

На правах рукописи

ВИЛКОВА АЛИСА СТАНИСЛАВОВНА

**КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ПРОГНОЗА
АНАПЛАСТИЧЕСКОГО РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

3.1.6. Онкология, лучевая терапия

3.3.2. Патологическая анатомия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2025 г.

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (директор – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН Стилиди Иван Сократович).

Научные руководители:

доктор медицинских наук
кандидат медицинских наук

Бржезовский Виталий Жаннович
Козлов Николай Александрович

Официальные оппоненты:

Волченко Надежда Николаевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом онкоморфологии Московского научно-исследовательского онкологического института имени П.А. Герцена – филиала Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Никифорович Петр Алексеевич, кандидат медицинских наук, заместитель главного врача по онкологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «20» марта 2025 года в 14.00 часов на заседании диссертационного совета 21.1.032.01, созданного на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, по адресу: 115522, г. Москва, Каширское шоссе, д. 23.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России по адресу: 115522, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24 и на сайте www.ronc.ru.

Автореферат разослан «.....» 2025 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор

Кадагидзе Заира Григорьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности

Анапластический рак – одна из самых редких и наиболее злокачественных эпителиальных опухолей щитовидной железы. На ее долю приходится 1-2% всех злокачественных новообразований щитовидной железы и 35-50% летальных исходов больных раком щитовидной железы. Несмотря на то, что медиана выживаемости больных анапластическим раком составляет 6-9 месяцев, известно, что общая выживаемость у 10-15% больных достигает 1,5-2 лет. Данное обстоятельство оставляет открытым вопрос о возможности стратификации больных по группам риска, а также для выбора и оптимизации тактики лечения.

На данный момент известно о прогностическом значении отдельных гистологических типов злокачественных новообразований. Так, например, в папиллярном раке щитовидной железы выделяют прогностически благоприятные (инкапсулированный, Уортино-подобный) и неблагоприятные (диффузно-склерозирующий, столбчатый) варианты. Прогностически неблагоприятные варианты отличаются более агрессивным течением, высоким риском метастазирования и менее благоприятным прогнозом. Особенности морфологического строения папиллярного рака непременно указываются в гистологическом заключении, так как оказывают влияние на дальнейшее лечение пациентов.

Существующие прогностически значимые параметры анапластического рака щитовидной железы (АРЩЖ) основаны только на клинических и анамнестических данных пациентов. При этом считается, что гистологическое строение опухоли, ее иммуногистохимические особенности и клеточный состав не имеют связи с прогнозом заболевания. Тем не менее, последнему нет достоверного подтверждения, т.к. детальные морфологические исследования АРЩЖ за последние 25 лет на малых объемах выборки носят фрагментарный характер и имеют противоречивые результаты. На территории Российской Федерации детальные морфологические исследования операционного материала анапластического рака с описанием гистологических вариантов и клеточного состава не проводились вовсе, учитывая, что 80% больных на момент выявления опухоли являются неоперабельными.

Цель исследования

Целью исследования является выявление прогностически значимых клинико-морфологических и генетических параметров анапластического рака щитовидной железы.

Задачи исследования

1. Провести ретроспективный анализ клинических параметров у пациентов с анапластическим раком щитовидной железы (пол, возраст, TNM-стадия, предсуществующие

доброкачественные и злокачественные новообразования щитовидной железы, уровень лейкоцитов периферической крови, наличие острых симптомов на момент постановки диагноза).

2. Провести анализ морфологических параметров анапластического рака (выделить основные гистотипы и клеточный состав опухоли).

3. Провести сравнительный анализ гистологического строения первичной опухоли и метастатических опухолевых узлов.

4. Изучить особенности иммуногистохимической экспрессии эпителиальных и органоспецифических маркеров, маркеров пролиферативной активности в анапластическом раке.

5. Проанализировать наиболее частые генетические аномалии в опухоли.

6. Установить зависимость изученных клинико-морфологических и генетических параметров анапластического рака щитовидной железы с продолжительностью жизни пациентов, выявив прогностически значимые критерии.

Методология и методы исследования

Был проведен ретроспективный анализ клинико-anamnestических данных 30 пациентов, оперированных в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, ФГБУ "РНЦРР" Минздрава России, ГБУЗ "МГОБ № 62 ДЗМ" и ГБУЗ «ГГБ №29 им. Н.Э. Баумана ДЗМ» с 2004 по 2020 гг. Выполнен пересмотр гистологических препаратов анапластического рака с полуколичественной оценкой клеточных компонентов, готовых иммуногистохимических препаратов, а также повторное или расширенное иммуногистохимическое исследование. ИГХ исследование выполнялось на автоматизированной платформе Dako Link48 (система детекции EnVision Flex) с антителами к маркерам эпителиальной и мезенхимальной дифференцировки, транскрипционным факторам, гормонам, p53 и Ki-67.

Определение мутации генах BRAF и TERT проводили с помощью полимеразной цепной реакции с использованием аллельспецифичных праймеров. Статистический анализ проводился с помощью пакета статистических программ IBM SPSS Statistics (выпуск 22.0) (IBM, Чикаго, США). Корреляция между клинико-морфологическими показателями оценивалась с помощью t-теста для независимых выборок при оценке количественных показателей. Анализ выживаемости проводился по методике Каплан-Майера с использованием теста log-rank. Для оценки прогностического значения исследуемых факторов в отношении общей выживаемости проводился регрессионный анализ пропорциональных рисков по Коксу.

Научная новизна

Впервые в Российской Федерации на значительном объеме операционного материала крайне редкой опухоли щитовидной железы изучены особенности ее гистологического строения. Было выделено и полуколичественно проанализировано разнообразие сочетаний морфологических подтипов строения АРЩЖ. Изучена взаимосвязь морфологических, иммуногистохимических и молекулярно-генетических параметров опухоли с прогнозом заболевания. Были выявлены и скорректированы статистически достоверные клинические факторы прогноза, характерные для населения Российской Федерации. Впервые были выявлены статистически достоверные благоприятные и неблагоприятные морфологические факторы прогноза данного заболевания.

Теоретическая и практическая значимость

На основании анализа большого количества операционного материала АРЩЖ изучены особенности прогноза заболевания на основании морфологических параметров опухоли. Выявленные морфологические критерии имеют важное клиническое значение, доказана целесообразность выделения данных параметров в протоколах прижизненных патологоанатомических исследований. Доказано отсутствие взаимосвязи гистологического строения опухоли с ее иммуногистохимическим профилем, а также отсутствие корреляции наличия и интенсивности экспрессии клетками опухоли иммуногистохимических маркеров с прогнозом заболевания. Однако сохраняется необходимость использования широкой панели антител для диагностики заболевания. Отмечена взаимосвязь гистологического строения опухоли с ее молекулярно-генетическим профилем и ее происхождением.

