

**Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Национальный медицинский исследовательский центр онкологии  
имени Н.Н. Блохина»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

*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

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

**Научные руководители:**

доктор медицинских наук

**Бржезовский Виталий Жаннович**

Кандидат медицинских наук

**Козлов Николай Александрович**

Москва – 2024г.

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ. АНАПЛАСТИЧЕСКИЙ РАК ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ: КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ.....	11
1.1 Определение.....	11
1.2 Эпидемиологические особенности анапластического рака.....	11
1.3 Прогноз заболевания и особенности стадирования.....	11
1.4 Патогенез анапластического рака.....	12
1.5 Клинические особенности течения заболевания.....	13
1.6 Морфологические характеристики анапластического рака.....	15
1.7 Иммуногистохимическая диагностика анапластического рака.....	20
1.7.1. Маркеры эпителиальной и органоспецифической дифференцировки клеток.....	20
1.7.2. Неспецифические маркеры и регуляторы клеточного цикла.....	21
1.8 Молекулярно-генетические аномалии.....	22
1.9 Прогностические факторы анапластического рака.....	25
1.9.1 Клинические факторы прогноза.....	25
1.9.2 Морфологические факторы прогноза.....	27
Резюме.....	29
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	31
2.1 Общая характеристика клинических параметров анапластического рака и критерии отбора клинических случаев.....	31
2.2 Изготовление гистологических препаратов. Морфологическая характеристика анапластического рака.....	32
2.3 Изготовление иммуногистохимических препаратов. Методика оценки экспрессии маркеров в клетках опухоли.....	42
2.4 Молекулярно-генетические исследования.....	44
2.5 Оценка клинико-лабораторных параметров пациентов.....	45

2.6 Оценка контрольных точек.....	46
2.7 Статистическая обработка результатов исследования.....	46
ГЛАВА 3. КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ	
АНАПЛАСТИЧЕСКОГО РАКА .....	47
3.1 Клинико-anamнестические параметры и стадирование заболевания.....	47
3.2 Анализ морфологических особенностей анапластического рака.....	50
3.2.1 Особенности гистологического строения и клеточного состава анапластического рака.....	53
3.2.2 Сравнительный анализ гистологического строения и клеточного состава первичной опухоли и метастаза.....	60
3.3 Особенности экспрессии иммуногистохимических маркеров в анапластическом раке.....	64
Резюме.....	68
ГЛАВА 4. ФАКТОРЫ ПРОГНОЗА.....	
4.1 Клинические факторы прогноза.....	70
4.2 Морфологические факторы прогноза.....	77
4.3 Иммуногистохимические факторы прогноза.....	86
4.4 Молекулярно-генетические факторы прогноза.....	89
Резюме.....	95
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	
ВЫВОДЫ.....	
РЕКОМЕНДАЦИИ.....	
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ.....	
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	

## ВВЕДЕНИЕ

### **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. Анапластический рак щитовидной железы отличает не только крайне агрессивное течение, но и отсутствие эффективных терапевтических подходов. 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 особенностей гистологического строения некоторых 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 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 анапластического

рака щитовидной железы за последние 25 лет на малых объемах выборки носят фрагментарный характер и имеют противоречивые результаты. На территории Российской Федерации детальные морфологические исследования анапластического рака с описанием гистологических вариантов и клеточного состава не проводились вовсе. Учитывая, что 60-80% больных на момент выявления анапластического рака являются неоперабельными, перспективным направлением является применение таргетной терапии.

### **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.

### **Научная новизна**

Впервые на территории Российской Федерации на значительном объеме гистологического материала крайне редкой опухоли щитовидной железы изучены особенности гистологического строения анапластического рака щитовидной железы, выявлены статистически достоверные благоприятные и неблагоприятные клинические, морфологические и молекулярно-генетические факторы прогноза данного заболевания.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

В результате проведенного анализа ранее не исследованных гистологических параметров анапластического рака щитовидной железы выделены статистически достоверные морфологические прогностические факторы, а также иные гистологические параметры, ассоциированные с благоприятным или неблагоприятным прогнозом заболевания. Установлены клинические прогностические факторы заболевания, характерные для населения Российской Федерации. Установлена корреляция прогноза заболевания с наличием наиболее распространенных молекулярно-генетических аномалий опухоли.

Разработанные рекомендации апробированы в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России и 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 2024г.).

## **Методология и методы исследования**

Был проведен ретроспективный анализ клинико-анамнестических данных 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 2004г. по 2020г. Был проведен пересмотр гистологических препаратов анапластического рака, готовых иммуногистохимических препаратов, в некоторых случаях было проведено 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. В случаях с сомнительной клинической картиной проводилось дополнительное исследование с антителами BCL-2, S100, HMB45, Myogenin, кальцитонину.

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.

## **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 и 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 гистологически<sup>1</sup> 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. Иммуногистохимическая панель дифференциальной диагностики должна включать маркеры эпителиальной, мезенхимальной и тиреоидной дифференцировки, однако иммуногистохимический профиль опухоли не связан с ее гистологическим строением и прогнозом заболевания. Для более достоверного суждения о прогнозе заболевания рекомендуется выполнять молекулярно-генетическое исследование для выявления мутаций в генах BRAF и TERT.

### **Соответствие диссертации 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).

## **Степень достоверности и апробация результатов**

В исследование включено значительное количество пациентов с крайне редкой опухолью щитовидной железы, проведен многосторонний анализ клинико-anamнестических, гистологических, иммуногистохимических и молекулярно-генетических данных, корректный статистический анализ полученных данных. Молекулярно-генетические исследования выполнены с применением современных методик.

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 года.

## **Публикации по теме диссертации**

Материалы диссертационных исследований изложены в полном объеме в 3 статьях в журналах, которые внесены в перечень рецензируемых изданий, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных результатов 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.

# **ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ. АНАПЛАСТИЧЕСКИЙ РАК ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ: КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ**

## **1.1 Определение**

Анапластический рак (АР) – это высоко злокачественная эпителиальная опухоль щитовидной железы (ЩЖ), представленная клетками, утратившими фолликулярную дифференцировку [1].

## **1.2 Эпидемиологические особенности анапластического рака**

АР является одним из самых редких злокачественных новообразований (ЗНО) ЩЖ. Частота встречаемости АР составляет 1-2 случая на 1 миллион первичных опухолей ЩЖ, а его доля обычно не превышает 1.6% от всех ЗНО ЩЖ [1, 2]. Известно, что заболеваемость АР в два раза выше в регионах, для которых характерно наличие эндемического зоба среди населения [3-6]. В группу риска также попадают пациенты, в анамнезе которых присутствуют ЗНО ЩЖ [7].

Средний возраст пациентов на момент постановки диагноза составляет 55-65 лет, при этом пик заболеваемости АР приходится на шестую-седьмую декады жизни [1, 3, 4]. Доля пациентов с данным заболеванием моложе 60 лет оставляет не более 25%. В мировой литературе описаны единичные случаи АР у детей, возраст самого молодого пациента составил 5 лет [9]. Женщины заболевают несколько чаще мужчин, соотношение пациентов женского и мужского пола колеблется от 3:1 до 1,2:1 [1-6].

## **1.3 Прогноз заболевания и особенности стадирования**

Средняя продолжительность жизни после постановки диагноза составляет от 4 до 12 месяцев [4], выживаемости более 1 года с момента постановки диагноза

достигают лишь 10-20% пациентов [10-12]. Длительная продолжительность жизни при таком диагнозе настолько редка [11], в связи с чем при достижении больным пятилетней выживаемости под сомнение ставится правильность постановки диагноза [12]. Наиболее длительный период безрецидивной выживаемости, описанный в мировой литературе, составляет 6 лет с начала заболевания [13].

Ввиду крайне агрессивного поведения и быстрого прогрессирования, всем пациентам с АР, независимо от размера первичной опухоли, наличия регионарных или отдаленных метастазов, присваивается IV стадия заболевания по TNM-классификации [14] (Таблица 1).

**Таблица 1** – TNM-стадирование анапластического рака щитовидной железы

Стадия	TNM-7 (AJCC)	Стадия	TNM-8 (AJCC)
IVA	T <sub>4a</sub> N <sub>0-1</sub> M <sub>0</sub>	IVA	T <sub>1-3a</sub> N <sub>0</sub> M <sub>0</sub>
IVB	T <sub>4b</sub> N <sub>0-1</sub> M <sub>0</sub>	IVB	T <sub>1-3a</sub> N <sub>1</sub> M <sub>0</sub> T <sub>3b</sub> N <sub>0-1</sub> M <sub>0</sub> T <sub>4</sub> N <sub>0-1</sub> M <sub>0</sub>
IVC	T <sub>1-4</sub> N <sub>0-1</sub> M <sub>1</sub>	IVC	T <sub>1-4</sub> N <sub>0-1</sub> M <sub>1</sub>

#### 1.4 Патогенез анапластического рака

До сих пор остается неизвестным, является ли АР опухолью *de novo* или возникает вследствие дедифференцировки высокодифференцированного рака щитовидной железы (ВДР) [15]. Последняя теория поддерживается многочисленными задокументированными фактами сосуществования ВДР и АР [12, 16]. Некоторые исследователи описывают «переходные зоны» от ВДР к АР, а также микрофокусы ВДР в АР [17]. По разным данным, доля ВДР, обнаруженного в АР, составляет от 23 до 90% [3]. В исследовании 42 случаев АР с тотальным забором операционного материала, Ibanez с соавт. [18] обнаружили фокусы ВДР

во всех 42 случаях. Невозможность обнаружить фокусы ВДР в АР, как полагается, вызвана неадекватным исследованием операционного материала [18].

Еще одним косвенным подтверждением теории анапластической трансформации ВДР может служить то, что большая доля пациентов с АР пожилого возраста, с длительным наличием зоба или предсуществовавшим ВДР [1, 3, 4]. Также известно, что встречаемость АР выше в областях с эндемическим зобом и у пациентов с неадекватно пролеченным папиллярным или фолликулярным раком ЩЖ [4, 5].

Хотя каждый вид ВДР может быть ассоциирован с АР, наиболее часто исследователи обнаруживают фокусы папиллярного рака [21-23], особенно его агрессивных вариантов (как правило, вариант из высоких клеток – tall cell variant) и низкодифференцированного рака (НДР) [3, 19, 20], что также говорит в пользу теории анапластической трансформации ВДР в АР.

Считается, что некоторую роль в дедифференцировке ВДР в АР играет мутация гена TP53. Доказано, что потеря экспрессии p53 (маркера гена-супрессора опухоли TP53) играет роль в злокачественной трансформации опухолей толстой кишки, легких и молочной железы. Потеря экспрессии или наличие гиперэкспрессии антитела к p53 в опухолевых клетках может свидетельствовать о трансформации ВДР в АР.

### **1.5 Клинические особенности течения заболевания**

У большинства пациентов заболевание проявляется в виде быстро растущих узлов в области передней поверхности шеи, в проекции щитовидной железы. В своем исследовании 134 пациентов с АР, McIver с соавт. [24] отметили, что быстро растущие узлы в области шеи являлись причиной обращения за медицинской помощью у 97% пациентов. Известно, что АР способен за неделю удваивать собственный объем [23]. Вследствие этого, АР чаще и быстрее, чем другие ЗНО ЩЖ прорастает в прилежащие анатомические структуры: мышцы (60%), трахею (50%), пищевод (45%) крупные нервы (30%), гортань (15%) и

кровеносные сосуды. Самыми частыми и наиболее значимыми симптомами является охриплость (80%), дисфагия (60%), паралич голосовых связок (50%), болевой симптом (30%) и диспноэ (20%) [20].

При пальпации опухолевые узлы плотные, не смещаемые, болезненные. АР может проявляться как в виде единичного узла (60%), так и в виде множественных узлов (40%). Примерно в 25% случаев в процесс вовлекаются обе доли ЩЖ [20, 21]. Средний размер узла составляет 8см, и может варьироваться от 3 до 20 см [3]. Типичный вид пациента с АР представлен на рисунке 1.

У 40% пациентов при первичном обращении наблюдаются признаки метастатического поражения регионарных лимфатических узлов шеи и наличие отдаленных метастазов. Наиболее частыми локализациями отдаленных метастазов АР являются легкие (50%), кости (15%) и головной мозг (10%) [20]. В своем исследовании 45 аутопсийных случаев, N. Besic и V. Gazic [30] также описали метастатическое поражение плевры, надпочечников, печени, сердца, почек, кожи, поджелудочной железы, желудка, тощей кишки, яичников, слизистой оболочки десны, гипофиза.



**Рисунок 1** – Пациент с анапластическим раком щитовидной железы

## 1.6 Морфологические характеристики анапластического рака

Макроскопически АР представляет собой розовато-сероватые или желтовато-белесоватые плотноватые крупные узлы с обширными очагами некроза и кровоизлияниями (Рисунки 2, 3, 4). На сегодняшний день описаны многочисленные гистологические варианты АР, из которых можно выделить три наиболее часто встречающихся: саркоматоидный (53%), гигантоклеточный (50%) и эпителиоидно-сквамозный (19%) [14, 20-29]. При этом в одной и той же опухоли возможно сочетание нескольких вариантов строения в различных соотношениях, либо АР может быть представлен только одним морфологическим типом клеток.

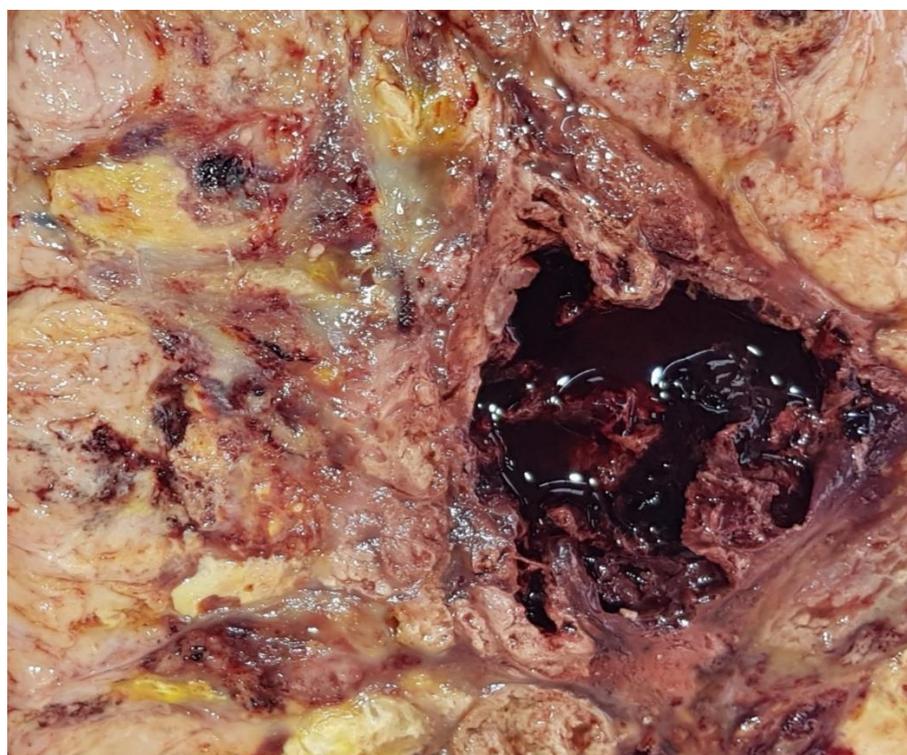


**Рисунок 2** – Общий вид макропрепарата удаленной щитовидной железы



Верхний ряд – опухолевоизмененная доля щитовидной железы,  
нижний ряд – неизменная доля щитовидной железы

**Рисунок 3** – Препарат удаленной щитовидной железы на разрезе



**Рисунок 4** – Макропрепарат анапластического рака щитовидной железы с кровоизлияниями и очагами некроза

Саркоматоидный вариант построен из веретеновидных клеток, имеет пучковое строение, неотличимое от веретеночлеточных сарком. Этот вариант, как правило, хорошо васкуляризирован, с многочисленными анастомозирующими каналами, выстланными опухолевыми клетками [23-29].

Одним из редких подтипов саркоматоидного варианта АР является бедноклеточный вариант. Он был впервые описан Wan с соавт. в 1995 году как подтип АР, макро- и микроскопически имитирующий тиреоидит Ридделя [31]. Он характеризуется низкой клеточностью, высокой степенью фиброза и гиалинизации, наличием веретеновидных клеток, напоминающих фибробласты или миофибробласты, отсутствием выраженной ядерной атипии и скудной лимфоцитарной инфильтрацией.

