типа опухоли на дооперационном этапе:

- для цитологического материала обнаружение мутаций в «горячих точках» экзона 15 гена *BRAF* (район кодонов 600–601) показало высокую предсказательную силу в отношении ПРЦЖ, $PPV = 100\%$; отсутствие мутаций показало высокую предсказательную силу в отношении доброкачественного характера опухоли $NPV = 95\%$;

- для цитологического материала обнаружение мутаций в «горячих точках» экзона 3 гена *NRAS* (район кодона 61) имеет низкую предсказательную силу в отношении злокачественного характера опухоли, $PPV = 0\%$; отсутствие мутаций показало высокую предсказательную силу в отношении доброкачественного характера опухоли $NPV = 93,8\%$;

5. Предсказательная сила мутационного теста по гистологическому материалу в отношении типа опухоли:

- для гистологического материала обнаружение мутаций в «горячих точках» экзона 15 гена *BRAF* (район кодонов 600–601) показало не высокую предсказательную силу в отношении ПРЦЖ, $PPV = 56\%$. Отсутствие мутаций показало высокую предсказательную силу в отношении доброкачественного характера опухоли $NPV = 94,8\%$;

- для гистологического материала обнаружение мутаций в «горячих точках» экзона 3 гена *NRAS* (район кодона 61) имеет низкую предсказательную силу в отношении злокачественного характера опухоли, $PPV = 0\%$. Отсутствие мутаций показало высокую предсказательную силу в отношении доброкачественного характера опухоли $NPV = 94,2\%$;

Обсуждение основного результата исследования

В данной группе основной задачей нашего исследования было оценить возможность использования молекулярно-генетических маркеров для

дифференциальной диагностики новообразований ЩЖ на дооперационном этапе. По данным нашего исследования мутации в «горячих точках» экзона 15 гена *BRAF* (район кодонов 600–601) в цитологическом материале показали высокую предсказательную силу в отношении ПРЩЖ. Использование данного маркера для дифференциальной диагностики опухолей ЩЖ менее 2 см низкого риска представляется целесообразным: положительный тест на мутации в «горячих точках» экзона 15 гена *BRAF* фактически подтверждает диагноз папиллярного рака ЩЖ.

Обнаружение мутаций в «горячих точках» экзона 3 гена *NRAS* (район кодона 61) в цитологическом материале показало низкую предсказательную силу в отношении злокачественного характера опухоли и более высокую предсказательную силу в отношении ФА. Таким образом, использование данного маркера для дифференциальной диагностики малых опухолей ЩЖ не показало целесообразности, так как положительный тест на мутации в «горячих точках» экзона 3 гена *NRAS* не исключает ни диагноз УКЗ, ни диагноз ПРЩЖ, хотя и чаще встречается при ФА. Можно отметить, что обнаружение *RAS* мутации в ЩЖ не устанавливает степень злокачественности, однако мутации *RAS* часто являются маркером фолликулярного варианта папиллярного рака, который трудно диагностировать на основании ТАБ.

Частота выявленных мутаций *BRAF* в нашем исследовании составила в группе ПРЩЖ 76% в цитологическом материале и 70% в гистологическом материале, что соответствует литературным данным.

Почти во всех случаях (98-99%) точечная мутация *BRAF* связана с нуклеотидом 1799 и приводит к замене валина на глутамат в 600 кодоне V600E. Всего в 1-2% случаев *BRAF* обнаруживаются замены K601E за счет вставки или делеции в 600 кодоне и AKAP9/ *BRAF*. Согласно полученным нами результатам, в подавляющем большинстве случаев выявлена мутация *BRAF V600E* (94,4%) и в трех случаях выявлены точечные мутации *BRAF K601E*, *T599del*, *V600D*.

Частота выявленных мутаций *NRAS* в нашем исследовании составила 9,5% в цитологическом материале 6,8% в гистологическом материале. В нашем исследовании были выявлены наиболее часто встречающиеся варианты мутации.

При тестировании исследованной выборки не получено данных за информативность использования для дифференциальной диагностики малых опухолей щитовидной железы мутаций в «горячих точках» генов *NRAS* (экзон 2, район кодонов 12 и 13; экзон 3, район кодона 59; экзон 4, район кодонов 117 и 146); *KRAS* (экзон 2, район кодонов 12 и 13; экзон 3, район кодонов 59 и 61; экзон 4, район кодонов 117 и 146), *TERT* (транскрипт NM_198253.2, промоторная область, район позиций с.1-146 – с.1-124), *EIF1AX*.

Отсутствие выявления мутаций в генах *TERT* и *EIF1AX* возможно, связано с характером набранных групп пациентов, включенных в исследование, поскольку в исследование исходно набирались пациенты ПРЦЖ низкого риска, для которых не характерно агрессивное течение заболевания, с которым связывают выявление данных маркеров [69-74]. Исследование мутаций в генах *TERT* и *EIF1AX* заслуживает дальнейших исследований в группе пациентов ПРЦЖ высокого риска.

Молекулярный профиль цитологического материала в большинстве случаев совпадает с молекулярным профилем гистологического материала. Часть случаев несовпадения молекулярного профиля цитологического и гистологического материала объясняется неоднородностью распределения материала на цитологических стеклопрепаратах. Для предотвращения такой неоднородности представляется целесообразным использование техники жидкостной цитологии. Другая часть случаев несовпадения молекулярного профиля цитологического и гистологического материала не может быть объяснена техническими и методическими артефактами и, по всей видимости, является следствием молекулярной гетерогенности опухолевых клеток. Клиническое значение подобной гетерогенности в настоящее время неизвестно. Для разрешения данной

проблемы представляется целесообразным параллельное тестирование цитологического и гистологического материала и проведение проспективного наблюдательного исследования.

4.3. Обсуждение результатов определения частоты встречаемости соматических мутаций в «горячих точках» генов *BRAF* и *NRAS* в плазме крови

Резюме основного результата исследования

По результатам молекулярно-генетического исследования плазмы крови можно сделать следующие выводы:

- частота встречаемости мутаций в сцДНК плазмы крови при новообразованиях ЩЖ крайне мала и имеет низкую предсказательную силу как в отношении доброкачественного, так и злокачественного характера опухоли.

Обсуждение основного результата исследования

Частота выявленных мутаций в гене *BRAF* и в гене *NRAS* в сцДНК плазмы крови составило всего по 1 случаю каждой мутации, несмотря на использование метода высокочувствительной мутационно-специфической ПЦР-РВ с одновременным подавлением амплификации аллелей «дикого типа». Полученные нами результаты соответствуют данным литературы для ПРЩЖ низкого риска. Поэтому, возможно, отсутствие выявления мутаций связано с тем, что в исследование были включены пациенты с ВДРЩЖ низкого риска, и указывает на благоприятный прогноз у данных пациентов.

Следует учитывать, что этот вопрос у пациентов высокого риска требует дополнительных исследований: данные литературы не однозначны в случаях опухолей большого размера и/или при метастатическом поражении.

4.4 Обсуждение результатов определения частоты встречаемости соматических мутаций в «горячих точках» генов *BRAF*, *KRAS*, *NRAS*, *EIF1AX* и *TERT* в гистологическом материале в группе ВДРЦЖ; результатов определения частоты рецидивов и оценки связи выявленных мутаций и рецидивов в группе ВДРЦЖ

Резюме основного результата исследования

По результатам исследования гистологических пациентов с малыми опухолями щитовидной железы можно сделать следующее заключение:

- частота обнаружения мутации *BRAF* в группе ВДРЦЖ в гистологическом материале составила 58,9%;

- частота обнаружения мутации *NRAS* в группе ВДРЦЖ в гистологическом материале составила 4,4%.