Личный вклад

Автором лично выполнено ретроспективное исследование гистологических и иммуногистохимических препаратов 30 больных анапластическим раком щитовидной железы, вошедших в исследование. Автор самостоятельно изучала медицинские карты пациентов и проводила исследование о данных выживаемости пациентов, включенных в диссертационную работу. Автором самостоятельно проведён анализ отечественной и зарубежной литературы, посвящённой изучаемой проблеме, выполнена обработка и интерпретация полученных данных, сформулированы выводы и оформлена диссертационная работа.

Соответствие паспорту научной специальности

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия, направление исследований п. 2 (Исследования на молекулярном, клеточном и органном уровнях этиологии и патогенеза злокачественных опухолей, основанные на современных достижениях ряда естественных наук (генетики, молекулярной биологии, морфологии, иммунологии, биохимии, биофизики и др.)) и паспорту специальности 3.3.2.

Патологическая анатомия, направлением исследований п. 2 (Научный анализ патологических процессов, лежащих в основе заболевания, прижизненная диагностика и прогнозная оценка болезней на основе исследований биопсийных материалов).

Положения, выносимые на защиту

Операционный материал препаратов анапластического рака щитовидной железы следует подвергать тщательному макроскопическому исследованию с выделением максимального количества гистологических образцов для достоверного суждения о гистологическом типе опухоли и наличии очагов более дифференцированной опухоли, ввиду доказанного влияния данных факторов на прогноз заболевания.

Для определения морфологических факторов прогноза в равной степени можно использовать материал первичной и метастатической опухоли ввиду схожести их гистологического строения.

В патологоанатомическом заключении следует указывать гистологический вариант опухоли, наличие очагов более дифференцированной опухоли, указывать объем интратуморальных очагов некроза и уровень митотической активности опухолевых клеток, так как эти параметры связаны с прогнозом заболевания.

Целесообразно использование клинических данных (возраст пациентов, уровень лейкоцитов в периферической крови, наличие отдаленных метастазов) для достоверного суждения о прогнозе заболевания, а также использование модифицированного индекса Sugitani.

Отмечена взаимосвязь морфологического строения опухоли с ее молекулярно-генетическими аномалиями: для эпителиоидно-сквамозидного варианта характерно наличие мутации в гене BRAF и наличие очагов более дифференцированной опухоли, что подтверждает происхождение этого варианта АРЩЖ путем дедифференцировки высокодифференцированного рака. Напротив, для саркоматоидного варианта анапластического рака характерно наличие мутации в гене TERT и отсутствие очагов более дифференцированной опухоли, что может являться следствием происхождения этого варианта анапластического рака *de novo*.

Внедрение результатов исследования

Разработанные рекомендации внедрены в клиническую практику в ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий федерального медико-биологического агентства России» (акт внедрения от «04» марта 2024 г.).

Апробация

Апробация диссертации состоялась на совместной научной конференции с участием патологоанатомического отделения, лаборатории цитологии и лаборатории молекулярно-

генетической диагностики отдела морфологической и молекулярно-генетической диагностики опухолей консультативно-диагностического центра, отделения опухолей головы и шеи, отделения абдоминальной онкологии №4 (эндокринной хирургии) научно-исследовательского института клинической онкологии им. академика РАН и РАМН Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, состоявшейся 5 апреля 2024 г.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 3 научные статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для публикации основных результатов диссертационных исследований.

Структура и объем диссертации

Диссертация написана по традиционному стилю, изложена на 115 страницах машинописного текста и состоит из введения, четырех глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка условных сокращений и списка литературы. Литературный указатель содержит 111 источников, из которых 4 отечественных и 107 зарубежных. Работа иллюстрирована 29 таблицами и 36 рисунками со сквозной нумерацией.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В исследование было включено 30 пациентов с гистологически и иммуногистохимически подтвержденным АРЩЖ, оперированных в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина», ФГБУ "РНЦРР" Минздрава России, ГБУЗ «МОБ №62 ДЗМ» и ГБУЗ «ГКБ №29 им. Н.Э. Баумана ДЗМ».

Среди пациентов было 18 (60,0%) женщин, соотношение лиц женского и мужского пола составило 1,5:1. Средний возраст больных составлял 66 лет. Оценка стадии заболевания проводилась по TNM-классификации 8-го пересмотра (AJCC/UICC).

У 12 (40,0%) пациентов в анамнезе присутствовали заболевания щитовидной железы: у семерых из них по данным УЗИ или ТАБ был ранее диагностирован узловой/многоузловой гиперпластический зоб, у 5 (16,7%) пациентов ранее был диагностирован высококодифференцированный рак щитовидной железы (ВДРЩЖ). В дальнейшем анализе эта группа из 5 пациентов (16,7%) была выделена отдельно, где АР рассматривался как вторичный опухолевый процесс. Остальные 25 случаев АР ввиду отсутствия в анамнезе ~~пациентов~~ данных о ранее существовавших ЗНО ЩЖ нами были выделены в группу первичного АРЩЖ.

На момент постановки диагноза ни у одного из 25 пациентов с первичным АРЩЖ заболевание не носило локализованный характер. Инвазия опухолью смежных анатомических структур была представлена следующим образом: инвазия ~~опухолью~~ скелетных мышц шеи

(66,7%), трахеи (16,7%), подкожной жировой клетчатки и кожи (3,3%), сонной артерии (3,3%). У 19 (76,0%) пациентов с первичным АРЦЖ на момент постановки диагноза имелись метастазы в регионарных лимфатических узлах, у 12 пациентов (48,0%) – отдаленные метастазы. Легкие являлись локализацией отделанных метастазов в 100% случаев.

На момент обращения за медицинской помощью у 19 (63,3%) пациентов присутствовали острые симптомы, преимущественно диспноэ, у 14 (46,7%) пациентов был зафиксирован лейкоцитоз $>10,000$ WBC/мм.

Общая выживаемость (ОВ) пациентов в среднем составила 25,5 недель (min – 4 недели, max – 69 недель, медиана – 22 недели). Безрецидивная выживаемость (БРВ) пациентов в среднем составила 23 недели (min – 4 недели, max – 64 недели, медиана – 22 недели). В подавляющем большинстве (86,67%) данные ОВ и БРВ совпадали. Ввиду крайне сходных данных и малых сроках ОВ и БРВ пациентов, для выявления факторов прогноза в дальнейшем анализе была рассмотрена только ОВ пациентов.

Среднее значение максимального размера опухоли в группе первичного АРЦЖ составило 6,5 см, медиана – 6,8 см, минимальное – 3,0 см, максимальное – 12,0 см. В свою очередь, для группы вторичного АРЦЖ в качестве замены максимальному размеру первичной опухоли был рассмотрен максимальный размер рецидивного/метастатического узла, среднее значение которого составило 7,6 см, медиана – 4,5 см, минимальное – 2,5 см, максимальное – 21,0 см.