Морфологические особенности, позволяющие диагностировать бедноклеточный вариант АР, включают наличие очагов коагуляционного некроза с «тенями» ранее существовавших кровеносных сосудов; слабая клеточная атипия; наличие митозов в наиболее клеточных областях и на периферии полей фиброза [31].

Гигантоклеточный вариант АР представлен крайне плеоморфными клетками с обильной эозинофильной цитоплазмой, множественными гиперхромными полиморфными ядрами. Из-за сходства опухолевых клеток с остеокластами, этот вариант АР иногда называют остеокластоподобным [25-29]. Гигантские опухолевые клетки рассеяны среди более мелких мононуклеарных элементов с аналогичными цитоплазматическими особенностями. Характер роста, как правило, солидный, однако при тщательном исследовании материала могут быть выявлены альвеолярные и/или псевдожелезистые структуры. По мнению ряда авторов, это может быть вызвано разделением опухолевых клеток вследствие проводки образцов (гистологические «артефакты»). Иногда цитоплазма опухолевых клеток может иметь светлый или зернистый вид, что вызывает необходимость проводить дифференциальную диагностику со светлоклеточным и онкоцитарным раком. На АР в таких случаях указывает выраженный

плеоморфизм опухолевых клеток, высокая митотическая активности и наличие очагов некроза [26].

Эпителиоидно-сквамозидный вариант АР характеризуются наличием полигональных опухолевых клеток с характерными морфологическими признаками эпителия. Он является гистологически менее гетерогенным, чем саркоматоидный вариант опухоли. Опухолевые клетки располагаются гнездами, разделенными десмопластической стромой. Этот вариант составил примерно 20% случаев АР, описанных в самой большой серии наблюдений [20]. Наиболее часто он наблюдается в сочетании с веретенклеточным и/или гигантоклеточным вариантами АР.

Два подтипа АР также относятся к эпителиоидно-сквамозидному варианту. Так, АР с плоскоклеточной дифференцировкой представляет собой вариант АР с наличием веретенковидных клеток и плоскоклеточными островками, содержащими фокусы ороговения. Изначально он был описан Bronner и LiVolsi как уникальный подтип АР, связанный с вариантом папиллярного рака ЩЖ из высоких клеток [32]. В недавних исследованиях было отмечено, что этот вариант АР может клинически и гистологически имитировать плоскоклеточный рак гортани [33]. Вторым подтипом эпителиоидно-сквамозидного варианта АР является лимфоэпителиомоподобный АР, гистологические особенности которого делают его сходным с лимфоэпителиомой носоглотки и лимфоэпителиомоподобным раком других локализаций [34]. В частности, лимфоэпителиомоподобный АР состоит из пластов крупных эпителиальных клеток с плотным воспалительным инфильтратом, включающим преимущественно лимфоциты и плазматические клетки. Примечательно, что в случае с этим вариантом АР не выявлено связи с инфицированием вирусом Эпштейна-Барр, как в случаях с лимфоэпителиомоподобной карциномой других локализаций.

В настоящее время первичная карциносаркома ЩЖ также признана вариантом АР, но некоторые авторы считают, что эта опухоль должна быть признана самостоятельной нозологической единицей [35]. Хотя патогенез карциносаркомы ЩЖ остается неизвестным, предполагается, что она происходит

как из эпителиальных, так и из мезенхимальным элементов ЩЖ [35-37]. Подтверждением этому служит экспрессия тиреоглобулина (ТГВ) эпителиальным компонентом опухоли и виментина – мезенхимальным. В противовес этому исследования патогенеза АР предполагают моноклональное происхождение опухоли из эпителиальных клеток, а саркомо-подобную морфологическую картину – аплазией эпителиальных клеток в процессе канцерогенеза [37].

Еще один вариант АР можно считать первичную рабдоидную опухоль ЩЖ. Рабдоидная опухоль впервые описана Beckwith и Palmer в 1978 г. [37] как вариант опухоли Вильмса у детей. Опухоль состоит из крупных плеоморфных клеток с обильной цитоплазмой, парануклеарными эозинофильными включениями, эксцентрично расположенным ядром с различным ядрышком. Иммунофенотип рабдоидной опухоли может варьироваться от случая к случаю: в мировой литературе встречаются описания экспрессии опухолевыми клетками виментина, миогенина, маркеров эпителиальной и гладкомышечной дифференцировки, нейрон-специфических маркеров и S100 [37-43].

Как и АР, первичная рабдоидная опухоль ЩЖ является редким и агрессивным заболеванием со средней выживаемостью в несколько месяцев после постановки диагноза и высокой смертностью. Она также встречается преимущественно у людей пожилого возраста, характеризуется быстрым ростом с вовлечением экстра tireоидных структур и регионарных лимфатических узлов. Ввиду сходной клинической картины, эта опухоль, скорее, является вариантом АР [41-43]. Подтверждением этого являются описанные в литературе интратуморальные фокусы фолликулярного или папиллярного рака ЩЖ в некоторых случаях первичной рабдоидной опухоли ЩЖ [43].

Для всех вариантов АР характерно наличие очагов некроза, повышенной митотической активности, инфильтративного характера роста. Часто наблюдается сосудистая инвазия, выраженный воспалительный инфильтрат, преимущественно нейтрофильного типа, что гистологически роднит опухоль с воспалительным вариантом плеоморфных сарком [20].

Гетерологичные элементы, такие как костный и хрящевой матрикс, элементы рабдомиосаркомы, также могут быть обнаружены. Образование матрикса с дифференцировкой в направлении хондро- и остеосаркомы отмечалось в 5% случаев АР [44]. Также были описаны случаи АР с наличием фокусов рабдомиосаркомы [45]. Carda с соавторами сообщили о двух случаях, в которых наличие фокусов рабдомиобластической дифференцировки было доказано с помощью электронно-микроскопического и иммуногистохимического исследований [44].

## **1.7 Иммуногистохимическая диагностика анапластического рака**

С учетом большого количества крайне разнообразных морфологических форм АР и плохого прогноза по сравнению с другими ЗНО ЩЖ, целесообразно проведение иммуногистохимического исследования для подтверждения диагноза.

### **1.7.1. Маркеры эпителиальной и органоспецифической дифференцировки клеток**

АР демонстрирует крайне вариабельный иммунофенотип. Экспрессия опухолевыми клетками PanCK присутствует в 45–91% случаев [46]. Наиболее часто обнаруживается экспрессия маркеров, направленных на выявление низкомолекулярных цитокератинов, например, СК 8, 18 и 19 [46-47]. Экспрессия виментина, как правило, постоянно присутствует в веретеновидных клетках саркоматоидного варианта, тогда как экспрессия ЕМА и СЕА особенно характерна для клеток эпителиоидно-сквамозидного варианта [46-48]. Тем не менее, отсутствие экспрессии опухолевыми клетками эпителиальных маркеров не исключает диагноз АР [49-50].

TGB является субстратом для синтеза гормонов Т4 и Т3; он производится и секретируется исключительно фолликулярными клетками щитовидной железы. Еще одним маркером тиреоидной дифференцировки является тиреоидный фактор

транскрипции (ТТФ1; также известный как гомеобоксный белок NKX2.1). Как правило, клетки АР утрачивают экспрессию маркеров тиреоидной дифференцировки (ТТФ-1, ТГВ) [51]. Экспрессия ТГВ клетками АР является спорной, по сообщениям в диапазоне от 0% до 50%, часто описывается как «слабое или неоднозначное окрашивание» [51]. Ложноположительная экспрессия ТГВ может быть результатом замурованных в опухоли нормальных фолликулярных клеток щитовидной железы [51].

РАХ8 является транскрипционным фактором, экспрессируемым в ядрах нормальной и опухолевой ткани щитовидной железы. Исследования, включавшие оценку экспрессии РАХ8 в клетках АР, демонстрировали крайне различные результаты [52]. Тем не менее, РАХ8 играет значимую роль при диагностике АР. В 92% случаев АР, имеющих сквамозные признаки, была выявлена экспрессия РАХ8, в отличие от плоскоклеточного рака головы и шеи и рака легких. Тем не менее, до 20% случаев АР не экспрессируют РАХ-8 [43, 52-54].

Немногочисленные исследования, посвященные поиску новых диагностических маркеров, не принесли значимого результата. Единичные сообщения об экспрессии клетками АР GATA 3 [55] или снижении экспрессии опухолевыми клетками галектина-3 и Е-кадгерина [56], не использовались в дальнейших исследованиях. В настоящее время нельзя достоверно высказаться об их значимости в иммуногистохимической диагностике АР.

### **1.7.2. Неспецифические маркеры и регуляторы клеточного цикла**

Для АР характерна повышенная митотическая активность и высокий уровень экспрессии Ki-67. Ki-67 представляет собой лабильный негистоновый ядерный белок, экспрессируемый в фазах G1, S, G2 и M клеточного цикла и является маркером клеточной пролиферации. По разным данным, индекс Ki-67 в АР в среднем составляет 32,6-52,6% [44, 57-58]. В настоящее время одним из критериев АР является индекс Ki-67 более 30%.

Еще одним из иммуногистохимических маркеров, качественно выделяющих AP из группы карцином щитовидной железы, является p53. P53 является белковым продуктом гена-супрессора опухоли TP53, расположенного в регионе 17p13 и продуцирующего ядерный фосфопротеин, участвующий в регуляции транскрипции. Гиперэкспрессия p53 в ядрах опухолевых клеток или ее полное отсутствие значимо коррелируют с наличием в опухоли мутации гена TP53, характерной для AP [59, 60]. Учитывая повсеместный характер мутаций гена TP53 в большинстве ЗНО других локализаций, мутация гена TP53 является наиболее часто упоминаемой в литературе мутацией AP. По разным данным, мутация гена TP53 выявляется в 30-70% случаев AP [59-61].

### **1.8 Молекулярно-генетические аномалии**

Исследования генетического профиля APЦЖ показывают, что данная опухоль характеризуется наличием сразу нескольких генетических аномалий. К наиболее часто упоминаем относятся мутации BRAF, TP53 и TERT с частотой встречаемости 11-91%, 50-80% и 55%, соответственно [62-64].

Ген BRAF кодирует белок, относящийся к типу серин/треонин-протеинкиназ. Этот белок участвует в регуляции сигнального пути MAPK (mitogen-activated protein kinase), который отвечает за деление и дифференцировку клеток. В случае возникновения мутации продуцируется атипичный белок, запускающий механизм избыточного переноса сигнала к факторам роста. Результатом этого является ускоренное деление клеток и, соответственно, увеличение объемов опухоли. Наиболее распространенной является точечная мутация BRAF с.1799T>A, p.V600E [62].

Теломеразная обратная транскриптаза (TERT) представляет собой каталитический домен теломеразы, роль которого заключается в добавлении теломер для сохранения целостности хромосом и стабильности генома. Доказано, что мутация гена TERT играет важную роль в активации теломеразы при злокачественной трансформации клеток [65, 66]. Две наиболее распространенных

TERT-промоторные мутации, возникающие при раке щитовидной железы, расположены в промоторной области (chr: 5,1 295 228 C>T (C228T) и 1 295 250 C>T (C250T)). Эти две мутации являются взаимоисключающими, наиболее частой мутацией гена TERT в карциномах щитовидной железы является мутация C228T [62].

Белок, кодируемый геном TP53, участвует в нескольких клеточных процессах. Он может вызвать остановку клеточного цикла, апоптоз, старение, репарацию ДНК или изменения метаболизма. В карциномах щитовидной железы, в основном в АРЦЖ, мутации гена TP53 локализуются преимущественно в экзонах 5–9, а наиболее часто задействован кодон 273 [67, 68].

Мутации гена BRAF описаны в различных ЗНО, включая неходжкинскую лимфому, колоректальный рак, меланому, рак щитовидной железы, немелкоклеточный рак легкого. Отмечается различная распространенность мутаций BRAF в морфологических вариантах ПРЦЖ, наибольшая распространенность мутации выявлена у ПРЦЖ из высоких клеток (tall cell variant) [63].

В нескольких исследованиях, изучавших роль мутации BRAF-V600E в качестве прогностического фактора, была выявлена корреляция наличия мутации с плохим прогнозом ПРЦЖ. В частности, выявлена корреляция наличия мутации BRAF с экстра tireоидным распространением ЗНО и наличием метастазов в регионарных лимфатических узлах. Данные показатели являются общеизвестными факторами, связанными с повышенной частотой рецидивов и смертностью при ПРЦЖ [67-73]. Напротив, отдельные исследования говорят о корреляции наличия мутации BRAF-V600E с хорошим прогнозом АРЦЖ, однако нельзя исключить данную связь с применением таргетной терапии [74, 75].

Мутация гена TP53 может быть обнаружена в АРЦЖ совместно с другими генетическими изменениями, описанными в ПРЦЖ или в фолликулярном раке (ФР) ЩЗ, но не встречается в доброкачественных новообразованиях [76]. Некоторые исследования сообщают о сочетанных мутациях TP53 и BRAF в АРЦЖ [70-76]. В некоторых случаях АРЦЖ с фокусами ВДРЦЖ, мутация

BRAFV600E была обнаружена в обоих компонентах опухоли [76-78]. В исследовании Quiros с соавторами было также доказано наличие мутации BRAF в анапластическом и дифференцированном компонентах опухоли, а наличие мутации TP53 только в анапластическом компоненте [79]. Эти данные позволяют предположить влияние мутаций TP53 и BRAF на возникновение АРЦЖ путем анаплазии предсуществующего BRAF-положительного дифференцированного рака ЦЖ при возникновении мутации гена TP53.

В некоторых исследованиях была выявлена корреляция наличия мутации TERT с агрессивным течением заболевания [56, 80-82]. Так, данная мутация реже встречается в ПРЦЖ, чем в АРЦЖ [58]. Наблюдается прямая корреляция наличия мутаций TERT и агрессивности заболевания в различных гистологических вариантах ПРЦЖ. Отмечена и обратная корреляция: мутации TERT не обнаружены в не столь агрессивных случаях ПРЦЖ у пациентов детского возраста [83, 84]. Также мутации TERT не обнаружены при доброкачественных заболеваниях ЦЖ [82].

Еще одно исследование Bin Xu с соавторами наличия сочетанных мутаций в АРЦЖ показывает корреляцию наличия сочетанных мутаций в генах BRAF/RAS и TERT с более плохим прогнозом, чем наличие мутации только одного гена [85]. Большинство исследований сочетанных мутаций BRAF и TERT в АРЦЖ демонстрирует их взаимосвязь с плохим прогнозом [86-88].

Корреляции генетических аномалий АРЦЖ и особенностей его морфологического строения или клинической картине заболевания посвящено крайне мало исследований. В одном из них Chen с соавторами выявили взаимосвязь наличия мутации BRAF с наличием очагов плоскоклеточной дифференцировки клеток АРЦЖ [88]. В другом Shi с соавторами выявили корреляцию наличия мутации TERT с наличием мутации BRAF в АРЦЖ, возрастом пациентов >60 лет и наличием отдаленных метастазов [87].

Более редкими описанными мутациями являются мутации генов RET, RAS (20-40%), PTEN (5-15%), PIC3CA (10-20%), EGFR (1.8%), CDKN2C (3.2%), AKT1 (4.1%), HRAS (4.4%), CDKN2A (4.9%), TSHR (5.2%), KRAS (7.5%), EIF1AX

(10.9%), NF1 (10.9%), AXIN1 (17.1%), NRAS (15.7%), однако их влияние на течение и прогноз заболевания не изучено [56-58].

## **1.9 Прогностические факторы анапластического рака**

На сегодняшний день в мировой литературе встречаются многочисленные сообщения о факторах прогноза АР. Наиболее масштабные исследования носят ретроспективный характер и основаны на клинических данных пациентов (пол, возраст, данные анамнеза, стадия заболевания, наличие регионарных и отдаленных метастазов). Некоторые исследования архивных гистологических препаратов АР, показывают ошибочность постановки первичного диагноза. Так случаи, ранее классифицировавшиеся как АР, при пересмотре квалифицированными патоморфологами и проведении вспомогательных исследований, были отнесены к НДР, медуллярному раку щитовидной железы, лимфоме. Данные обстоятельства подтверждают необходимость иммуногистохимической верификации диагноза, так как все вышперечисленные заболевания имеют более благоприятный прогноз и иные тактики лечения [4].