- у пациентов с малыми опухолями ЦЖ не были обнаружены мутации в других «горячих точках» гена *NRAS* и генов *KRAS*, *TERT*, *EIF1AX*;

- в наблюдаемой группе пациентов с ВДРЦЖ у 12 пациентов (13,3 %) развился рецидив РЦЖ;

- значимых отличий по частоте рецидивов в зависимости от варианта хирургического лечения не выявлено;

- значимых отличий по частоте рецидивов между группами *BRAF*⁺/*BRAF*⁻ не выявлено, однако обращает на себя внимание тот факт, что подавляющее число рецидивов является *BRAF*⁺;

- в связи с небольшим количеством пациентов с выявленной мутацией *NRAS* сделать вывод о значимости отличий по частоте рецидивов между группами *NRAS*⁺/*NRAS*⁻ нельзя.

Обсуждение основного результата исследования

Частота выявленных мутаций *BRAF* при ВДРЦЖ в нашем исследовании составила 58,9% в гистологическом материале. В подавляющем большинстве случаев выявлена мутация с.1799T>A, p.(Val600Glu, V600E) [COSMIC ID 476] (94,4%) и в трех случаях выявлены точечные мутации с.1799_1800TG>AT, p.(Val600Asp, V600D) [COSMIC ID 477], с.1801A>G, p.(Lys601Glu, K601E) [COSMIC ID 478], с.1794_1796delTAC, p.(Thr599del, T599del) [COSMIC ID 1169497]. Частота выявления мутаций соответствует литературным данным.

Частота выявленных мутаций *NRAS* при ВДРЦЖ в нашем исследовании составила 4,4 % в гистологическом материале. В нашем исследовании были выявлена наиболее часто встречающаяся мутация с.182A>G, p.(Gln61Arg, Q61R) [COSMIC ID 584].

Не было выявлено мутаций в «горячих точках» генов *NRAS* (экзон 2, район кодонов 12 и 13; экзон 3, район кодона 59; экзон 4, район кодонов 117 и 146); *KRAS* (экзон 2, район кодонов 12 и 13; экзон 3, район кодонов 59 и 61; экзон 4, район кодонов 117 и 146), *TERT* (транскрипт NM_198253.2, промоторная область, район позиций с.1-146 – с.1-124), *EIF1AX*. Отсутствие выявления данных мутаций возможно, связано с характером набранной группы пациентов, включенных в исследование, поскольку в исследование исходно набирались пациенты ВДРЦЖ низкого риска, для которых не характерно агрессивное течение заболевания, с которым связывают выявление данных маркеров.

В наблюдаемой группе пациентов с ВДРЦЖ у 12 пациентов (13,3 %) диагностирован рецидив РЦЖ, что соответствует средней частоте рецидивов в группе ВДРЦЖ от 9,6 до 25%. [14]

Значимых отличий по частоте рецидивов в зависимости от варианта хирургического лечения не выявлено, то есть клинически значимых преимуществ

комбинированного лечения ТЭ+ЦЛАЭ перед ТЭ при лечении пациентов с ВДРЦЖ низкого риска нет.

Представляет интерес то, что при анализе групп, получавших и не получавших РЙТ, было выявлено, что риск рецидива значимо выше в группах без РЙТ, что с одной стороны нельзя объяснить разницей клинической или гистологической картины пациентов с/без РЙТ, а с другой, говорит о высокой эффективности предотвращения риска рецидива при назначении РЙТ даже в случае исходно низкого риска. Для решения данного вопроса необходимы дополнительные проспективные исследования на большей выборке пациентов.

Значимых отличий по частоте рецидивов между группами *BRAF*⁺/*BRAF*⁻ не выявлено несмотря на то, что подавляющее число рецидивов является *BRAF*⁺. Что согласуется с частью исследований данного маркера, где не было получено данных о влиянии на прогноз единичной мутации *BRAF*.

Отсутствие выявления генов агрессивного течения заболевания *EIF1AX* и *TERT* или их комбинаций, не может однозначно говорить о том, что данные мутации нельзя использовать для прогнозирования течения заболевания пациента, поскольку в нашем исследовании все пациенты относились к группе низкого риска. Все рецидивы ответили на РЙТ и персистенции заболевания не наблюдается ни в одном случае, поэтому, возможно, отсутствие выявления мутаций указывает на благоприятный прогноз у данных пациентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам нашего исследования частота встречаемости мутаций в «горячих точках» генов *BRAF* и *NRAS* в гистологическом материале соответствует данным литературы. Отсутствие выявления мутаций генов *KRAS*, *EIF1AX* и *TERT*, возможно, указывает на благоприятный прогноз пациентов набранной группы, поскольку эти мутации или их комбинации чаще определяют при более агрессивном течении заболевания.

По результатам нашего исследования частота встречаемости мутаций в «горячих точках» генов *BRAF* и *NRAS* в цитологическом материале соответствует данным литературы. На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что определение мутации *BRAF* в цитологическом материале можно использовать как дополнительный маркер для диагностики ПРЩЖ.

Не получено данных за информативность использования на дооперационном этапе в цитологическом материале мутаций генов *NRAS*, *KRAS*, *TERT*, *EIF1AX*.

На основании проведенных нами исследований можно заключить, что применение молекулярно-генетических панелей у пациентов ФНО не совсем оправдано, так как малоинформативно и обладает большой стоимостью. Наше исследование показало, что для дифференциальной диагностики опухолей ЩЖ достаточно изучения мутации в гене *BRAF*, которая была выявлена в 24% ФНО. Во всех этих наблюдениях был подтвержден РЩЖ. Данный подход позволит значительно снизить стоимость предоперационного молекулярно-генетического тестирования пациентов с ФНО при его относительно высоких показателях чувствительности и специфичности.

Использование свободно циркулирующей ДНК плазмы крови при тестировании исследованной выборки не показало целесообразности для диагностики в группе ВДРЩЖ низкого риска. Вопрос о потенциальной

информативности данного теста в группе пациентов ПРЦЖ высокого риска в рамках настоящего исследования не ставился.

На основании полученных данных можно сделать заключение о том, что течение заболевания у пациентов ВДРЦЖ группы низкого риска отличается крайне благоприятным прогнозом даже в случае раннего рецидива.

В настоящем исследовании комплексные методы лечения (ТЭ, ТЭ + ЦЛАЭ, ТЭ + ЦЛАЭ + РЙТ, ТЭ + РЙТ) не показали клинически значимых преимуществ перед тиреоидэктомией у пациентов ВДРЦЖ группы низкого риска, что говорит об отсутствии необходимости более агрессивного вмешательства.

Не получено данных за информативность использования у таких пациентов тестов на мутации в «горячих точках» генов *BRAF*, *KRAS*, *NRAS*, *EIF1AX* и *TERT* для прогнозирования течения заболевания, хотя отсутствие выявления мутаций в генах агрессивного течения заболевания, возможно, указывает на благоприятный прогноз у данных пациентов.

Полученные в ходе исследования результаты позволяют улучшить подходы к персонифицированному ведению пациентов и дают направления для дальнейших проспективных исследований.