При пересмотре гистологических препаратов у 12 (40,0%) всех больных отмечалось сочетание АР с менее злокачественными карциномами щитовидной железы: папиллярным, гюртлеклеточным (онкоцитарным, ОР), низкодифференцированным раком и их комбинациями (Рисунок 1). Стоит отметить, что только у 4 пациентов группы вторичного АР были обнаружены фокусы более дифференцированной опухоли.

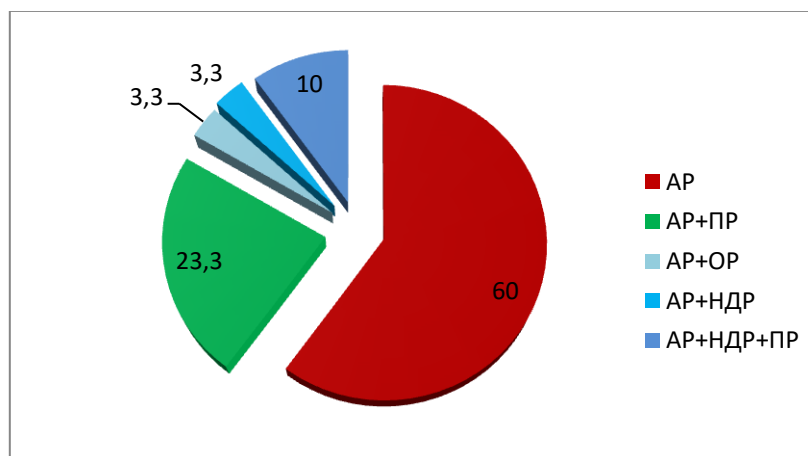


Рисунок 1 – Частота сочетания анапластического рака с менее злокачественными карциномами щитовидной железы

В зависимости от гистологического строения и сходства на светооптическом уровне с другими экстратиреоидными злокачественными опухолями все случаи АРЦЖ были разделены на четыре основных группы:

Первая группа («эпителиоидно-сквамозная») насчитывала 11 (36,7%) случаев и отличалась неспецифичным солидным строением, характерным для низкодифференцированных карцином различной локализации и линии дифференцировки. Вторая группа («саркоматоидная») насчитывала 11 (36,7%) случаев, демонстрируя заметное сходство с различными вариантами сарком. Третья группа («бифазная») включала 5 (16,7%) случаев, объединенных наличием бифазного строения опухоли, в равных долях сочетающих участки эпителиоидного и саркоматоидного строения. Наиболее редкой была четвертая группа («недифференцированная»), включавшая 3 (10,0%) случая АР. Все представители этой группы характеризовались наличием солидных бесструктурных полей из крупных эпителиоидных клеток, с фокальным дискогедзивным ростом и редкими рабдоидными, плеоморфными и вакуолизированными элементами.

Митотический индекс АР варьировал от 4 до 58 в 10 РПЗ (в среднем – 19/10 РПЗ, медиана - 14/10 РПЗ). В 25 (86,2%) случаях были выявлены единичные или множественные атипические фигуры митоза. Крупные очаги некроза отмечались в 15 (50,0%) случаях, а в 8 (26,7%) случаях отсутствовали вовсе. Признаки лимфоваскулярной инвазии были отмечены в 14 (46,7%) случаях, при этом в 9 (30,0%) случаях отмечалось массивная опухолевая инвазия.

Экспрессия опухолевыми клетками РапСК отмечалась в 20 (66,7%) случаях, среднее значение окрашенных клеток АР составило 77,0% (min – 5,0%, max – 100,0%). Экспрессия опухолевыми клетками ЕМА была отмечена в 14 (46,7%) случаях, среднее значение окрашенных клеток АР составило 95,7% (min – 90,0%, max – 100,0%). При этом 4 (13,3%) случая не продемонстрировали экспрессии эпителиальных маркеров. Экспрессия опухолевыми клетками виментина отмечалась в 30 (100,0%) случаях, среднее значение окрашенных клеток составило 96,0% (min – 50,0%, max – 100,0%). Экспрессия органоспецифических маркеров ТТФ-1 и РАХ8 отмечалась в 12 (40%) и 25 (83,3%) случаев соответственно. При этом среднее значение экспрессии маркеров составило 80,0% для ТТФ-1 (min – 30,0%, max – 100,0%), и 79,2% для РАХ8 (min – 5,0%, max – 100,0%). Экспрессия тироглобулина была отмечена в 2 (6,7%) случаях со слабым окрашиванием 50,0% опухолевых клеток. Пять случаев (16,7%) не продемонстрировали экспрессии органоспецифических маркеров. Ни один случай из представленной выборки не продемонстрировал сочетанного отсутствия экспрессии эпителиальных и органоспецифических маркеров.

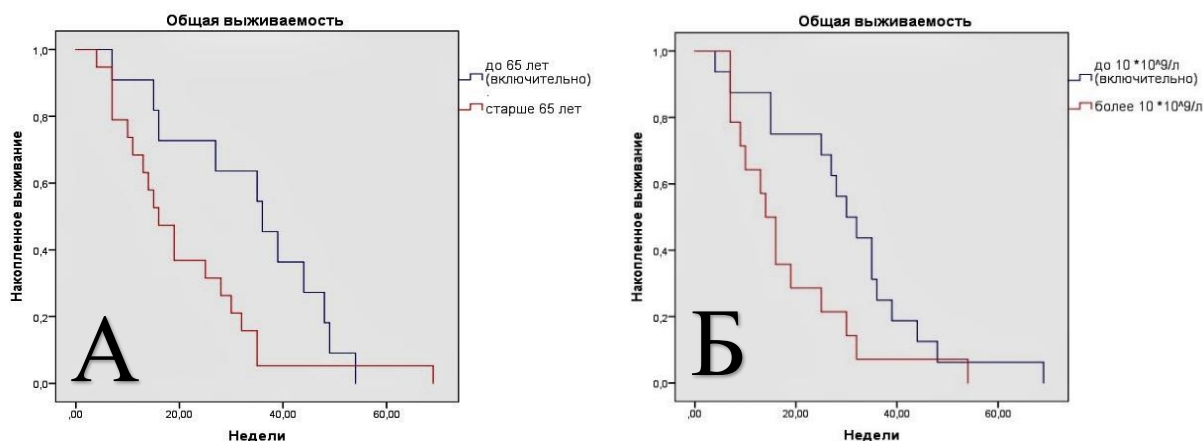
Ядерная гиперэкспрессия р53, суррогатного маркера мутации гена TP53, наблюдалась в 18 (60,0%) случаях. При этом остальные 12 (40,0%) случаев продемонстрировали гетерогенную

экспрессию p53, соответствующую дикому типу гена TP53. Ни в одном из наблюдений не было отмечено полного отсутствия экспрессии p53, либо его цитоплазматического окрашивания. Индекс пролиферации опухолевых клеток (индекс Ki-67) в среднем составил 55,0% ($\sigma \pm 16,14$), min – 30,0%, max – 90,0%.