### **1.9.1 Клинические факторы прогноза**

По различным данным соотношение пациентов с АР женского и мужского пола составляет от 3:1 до 1,2:1 [1,3]. Хотя некоторые исследования указывают на более неблагоприятное течение заболевания у пациентов женского пола, статистически достоверных различий между общей выживаемостью пациентов в зависимости от пола не получено [101-108]

Одним из наиболее значимых факторов является возраст пациента. По разным данным, возраст более 50 лет [91-95], более 60 лет [96-99], более 65 лет [100] или более 70 лет [101-106] указывает на плохой прогноз. Такая разница в данных мировой литературы, очевидно связана с разной средней продолжительностью жизни в разных странах. Так, возраст более 50 лет является

неблагоприятным фактором для жителей Европы, а более 70 лет для стран Азии и, в частности, Японии. Подобный порог, характерный именно для Российской Федерации в мировой литературе не обозначен.

Еще одним значимым неблагоприятным фактором, доказанным в большинстве исследований, является лейкоцитоз ( $>10,000$  WBC/ $\text{мм}^3$ ) [95-108]. Данный параметр является общим для большинства исследований, изучавших влияние клинических параметров на продолжительность жизни пациентов.

Возраст пациентов более 60 лет и лейкоцитоз более  $10,000$  WBC/ $\text{мм}^3$  в настоящее время признаны как неблагоприятные факторы прогноза АР и описаны в классификации ВОЗ опухолей эндокринных органов 2017 года [4].

Исследования других клинических параметров носят более противоречивый характер. В некоторых исследованиях на неблагоприятный прогноз заболевания указывают: наличие острых симптомов на момент манифестации заболевания (дисфагия, дисфония, диспноэ) [97]; наличие отдаленных метастазов [96, 99, 106]; наличие пораженных лимфатических узлов [94, 101]. На благоприятный прогноз указывают: отсутствие внеорганного распространения [95, 97, 107], размер опухоли  $<5\text{см}$  [97-105] или менее  $7\text{см}$  [102]; наличие в анамнезе зоба щитовидной железы более 10 лет [103-108].

На основании своих исследований, I. Sugitani с соавт. [109] разработали прогностический индекс (ПИ) АР. Были выделены наиболее значимые прогностические факторы: наличие острых симптомов, размер опухоли ( $>5\text{см}$ ), лейкоцитоз ( $>10,000$  WBC/ $\text{мм}^3$ ) и наличие отдаленных метастазов. При наличии признака ему присваивается 1 балл. Суммарный рейтинг 3-4 балла указывает на неблагоприятный прогноз. ПИ Sugitani получил статистическое подтверждение, однако не имеет широкого распространения в мировой литературе и врачебной практике.

### 1.9.2 Морфологические факторы прогноза

В настоящее время считается, что гистологические варианты и подтипы АР не имеют клинического и прогностического значения. Более того, некоторые авторы считают, что выделение морфологических вариантов АР является излишним гистологическим параметром, вносящим неопределенность в работу лечащего врача [4].

Подавляющее большинство мировой литературы носит исключительно описательный характер гистологического строения различных вариантов АР. Тщательно описаны наиболее часто встречающиеся и редкие формы АР без указания иных гистологических параметров, описываемых для других ЗНО различных локализаций. Так, например, во всех исследованиях имеется акцент на высокой митотической активности опухолевых клеток, без указания пограничных значений [4, 16, 20]. В то же время понятие высокой митотической активности относительно и зависит не только от гистогенеза, но и органной принадлежности опухоли. Высокодифференцированные ЗНО ЩЖ отличаются крайне низкой митотической активностью: при случайном исследовании 10 РПЗ можно не выявить ни одного митоза. Повышение митотической активности ЗНО ЩЖ до 3 митозов в 10 РПЗ является одним из параметров для постановки диагноза НДР [4]. Граница митотической активности между НДР и АР остается неизвестной.

Наличие очагов некроза, как правило, указывает на злокачественный характер заболевания и влияет на постановку диагноза в некоторых других локализациях (головной мозг, надпочечник). Очаги некроза не характерны для ВДР, но описаны при НДР ЩЖ, и, безусловно, указывают на более агрессивный характер опухоли. Однако остается неизвестным влияние их наличия или занимаемый объем на прогноз заболевания [4].

Особенностью АР также является разнообразный клеточный состав опухоли. В одном опухолевом узле могут присутствовать эпителиоидные, сквамиеидные, саркоматоидные, рабдоидные и остеокластоподобные клетки. Разнообразие клеточных элементов не является уникальной особенностью АР. К

примеру, папиллярный рак ЩЖ также обладает внутриопухолевой гетерогенностью: в одной опухоли могут сосуществовать типичные сосочковые, фолликулярные и крибриформные структуры, представленные высокими, столбчатыми, светлыми или оксифильными клетками. Однако критерием для постановки папиллярного рака из высоких клеток является наличие данных элементов, занимающих более 30% объема опухоли. Для постановки диагноза «Гюртле-клеточное новообразование» необходимо значительное преобладание онкоцитарных клеток (более 70-75% объема опухоли) [4]. Остается неизвестным, насколько должен быть выражен тот или иной клеточный элемент в АР для выделения его в отдельный гистотип, имеет ли влияние наличие определенных клеточных элементов на течение и прогноз заболевания.

Одним из немногих исследований, уделяющих внимание гистологическому строению опухоли, является исследование М. Hirokawa с соавт. [110]. В их исследовании 156 случаев АР, пациенты были разделены на 2 группы: с продолжительностью жизни менее 3 месяцев после постановки диагноза (short-term survival; STS) и более 3 месяцев (long-term survival; LTS). Было установлено, что наличие рабдоидного компонента в группе STS значительно выше, что делает ее неблагоприятным фактором прогноза. В группе LTS благоприятными факторами оказались: наличие предрасполагающей опухоли, эпителиоидный тип опухоли и наличие плоскоклеточного компонента.

Еще одним исследованием, рассматривавшем патоморфологические характеристики АР, стала работа N. Besic и B. Gazic по изучению отдаленных метастазов АР. Несмотря на то, что целью их исследования был поиск отдаленных метастазов, им удалось установить, что ни клинические, ни патоморфологические характеристики опухоли не влияют на количество и расположение отдаленных метастазов. Однако при наличии большого количества образцов первичной опухоли и отдаленных метастазов, сравнения их гистологических особенностей не проводилось.

Стоит отметить, что в большинстве исследований факторов прогноза АР не учитывались гистологические варианты, клеточный состав и иные параметры

опухоли (митотическая активность опухолевых клеток, очаги некроза, сосудистая инвазия и др.).

Немногочисленные исследования посвящены изучению прогностической значимости характером экспрессии некоторых ИГХ-маркеров. Большинство из них носят единичный характер или демонстрируют противоречивые результаты.

Одним из наиболее интересных исследований в рамках нашей работы, стала изучение взаимосвязи экспрессии клетками опухоли PAX8 и продолжительности жизни пациентов. N. Becker с соавт [111]. выявили экспрессию PAX8 в 18 из 30 случаев. Средняя выживаемость в PAX8-положительной группе составила 4,9 месяцев, против 2 месяцев в PAX8-негативной группе, что, безусловно, говорит о корреляции экспрессии PAX8 со статистически значимо лучшей общей выживаемостью ( $p < 0,05$ ).

## Резюме

AP является наиболее агрессивной опухолью щитовидной железы и отличается крайне неблагоприятным прогнозом. Средняя выживаемость после постановки диагноза составляет 4-12 месяцев, однако в мировой литературе зафиксированы редкие случаи двух- и пятилетней выживаемости.

Исследования неблагоприятных факторов прогноза AP затрагивали, как правило, клинические данные пациентов. Несмотря на разрозненные и местами противоречивые данные о влиянии клинических параметров на прогноз заболевания, в настоящее время общепризнанными неблагоприятными факторами прогноза являются возраст пациентов более 60 лет и лейкоцитоз  $> 10,000$  WBC/ $\text{mm}^3$ .

До настоящего времени общепринятой оставалась мысль об отсутствии различий в течении и прогнозе разных гистологических вариантов AP. Теперь, когда мы располагаем многочисленными данными о значимости гистологического строения некоторых ЗНО на клиническую картину заболевания, в мировой литературе появляются единичные сообщения о взаимосвязи гистотипа

и прогноза АР. Ввиду своей редкости и определенным сложностям получения достаточного объема материала для тщательного гистологического исследования ввиду нерезектабельности некоторых карцином, АР остается одним из наиболее сложных для изучения новообразований ЦЖ.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Общая характеристика клинических параметров анапластического рака и критерии отбора клинических случаев

В исследование было включено 37 пациентов, 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». Критериями отбора служили:

1. Диагноз АР, подтвержденный гистологически или иммуногистохимически.
2. Наличие анамнестических данных, стационарной и/или амбулаторной медицинской документации.
3. Наличие гистологических препаратов операционного и/или биопсийного, и/или аутопсийного материала первичной и/или метастатической опухоли.
4. Исключение случаев с конкурирующими злокачественными новообразованиями.
5. Исключение случаев послеоперационной летальности (в пределах 30 суток).
6. Исключение случаев наступления летальных исходов, не связанных с прогрессированием АРЩЖ.

В случае отсутствия иммуногистохимического исследования или использования ограниченного количества иммуногистохимических маркеров при первичном исследовании, нами было проведено повторное или расширенное иммуногистохимическое исследование на базе патологоанатомического отделения НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина.

С учетом вышеизложенных критериев, из исследования было исключено семь пациентов. В четырех случаях с помощью проведения ИГХ-исследования на базе НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина у пациентов были верифицированы иные ЗНО ЩЖ: медуллярный рак ЩЖ, низкодифференцированный рак ЩЖ,

первичная В-крупноклеточная лимфома ЩЖ и интратиреоидная тимическая карцинома. В одном случае, при наличии соответствующих гистологических и иммуногистохимических параметров, в течение пяти лет после постановки диагноза у пациента не было отмечено ухудшения состояния, наличия регионарных или отдаленных метастазов, что позволило пересмотреть ранее поставленный диагноз и классифицировать заболевание как тиреоидит Ридделя. Еще в двух случаях у пациентов при дообследовании выявились иные злокачественные новообразования в виде плоскоклеточного рака гортани и плоскоклеточного рака носоглотки соответственно, в этих случаях поражение щитовидной железы следует расценивать как вторичное.

## **2.2 Изготовление гистологических препаратов. Морфологическая характеристика анапластического рака**

Операционный и биопсийный материал первичных и рецидивных/метастатических опухолей фиксировался в нейтральном забуференном формалине и заключался в парафин. Срезы с парафиновых блоков окрашивались гематоксилином и эозином в соответствии со стандартной методикой для проведения рутинного гистологического исследования.

Макроскопическая оценка опухолей включала следующие параметры:

- размеры первичной опухоли, см (в трех измерениях);
- визуальное распространение на смежные анатомические структуры;
- объем очагов некроза в первичной опухоли.

Микроскопическое исследование проводилось с учетом следующих параметров:

- выявление диагностически значимых гистологических признаков анапластического рака щитовидной железы в соответствии с критериями Классификации ВОЗ (2017);
- анализ гистоархитектоники опухоли с указанием гистологического варианта AP;

- полуколичественный анализ цитоморфологического состава первичной опухоли и метастазов;
- клеточность первичной опухоли;
- оценка митотического индекса первичной опухоли;
- выявление сосудистой и периневральной инвазии,
- наличие компонента менее злокачественной карциномы щитовидной железы (опухоли-предшественника);
- наличие в АР признаков гетерологичной (остео-, хондро- или миогенной) дифференцировки;
- оценка наличия, степени выраженности и клеточного состава воспалительного инфильтрата внутри анапластического рака;
- оценка объема очагов некроза в первичной опухоли;
- наличие метастатического поражения лимфатических узлов.

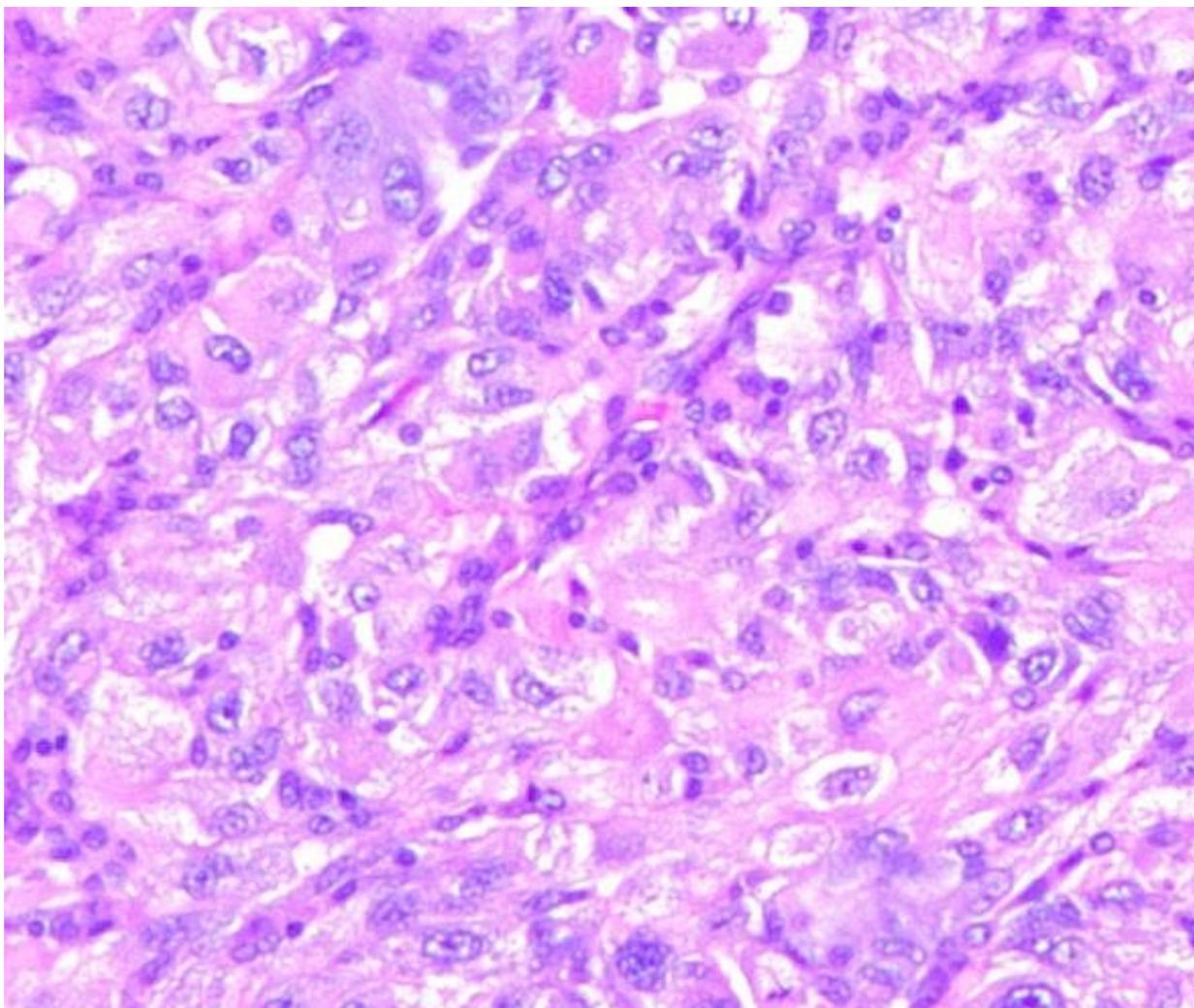
Микроскопическое исследование проводилось при увеличении x200 и x400.

Цитоморфологически, АР демонстрировал крайне переменный клеточный состав опухолевых элементов, значительно отличающихся по своим размерам, форме, интенсивности окрашивания ядер и цитоплазмы, соотношению с внеклеточным матриксом. С целью унификации высокой гетерогенности клеточного состава все клеточные элементы АР были разделены на 6 цитоморфологических категорий:

- эпителиодные;
- плеоморфные;
- веретеновидные;
- рабдоидные;
- остеокласто-подобные гигантские многоядерные;
- перстневидные.