ВЫВОДЫ

1. Выявление мутаций в «горячих точках» гена *BRAF* позволяет поставить на дооперационном этапе диагноз папиллярного рака щитовидной железы у пациентов с цитологическим заключением III-V категории (Bethesda Thyroid Classification, 2009, 2017): чувствительность 63,6%, 95%ДИ [35%;85%], специфичность 100% 95%ДИ [79%;100%], PPV = 100%, 95%ДИ [59%;100%], NPV = 82%, 95%ДИ [61%;93%]. Мутация в гене *BRAF* выявлена в 24% таких наблюдений, во всех гистологически подтвержден папиллярный рак щитовидной железы. Использование всей молекулярно-генетической панели (*BRAF*, *KRAS*, *NRAS*, *EIF1AX* и *TERT*) не показало преимуществ перед изолированным определением мутации в гене *BRAF*.
2. Использование молекулярно-генетического исследования циркулирующей ДНК плазмы крови для дооперационной диагностики и неинвазивного мониторинга течения заболевания в группе пациентов ВДРЩЖ не оправдано: частота встречаемости мутаций в свободно циркулирующей ДНК плазмы крови при новообразованиях ЩЖ крайне мала.
3. Использование молекулярно-генетического исследования для выделения группы пациентов с неблагоприятным прогнозом в группе пациентов ВДРЩЖ не показало целесообразности: не были выявлены мутации, характерные для агрессивного течения заболевания.
4. У пациентов с ВДРЩЖ группы низкого риска не получено различий по числу рецидивов между группами более агрессивного вмешательства с профилактическим удалением лимфоузлов центральной зоны (VI уровень) и/или проведением РЙТ в сравнении группой тиреоидэктомии.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для дифференциальной диагностики новообразований щитовидной железы, отнесенных к диагностической категории III-V (Bethesda Thyroid Classification, 2009, 2017) рекомендовано использовать определение мутации в гене *BRAF*.
2. Для дифференциальной диагностики новообразований щитовидной железы, отнесенных к диагностической категории III-V (Bethesda Thyroid Classification, 2009, 2017), использование всей молекулярно-генетической панели (*BRAF*, *KRAS*, *NRAS*, *EIF1AX* и *TERT*) не целесообразно, так как не несет положительной диагностической информации при увеличении стоимости исследования.
3. При ВДРЦЖ группы низкого риска рекомендовано хирургическое лечение в объеме тиреоидэктомии, более агрессивная лечебная тактика (ЦЛАЭ, РЙТ) не оправданна, так как не показала различий по частоте рецидивов, а также может приводить к увеличению числа послеоперационных осложнений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Brito JP, Yarur AJ, Prokop LJ, et al. Prevalence of Thyroid Cancer in Multinodular Goiter vs. Single Nodule: A Systematic Review and Meta-analysis. *Thyroid*. 2013;23(4):449-455.
2. Udelsman R, Zhang Y. The epidemic of thyroid cancer in the United States: the role of endocrinologists and ultrasounds. *Thyroid*. 2014;24(3):472-479.
3. Enewold L, Zhu K, Ron E, et al. Rising thyroid cancer incidence in the United States by demographic and tumor characteristics, 1980-2005. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2009;18:784–791.
4. Jung CK, Little MP, Lubin JH, et al. The increase in thyroid cancer incidence during the last four decades is accompanied by a high frequency of BRAF mutations and a sharp increase in RAS mutations. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(2):E276-85.
5. Howlader N, Noone AM, Krapcho M, et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2010. [Internet]. National Cancer Institute; Bethesda, MD: 2013. Available from: http://seer.cancer.gov/csr/1975_2010/, based on November 2012 SEER data submission, posted to the SEER web site, April 2013.
6. Howlader N, Noone A, Krapcho M, et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975–2013. [Internet]. Bethesda, MD: National Cancer Institute (2016). Available from: https://seer.cancer.gov/csr/1975_2015/, based on November 2017 SEER data submission, posted to the SEER web site, April 2018.
7. Vaccarella S, Franceschi S, Bray F, et al. Worldwide thyroid-cancer epidemic? The increasing impact of overdiagnosis. *N Engl J Med*. 2016;375:614-617.
8. O'Grady TJ, Gates MA, Boscoe FP. Thyroid cancer incidence attributable to overdiagnosis in the United States 1981-2011. *Int J Cancer*. 2015;137:2664-2673.
9. Jing X, Michael CW, Pu RT. The clinical and diagnostic impact of using standard criteria of adequacy assessment and diagnostic terminology on thyroid nodule fine needle aspiration. *Diagn Cytopathol*. 2008;36:161–166.

10. Tuttle RM, Ball DW, Byrd D, et al. Thyroid Carcinoma. J.Natl. Compr. Canc. Netw. 2010; 8:1228–1274.
11. Ahn HS, Kim HJ, Welch G. Korea's Thyroid-Cancer "Epidemic" — Screening and Overdiagnosis. N engl j med 2014;371(19):1765-1767.
12. Hoang JK, Langer JE, Middleton WD, et al. Managing incidental thyroid nodules detected on imaging: white paper of the ACR Incidental Thyroid Findings Committee. J Am Coll Radiol. 2015;12:143-150.
13. Udelsman R, Zhang Y. The epidemic of thyroid cancer in the United States: the role of endocrinologists end ultrasounds. Thyroid. 2014; 2 4(3):472-479.
14. Румянцев П.О., Ильин А.А., Румянцева У.В., Саенко В.А. Рак щитовидной железы. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. [Rumyantsev PO, Il'in AA, Rumyantseva UV, Saenko VA. Rak shchitovidnoi zhelezy. Moscow: GEOTAR-Media; 2009. (In Russ).]
15. Giotakis J, Stafyla V. Papillary thyroid microcarcinoma: A surgical perspective. Cancer Treatment Reviews. 2005;31(6):423–438.
16. Karatzas T, Vasileiadis I, Kapetanakis S, et al. Risk factors contributing to the difference in prognosis for papillary versus micropapillary thyroid carcinoma. Am J Surg. 2013;206:586–593.
17. Küçük NO, Tari P, Tokmak E, Aras G. Treatment for microcarcinoma of the thyroid--clinical experience. Clin Nucl Med. 2007;32(4):279-281.
18. Schönberger J, Marienhagen J, Agha A, et al. Papillary microcarcinoma and papillary cancer of the thyroid < or =1 cm: modified definition of the WHO and the therapeutic dilemma. Nuklearmedizin. 2007;46:115–120.
19. Lin HW, Bhattacharyya N. Survival impact of treatment options for papillary microcarcinoma of the thyroid. Laryngoscope. 2009;119(10):1983–1987.
20. Hughes DT, Haymart MR, Miller BS, et al. The most commonly occurring papillary thyroid cancer in the United States is now a microcarcinoma in a patient older than 45 years. Thyroid. 2011;21:231–236.

21. Enewold L, Zhu K, Ron E, et al. Rising thyroid cancer incidence in the United States by demographic and tumor characteristics, 1980-2005. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009;18:784–791.
22. Davies L, Welch HG. Increasing incidence of thyroid cancer in the United States, 1973–2002. *Journal of the American Medical Association.* 2006;295(18):2164–2167.
23. Greene FL, Sobin LH. The TNM system: our language for cancer care. *J Surg Oncol.* 2002;80:119–120.
24. De Lellis RA, Lloyd RV, Heitz PU, Eng C. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and genetics of tumours of endocrine organs. Lyon: IARC Press; 2004:54–55.
25. Nasir A, Chaudhry A.Z., Gillespie J., Kaiser H.E. Papillary microcarcinoma of the thyroid: a clinico-pathologic and prognostic review. *In Vivo.* 2000;14(2):367–376.
26. Шулутко А.М., Семиков В.И., Грязнов С.Е., и др. Клиническое значение, диагностика и лечение дифференцированной микрокарциномы ЩЖ. // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2007. - №12 – С.1-15. [Shulutko AM, Semikov VI, Gryaznov SE, at al. Klinicheskoe znachenie, diagnostika i lechenie differentsirovannoi mikrokartsinomy ShchZh. Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova. 2007;12:1-15. (In Russ).]
27. Wang TS, Goffredo P, Sosa JA, Roman SA. Papillary Thyroid Microcarcinoma: An Over-Treated Malignancy? *World J Surg.* 2014;38(9):2297-303.
28. Tanaka K, Sonoo H, Saito W, et al. Analysis of clinical outcome of patients with poorly differentiated thyroid carcinoma. *ISRN Endocrinol.* 2011;2011:308029.
29. Fagin JA, Wells SA Jr. Biologic and clinical perspectives on thyroid cancer. *N Engl J Med.* 2016; 375:1054-67.
30. Lloyd RV, Osamura RY, Klöppel G, et al. WHO Classification of tumours of endocrine organs. 4th ed. Lyon: IARC; 2017.