Клинические факторы прогноза

Одним из наиболее значимых клинических факторов прогноза АР является возраст пациента. Наиболее значимая разница медиан ОВ была выявлена для групп ≤ 65 лет и > 65 лет (Рисунок 2). У пациентов старше 65 лет медиана ОВ достоверно меньше в 2,25 раза, чем у пациентов моложе 65 лет ($p < 0,050$).

Не менее значимым неблагоприятным прогностическим признаком является лейкоцитоз $> 10,000$ WBC/ мм^3 (Рисунок 2). У пациентов с лейкоцитозом $> 10,000$ WBC/ мм^3 медиана ОВ более чем в 2 раза меньше, чем у пациентов с меньшим уровнем лейкоцитов ($p = 0,046$).



А) в зависимости от возраста; Б) в зависимости от уровня лейкоцитоза

Рисунок 2 – Общая выживаемость пациентов в зависимости от возраста

Учитывая наличие данных о благоприятной прогностической значимости предсуществующих заболеваний щитовидной железы, мы изучили взаимосвязь ОВ пациентов в зависимости от наличия и характера предсуществующего заболевания ЩЖ (Таблицы 1 и 2).

Таблица 1 – Общая выживаемость пациентов в зависимости от наличия в анамнезе иных заболеваний щитовидной железы

Данные анамнеза	Пациенты (n)	ОВ (медиана, нед)	p
Пациенты без заболеваний ЩЖ	18	15,0	0,066
Пациенты с заболеваниями ЩЖ	12	30,0	

Таблица 2 – Общая выживаемость пациентов в зависимости от характера предшествующего заболевания щитовидной железы

Данные анамнеза	Пациенты (n)	ОВ (медиана, нед)	p
Пациенты с доброкачественными / опухолеподобными новообразованиями	7	28,0	0,682
Пациенты с первичными ЗНО	5	35,0	

Можно отметить более чем двукратное увеличение ОВ группы пациентов с наличием в анамнезе заболеваний ЩЖ по сравнению с контрольной группой, однако достоверной значимости данные отличия не имеют. При сравнении групп больных в зависимости от характера предшествующего заболевания, разница медиан ОВ в этих группах различалась несущественно.

Также была проанализирована связь ОВ пациентов с наличием регионарных метастазов. Для оценки влияния данного параметра пациенты были разделены на группу с наличием регионарных метастазов и отсутствием отдаленных метастазов (N1M0) и группу с отсутствием регионарных и отдаленных метастазов (N0M0). Несмотря на различие медиан выживаемости в данных группах сравнения, статистической достоверности данный параметр не получил (Таблица 3).

Таблица 3 – Общая выживаемость пациентов в зависимости от наличия регионарных метастазов

Регионарные метастазы	Пациенты (n)	ОВ (медиана, нед)	p
N1M0	11	32,0	0,995
N0M0	6	19,0	

Мы проанализировали связь ОВ пациентов с наличием острых симптомов (Таблица 4) и с наличием отдаленных метастазов (Рисунок 4).

Таблица 4 – Общая выживаемость пациентов в зависимости от наличия острой симптоматики

Симптомы	Пациенты (n)	ОВ (медиана, нед)	p
Наличие	19	16,0	0,701
Отсутствие	11	32,0	

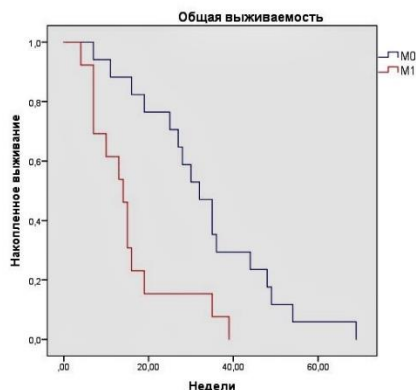


Рисунок 4 – Общая выживаемость пациентов в зависимости от наличия отдаленных метастазов

Прослеживается значительная разница между ОВ пациентов с наличием и отсутствием отдаленных метастазов, а также с наличием и отсутствием острых симптомов на момент манифестации заболевания. Однако достоверным неблагоприятным фактором прогноза при статистической оценке является только наличие отдаленных метастазов ($p=0,002$).

Так как в мировой литературе встречаются разные данные о пограничном значении размера опухоли, который может считаться прогностически значимым, мы рассмотрели несколько вариантов данного параметра. При изучении связи наибольшего размера опухоли с ОВ пациентов, нами было выявлено закономерное снижение ОВ при увеличении размеров опухоли (Таблица 5). Так как первым наибольшим размером опухоли, при котором выявилось статистически значимое различие медиан ОВ, был порог «6см» ($p=0,000$), то это значение мы использовали как пороговое в дальнейших расчетах.

Таблица 5 – Общая выживаемость групп пациентов с различными размерами опухоли

Размер опухоли (см)	Пациенты (n)	ОВ (медиана, нед)	p
≤5см	9	28,0	0,392
>5см	21	16,0	
≤6см	16	33,5	0,000
>6см	14	14,0	
≤7см	21	28,0	0,018
>7см	9	11,0	

Для наиболее точного суждения о прогностической значимости наиболее часто встречающихся в мировой литературе факторов прогноза, мы применили прогностический

индекс Sugitani. Данный индекс основан на четырех факторах: наличие острых симптомов, размер опухоли (>5 см), лейкоцитоз (>10,000 WBC/мм³) и наличие отдаленных метастазов. В связи с тем, что в нашем исследовании прогностически значимым оказался наибольший размер опухоли 6 см, мы модифицировали индекс Sugitani, изменив пороговое значение размера опухоли на >6 см. При наличии признака ему присваивается 1 балл. В исследовании Sugitani с соавт. суммарный рейтинг 3-4 балла указывал на неблагоприятный прогноз. В нашем исследовании мы также можем отметить снижение медиан ОВ у пациентов с ПИ 3-4 балла в 2,6 раза по сравнению с группой ПИ в 0-2 балла (Рисунок 6). Нами было получено статистически достоверное различие между группами с высоким и низким ПИ (p=0,000).

Таким образом, можно говорить о прогностической значимости модифицированного индекса Sugitani и возможности его дальнейшего применения при стратификации больных АР.

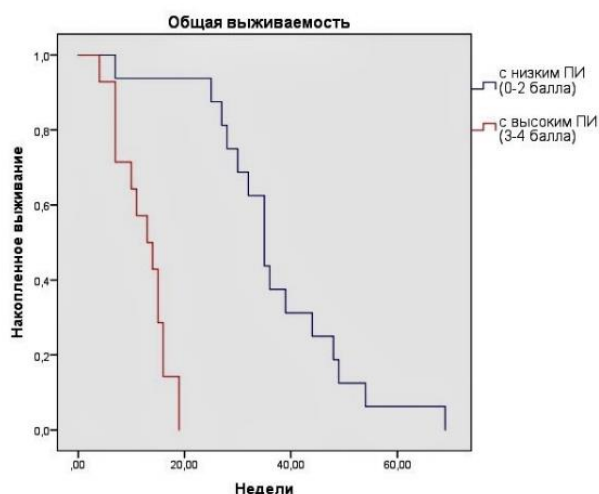


Рисунок 6 – Общая выживаемость пациентов с прогностическим индексом 0-2 и 3-4 балла

Морфологические факторы прогноза

Мы рассмотрели взаимосвязь ОВ пациентов с гистологическим строением и особенностями цитоморфологического состава опухоли (Таблица 6).