Эпителиодные клетки – округло-овальные и полигональные клеточные элементы с везикулярными ядрами, заметным объемом цитоплазмы независимо от ее тинкториальных свойств, относительно мономорфные, размерами не более 4

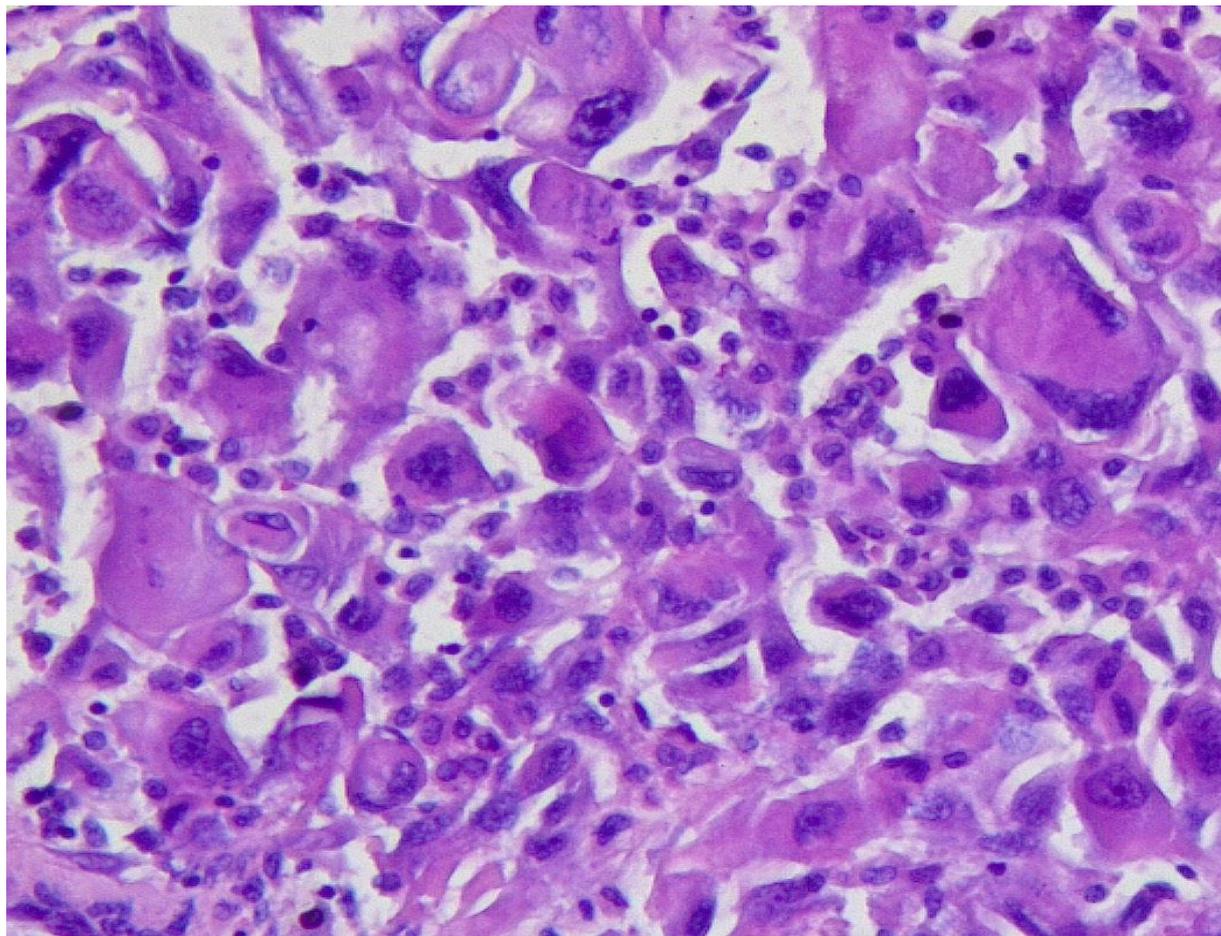
диаметров малого лимфоцита (клеточный прототип – плоскоклеточный неороговевающий рак, эпителиоидноклеточная меланома) (Рисунок 5).



Окрашивание гематоксилином и эозином, увеличение x400

**Рисунок 5** – Эпителиоидные клетки анапластического рака

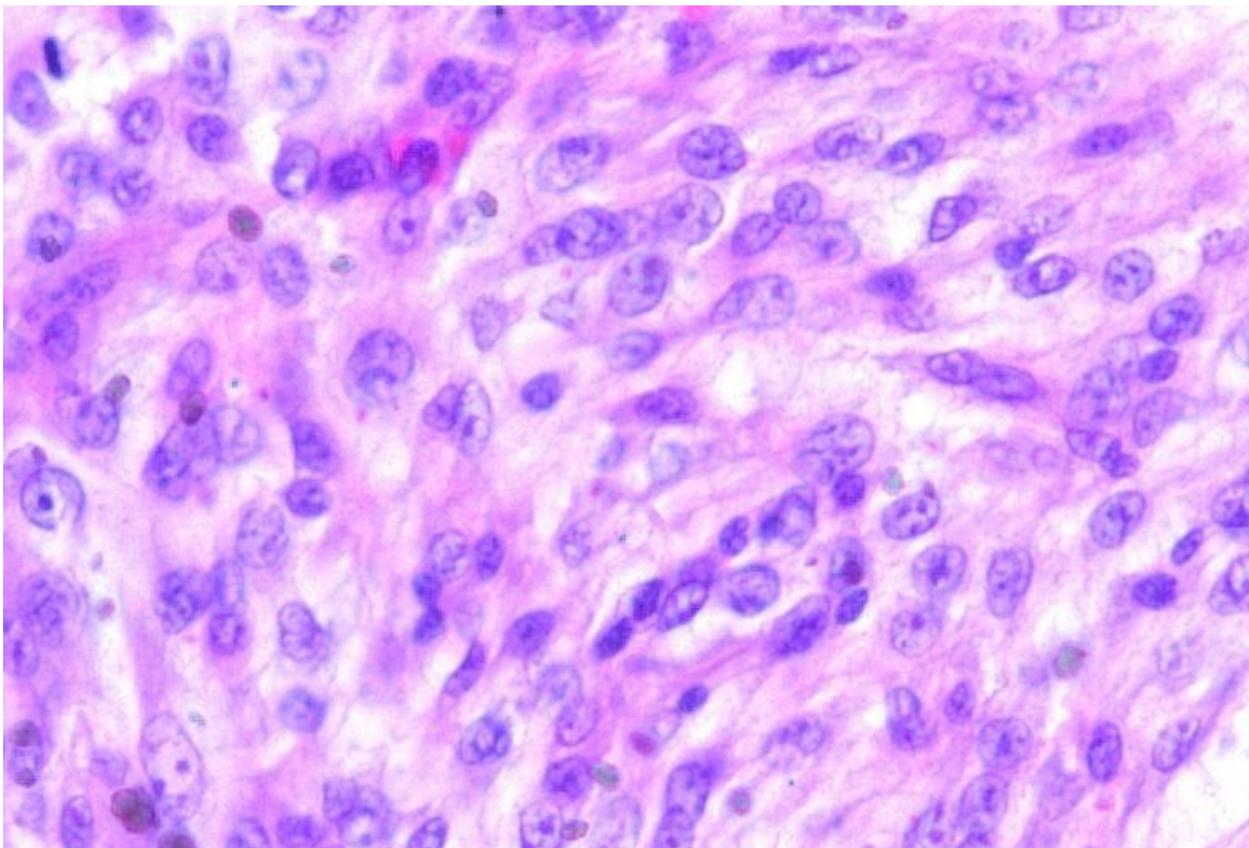
Плеоморфные клетки – клеточные элементы с выраженной ядерной атипией и гиперхромией, переменным объемом цитоплазмы независимо от ее тинкториальных свойств, выраженной неоднородностью формы и размеров, превышающие в наибольшем измерении 4 диаметра малого лимфоцита (клеточный прототип – плеоморфная саркома) (Рисунок 6).



Окрашивание гематоксилином и эозином, увеличение X400

**Рисунок 6** – Плеоморфные клетки анапластического рака

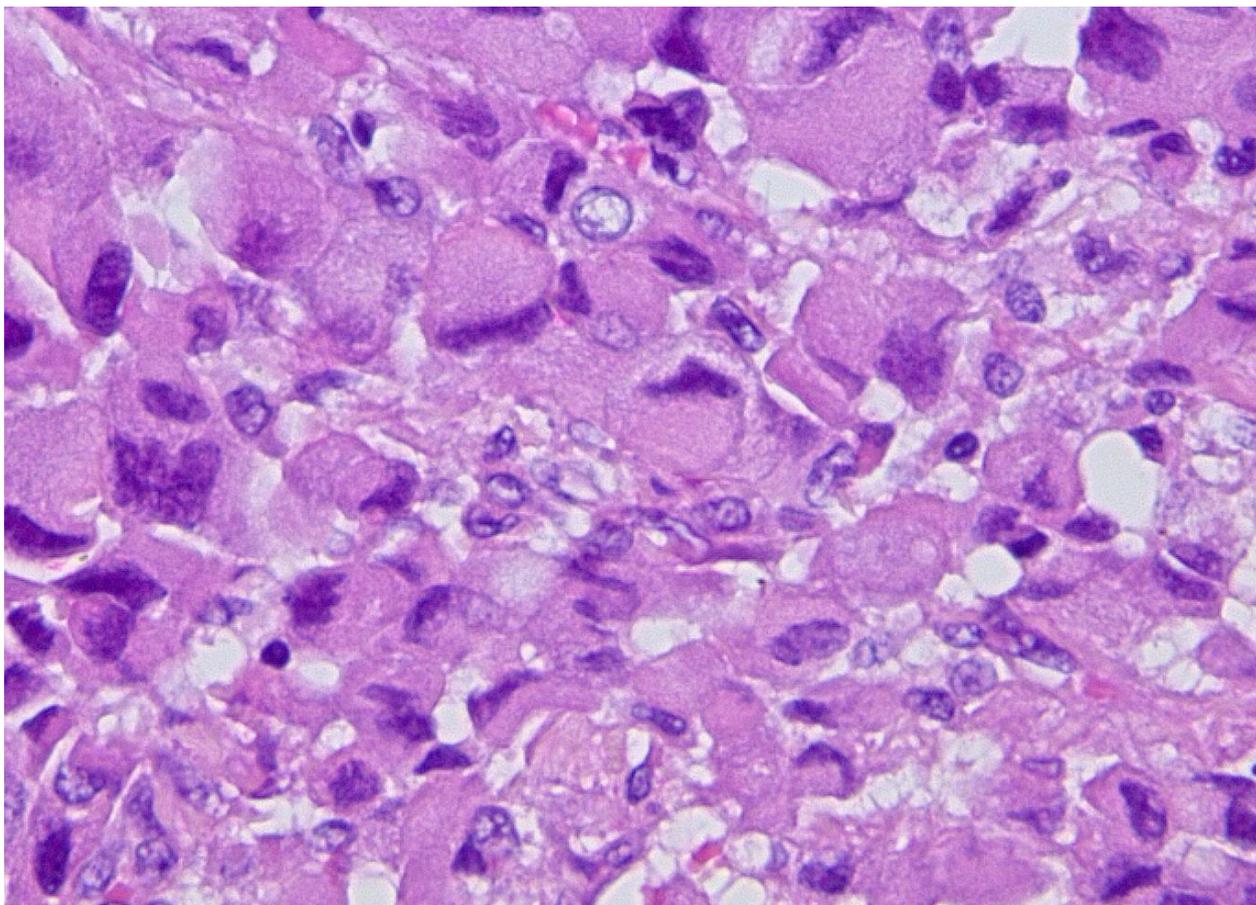
Веретеновидные клетки – клеточные элементы с ядерной атипией и гиперхромией, переменным объемом цитоплазмы независимо от ее окрасочных свойств, веретеновидной формой ядер и цитоплазмы (клеточный прототип – фибросаркома, монофазная синовиальная саркома) (Рисунок 7).



Окрашивание гематоксилином и эозином, увеличение x400

**Рисунок 7** – Веретеновидные клетки анапластического рака

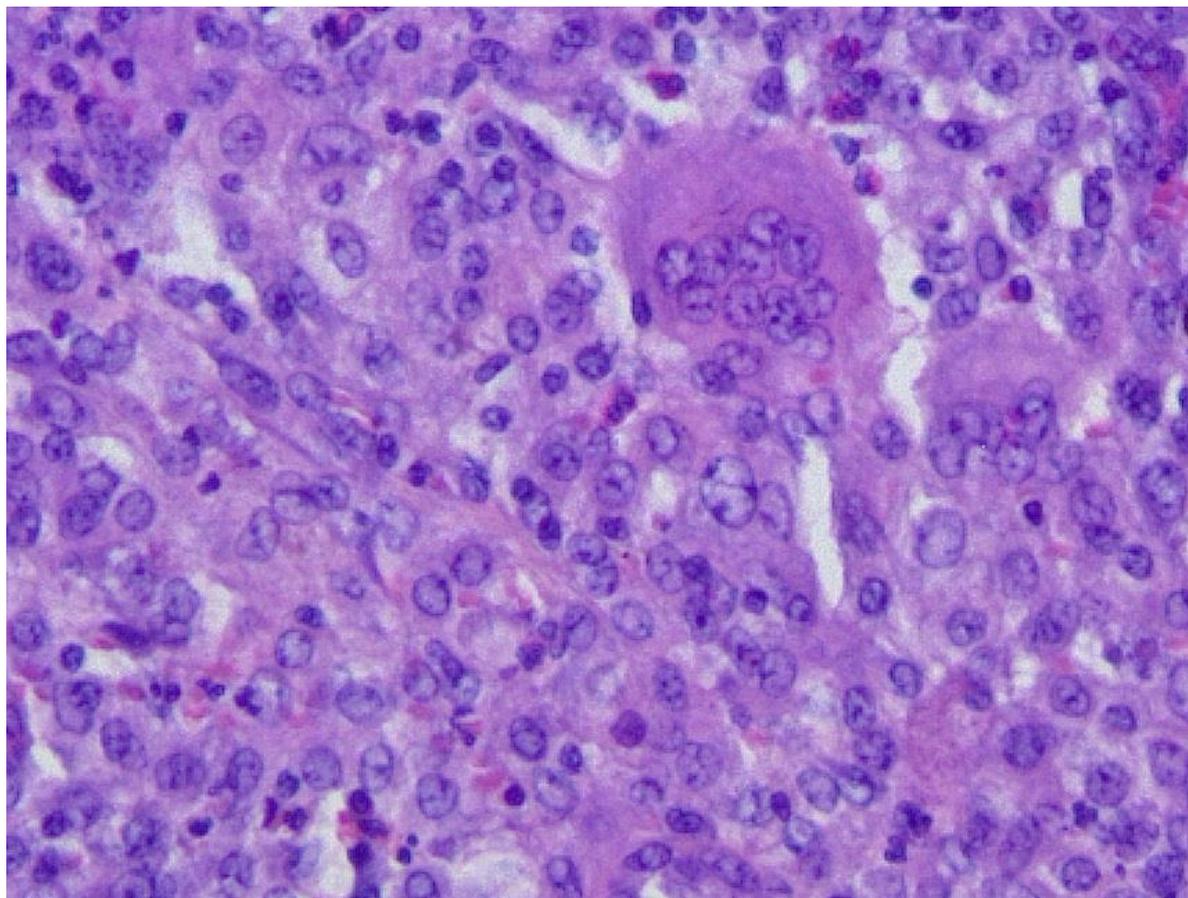
Рабдоидные клетки – клеточные элементы округлой формы, с эксцентрично расположенным атипичным ядром и эозинофильной цитоплазмой, (клеточный прототип – рабдоидные опухоли) (Рисунок 8).



Окрашивание гематоксилином и эозином, увеличение x400

**Рисунок 8** - Рабдоидные клетки анапластического рака

Остеокласто-подобные гигантские многоядерные клетки – клеточные элементы с множественными атипичными ядрами, обильной эозинофильной цитоплазмой, вариабельной формы (клеточный прототип – остеокласты) (Рисунок 9).