31. Abrosimov AY, Dvinskikh NY, Sidorin AV. Cells of benign and borderline thyroid tumors express malignancy markers. *Bull Exp Biol Med.* 2016;160(5):698-701.

32. Абросимов А.Ю., Новая международная гистологическая классификация опухолей щитовидной железы, *Архив патологии* 2018;1,37-45. [Abrosimov A.Yu. The new international histological classification of thyroid tumors. *Arkhir patol.* 2018;1,37-45. (In Russ).]

33. Nikiforov YE, Seethala RR, Tallini G, et al. Nomenclature revision for encapsulated follicular variant of papillary thyroid carcinoma. A paradigm shift reduce overtreatment of indolent tumors. *JAMA Oncol.* 2016;2(8):1023-1029.

34. Krane JF, Alexander EK, Cibas ES, Barletta JA. Coming to terms with NIFTP: a provisional approach for cytologists. *Cancer Cytopathol.* 2016;124:767-772.

35. Faquin WC, Wong LQ, Afrogheh AH, et al. Impact of reclassifying noninvasive follicular variant of papillary thyroid carcinoma on the risk of malignancy in The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology. *Cancer Cytopathol.* 2016;124:181-187.

36. Ali SZ, Cibas ES. The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology. New York: Springer; 2010.

37. Ohori NP, Schoedel KE. Variability in the atypia of undetermined significance/follicular lesion of undetermined significance diagnosis in the bethesda system for reporting thyroid cytopathology: sources and recommendations. *Acta Cytol.* 2011;55:492–498.

38. Бельцевич Д.Г., Ванушко В.Э., Румянцев П.О. и др. Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению высокодифференцированного рака щитовидной железы у взрослых, 2017 год. // *Эндокринная хирургия.* – 2017. – Т. 11. – №1. – С. 6–27. [Beltsevich DG, Vanushko VE, Rumyantsev PO, et al. 2017 Russian clinical practice guidelines for differentiated thyroid cancer diagnosis and treatment. *Endocrine Surgery.* 2017;11(1):6 -27. (In Russ).]

39. Gharib H, Papini E, Garber JR, et al., AACE/ACE/AME Task Force on

Thyroid Nodules American Association Of Clinical Endocrinologists, American College Of Endocrinology, And Associazione Medici Endocrinologi Medical Guidelines For Clinical Practice For The Diagnosis And Management Of Thyroid Nodules-2016 Update. *Endocr Pract.* 2016;22(1):1–60.

40. Yoon JH, Lee HS, Kim EK, et al. Malignancy risk stratification of thyroid nodules: comparison between the thyroid imaging reporting and data system and the 2014 American thyroid association management guidelines. *Radiology.* 2016;278(3):917–924.

41. Horvath E, Majlis S, Rossi R, et al. An ultrasonogram reporting system for thyroid nodules stratifying cancer risk for clinical management. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(5):1748–1751.

42. Wei X, Li Y, Zhang S, Gao M, Meta-analysis of thyroid imaging reporting and data system in the ultrasonographic diagnosis of 10,437 thyroid nodules. *Head Neck.* 2016;38(2):309-15.

43. Tessler FN, Middleton WD, Grant EG et al. ACR Thyroid Imaging, Reporting and Data System (TI-RADS): White Paper of the ACR TI-RADS Committee. *J Am Coll Radiol.* 2017;14(5):587-595.

44. Davies L, Welch HG. Current thyroid cancer trends in the United States. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg.* 2014;140:317-322.

45. Haugen BR, Alexander EK, Bible KC, et al. 2015 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. *Thyroid.* 2016;26:1-133.

46. Gharib H, Papini E, Garber J, et al. American Association of Clinical Endocrinologists, American College of Endo-crinology, and Associazione Medici Endocrinologi Medical guidelines for clinical practice for the diagnosis and management of thyroid nodules—2016 update. *Endocr Pract.* 2016;22(5):622–39.

47. Pusztaszeri M, Rossi ED, Auger M, et al. The Bethesda system for reporting

thyroid cytopathology: proposed modifications and updates for the second edition from an international panel. *Acta Cytol.* 2016;60(5):399–405.

48. Garg S, Desai NJ, Mehta D, Vaishnav M. To establish bethesda system for diagnosis of thyroid nodules on the basis of fnac with histopathological correlation. *J Clin Diagn Res.* 2015;9(12):EC17–21.

49. Ali SZ, Cibas ES. The 2017 Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology. *J Am Soc Cytopathol.* 2017;6:217-222.

50. Ali S, Cibas E. The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology: Definitions, Criteria, and Explanatory Notes. 2nd ed. New York: Springer; 2018.

51. Wale A1, Miles KA, Young B, et al. Combined (99m)Tc-methoxyisobutylisonitrile scintigraphy and fine-needle aspiration cytology offers an accurate and potentially cost-effective investigative strategy for the assessment of solitary or dominant thyroid nodules. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2014;41(1):105-15.

52. Riazi A, Kalantarhormozi M, Nabipour I, et al. Technetium-99m methoxyisobutylisonitrile scintigraphy in the assessment of cold thyroid nodules: is it time to change the approach to the management of cold thyroid nodules? *Nucl Med Commun.* 2014;35(1):51-7.

53. Campennì A, Giovanella L, Siracusa M et al. (99m)Tc-Methoxy-Isobutyl-Isonitrile Scintigraphy Is a Useful Tool for Assessing the Risk of Malignancy in Thyroid Nodules with Indeterminate Fine-Needle Cytology. *Thyroid.* 2016;26(8):1101-9.

54. Ferris RL, Baloch Z, Bernet V, et al. American Thyroid Association Statement on Surgical Application of Molecular Profiling for Thyroid Nodules: Current Impact on Perioperative Decision Making. *Thyroid.* 2015;7:760-768.

55. Hsiao SJ., Nikiforov YE. Molecular Approaches to Thyroid Cancer Diagnosis *Endocr Relat Cancer.* 2014;21(5):301–313.

56. Nikiforov YE, Ohori NP, Hodak SP, et al. Impact of mutational testing on the diagnosis and management of patients with cytologically indeterminate thyroid nodules: a prospective analysis of 1056 FNA samples. *J Clin Endocrinol Metab.*

2011;96:3390–3397.

57. Labourier E, Shifrin A, Busseniers AE., et al. Molecular Testing for miRNA, mRNA, and DNA on Fine-Needle Aspiration Improves the Preoperative Diagnosis of Thyroid Nodules With Indeterminate Cytology. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(7):2743–2750.

58. Zhang M, Lin O. Molecular Testing of Thyroid Nodules. *Arch Pathol Lab Med.* 2016;140:1338–1344.

59. Зарецкий А.Р. Диагностический и прогностический потенциал мутационных тестов при микрокарциномах щитовидной железы. /XX Российский онкологический конгресс; ноябрь 15-17; 2016; Москва. [Zaretskiy A.R. Diagnosticheskiy i prognosticheskiy potentsial mutatsionnykh testov pri mikrokartsinomakh shchitovidnoy zhelezy. (Conference proceedigs) XX Rossiyskiy onkologicheskiy congress; 2016 nov. 15-17; Moskva. (In Russ).] Доступно по: <https://rosoncoweb.ru/events/2016/11/15/archive/>. Ссылка активна на 28.10.2018.

60. Ciampi R, Knauf JA, Kerler R, et al. Oncogenic AKAP9-BRAF fusion is a novel mechanism of MAPK pathway activation in thyroid cancer. *J Clin Invest.* 2005;115:94–101.