Таблица 6 - Общая выживаемость пациентов в зависимости от наличия более дифференцированного опухолевого компонента

Строение опухоли	Пациенты (n)	ОВ (медиана, нед)	p
Анапластический рак	18	19,0	0,760
Анапластический рак с участками более дифференцированной опухоли	12	28,5	

Так в нашей выборке присутствуют 12 пациентов, у которых гистологическое строение опухоли сочетает в себе АР с другими карциномами ЩЖ. Четыре пациента в этой группе уже имели в анамнезе рак ЩЖ, и рассматривались как пациенты с вторичным АР. Несмотря на тенденцию к увеличению ОВ пациентов с наличием более дифференцированного компонента опухоли, статистической значимости данный параметр не получил.

Мы также рассмотрели взаимосвязь ОВ пациентов с выделенными нами гистологическими группами АРЩЖ (Таблица 7). Можно отметить заметное увеличение медианы ОВ у пациентов, входящих в группу эпителиоидно-сквамозидного варианта АР. Однако при анализе ОВ пациентов с эпителиоидно-сквамозидным вариантом и ОВ пациентов с другими гистологическими типами опухоли, статистического подтверждения данный фактор не получил ($p=0,147$)

Таблица 7 - Общая выживаемость пациентов с различными гистологическими типами анапластического рака

Гистологическая группа	Пациенты (n)	ОВ (медиана, нед)
Эпителиоидно-сквамозидная	11	30,0
Саркоматоидная	11	19,0
Бифазная	5	15,0
Недифференцированная	3	14,0

Нами было проанализировано соотношение уровня митотической активности опухоли с индексом пролиферации опухолевых клеток и медианой ОВ пациентов (Таблица 8).

Таблица 8 – Общая выживаемость пациентов с различным уровнем митотической активности и индекса Ki-67

Митозы (n в 10 РПЗ)	Индекс Ki-67 (среднее, %)	Пациенты (n)	ОВ (медиана, нед)
<10	52,3	9	35,0
≥ 10 - <20	55,4	12	26,0
≥ 20	57,1	9	16,0

Можно отметить незначительное увеличение индекса Ki-67 с ростом митотической активности опухоли. Также отмечается обратно пропорциональная связь уровня митотической активности опухолевых клеток с ОВ пациентов. Однако подобной связи ОВ пациентов с индексом Ki-67 не наблюдается. Таким образом, можно считать уровень митотической

активности опухолевых клеток более значимым для прогноза заболевания, чем индекс Ki-67. При статистическом анализе достоверно неблагоприятным фактором прогноза стал порог ≥ 20 митозов в 10 РПЗ ($p=0,033$) (Рисунок 7).

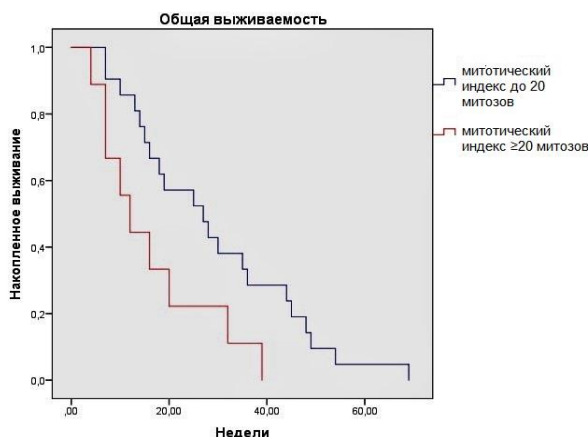


Рисунок 7 – Общая выживаемость пациентов в зависимости от митотического индекса

Мы также проанализировали соотношение митотической активности опухолевых клеток, индекс Ki-67 опухоли и ее гистологический тип (Таблица 9). Как можно заметить, не отмечается корреляции между гистологическим типом опухоли, уровнем ее митотической активности и индексом Ki-67 опухолевых клеток.

Таблица 9 – Характер пролиферации опухолевых клеток в разных типах анапластического рака

Гистологический тип	Митозы, (медиана, 10 РПЗ)	Индекс Ki-67 (медиана, %)
Эпителиоидно-сквамозный	13	50,4
Саркоматоидный	11	52,2
Бифазный	19	68,4
Недифференцированный	14	60,0

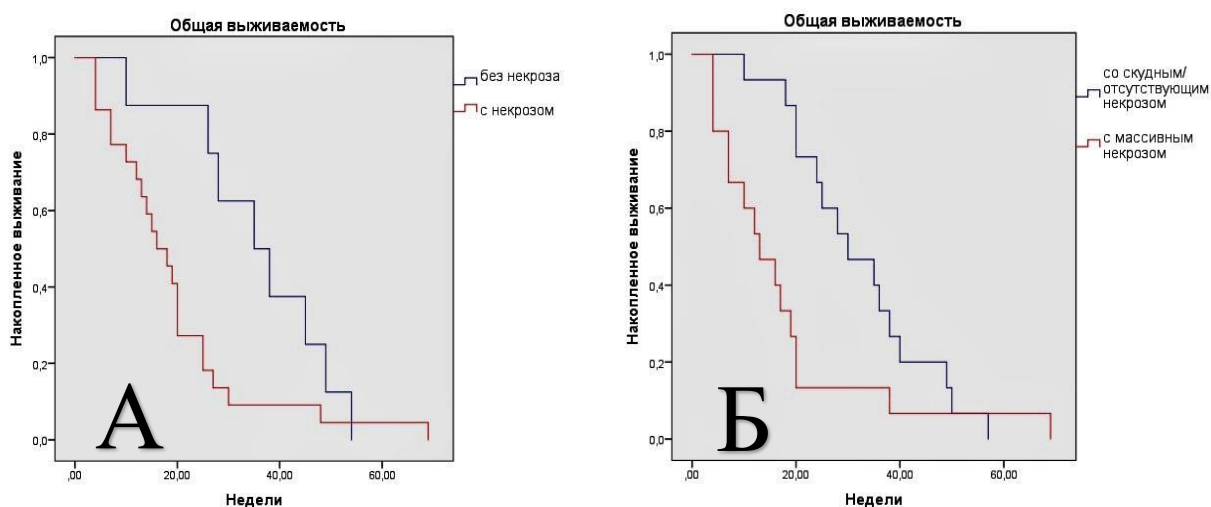
Нами была обнаружена достоверная обратная связь медианы ОВ пациентов с объемом очагов интратуморального некроза (Таблица 10).