Окрашивание гематоксилином и эозином, увеличение x400

**Рисунок 9** – Остеокласто-подобные гигантские многоядерные клетки анапластического рака

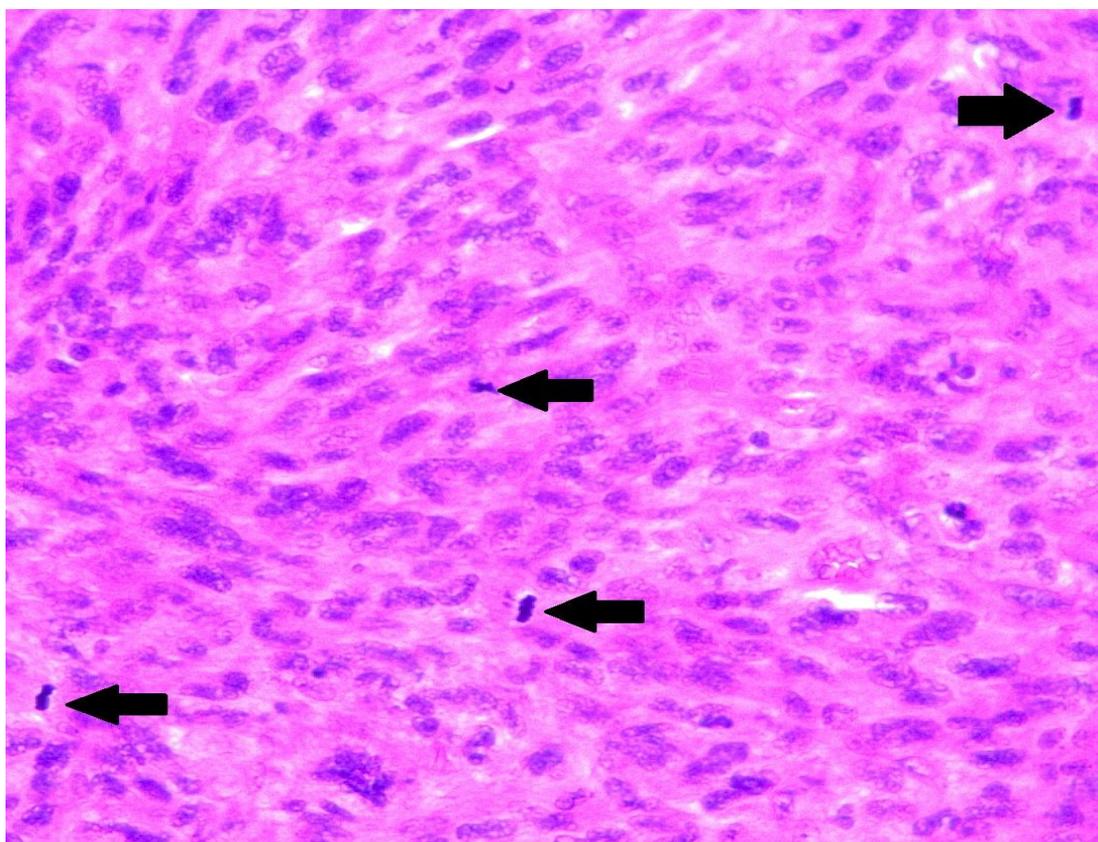
Вакуолизированные (перстневидно-подобные) клетки – мноморфные клеточные элементы округлой формы, с эксцентрично или центрально расположенным деформированным ядром за счет наличия в цитоплазме одной или нескольких оптически пустых вакуолей (клеточный прототип – поли- и моновакуольные липобласты липосаркомы, перстновидноклеточный рак).

Полуколичественный анализ цитоморфологического состава первичной опухоли выполнялся следующим образом: в каждом срезе ткани щитовидной железы, содержащем очаги роста АР, проводилась оценка доли (%) каждой из 6 компонентов. Полученные показатели для каждого цитоморфологического типа суммировались и делились на число исследованных срезов, таким образом, чтобы итоговый показатель доли того или иного компонента, выраженный в процентах, являлся средним арифметическим. Аналогичным образом выполнялась оценка

клеточного состава метастатической опухоли. Итоговые показатели долевого цитоморфологического состава для первичной и репрезентативной метастатической опухоли были включены в сравнительный анализ.

Клеточность первичной опухоли оценивалась полуколичественно по 4 градациям: низкая – преобладание внеклеточного матрикса над клетками АР; умеренная – клетки АР находятся на таком расстоянии друг от друга, что между ними может быть расположена одна клетка аналогичных размеров; высокая – подавляющее большинство клеток АР находятся в прямом контакте друг с другом. В случае неоднородности клеточной плотности на всем протяжении опухоли, клеточность обозначалась как переменная.

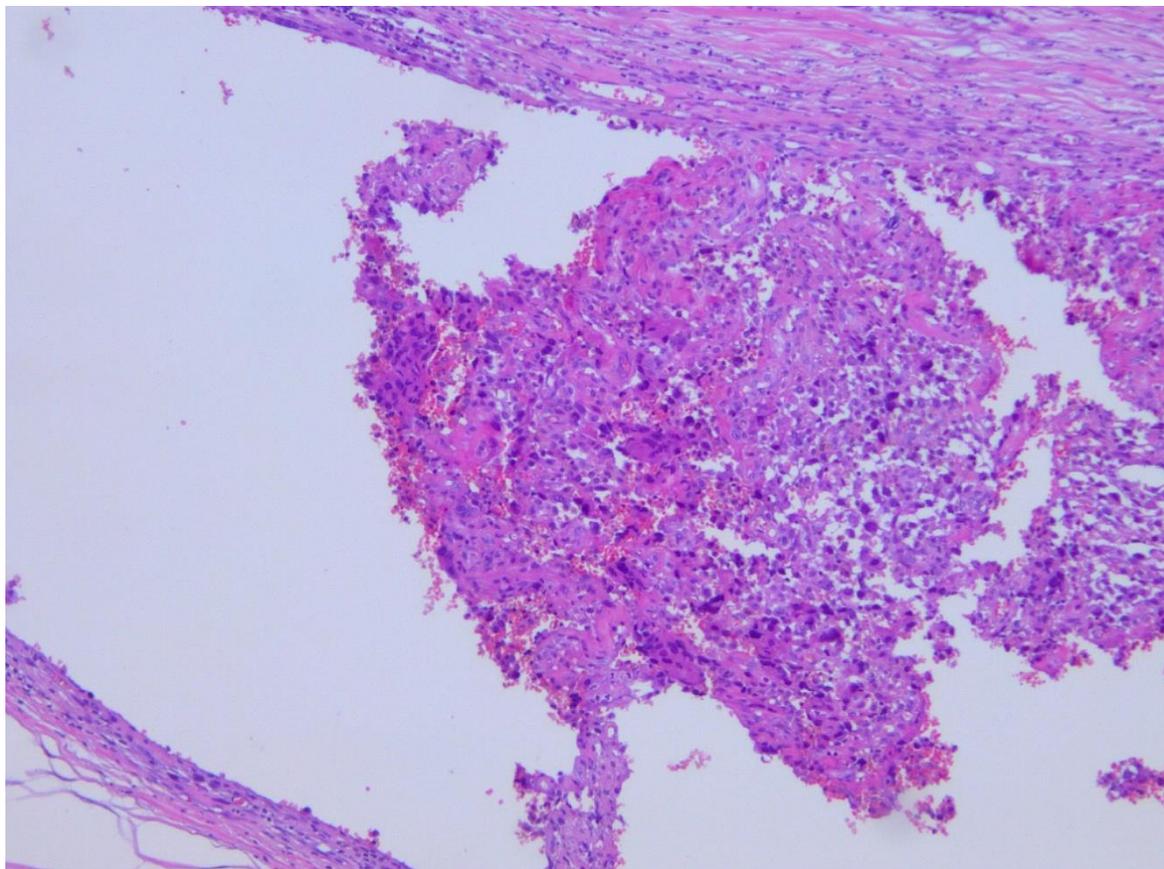
Оценка митотического индекса первичной опухоли проводилась в участках наибольшей митотической активности на одном репрезентативном срезе с расчетом на 10 полей зрения при увеличении  $\times 400$  (Рисунок 10). Дополнительно в каждом случае отмечалось наличие или отсутствие атипичных фигур митоза.



Окрашивание гематоксилином и эозином, увеличение  $\times 200$

**Рисунок 10** – Митотическая активность клеток опухоли.

При выявлении сосудистой инвазии, последняя дополнительно подразделялась на 2 категории: единичные эмболы (1-4 эмбола) и обильные эмболы ( $\geq 5$  эмболов) (Рисунок 11).



Окрашивание гематоксилином и эозином, увеличение x50

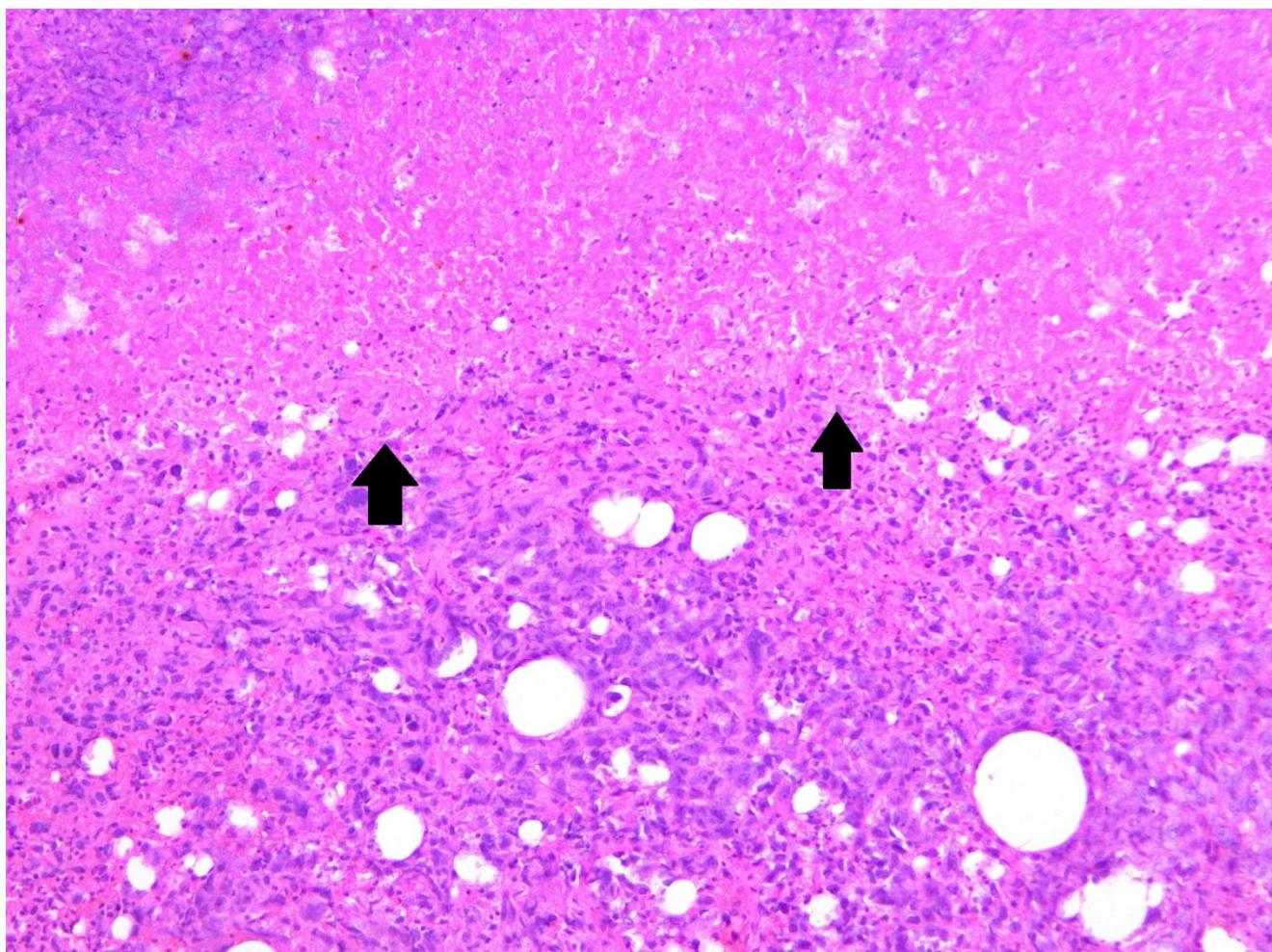
**Рисунок 11** – Опухолевый эмбол в просвете сосуда.

Наличие в первичной опухоли очагов гетерологичной (остео-, хондро- или миогенной) дифференцировки выполнялось преимущественно на светооптическом уровне. При отсутствии возможности исключить миогенную дифференцировку дополнительно выполнялось уточняющее иммуногистохимическое исследование с миоидными маркерами.

Наличие и степень выраженности воспалительного инфильтрата оценивались суммарно внутри стромального компонента и паренхимы AP в одном репрезентативном срезе при увеличении x200 и выражались от 0 до 100%, отражая площадь AP, занятую воспалительными клетками. Клеточный состав

воспалительного инфильтрата подразделялся на лимфоидный (лимфоплазмочитарный), гранулоцитарный (сегменто- и палочкоядерные лейкоциты) или смешанный (лимфоцитарный и гранулоцитарный).

Оценка объема очагов некроза в первичной опухоли носила полуколичественный характер и подразделялась на 3 градации: 0 – отсутствие очагов некроза, 1 – мелкие очаги некроза (не более 1 мм), 2 – крупные очаги некроза (более 1 мм) (Рисунок 12).



Окрашивание гематоксилином и эозином, увеличение X50

**Рисунок 12** – Интратуморальные очаги некроза

### 2.3 Изготовление иммуногистохимических препаратов. Методика оценки экспрессии маркеров в клетках опухоли

Для ИГХ исследования были использованы парафиновые блоки биопсийного и операционного материала, взятые из архивов ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина», ФГБУ "Российский научный центр рентгенорадиологии", ГБУЗ «Московская онкологическая больница №62» и ГБУЗ «Городская клиническая больница №29 им. Н.Э. Баумана». ИГХ исследование выполнялось на автоматизированной платформе Dako Link48 (система детекции EnVision Flex) с антителами к маркерам эпителиальной (PanCK, EMA) и мезенхимальной (vimentin) дифференцировки, транскрипционным факторам (TTF-1, PAX8), гормонам, p53 и Ki-67 (Таблица 2). В случаях с сомнительной клинической картиной проводилось дополнительное исследование с антителами BCL-2, S100, HMB45, Myogenin, кальцитонину. С архивных парафиновых блоков готовились срезы толщиной 3-4 мкм. Окрашивание подготовленных срезов проводилось в соответствии с рекомендациями производителя антител. Ядра клеток докрашивали гематоксилином Майера.

**Таблица 2** – Характеристика использованных в исследовании антител

Антиген	Антитело (клон)	Фирма	Титр	Функция белка
PanCK	AE1/AE3	Cell Marque	1:420	Промежуточные филаменты эпителия
EMA	E29	Cell Marque	1:420	Муциновый гликопротеин
Vimentin	V9	Cell Marque	1:420	Промежуточный филамент мезенхимальной ткани
TGB	2H11+6E1	Cell Marque	1:420	Гликопротеин

TTF-1	86863/1	Cell Marque	1:420	Транскрипционный фактор
PAX8	PAX	Cell Marque	1:70	Транскрипционный фактор
p53	D07	Cell Marque	1:420	Проапоптозный белок
Ki-67	SP6	Sprin6	1:100	Антиген делящихся клеток
Кальцитонин	—	Cell Marque	1:700	Линейный полипептидный гормон
BCL-2	124	Cell Marque	1:350	Прото-онкоген
HMB45	HMB45	Cell Marque	1:420	Моноклональное антитело

Оценка реакции в клетках опухоли проводилась полуколичественным методом с учетом количества антиген-позитивных клеток.

Референсным контролем для экспрессии маркеров служили: для PanCK, EMA, TGB, TTF-1, PAX-8 – фолликулярный эпителий щитовидной железы; для виментина – сосудистая стенка.

Характер экспрессии p53 оценивался как положительный (наличие мутации) при интенсивном диффузном ядерном окрашивании >90% опухолевых клеток, полном отсутствии экспрессии или цитоплазматическом окрашивании опухолевых клеток.

Индекс Ki-67 оценивался в зонах максимальной экспрессии антигена при 400-кратном увеличении и рассчитывался как процент окрашенных ядер из расчета на 1000 опухолевых клеток.