61. Nikiforov YE, Steward DL, Robinson-Smith TM, et al. Molecular testing for mutations in improving the fine-needle aspiration diagnosis of thyroid nodules. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94:2092–2098.

62. Jo YS, Huang S, Kim YJ, et al. Diagnostic value of pyrosequencing for the BRAF V600E mutation in ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy samples of thyroid incidentalomas. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2009; 70(1): 139-44.

63. Basolo F, Torregrossa L, et al. Correlation between the *BRAF V600E* Mutation and Tumor Invasiveness in Papillary Thyroid Carcinomas Smaller than 20 Millimeters: Analysis of 1060 Cases. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(9):4197-205.

64. Kloos RT, Eng C, Evans DB, et al. Medullary thyroid cancer: management guidelines of the American Thyroid Association. *Thyroid.* 2009;19:565–612.

65. Agrawal N, Jiao Y, Sausen M, et al. Exomic sequencing of medullary thyroid cancer reveals dominant and mutually exclusive oncogenic mutations in RET and RAS. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98:E364–369.
66. Nikiforova MN, Wald AI, Roy S, et al. Targeted next-generation sequencing panel (ThyroSeq) for detection of mutations in thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98:E1852–1860.
67. Kelly LM, Barila G, Liu P, et al. Identification of the transforming STRN-ALK fusion as a potential therapeutic target in the aggressive forms of thyroid cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111(11):4233-4238.
68. Hamatani K, Mukai M, Takahashi K, et al. Rearranged anaplastic lymphoma kinase (ALK) gene in adult-onset papillary thyroid cancer amongst atomic bomb survivors. *Thyroid.* 2012;22(11):1153-9.
69. Landa I, Ganly I, Chan TA, et al. Frequent somatic TERT promoter mutations in thyroid cancer: higher prevalence in advanced forms of the disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98:E1562–1566.
70. Liu X, Bishop J, Shan Y, et al. Highly prevalent TERT promoter mutations in aggressive thyroid cancers. *Endocr Relat Cancer.* 2013b;20:603–610.
71. Melo M, Rocha AG, Vinagre J, et al. TERT promoter mutations are a major indicator of poor outcome in differentiated thyroid carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99:5 e754-e765.
72. Alzahrani AS, Alsaadi R, Murugan AK & Sadiq BB. TERT Promoter Mutations in Thyroid Cancer. *Horm Cancer.* 2016;7:165–177.
73. Bullock M, Ren Y, O'Neill C, et al. TERT promoter mutations are a major indicator of recurrence and death due to papillary thyroid carcinomas. *Clinical Endocrinology.* 2016;85:283–290.
74. Jin L, Chen E, Dong S, et al. BRAF and TERT promoter mutations in the aggressiveness of papillary thyroid carcinoma: a study of 653 patients. *Oncotarget.* 2016;7:18346–18355.

75. Landa I, Ibrahimpasic T, Boucai L, et al. Genomic and transcriptomic hallmarks of poorly differentiated and anaplastic thyroid cancers. *J Clin Invest.* 2016;126(3):1052-1066.
76. Leeman-Neill RJ, Kelly LM, Liu P, et al. ETV6-NTRK3 is a common chromosomal rearrangement in radiation-associated thyroid cancer. *Cancer.* 2013; 120(6):799-807.
77. Shen X, Liu R, and Xing M. A Six-genotype Genetic Prognostic Model for Papillary Thyroid Cancer. *Endocr Relat Cancer.* 2017;24(1):41-52.
78. Karunamurthy A, Panebianco F, J Hsiao S, et al. Prevalence and phenotypic correlations of EIF1AX mutations in thyroid nodules. *Endocr Relat Cancer.* 2016;23(4):295-301.
79. Iacobas DA, Tuli NY, Iacobas S, et al. Gene master regulators of papillary and anaplastic thyroid cancers. *Oncotarget.* 2018;9(2):2410-2424.
80. Nikiforova MN, Chiosea SI, Nikiforov YE. MicroRNA expression profiles in thyroid tumors. *Endocr Pathol.* 2009;20(2):85-91.
81. Chudova D, Wilde JJ, Wang ET, et al. Molecular Classification of Thyroid Nodules Using High-Dimensionality Genomic Data. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(12):5296-304.
82. Alexander EK, Kennedy GC, Baloch ZW, et al. Preoperative diagnosis of benign thyroid nodules with indeterminate cytology. *N Engl J Med.* 2012;367:705–715.
83. Alexander EK, Schorr M, Klopper J, et al. Multicenter clinical experience with the Afirma gene expression classifier. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99:119–125.
84. Sahli ZT, Smith PW, Umbricht CB et al. Preoperative Molecular Markers in Thyroid Nodules. *Front. Endocrinol.* 2018;9:179.
85. Ma M, Zhu H, Zhang C, Sun X, Gao X, Chen G. “Liquid biopsy” – ctDNA detection with great potential and challenges. *Ann Transl Med.* 2015;3(16):235.
86. Diaz LA Jr, Bardelli A. Liquid Biopsies: Genotyping Circulating Tumor DNA. *J Clin Oncol.* 2014;32(6):579–86.

87. Beije N, Helmijs JC, Weerts MJA, Beaufort CM, Wiggin M, Marziali A et al. Somatic mutation detection using various targeted detection assays in paired samples of circulating tumor DNA, primary tumor and metastases from patients undergoing resection of colorectal liver metastases. *Mol Oncol*. 2016;10(10):1575–84.

88. Захаренко А. А., Зайцев Д. А., Беляев М. А., Трушин А. А., Тен О. А., Натха А. С. Возможности жидкой биопсии при раке желудка. Вопросы онкологии. 2016;62(4):379–85. [Zaxarenko A. A., Zajcev D. A., Belyaev M. A., Trushin A. A., Ten O. A., Natxa A. S. Vozmozhnosti zhidkoj biopsii pri rake zheludka. Voprosy` onkologii. 2016;62(4):379–85. (In Russ).]

89. Тамкович С. Н., Власов В. В., Лактионов П. П. Циркулирующие ДНК крови и их использование в медицинской диагностике. Молекулярная биология. 2008; 42(1):12–23. [Tamkovich S. N., Vlasov V. V., Laktionov P. P. Cirkuliruyushhie DNK krovi i ix ispol`zovanie v medicinskoj diagnostike. Molekulyarnaya biologiya. 2008;42(1):12–23. (In Russ).]

90. Васильева И. Н., Беспалов В. Г. Роль внеклеточной ДНК в возникновении и развитии злокачественных опухолей и возможности ее использования в диагностике и лечении онкологических заболеваний. Вопросы онкологии. 2013;59(6):673–81. [Vasil`eva I. N., Bespalov V. G. Rol` vnekletочноj DNK v vzniknovenii i razvitii zlokachestvenny`x opuxolej i vozmozhnosti ee ispol`zovaniya v diagnostike i lechenii onkologicheskix zabolevanij. Voprosy` onkologii. 2013;59(6):673–81. (In Russ).]

91. Diehl F, Schmidt K, Choti MA, Romans K, Goodman S, Li M et al. Circulating mutant DNA to assess tumor dynamics. *Nat Med*. 2008;14(9):985–90.

92. Holdhoff M, Schmidt K, Donehower R, Diaz LA. Analysis of circulating tumor DNA to confirm somatic KRAS mutations. *J Natl Canc Inst*. 2009;101(18):1284–5.

93. Chen KZ, Lou F, Yang F, Zhang JB, Ye H, Chen W et al. Circulating tumor DNA detection in early-stage non-small cell-lung cancer patients by targeted sequencing. *Sci Rep*. 2016;24(6):31985.

94. Rachiglio AM, Abate RE, Sacco A, Pasquale R, Fenizia F, Lambiase M et al. Limits and potential of targeted sequencing analysis of liquid biopsy in patients with lung and colon carcinoma. *Oncotarget*. 2016;7(41):66595–605.