Таблица 10 – Общая выживаемость пациентов с различным объемом интратуморальных очагов некроза

Очаги некроза	Пациенты (n)	ОВ (медиана, нед)	p
Отсутствие	8	32,5	0,044
Мелкие очаги некроза (<10% объема опухоли)	7	25,0	

Крупные очаги некроза ($\geq 10\%$ объема опухоли)	15	15,0	0,038
---	----	------	-------

При статистической обработке данных параметров нами было отмечено достоверное различие ОВ в группах с отсутствием и наличием интратуморальных очагов некроза ($p=0,044$, Рисунок 8). Различия в группах с крупными интратуморальными очагами некроза и мелкими / отсутствием очагов некроза ($p=0,038$,) представлены на рисунке 8.



А) в зависимости от наличия очагов некроза в опухоли; Б) в зависимости от размеров очагов некроза в опухоли

Рисунок 8 – Общая выживаемость пациентов с анапластическим раком

Проведенный анализ гистологических параметров позволил нам сформировать морфологический прогностический индекс (МПИ), в основу которого легли ранее выявленные прогностически значимые морфологические параметры (Таблица 11).

Таблица 11 – Прогностически значимые морфологические параметры анапластического рака щитовидной железы

	Неблагоприятные признаки	Благоприятные признаки
Характер возникновения АР	Первичный	Вторичный АР /наличие более дифференцированных участков
Гистологическое строение опухоли	Другие варианты	Эпителиоидно-сквамозидный вариант
Митозы (n в 10 РПЗ)	≥ 20	1-20
Объем некроза	$\geq 10\%$	Нет / $< 10\%$

Каждому неблагоприятному морфологическому фактору был присвоен 1 балл МПИ, благоприятному фактору - 0 баллов. Все баллы суммировались, итоговый индекс варьировал от 0 до 4 баллов.

При сравнении показателей выживаемости мы можем наблюдать достоверное увеличение значения медианы ОВ у пациентов с низким МПИ в 2 раза по сравнению с группой больных с высоким МПИ ($p=0,032$, Рисунок 9).

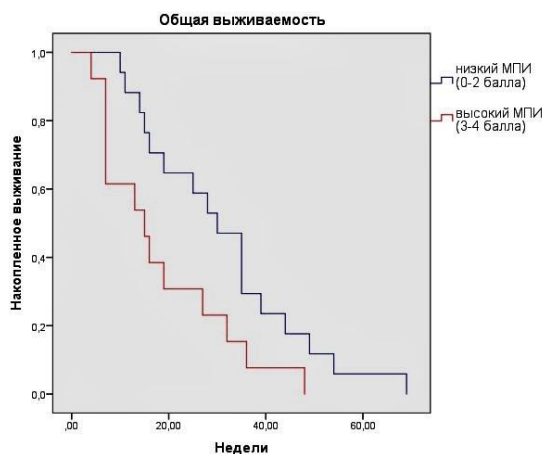


Рисунок 9 – Общая выживаемость пациентов с морфологическим прогностическим индексом 0-2 и 3-4 балла

Ввиду отсутствия единого специфичного иммуноморфологического профиля АРЦЖ и выраженного разнообразия иммуноморфологических признаков изученных случаев, мы также рассмотрели взаимосвязь между гистологическим строением опухоли, характером экспрессии иммуногистохимических маркеров и ОВ пациентов. Обращает на себя внимание характер экспрессии органоспецифичных маркеров данных новообразований: с увеличением анаплазии опухолевые клетки утрачивают экспрессию органоспецифичных маркеров. В первую очередь клетки опухоли утрачивают экспрессию тироглобулина, затем ТТФ-1 и РАХ8. Соответственно при сохранении клетками опухоли экспрессии одного или более органоспецифичных маркеров следует считать их менее анаплазированными и ожидать увеличения ОВ пациентов в данной группе пациентов. Однако при сравнении групп пациентов в зависимости от характера экспрессии органоспецифичных маркеров, мы не можем отметить какой-либо характерной закономерности (Таблица 12).

Учитывая встречающиеся в мировой литературе данные о благоприятном прогностическом значении экспрессии РАХ8, мы рассмотрели взаимосвязь между наличием экспрессии данного маркера и ОВ пациентов (Таблица 13).

Таблица 12 – Общая выживаемость пациентов в зависимости от экспрессии органоспецифичных маркеров

Характер экспрессии (TTF-1, TGB, PAX8)	Пациенты (n)	ОВ (медиана, нед)
Отсутствует	5	32,0
Один	12	17,5
Два и более	13	28,0

В нашем исследовании мы отметили тенденцию к уменьшению ОВ пациентов при наличии экспрессии PAX8, однако данный параметр оказался статистически недостоверным.

Таблица 13 – Общая выживаемость пациентов в зависимости от экспрессии органоспецифичных маркеров

Характер экспрессии PAX8	Пациенты (n)	ОВ (медиана, нед)	p
Отсутствует	5	32,0	0,394
Присутствует	25	19,0	

Как уже было показано в нашей работе, эпителиоидно-сквамозидный вариант АРЦЖ имеет более благоприятный прогноз. Мы проанализировали характер экспрессии маркеров в различных гистологических вариантах АРЦЖ (Таблица 14). Можно отметить отсутствие закономерностей в экспрессии ИГХ-маркеров в различных гистологических типах АР.

Таблица 14 - Особенности экспрессии иммуногистохимических маркеров клетками различных гистологических вариантов анапластического рака

Гистологический тип	Количество пациентов, n	Эпителиоидные маркеры, n (%)	Органоспецифичные маркеры, n (%)
Эпителиоидно-сквамозидный	11	10 (90,9)	9 (81,8)
Эпителиоидно-сквамозидный	11	10 (90,9)	9 (81,8)
Саркоматоидный	11	10 (90,9)	8 (72,7)
Бифазный	5	3 (60)	5 (100)
Недифференцированный	3	3 (100)	3 (100)

Молекулярно-генетические факторы прогноза

В 12 случаях (40,0%) АРЦЖ была выявлена мутация гена BRAF V600E. В 16 (53,3%) случаях была выявлена мутация гена TERT. При этом сочетанные мутации в генах BRAF и TERT наблюдались в 6 (20,0%) случаях.

Также нами были проанализированы сочетание мутаций в генах TP53 и BRAF, TP53 и TERT. При этом в 8 (26,7%) наблюдениях отмечалось сочетание мутаций в генах TP53 и BRAF, и в 9 (30,0%) случаях сочетание мутаций в генах TP53 и TERT.

Сочетание мутаций в генах TP53, BRAF и TERT отмечалось лишь в 4 (13,3%) случаях. Отсутствие мутаций вышеописанных генов отмечалось в 3 (10,0%) случаях АРЦЖ.