## 2.4 Молекулярно-генетические исследования

Для выделения ДНК опухолевой ткани из парафиновых блоков изготавливались срезы толщиной 5-10 мкм. Для предотвращения контаминации материала микротомный нож очищался ксилолом после каждого взятого образца. Проводилась депарафинизация срезов ксилолом и этанолом с последующей обработкой материала протеиназой К в течении ночи. Образцы помещались в эппендорф, к образцам добавляли по 1мл ксилола, перемешивали на вортексе и инкубировали в термостате при 65°C. После центрифугирования образцов прозрачная часть супернатанта удалялась, после повторения процедуры проводились последовательное промывание 96° и 70° этиловым спиртом. Полученный осадок высушивался, и, после добавления 200 мкл лизирующего раствора, содержащего в качестве детергента 2% Triton X-100, инкубировался 10 мин при 99°C. После остывания к реакционной смеси добавлялся водный раствор протеиназы К, пробы помещались в ротатор в режиме вращения и инкубировались при 60°C в течение ночи.

Для выделения ДНК из полученного раствора на следующий день к образцам добавлялся лизирующий раствор, содержащий 4М тиоционата гуанидина, 1% Triton X-100 и 1% Твин-20, а также смесь сорбентов Silica Gel и Diatomaceous Earth. После перемешивания на вортексе и инкубации в термостате при 80°C в течение 15 минут, пробы помещались в ротатор на 15 минут для связывания ДНК с сорбентом. К раствору добавлялся холодный изопропиловый спирт, пробы центрифугировались 10 минут при 13 000 об/мин для дополнительного осаждения ДНК, надосадочная жидкость удалялась, проводилась промывка осадка 70% этиловым спиртом. После осадок высушивался 10 минут при 75°C. Полученный раствор центрифугировался для осаждения сорбента, а супернатант, содержащий раствор ДНК, переносился в чистый эппендорф и использовался для постановки полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Определение мутации генах BRAF и TERT проводили с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием аллельспецифичных праймеров. Для каждого образца ДНК ставятся параллельно две реакции ПЦР, в каждой из которых используется праймер, комплементарный одному из вариантов типизируемой мутации. В случае если в ДНК пациента мутация отсутствует, то ПЦР проходит только в одной пробирке, где использовался праймер, комплементарный аллелю нормы. При наличии мутации ПЦР пройдет в обеих пробирках. ПЦР проводили на амплификаторе «Терцик». В качестве фермента для амплификации ДНК использовалась Hot-Taq полимеразы. После приготовления амплификационной смеси в пробирки добавляли 50 мкл минерального масла для предотвращения испарения во время реакции. ПЦР состояла из 40 циклов с предварительной денатурацией в течение 9 мин при 95°C для активации полимеразы. Дальнейшие этапы денатурации, отжига и синтеза происходили в течение 35 с при 95°C, 58°C и 72°C соответственно. Детекцию продуктов амплификации осуществляли с помощью электрофореза в 7% полиакриламидном геле с окрашиванием раствором бромистого этидия и последующей визуализацией в УФсвете при длине волны 302нм на приборе Gel Doc.

Определение делеции гена TP53 проводили методом флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH). Использовался стандартный FISH-метод для парафиновых срезов. Результаты FISH-реакции оценивали с помощью флуоресцентного микроскопа Axioskop2 mot plus, Zeiss и программы Isis.

## **2.5 Оценка клинико-лабораторных параметров пациентов**

Для анализа прогностически значимых параметров анапластического рака из имеющейся медицинской документации были получены данные о наличии у больных острых симптомов (дисфагия, дисфония, диспноэ) и уровне лейкоцитов периферической крови.

В всех случаях показатели лейкоцитоза ( $>10,000$  WBC/ $\text{мм}^3$ ) оценивались до начала лечения по результатам клинического анализа.

## 2.6 Оценка контрольных точек

В качестве клинических контрольных точек результатов исследования были выбраны показатели общей выживаемости (ОВ) и безрецидивной выживаемости (БРВ).

ОВ рассчитывалась как временной интервал от момента гистологической верификации диагноза AP до наступления летального исхода.

БРВ рассчитывалась как временной интервал от момента гистологической верификации AP до развития местного или отдаленного рецидива заболевания или наступления летального исхода вследствие прогрессирования заболевания.

В связи с коротким интервалом наблюдения пациентов в подавляющем большинстве случаев, показатели ОВ и БРВ были выражены в неделях.

## 2.7 Статистическая обработка результатов исследования

Статистический анализ проводился с помощью пакета статистических программ IBM SPSS Statistics (выпуск 22.0) (IBM, Чикаго, США). Описание количественных данных приводилось с вычислением среднего значения (M), стандартного отклонения ( $\sigma$ ), диапазона. 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. Статистически значимым признавался результат при  $p < 0,05$ . Для оценки прогностического значения исследуемых факторов в отношении общей и безрецидивной выживаемости проводился регрессионный анализ пропорциональных рисков по Коксу.

## ГЛАВА 3. КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ АНАПЛАСТИЧЕСКОГО РАКА

### 3.1 Клинико-анамнестические параметры и стадирование заболевания

В исследование было включено 30 пациентов с подтвержденным диагнозом. Среди больных АР было 18 (60,0%) женщин, соотношение пациентов женского и мужского пола составило 1,5:1. Средний возраст больных составлял 66 лет ( $\sigma \pm 9,64$ ; min – 45 лет, max – 88 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 ЩЖ. Эти пациенты находились под динамическим наблюдением, без проводимых оперативных вмешательств. У пяти (16,7%) пациентов ранее был диагностирован ВДР ЩЖ, в четырех случаях папиллярный рак, в одном - фолликулярный рак. Четверем пациентам была проведена тиреоидэктомия с регионарной лимфодиссекцией, один из пациентов от хирургического лечения отказался. В ходе динамического наблюдения у них были выявлены рецидивные опухоли, гистологически верифицированные как АР. При этом у одного из пациентов рецидив произошел спустя 16 лет после постановки диагноза ВДР ЩЖ, другая пациентка не обращалась за медицинской помощью в течение 10 лет, отмечая появление новообразования на боковой поверхности шеи, постепенно увеличивающегося в размерах.

Пациент П., 56 лет, в течение 7 месяцев отмечал наличие опухолевого новообразования на шее. После обращения за медицинской помощью больному по результатам ТАБ ЩЖ был выставлен диагноз «Папиллярный рак щитовидной железы с метастазами в лимфатических узлах шеи, T1bN1bM0». При гистологическом исследовании в ткани ЩЖ был обнаружен опухолевый узел диаметром 0,5 см, имеющий строение папиллярного рака. В регионарной жировой

клетчатке был обнаружен метастатический узел диаметром 3,5 см. Метастаз имел гистологическое строение рака, представленного, главным образом, папиллярным раком разных вариантов строения: типичным; вариантом из столбчатых клеток; низкодифференцированным раком и АР.

Эти случаи подтверждают теорию возникновения АР из ВДР путем дедифференцировки опухолевых элементов. В дальнейшем анализе эта группа из пяти 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 АР.

В группе с первичным АР в соответствие с критериями восьмого издания TNM-классификации, 13 (52,0%) случаев были отнесены к IVB стадии, 12 (48,0%) случаев - к IVC стадии, тогда как случаи IVA стадии отсутствовали (Таблица 3).

**Таблица 3** – Клинико-морфологическая характеристика пациентов с первичным анапластическим раком (n=25)

Клинико-морфологические параметры		Абс.	%
Пол	Мужской	9	36,0%
	Женский	16	64,0%
Возраст на момент постановки диагноза	<60 лет	6	24,0%
	>60 лет	19	76,0%
pT	T1	0	0%
	T2	0	0%
	T3	9	36,0%
	T4	16	64,0%
pN	N0	6	24,0%
	N1	19	76,0%
pM	M0	13	52,0%
	M1	12	48,0%

Продолжение таблицы 3

pTNM8	IVA	0	0%
	IVB	13	52,0%
	IVC	12	48,0%

В группе вторичного АР стадирование заболевания проводилось по первичной опухоли – высокодифференцированному раку щитовидной железы без рестадирования (Таблица 4).

**Таблица 4** – Клинико-морфологическая характеристика пациентов с вторичным анапластическим раком (n=5)

Клинико-морфологические параметры		Абс.	%
Пол	Мужской	3	60,0%
	Женский	2	40,0%
Возраст на момент постановки диагноза	<60 лет	3	60,0%
	>60 лет	2	40,0%
pT	T1	3	60,0%
	T2	2	40,0%
	T3	0	0%
	T4	0	0%
pN	N0	1	20,0%
	N1	4	80,0%
pM	M0	5	100%
	M1	0	0%
pTNM8	I	2	40,0%
	II	3	60,0%
	III	0	0%
	IVA	0	0%
	IVB	0	0%

Ввиду значительной разницы в количестве пациентов и стадий заболевания, дальнейший анализ сравнения прогноза заболевания и его стадии проводился только между пациентами группы первичного АР.

На момент постановки диагноза ни у одного из 25 пациентов с первичным АР заболевание не носило локализованный характер - опухоль распространялась за пределы ЩЖ, зачастую сопровождаясь регионарными метастазами. Инвазия смежных анатомических структур была представлена следующим образом: инвазия опухолью прилежащей жировой клетчатки (100%), 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 АР на момент постановки диагноза имелись метастазы в регионарных лимфатических узлах, у 12 пациентов (48,0%) – отдаленные метастазы. В 100% случаев локализацией отдаленных метастазов являлись легкие.

На момент обращения за медицинской помощью у 19 (63,3%) пациентов присутствовали острые симптомы, преимущественно диспноэ, у 11 (47,3%) пациентов острая симптоматика отсутствовала. Также на момент начала заболевания у 14 (46,7%) пациентов был зафиксирован лейкоцитоз  $>10,000$  WBC/ $\text{мм}^3$ , в то время как у 16 (54,3%) уровень лейкоцитов периферической крови был менее  $10,000$  WBC/ $\text{мм}^3$

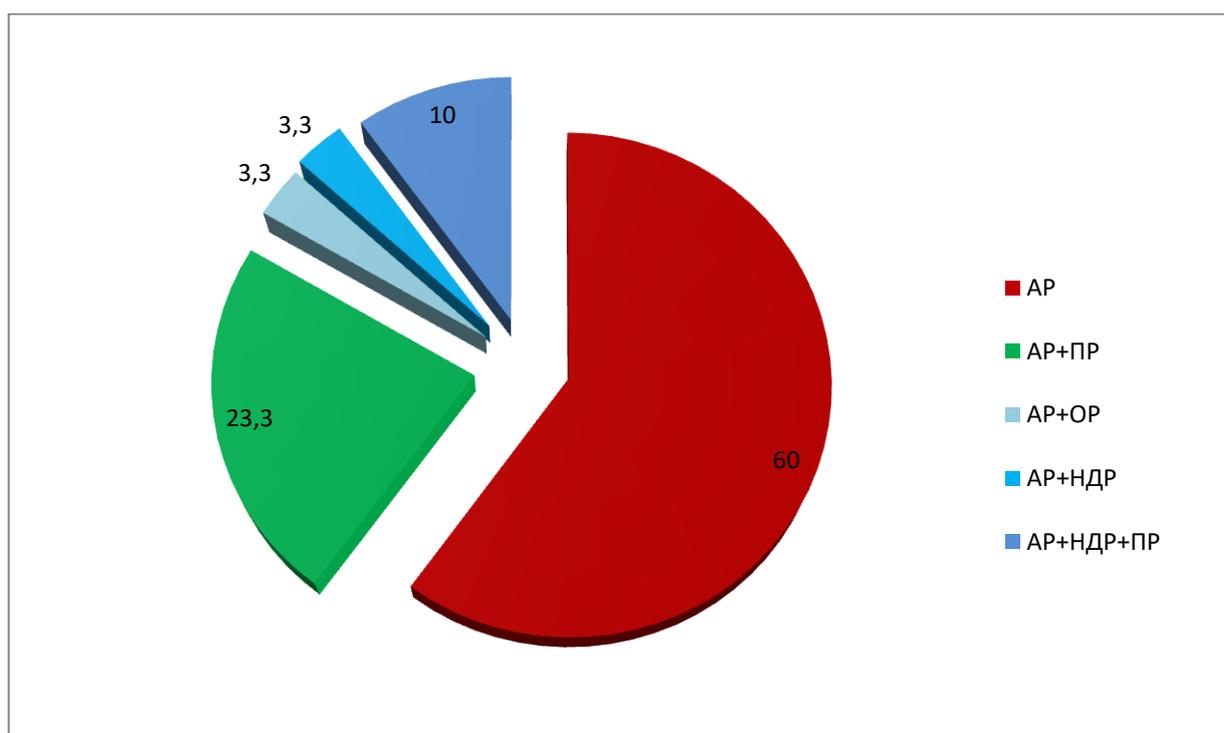
ОВ пациентов в среднем составила 25,5 недель (min – 4 недели, max – 69 недель, медиана – 22 недели). БРВ пациентов в среднем составила 23 недели (min – 4 недели, max – 64 недели, медиана – 22 недели). В подавляющем большинстве (86,67%) данные ОВ и БРВ совпадали. Ввиду крайне сходных данных и малых сроках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

### **3.2 Анализ морфологических особенностей анапластического рака**

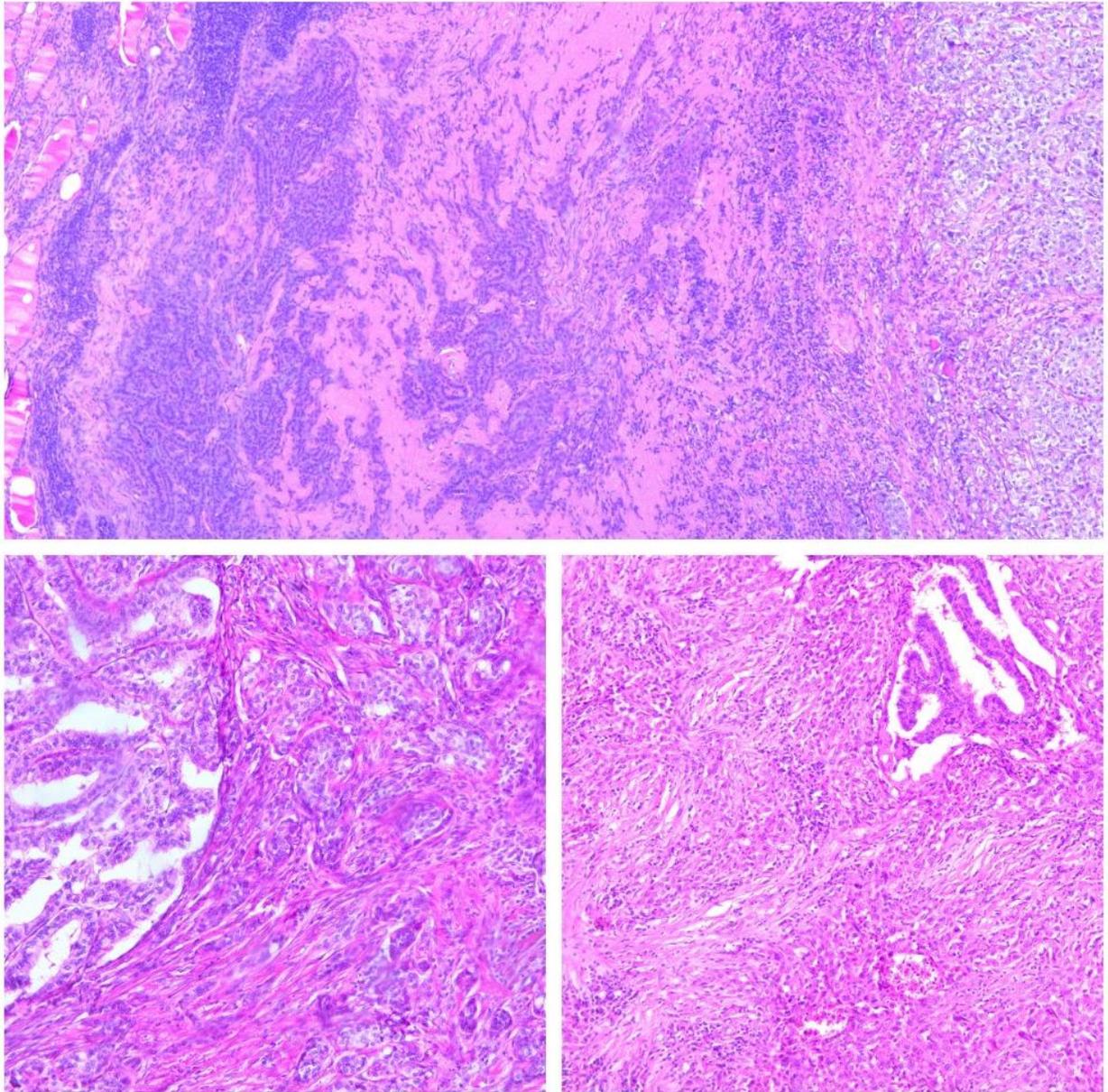
В группе первичного АР в качестве одного из прогностических параметров был рассмотрен наибольший размер опухоли. Среднее значение максимального

размера опухоли составило 6,5 см, медиана – 6,8 см, минимальное – 3,0 см, максимальное – 12,0 см. В свою очередь, для группы вторичного АР 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 ЩЖ: папиллярным, гюртлеклеточным (онкоцитарным, ОР), низкодифференцированным раком и их комбинациями (Рисунки 13 и 14). Также стоит отметить, что только у 4 пациентов группы вторичного АР были обнаружены фокусы более дифференцированной опухоли.