95. Tu M, Chia D, Wei F, Wong D. Liquid biopsy for detection of actionable oncogenic mutations in human cancers and electric field induced release and measurement liquid biopsy (eLB). *Analyst*. 2016; 4;141(2):393–402.

96. Белоусова А. В., Дрозд О. В., Зарецкий А. Р. Мутационно-специфическая полимеразная цепная реакция для анализа мутаций в «горячих точках» генов K-Ras и B-Raf в биологических образцах онкологических больных. В сб.: Тезисы конференции «Современные принципы диагностики и лечения колоректального рака», посвященной памяти проф. В. И. Кныша; 26–27 мая 2011 г.; Москва. М.: - 2011. - с. 16. [Belousova A. V., Drozd O. V., Zareczkij A. R. Mutacionno-specificheskaya polimeraznaya cepnaya reakciya dlya analiza mutacij v «goryachix tochkax» genov K-Ras i B-Raf v biologicheskix obrazczax onkologicheskix bol'nyx. V sb.: Tezisy` konferencii «Sovremenny`e principy` diagnostiki i lecheniya kolorektal`nogo raka», posvyashhennoj pamyati prof. V. I. Kny`sha; 26–27 maya 2011 g.; Moskva. M.: - 2011. - s. 16. (In Russ).]

97. Тельшева Е. Н, Снигирева Г. П. Анализ соматических мутаций в генах Ras- каскада свободно циркулирующей ДНК плазмы крови пациентов с колоректальным раком методом усиленной аллель-специфической ПЦР в «реальном времени». Вестник РГМУ 2017;4:14-20. [Tely`sheva E. N, Snigireva G. P. Anaziz somaticheskix mutacij v genax Ras- kaskada svobodno cirkuliruyushhej DNK plazmy` krovi pacientov s kolorektal`ny`m rakom metodom usilennoj allel`-specificheskoy PCzR v «real`nom vremeni». Vestnik RGMU 2017;4:14-20. (In Russ).]

98. Pacini F., Schlumberger M., Dralle H, et al. The European thyroid cancer taskforce. European consensus for the management of patients with differentiated thyroid carcinoma of the follicular epithelium. *Europ. J. Endocrinol.*, 2006;154:787–803.

99. Akslen LA, Livolsi VA. Prognostic significance of histologic grading

compared with subclassification of papillary thyroid carcinoma. *Cancer*. 2000; 88:1902–1908.

100. Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR, et al. Revised American Thyroid Association management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid*. 2009;19(11):1167–1214.

101. Rouxel A, Hejblum G, Bernier MO, et al. Prognostic factors associated with the survival of patients developing loco_regional recurrences of differentiated thyroid carcinomas. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004;89:5362–5368.

102. Schlumberger M, Berg G, Cohen O, et al. Follow-up of low-risk patients with differentiated thyroid carcinoma: a European perspective. *Eur. J. Endocrinol.* 2004; 150:105–112.

103. Wenig BM, Thompson LD, Adair CF, et al. Thyroid papillary carcinoma of columnar cell type: a clinicopathologic study of 16 cases. *Cancer*. 1998;82:740–753.

104. Ardito G, Revelli L, Giustozzi E, et al. Aggressive papillary thyroid microcarcinoma: prognostic factors and therapeutic strategy. *Clin Nucl Med.* 2013; 38(1):25-108.

105. Диагностика и лечение дифференцированного РЩЖ. Нац. клин. реком., принятые на XI Рос. онкол. конгр. и IV Всерос. тиреоидол. конгр. - М.: Никомед; 2007. [Diagnostika i lechenie differentsirovannogo RShchZh. Nats. klin. rekom., prinyaty na XI Ros. onkol. kongr. i IV Vseros. tireoidol. kongr. -Moscow: Nikomed; 2007. (In Russ).]

106. Sara AM, Hyunsuk S, Richard A, et al. The Surgical Management of Thyroid Cancer *Rambam Maimonides Med J.* 2014;5(2):e0008.

107. Takami H, Ito Y, Okamoto T, et al. Revisiting the Guidelines Issued by the Japanese Society of Thyroid Surgeons and Japan Association of Endocrine Surgeons: A Gradual Move Towards Consensus Between Japanese and Western Practice in the Management of Thyroid Carcinoma. *World J Surg.* 2014;38(8):2002-2010.

108. Zafon C, Baena JA, Castellví J, et al. Differences in the Form of Presentation

between Papillary Microcarcinomas and Papillary Carcinomas of Larger Size. *J Thyroid Res.* 2011;639156.

109. Lee KJ, Cho YJ, Kim JG, Lee DH. How many contralateral papillary thyroid carcinomas can be missed? *World J Surg.* 2013;37(4):780-785.

110. Hay ID, Hutchinson ME, Gonzalez-Losada T, et al. Papillary thyroid microcarcinoma: a study of 900 cases observed in a 60-year period. *Surgery.* 2008;144(6):980–988.

111. Lee J, Rhee Y, Lee S, et al. Frequent, aggressive behaviors of thyroid microcarcinomas in Korean patients. *Endocrine Journal.* 2006;53(5):627–632.

112. Roti E, Uberti EC, Bondanelli M, Braverman LE. Thyroid papillary microcarcinoma: a descriptive and meta-analysis study. *European Journal of Endocrinology.* 2008;159(6):659–673.

113. Pelizzo MR, Merante Boschini I, Toniato A, et al. Papillary thyroid microcarcinoma. Long-term outcome in 587 cases compared with published data. *Minerva Chir.* 2007;62(5):315-325.

114. Li Z, Qu XC, Cheng B. The characteristics of papillary thyroid cancer lymph node metastasis and the clinical significance of central region cervical lymph node dissection. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi.* 2008;46(18):1407–1409.

115. Caliskan M, Park JH, Jeong JS, et al. Role of prophylactic ipsilateral central compartment lymph node dissection in papillary thyroid microcarcinoma. *Endocr J.* 2012;59:305–311.

116. Hyun SM, Song HY, Kim SY, et al. Impact of combined prophylactic unilateral central neck dissection and hemithyroidectomy in patients with papillary thyroid microcarcinoma. *Ann Surg Oncol.* 2012;19:591–596.

117. Kim BY, Jung CH, Kim JW, et al. Impact of clinicopathologic factors on subclinical central lymph node metastasis in papillary thyroid microcarcinoma. *Yonsei Med J.* 2012;53:924–930.

118. Zeng RC, Li Q, Lin KL, et al. Predicting the factors of lateral lymph node

metastasis in papillary microcarcinoma of the thyroid in eastern China. *Clin Transl Oncol.* 2012;14:842–847.

119. Zhang L, Wei WJ, Ji QH, et al. Risk factors for neck nodal metastasis in papillary thyroid microcarcinoma: a study of 1066 patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97:1250–1257.

120. Zhou YL, Gao EL, Zhang W, et al. Factors predictive of papillary thyroid micro-carcinoma with bilateral involvement and central lymph node metastasis: a retrospective study. *World J Surg Oncol.* 2012;10:64-67.

121. Lin JD. Increased incidence of papillary thyroid microcarcinoma with decreased tumor size of thyroid cancer. *Med Oncol.* 2010;27(2):510-518.

122. Lee YS, Lim H, Chang HS, Park CS. Papillary thyroid microcarcinomas are different from latent papillary thyroid carcinomas at autopsy. *J Korean Med Sci.* 2014; 29(5):676-679.

123. Wang TS, Goffredo P, Sosa JA, Roman SA. Papillary Thyroid Microcarcinoma: An Over-Treated Malignancy? *World J Surg.* 2014;38(9):2297-303.

124. Chereau N, Buffet C, Trésallet C, et al. Does extracapsular extension impact the prognosis of papillary thyroid microcarcinoma? *Ann Surg Oncol.* 2014;21(5):1659-1664.