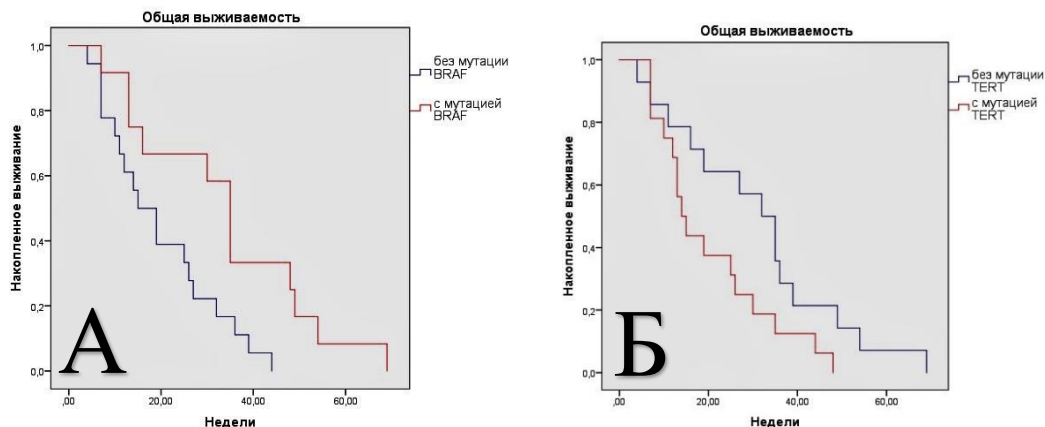
Мы проанализировали взаимосвязь наличия мутаций в генах TP53, BRAF и TERT (Таблица 15) в опухоли с ОБ пациентов.

Таблица 15 – Общая выживаемость пациентов в зависимости от мутационного статуса опухоли

Локализация мутации		Пациенты, n	ОБ (медиана, нед)	p
TP53	Дикий тип	12	22,0	0,325
	Мутация	18	24,5	
BRAF	Дикий тип	18	17,0	0,014
	Мутация	12	35,0	
TERT	Дикий тип	14	33,5	0,049
	Мутация	16	15,5	

Стоит отметить отсутствие разницы ОБ в группах пациентов с наличием и отсутствием мутации в гене TP53. Также наблюдается достоверное увеличение ОБ больных АР с мутацией в гене BRAF по сравнению с группой пациентов с отсутствием этой мутации в 1,8 раза ($p=0,014$, Рисунок 10). Стоит также уточнить, что ввиду ретроспективного анализа мутационного статуса опухоли, группа больных АР с мутацией в гене BRAF не получала специфического лечения, которое могло бы отобразиться на данных ОБ пациентов этой группы.

Среди больных АР с мутацией в гене TERT отмечается обратная корреляция: выявлено достоверное уменьшение ОБ больных с мутацией в гене TERT по сравнению с группой пациентов с отсутствием мутации более чем в 2 раза ($p=0,049$, Рисунок 10).



А) в зависимости от наличия мутации в гене BRAF; Б) в зависимости от наличия мутации в гене TERT

Рисунок 10 – Общая выживаемость пациентов анапластическим раком щитовидной железы

Так как в мировой литературе описаны данные о неблагоприятном течении ВДРЦЖ с наличием сочетанных мутаций в генах BRAF и TERT, мы проанализировали потенциальное влияние нескольких сочетанных мутаций на ОБ пациентов (Таблица 16).

Таблица 16 – Общая выживаемость пациентов в зависимости от наличия сочетанных мутаций

Сочетанные мутации		Пациенты, n	ОВ (медиана, нед)
BRAF + TERT	наличие	6	23,0
	отсутствие	24	22,0
BRAF + TP53	наличие	8	32,5
	отсутствие	22	19,0
TERT + TP53	наличие	9	15,0
	отсутствие	21	27,0
BRAF + TERT+ TP53	наличие	4	23,0
	отсутствие	26	22,0

Незначительные отличия наблюдаются в группах с мутацией в гене BRAF и в группах с сочетанными мутациями генов BRAF и TP53: если в первом случае разница медиан ОБ пациентов составила 1,8 раз, то во втором случае 1,7 раз. Аналогичные изменения можно отметить в группах с мутацией в гене TERT и в группах с сочетанными мутациями генов TERT и TP53. В этих группах разница медиан ОБ пациентов составила 2,1 и 1,8 раз соответственно.

Учитывая отсутствие значимой разницы между медианами ОБ пациентов в зависимости от наличия мутации в гене TP53, ее сочетание с другими мутациями в клетках АР не оказывает существенного влияния на ОБ пациентов.

Учитывая взаимосвязь между наличием мутаций в генах BRAF и TERT с ОБ пациентов, мы рассмотрели характер распределения данных мутаций в случаях АРЦЖ с участками более дифференцированной опухоли и без них (Таблица 17), а также в его гистологических типах (Таблица 18).

Таблица 17 – Характер распределения мутаций в различных типах анапластического рака

Мутация	АР, n (%)	АР с участками более дифференцированного рака, n (%)
BRAF	2 (16,7)	10 (83,3)
TERT	11 (68,7)	5 (31,3)

Таблица 18 – Характер распределения мутаций в различных гистологических вариантах анапластического рака

Гистологический подтип	Случаи с мутацией гена BRAF, n (%)	Случаи с мутацией гена TERT, n (%)
Эпителиоидный	7 (63,6)	4 (36,4)
Саркоматоидный	2 (18,2)	7 (63,6)
Бифазный	2 (40,0)	3 (60,0)
Недифференцированный	1 (33,3)	2 (66,7)

Стоит отметить преимущественное наличие мутации в гене BRAF в случаях АР с участками более дифференцированной опухоли. Как и наличие мутации в гене BRAF, присутствие в АР фокусов более дифференцированной опухоли имеет благоприятное прогностическое значение, пациенты с данных группах имеют доказанное увеличение ОБ по сравнению с другими группами. Обратную взаимосвязь можно отметить в случаях с мутацией в гене TERT: наличие мутации более характерно для АР без фокусов более дифференцированного рака.

Исходя из полученных данных, можно говорить о преимущественном наличии мутации в гене BRAF в АР с эпителиоидно-сквамозидным гистотипом. Стоит также отметить, что все случаи АР с эпителиоидно-сквамозидным гистотипом и наличием мутации в гене BRAF имели фокусы более дифференцированной опухоли.

Мы сравнили ОБ пациентов в зависимости от наличия всех трех параметров (эпителиоидно-сквамозидный вариант опухоли, наличия более дифференцированных участков и наличие мутации в гене BRAF). Нами было выявлено достоверное увеличение ОБ пациентов с наличием этих параметров ($p=0,050$, Рисунок 11).