**Рисунок 13** – Частота сочетания анапластического рака с менее злокачественными карциномами щитовидной железы



Окрашивание гематоксилином и эозином, увеличение x50

**Рисунок 14** – Фокусы папиллярного рака в анапластическом раке щитовидной железы

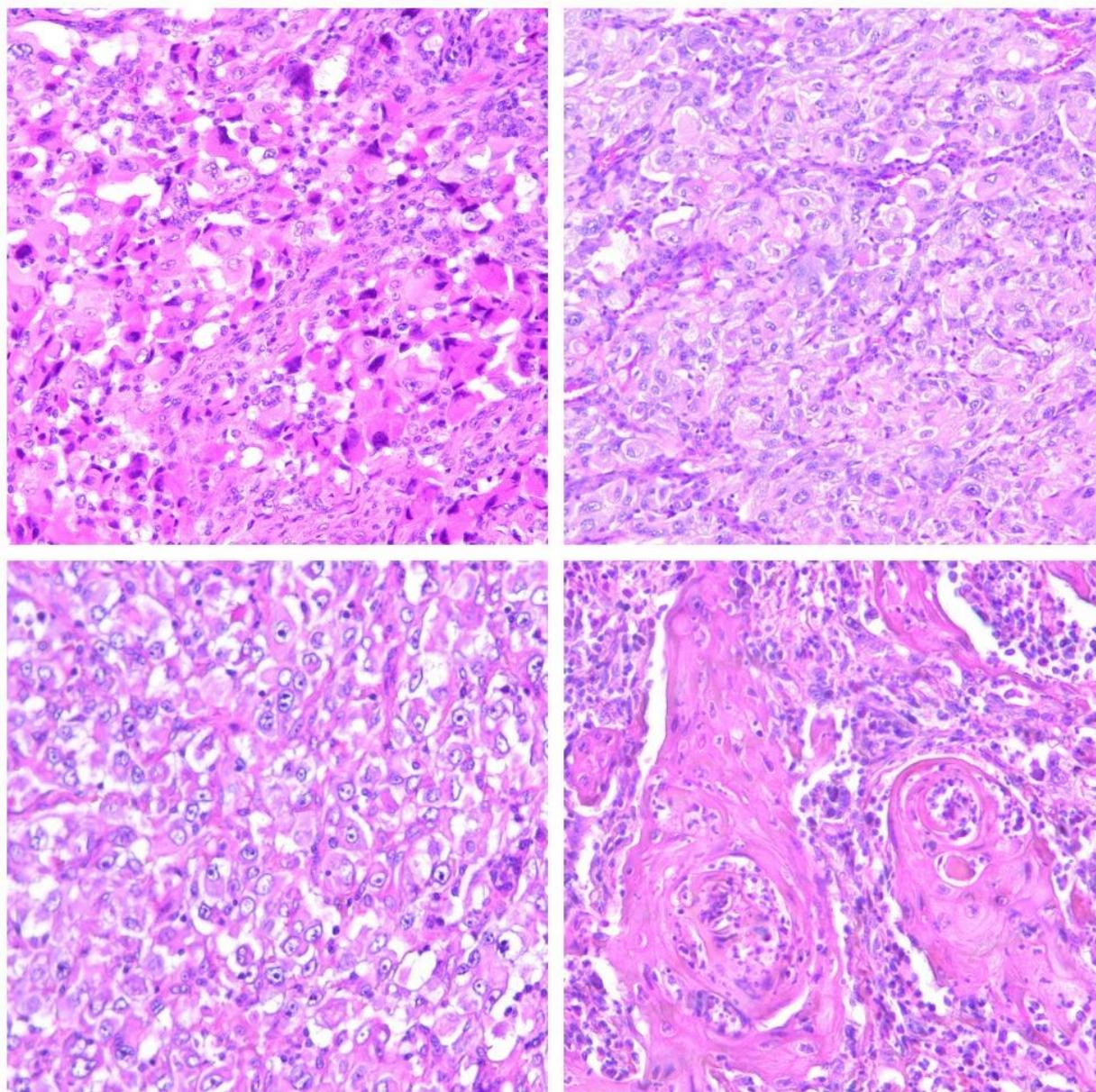
Стоит отметить, что всего лишь в 2 случаях одним из компонентов опухоли являлись агрессивные варианты папиллярного рака (вариант из столбчатых клеток и диффузный склерозирующий вариант).

### 3.2.1 Особенности гистологического строения и клеточного состава анапластического рака

В соответствии с критериями Классификации ВОЗ все случаи АРЦЖ были разделены на неспецифичный тип и редкие гистологические формы (гипоклеточный, карциносаркома, гигантоклеточный, лимфоэпителиомоподобный). Из 30 опухолей одна была отнесена к карциносаркоме с гетерологичной (остеосаркоматозной) дифференцировкой, одна - к лимфоэпителиомоподобному варианту АР, остальные 28 случаев не соответствовали ни одной из редких форм и были обозначены как неспецифичный тип. В 3 (10,0%) случаях АР были отмечена очаговая плоскоклеточная дифференцировка.

В зависимости от гистологического строения и сходства на светооптическом уровне с другими экстракраниальными 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 (Рисунок 15). В частности, в 2 случаях опухоль была гистологически сходна с плоскоклеточным неороговевающим раком, в одном – с лимфоэпителиомоподобным раком легкого и назофарингеальной карциномой, в остальных 8 наблюдения - представлена солидными полями преимущественно эпителиоидных клеток недифференцированного вида. В данной группе АР доля эпителиоидных клеток являлась доминирующей, среднее значение которых составляло 81,1% (54,0-100%), тогда как доли веретенчатых и плеоморфных элементов в среднем были равны 9,5% (0-46,0%) и 7,2% (0-23,0%). Средние показатели ретроидных, остеокласто-подобных и вакуолизованных клеток в данной группе АР составляли 0,2% (0-2,0%), 0,7% (0-5,0%) и 1,3% (0-5,0%), соответственно.

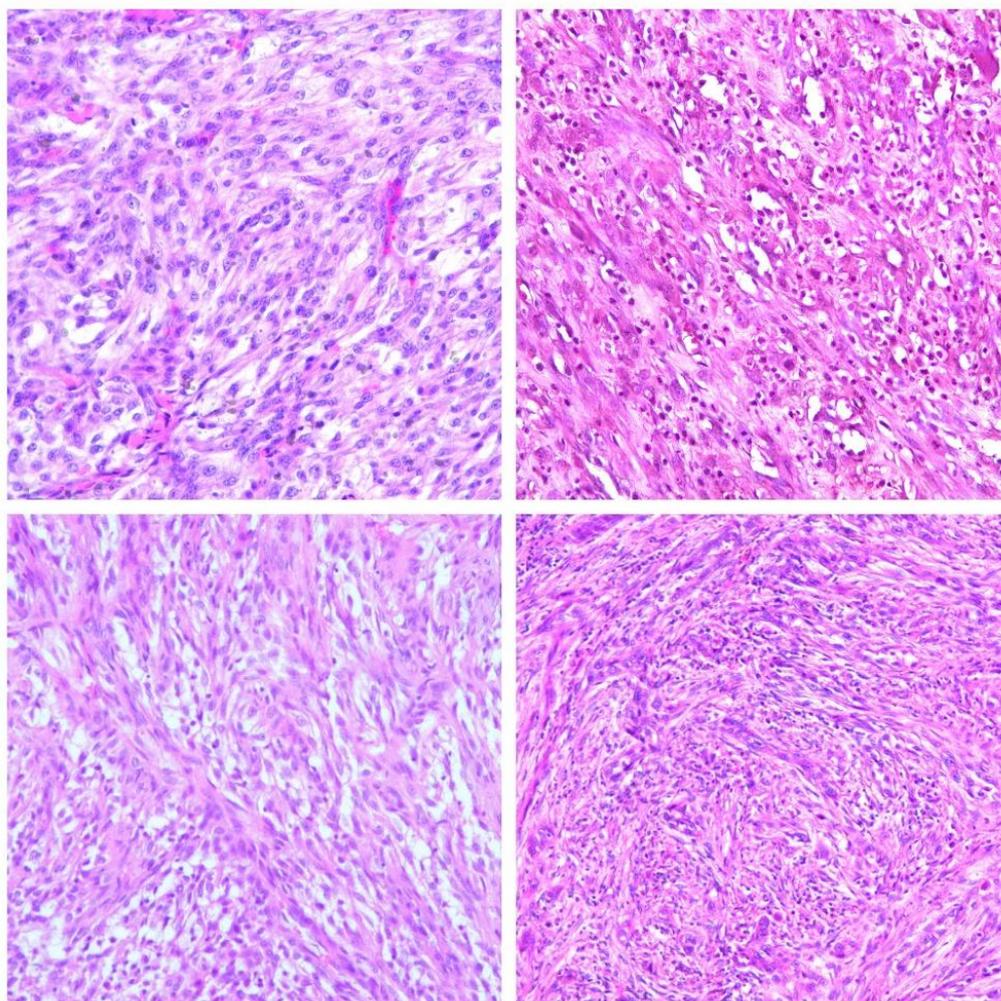


Окрашивание гематоксилином и эозином, увеличение x200

**Рисунок 15** – Эпителиоидно-сквамозный вариант анапластического рака

Вторая группа («саркоматоидная») насчитывала 11 (36,7%) случаев, демонстрируя заметное сходство с различными вариантами сарком. В 4 случаях АР морфологически был сходен с веретенноклеточными саркомами высокой степени злокачественности, отличавшихся сочетанием зон солидного и пучкового строения (Рисунок 16); в трех случаях – с недифференцированной плеоморфной саркомой (НПС); при этом в одном случае было отмечено, что часть АР, занимающая левую долю и перешеек щитовидной железы, гистологически

больше соответствовала НПС, тогда как часть АР в правой доле – недифференцированной эпителиоидноклеточной опухоли с наличием плеоморфных и веретеновидных элементов. Остальные 3 наблюдения были в значительной степени сходны с ангиосаркомой типичного (1 случай) и эпителиоидного (2 случая) типов: данные случаи отличались различным объемом коллагеновой стромы, вариабельным соотношением эпителиоидных и веретеновидных клеток с умеренной атипией, и демонстрировали формирование анастомозирующих щелевидных пространств, содержащих эритроциты и другие форменные элементы крови.



Окрашивание гематоксилином и эозином, увеличение x200

**Рисунок 16** – Саркоматоидный вариант анапластического рака щитовидной железы

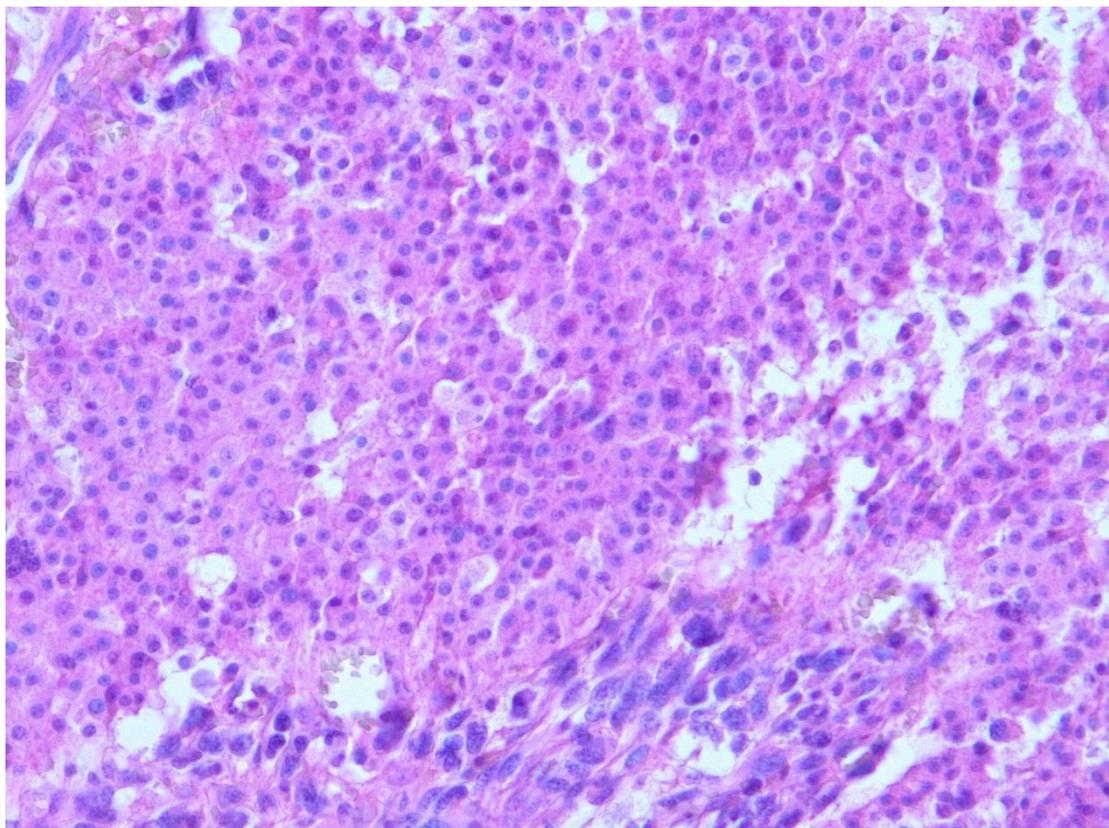
В данной группе АР доля веретеновидных клеток являлась доминирующей, среднее значение которых составляло 52,3% (0-95,0%); доли эпителиоидных и плеоморфных элементов в среднем были равны 28,3% (1-98,0%) и 15,4% (0-43,0%). Средний объем рабдоидных, остеокласто-подобных и вакуолизированных клеток в данной группе составлял 1,1% (0-11,0%), 0,6% (0-4,0%) и 2,3% (0-12,0%), соответственно.

Третья группа («бифазная») включала 5 (16,7%) случаев, объединенных наличием бифазного строения опухоли:

- в одном наблюдении АР был представлен сочетанием участков фибробластической остеосаркомы высокой степени злокачественности и зон по типу "неороговевающего плоскоклеточного рака" со светлоклеточными элементами - карциносаркома с остеосаркоматозной дифференцировкой;

- в другом случае АР напоминал бифазную синовиальную саркому, в виде хаотичного сочетания зон солидного строения, коротких пучков и лучистых структур из мономорфных веретеновидных клеток со слабой атипией и псевдопапиллярных эпителиоидных участков среди скудного коллагенового матрикса (Рисунок 17);

- в 2-х случаях АР сочетал в себе хаотично чередующиеся участки, напоминающие веретенклеточную саркому неспецифического строения и низкодифференцированную эпителиоидноклеточную опухоль без признаков анаплазии.