125. Page C, Biet A, Boute P, et al. 'Aggressive papillary' thyroid microcarcinoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2009;266:1959–1963.

126. Buffet C, Golmard JL, Hoang C, et al. Scoring system for predicting recurrences in patients with papillary thyroid microcarcinoma. *Eur J Endocrinol.* 2012; 167:267–275.

127. Riss JC, Peyrottes I, Chamorey E, et al. Prognostic impact of tumour multifocality in thyroid papillary microcarcinoma based on a series of 160 cases. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis.* 2012;129:175–178.

128. Ito Y, Tomoda C, Uruno T, et al. Papillary microcarcinoma of the thyroid: how should it be treated? *World J Surg.* 2004;28:1115–1121.

129. Lee J, Park JH, Lee CR, et al. Long-term outcomes of total thyroidectomy versus thyroid lobectomy for papillary thyroid microcarcinoma: comparative analysis after propensity score matching. *Thyroid*. 2013;23:1408–1415.

130. Pacini F. Management of papillary thyroid microcarcinoma: primum non nocere! *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98:1391–1393.

131. Kim M.J. Thyroglobulin measurement in fine-needle aspirate washouts: The criteria for neck node dissection for patients with thyroid cancer. *Clin. Endocrinol (Oxf.)*. 2009;70(1):145-51.

132. Lin JD, Lin KJ, Chao TC. Therapeutic outcomes of papillary thyroid carcinomas with tumors more advanced than T1N0M0. *Radiother. Oncol*. 2008; 89(1):97–104.

133. Mihailovic J, Stefanovic L, Malesevic M. Differentiated thyroid carcinoma with distant metastases: probability of survival and its predicting factors. *Cancer Biother Radiopharm*. 2007;22(2):250–255.

134. Mazzaferri EL, Kloos RT. Clinical review 128:Current approaches to primary therapy for papillary and follicular thyroid cancer. *J Clin. Endocrinol Metab*. 2001;86:1447-63.

135. Sawka AM, Thphamongkhlool K, Brouwers M, et al. Clinical review 170: A systematic review and metaanalysis of the effectiveness of radioactive iodine remnant ablation for well-differentiated thyroid cancer. *J Clin. Endocrinol Metab* 2004;89:3668-3676.

136. Mallick U, Harmer C, Hackshaw A, Moss L. IoN Trial Management Group. Iodine or Not (IoN) for low-risk differentiated thyroid cancer: the next UK National Cancer Research Network randomised trial following HiLo. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. 2012;24(3):159-161.

137. Mazzaferri EL, Jhiang SM. Differentiated thyroid cancer: long-term impact of initial therapy. *Trans. of the Am. Clin. and Climatol. Assoc*. 1994;106:151–170.

138. Samaan NA, Schultz PN, Hickey RC et al. The results of various modalities

of treatment of well differentiated thyroid carcinomas: a retrospective review of 1599 patients. *J. of Clin. Endocr. and Met.* 1992;75:714–720.

139. Taylor T, Specker B, Robbins J, et al. Outcome after treatment of high-risk papillary and non-Hurthle-cell follicular thyroid carcinoma. *Ann. of Int. Med.* 1998;129:622–627.

140. Gallicchio R, Giacomobono S, Capacchione D, et al. Should patients with remnants from thyroid microcarcinoma really not be treated with iodine-131 ablation? *Endocrine.* 2013;44(2):426-433.

141. Schlumberger M, Charbord P, Fragu P, et al. Circulating thyroglobulin and thyroid hormones in patients with metastases of differentiated thyroid carcinoma: relationship to serum thyrotropin levels. *J Clin Endocrinol Metab.* 1980;51(3):513-519.

142. Schroeder PR, Haugen BR, Pacini F, et al. A comparison of short-term changes in health-related quality of life in thyroid carcinoma patients undergoing diagnostic evaluation with recombinant human thyrotropin compared with thyroid hormone withdrawal. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(3):878-884.

143. Hänscheid H, Lassmann M, Luster M, et al. Iodine biokinetics and dosimetry in radioiodine therapy of thyroid cancer: procedures and results of a prospective international controlled study of ablation after rhTSH or hormone withdrawal. *J Nucl Med.* 2006;47(4):648-654.

144. Rosário PW, Borges MA, Purisch S. Preparation with recombinant human thyroid-stimulating hormone for thyroid remnant ablation with ¹³¹I is associated with lowered radiotoxicity. *J Nucl Med.* 2008;49(11):1776-1782.

145. Tala Jury HP, Castagna MG, Fioravanti C, et al. Lack of association between urinary iodine excretion and successful thyroid ablation in thyroid cancer patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(1):230-237.

146. Ma C, Xie J, Liu W, et al. Recombinant human thyrotropin (rhTSH) aided radioiodine treatment for residual or metastatic differentiated thyroid cancer. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010;10;(11):CD008302.

147. Mallick U, Harmer C, Yap B, et al. Ablation with low-dose radioiodine and thyrotropin alfa in thyroid cancer. *N Engl J Med*. 2012;366(18):1674-1685.
148. Schlumberger M, Catargi B, Borget I, et al. Tumeurs de la Thyroïde Refractaires Network for the Essai Stimulation Ablation Equivalence Trial. Strategies of radioiodine ablation in patients with low-risk thyroid cancer. *N Engl J Med*. 2012 3;366(18):1663-1673.
149. Iorcansky S, Herzovich V, Qualey RR, Tuttle RM. Serum thyrotropin (TSH) levels after recombinant human TSH injections in children and teenagers with papillary thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(12):6553-6555.
150. Luster M, Handkiewicz-Junak D, Grossi A, et al. Pediatric rhTSH Investigators Group. Recombinant thyrotropin use in children and adolescents with differentiated thyroid cancer: a multicenter retrospective study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(10):3948-53.
151. Maxon HR, Smith HS. Radioiodine-131 in the diagnosis and treatment of metastatic well differentiated thyroid cancer. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 1990; 19(3):685-718.
152. Tuttle RM, Leboeuf R, Robbins RJ, et al. Empiric radioactive iodine dosing regimens frequently exceed maximum tolerated activity levels in elderly patients with thyroid cancer. *J Nucl Med*. 2006;47(10):1587-1591.
153. Pacini F, Schlumberger M, Harmer C, et al. Post-surgical use of radioiodine (131I) in patients with papillary and follicular thyroid cancer and the issue of remnant ablation: a consensus report. *Eur J Endocrinol*. 2005;153(5):651-659.
154. Randolph GW, Daniels GH. Radioactive iodine lobe ablation as an alternative to completion thyroidectomy for follicular carcinoma of the thyroid. *Thyroid*. 2002; 12(11):989-996.
155. Giovanella L, Maffioli M, Ceriani L, et al. Unstimulated high sensitive thyroglobulin measurement predicts outcome of differentiated thyroid carcinoma. *Clin Chem Lab Med*. 2009;47(8):1001-1004.

156. Malandrino P, Latina A, Marescalco S, et al. Risk-adapted management of differentiated thyroid cancer assessed by a sensitive measurement of basal serum thyroglobulin. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(6):1703-1709.

157. Castagna MG¹, Tala Jury HP, Cipri C, Belardini V, et al. The use of ultrasensitive thyroglobulin assays reduces but does not abolish the need for TSH stimulation in patients with differentiated thyroid carcinoma. *J Endocrinol Invest.* 2011;34(8):e219-23.

158. Brassard M, Borget I, Edet-Sanson A, et al. Long-term follow-up of patients with papillary and follicular thyroid cancer: a prospective study on 715 patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(5):1352-1359.

159. Castagna MG, Brilli L, Pilli T, et al. Limited value of repeat recombinant human thyrotropin (rhTSH)-stimulated thyroglobulin testing in differentiated thyroid carcinoma patients with previous negative rhTSH-stimulated thyroglobulin and undetectable basal serum thyroglobulin levels. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(1):76-81.