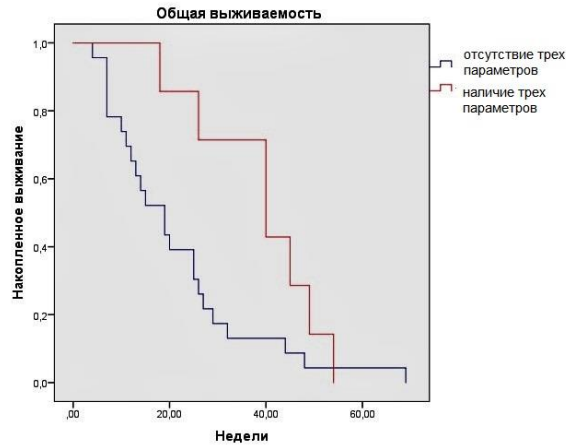


Рисунок 11 – Взаимосвязь общей выживаемости пациентов в зависимости от гистотипа, наличия мутации в гене BRAF и участков более дифференцированной опухоли

ВЫВОДЫ

1. Среди больных АРЦЖ преобладали пациенты женского пола (1,5:1). Средний возраст больных составлял 66 лет. У 9 (30,0%) пациентов в анамнезе присутствовали опухолевые или опухолеподобные заболевания щитовидной железы, у четырех из них – ЗНО ЩЖ. У 19 (63,3%) присутствовали острые симптомы на момент манифестации заболевания, у 14 (46,7%) - лейкоцитоз $>10,000$ WBC/мм³. У 12 пациентов (48,0%) имелись отдаленные метастазы. Среднее значение максимального размера АРЦЖ составило 6,5 см. ОБ пациентов в среднем составила 25,5 недель.

2. Все случаи АРЦЖ были разделены на четыре гистотипа: эпителиоидно-сквамозидный, саркоматоидный, бифазный и недифференцированный. Был выделен преобладающий клеточный компонент, которым в 60,0% случаев оказался эпителиоидный. В 12 (40,0%) АРЦЖ были обнаружены фокусы более дифференцированной опухоли. Митотический индекс АР варьировал от 4 до 58 в 10 РПЗ. Крупные очаги некроза отмечались в 15 (50,0%) случаях, в 14 (46,7%) случаях отмечались признаки лимфоваскулярной инвазии.

3. В 12 случаях (80,0%) гистологическое строение и клеточный состав метастаза полностью соответствовали первичной опухоли. Лишь в 1 случае (6,7%) отмечалось полное расхождение цитоморфологических признаков первичной опухоли и метастаза.

4. В 26 (86,7%) случаях отмечалась экспрессия опухолевыми клетками эпителиальных маркеров, а в 25 (83,3%) – органоспецифических маркеров. Все исследованные случаи продемонстрировали экспрессию маркеров эпителиально-мезенхимального перехода. Ни один случай не продемонстрировал сочетанного отсутствия эпителиальных и органоспецифических маркеров. Ядерная гиперэкспрессия p53 наблюдалась в 18 (60,0%) случаях. Индекс пролиферации опухолевых клеток в среднем составил 55,0% (min – 30,0%, max – 90,0%).

5. Статистически достоверно прогностически неблагоприятные параметры АРЦЖ: возраст пациентов более 65 лет, уровень лейкоцитов периферической крови до начала лечения $>10,000$ WBC/мм³, наличие отдаленных метастазов, максимальный размер опухоли >6 см, наличие мутации в гене TERT.

6. Статистически достоверно прогностически благоприятные параметры АР: низкий уровень митотической активности опухолевых клеток (<20 митозов в 10 РПЗ), отсутствие интратуморальных очагов некроза, наличие мутации в гене BRAF. Статистически достоверно ОВ выше у пациентов с эпителиоидно-сквамозидным гистотипом опухоли, наличием участков более дифференцированной опухоли и мутации в гене BRAF.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Макроскопическое исследование и вырезку операционного материала следует проводить максимально расширенно. Количество взятых на гистологическое исследование фрагментов должно равняться максимальному размеру опухоли в сантиметрах, при необходимости фрагменты также должны изыматься из макроскопически отличающихся друг от друга участков опухоли.

2. Иммуногистохимическое исследование должно проводиться с использованием расширенной панели, включающей эпителиальные, органоспецифические маркеры, маркеры эпителиально-мезенхимального перехода и пролиферации опухолевых клеток.

3. Гистологическое строение и клеточный состав первичной опухоли и метастаза следует считать идентичными. Дополнительные методы исследования можно проводить как на препаратах первичной опухоли, так и на материале из метастаза.

4. При гистологическом исследовании особое внимание необходимо уделить митотической активности опухолевых клеток, объему интратуморального некроза и наличию лимфоваскулярной инвазии.

5. Необходимо указывать наличие более дифференцированного компонента опухоли при его выявлении.

6. Целесообразно использование модифицированного индекса Sugitani для определения прогноза заболевания.

7. Целесообразно использование морфологического прогностического индекса для определения прогноза заболевания.

8. Целесообразно определение мутации гена BRAF в АРЩЖ даже в тех случаях, в которых таргетное лечение проводится не будет.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Анапластический рак щитовидной железы является редкой и крайне агрессивной злокачественной опухолью с гетерогенными морфологическими критериями. Полученные результаты исследования позволяют определить перспективы дальнейшей разработки темы:

- продолжать изучение молекулярно-генетических аномалий первичной и метастатической опухоли в редких случаях различия их морфологического строения;
- продолжить изучение взаимосвязи эпителиоидно-сквамозного варианта анапластического рака с наличием фокусов более дифференцированной опухоли и с мутацией в гене BRAF для выделения наиболее благоприятной морфологической подгруппы;
- продолжить изучение взаимосвязи гистологического строения опухоли с ее молекулярно-генетическим профилем;
- продолжать изучение редких подгрупп анапластического рака (бифазной и недифференцированной).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Вилкова, А.С.** Морфологическое разнообразие и дифференциальная диагностика анапластического рака щитовидной железы. / А.С. Вилкова, Н.А. Козлов, В.Ж. Бржезовский // Современные проблемы науки и образования. – 2022. – № 1-6. – С. 137. (Журнал **ВАК**)
2. **Вилкова, А.С.** Сравнительный анализ прогностической значимости индекса Ki-67 и полуколичественных морфологических параметров анапластического рака щитовидной железы / А.С. Вилкова, Н.А. Козлов, В.Ж. Бржезовский, А.Ю. Волков // Современные проблемы науки и образования. – 2023. – № 2. – С. 62. (Журнал **ВАК**)
3. Лукьянов, С.А. Новые возможности дооперационной диагностики анапластического рака щитовидной железы / С.А. Лукьянов, С.В. Сергейко, С.Е. Титов, Ю.А. Веряскина, А.М. Мудунов, В.З. Доброхотова, Е.С. Козорезова, С.Л. Воробьев, А.В. Важенин, А.Ф. Романчишен, К.В. Вабалайте, **А.С. Вилкова**, Н.И. Тимофеева, Т.Е. Ильина // Опухоли головы и шеи. – 2021. – Т.11. - №1. – С. 34-40. (Журнал **ВАК**)