160. Crocetti U, Durante C, Attard M, et al. Predictive value of recombinant human TSH stimulation and neck ultrasonography in differentiated thyroid cancer patients. *Thyroid.* 2008;18(10):1049-1053.

161. Kloos RT, Mazzaferri EL. A single recombinant human thyrotropin-stimulated serum thyroglobulin measurement predicts differentiated thyroid carcinoma metastases three to five years later. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(9):5047-5057.

162. Klubo-Gwiedzinska J, Burman KD, Van Nostrand D, et al. Does an undetectable rhTSH-stimulated Tg level 12 months after initial treatment of thyroid cancer indicate remission? *Clin Endocrinol (Oxf).* 2011;74(1):111-117.

163. Pacini F, Mariotti S, Formica N, et al. Thyroid autoantibodies in thyroid cancer: incidence and relationship with tumour outcome. *Acta Endocrinol (Copenh).* 1988; 119(3):373-80.

164. Spencer CA, Takeuchi M, Kazarosyan M, et al. Serum thyroglobulin

autoantibodies: prevalence, influence on serum thyroglobulin measurement, and prognostic significance in patients with differentiated thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83(4):1121-1127.

165. Chiovato L, Latrofa F, Braverman LE, et al. Disappearance of humoral thyroid autoimmunity after complete removal of thyroid antigens. *Ann Intern Med.* 2003; 2;139(5 Pt 1):346-351.

166. Kim WG, Yoon JH, Kim WB, et al. Change of serum antithyroglobulin antibody levels is useful for prediction of clinical recurrence in thyroglobulin-negative patients with differentiated thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008; 93(12):4683-9.

167. Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR, et al. American Thyroid Association Guidelines Taskforce. Management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid.* 2006;16(2):109-42.

168. Miyauchi A, Kudo T, Miya A, et al.. Prognostic impact of serum thyroglobulin doubling-time under thyrotropin suppression in patients with papillary thyroid carcinoma who underwent total thyroidectomy. *Thyroid.* 2011;21(7):707-716.

169. Durante C, Montesano T, Attard M, et al. PTC Study Group. Long-term surveillance of papillary thyroid cancer patients who do not undergo postoperative radioiodine remnant ablation: is there a role for serum thyroglobulin measurement? *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(8):2748-53.

170. Hovens GC, Stokkel MP, Kievit J, et al. Associations of serum thyrotropin concentrations with recurrence and death in differentiated thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(7):2610-2615.

171. Jonklaas J, Sarlis NJ, Litofsky D, et al. Outcomes of patients with differentiated thyroid carcinoma following initial therapy. *Thyroid.* 2006;16(12):1229-1242.

172. Sugitani I, Fujimoto Y. Does postoperative thyrotropin suppression therapy truly decrease recurrence in papillary thyroid carcinoma? A randomized controlled

trial. J Clin Endocrinol Metab. 2010;95(10):4576-4583.

173. Румянцев П.О., Коренев С.В., Румянцева У.В. Современные принципы терапии левотироксином после операции у больных высокодифференцированным РЩЖ. // Опухоли головы и шеи. - 2013. - №2 – С.5-8. [Rumyantsev PO, Korenev SV, Rumyantseva UV. Sovremennye printsipty terapii levotiroksinom posle operatsii u bol'nykh vysokodifferentsirovannym RShchZh. Opukholi golovy i shei. 2013;2:5-8. (In Russ.)]

174. Xing M. Molecular pathogenesis and mechanisms of thyroid cancer. Nat Rev Cancer. 2013;13(3):184-199.

175. Younis E. Oncogenesis of Thyroid Cancer. Asian Pac J Cancer Prev. 2017;18(5):1191–1199.

176. Tufano RP, Teixeira GV, Bishop J, Carson KA, Xing M. BRAF mutation in papillary thyroid cancer and its value in tailoring initial treatment: a systematic review and meta-analysis. Medicine (Baltimore) 2012;91:274–286.

177. Xing M, Alzahrani AS, Carson KA, Viola D, Elisei R, Bendlova B, Yip L, Mian C, Vianello F, Tuttle RM, et al. Association between BRAF V600E mutation and mortality in patients with papillary thyroid cancer. Jama. 2013;309:1493–1501.

178. Howell GM, Hodak SP, Yip L. RAS mutations in thyroid cancer. Oncologist. 2013;18(8):926-32.

179. Gandolfi G., Ragazzi M., Frasoldati A., Piana S., Ciarrocchi A., Sancisi V. TERT promoter mutations are associated with distant metastases in papillary thyroid carcinoma. Eur. J. Endocrinol. 2015;172:403–413.

180. Liu X., Qu S., Liu R., Sheng C., Shi X., Zhu G., Murugan A.K., Guan H., Yu H., Wang Y., et al. TERT promoter mutations and their association with BRAF V600E mutation and aggressive clinicopathological characteristics of thyroid cancer. J. Clin. Endocrinol. Metab. 2014;99:E1130–E1136.

181. Liu, T., Yuan, X., & Xu, D.. Cancer-Specific Telomerase Reverse Transcriptase (TERT) Promoter Mutations: Biological and Clinical Implications. Genes,

2016;7(7), 38.

182. Liu R. and Xing M., TERT Promoter Mutations in Thyroid Cancer Endocr Relat Cancer. 2016; 23(3):R143–R155.

183. Jin A., Xu J., Wang Y..The role of *TERT* promoter mutations in postoperative and preoperative diagnosis and prognosis in thyroid cancer. Medicine (Baltimore). 2018;97(29):e11548.

184. Altman DG, Bland JM. Diagnostic tests 2: Predictive values. BMJ. 1994;309(6947):102.

185. Abdullah MI, Junit SM, Ng KL, et al. Papillary Thyroid Cancer: Genetic Alterations and Molecular Biomarker Investigations. Int J Med Sci. 2019;16(3):450–460.

186. COSMIC [Internet]. Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer [cited 2018 Dec 12]. Available from: <https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic>

187. Ensembl [Internet]. Genome browser [cited 2018 Dec 12]. Available from: <http://www.ensembl.org>

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

AACE – Американской ассоциации клинических эндокринологов (American Association of Clinical Endocrinologists)

АТА – Американская ассоциация эндокринологов (American Thyroid Association)

NPV – отрицательная прогностическая ценность (negative predictive value)

PPV – положительная прогностическая ценность (positive predictive value)

TI-RADS – система ультразвуковой оценки новообразований щитовидной железы (Thyroid Imaging Reporting and Data System)

АТ-ТГ – антитела к тиреоглобулину

ВДРЩЖ – высокодифференцированный рак щитовидной железы

ВОЗ – всемирная организация здравоохранения

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ДИ – доверительный интервал

КЭГ – классификатор экспрессии генов

МП – мутационная панель

ПРЩЖ – папиллярный рак щитовидной железы

РНК – рибонуклеиновая кислота

РЙТ – радиоiodтерапия

РЩЖ – рак щитовидной железы

рчТТГ – рекомбинантный человеческий тиреотропный гормон

сцДНК – свободно циркулирующая ДНК

ТАБ - тонкоигольная аспирационная биопсия

ТГ – тиреоглобулин

ТТГ – тиреотропный гормон

ТЭ – тиреоидэктомия

УЗИ – ультразвуковое исследование

УКЗ – узловой коллоидный зоб

ФА – фолликулярная аденома

ФНО – фолликулярное новообразование

ФРЩЖ – фолликулярный рак щитовидной железы

ЦЛАЭ – центральная лимфаденэктомия

цоДНК – циркулирующей опухолевой ДНК

ЩЖ – щитовидная железа

(99m) Tc-MIBI – (99m) Tc-метокси-изобутил-изонитрил