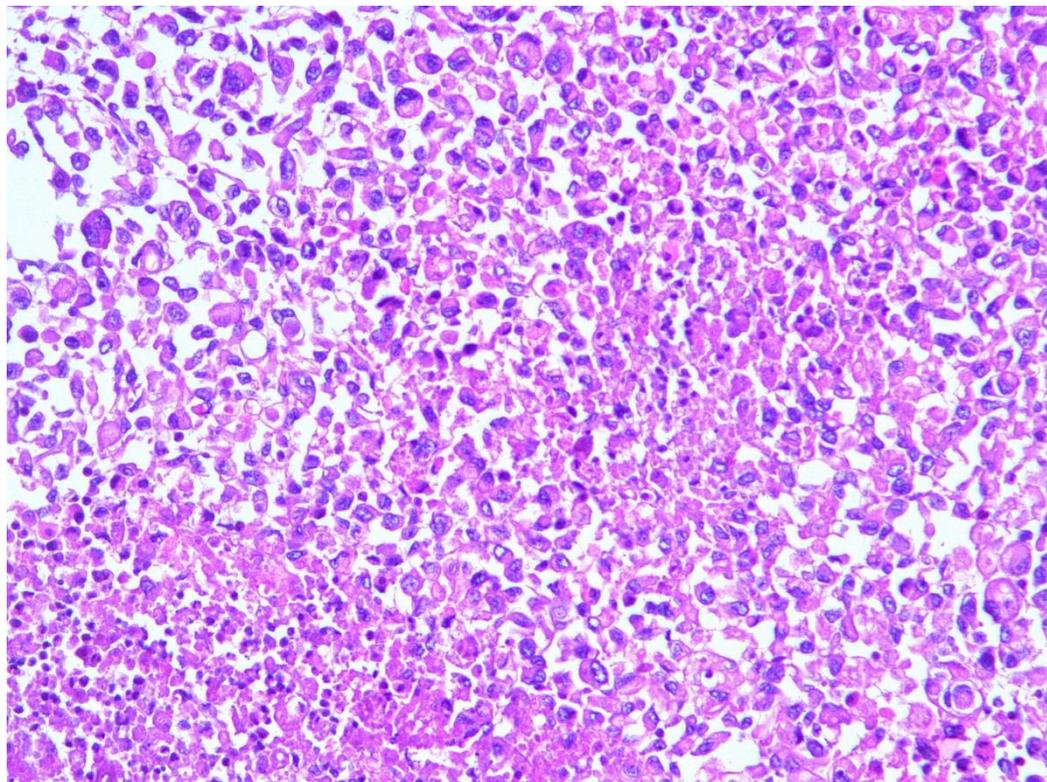
Окрашивание гематоксилином и эозином, увеличение x100

**Рисунок 17** – Анапластический рак щитовидной железы с бифазным строением.

В данной группе АР доля веретеновидных клеток являлась доминирующей, среднее значение которых составляло 51,0% (31,0-95,0%); доли эпителиоидных и плеоморфных элементов в среднем были равны 35,5% (3,0-51,0%) и 12,0% (1,0-28,0%). Средний объем рабдоидных, остеокласто-подобных и вакуолизированных клеток в данной группе составлял 0%, 0,5% (0-2,0%) и 1,0% (0-3,0%) соответственно.

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 (Рисунок 18). Доля эпителиоидных клеток являлась доминирующей, ее среднее значение составляло 84,7% (81,0-87,0%); доли веретенклеточных и плеоморфных

элементов в среднем были равны 1,7% (0-5,0%) и 6,3% (6,0-7,0%) соответственно. Средние показатели рабдоидных, остеокласто-подобных и вакуолизированных клеток в данной группе АР составляли 6,7% (2,0-12,0%), 0,3% (0-1,0%) и 0,3% (0-1,0%), соответственно.



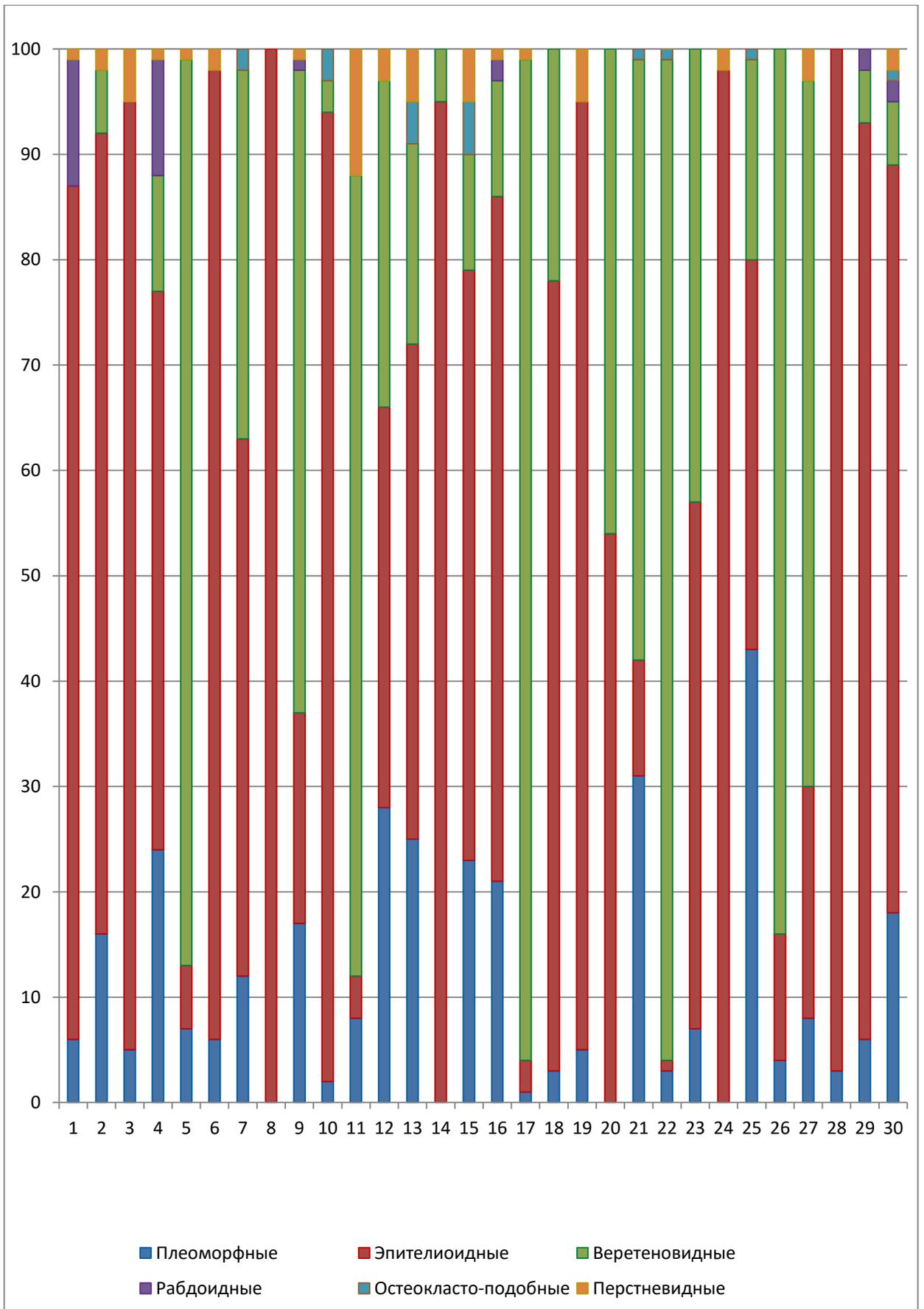
Окрашивание гематоксилином и эозином, увеличение x100

**Рисунок 18** – Недифференцированный вариант анапластического рака щитовидной железы

Исходя из доминирующего ( $\geq 51\%$  объема опухоли) цитоморфологического типа клеток в первичном очаге, 30 случаев АР были разделены на следующие группы:

1. АР с преобладанием эпителиоидных клеток – 18 (60,0%) случаев.
2. АР с преобладанием веретеновидных клеток – 8 (26,7%) случаев.
3. АР с отсутствием преобладающего клеточного типа – 4 (13,3%).

Долевое соотношение клеточных элементов в первичной опухоли представлен на рисунке 19.



**Рисунок 19** – Долевое соотношение клеточных элементов в анапластическом раке

Митотический индекс AP 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 атипических фигуры митоза. Клеточность AP в 3 (10,0%) случаях была умеренной, в 24 (82,7%) – высокой, в оставшихся 3 (10,0%) наблюдениях варьировала от низкой до высокой.

Крупные очаги некроза отмечались в 15 (50,0%) случаев, 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.

В 29 (96,7%) случаях присутствовала интратуморальная воспалительная инфильтрация. В 11 (36,7%) случаев воспалительный инфильтрат был крайне скудный. Из оставшихся 18 случаев, у 9 (30,0%) пациентов преобладал диффузный лимфоидный инфильтрат, у 6 (20,0%) – фокальный лимфоидный инфильтрат и у 3 (10,0%) – нейтрофильный и лимфоидный инфильтрат. При этом площадь, занятая инфильтратом, варьировала от 0,0% до 65,0%, в среднем – 11,6%.

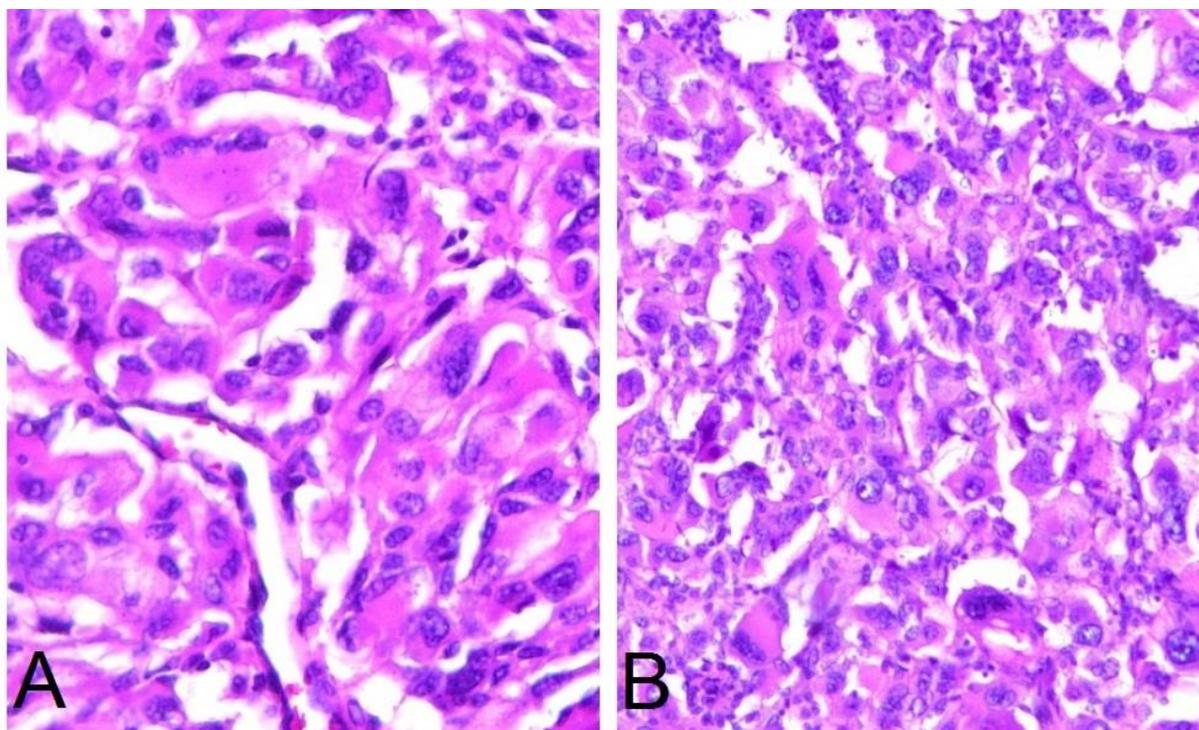
### **3.2.2 Сравнительный анализ гистологического строения и клеточного состава первичной опухоли и метастаза**

В 15 (50,0%) случаях для морфологического исследования также были доступны метастазы AP. Из них в 12 случаях (80,0%) гистологическое строение метастаза полностью соответствовало первичной опухоли (Рисунок 20).

При этом в одном случае первичная опухоль и метастаз имели бифазное строение (сочетание эпителиоидноклеточной и саркоматоидной морфологии).

В одном случае при бифазном строении AP (сочетание участков по типу НПС и недифференцированной эпителиоидноклеточной опухоли), метастаз был представлен только одним типом строения (недифференцированной эпителиоидноклеточной опухоли). Несмотря на то, что гистологическое строение метастаза и первичной опухоли нельзя в полной мере назвать идентичными,

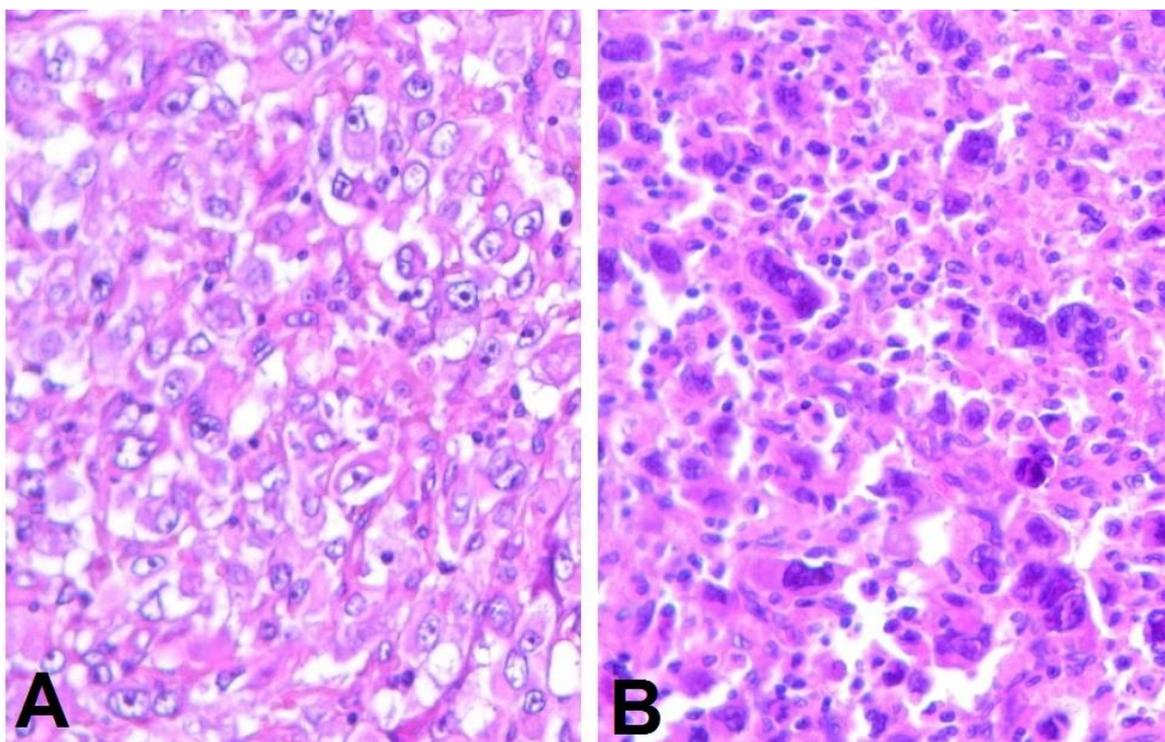
метастаз также не демонстрировал иных вариантов строения, отсутствующих в первичной опухоли.



А – препарат первичной опухоли, окрашивание гематоксилином и эозином, увеличение x200; В – препарат метастаза опухоли в регионарном лимфатическом узле, окрашивание гематоксилином и эозином, увеличение x200

**Рисунок 20** – Совпадение гистологического строения первичной опухоли и метастаза

Еще в одном случае отмечалось полное расхождение гистологического строения первичной опухоли (солидный низкодифференцированный рак с преобладанием эпителиоидных клеток) и метастаза (плеоморфноклеточная опухоль) (Рисунок 21).



А – препарат первичной опухоли, окрашивание гематоксилином и эозином, увеличение x200; В – препарат метастаза опухоли в регионарном лимфатическом узле, окрашивание гематоксилином и эозином, увеличение x200

**Рисунок 21** – Расхождение гистологического строения первичной опухоли и метастаза

Разнообразие клеточного состава первичной опухоли и метастаза продемонстрирован в таблице 5.

**Таблица 5** – Полуколичественное соотношение (%) клеточного состава первичной опухоли и метастазов

		ПЛ	ЭП	Вер	Раб	Осте	Перст
Случай 1	Опухоль	2	81	0	12	0	1
	Метастаз	2	89	0	6	0	3
Случай 2	Опухоль	16	76	6	0	0	2
	Метастаз	16	75	0	0	0	9
Случай 3	Опухоль	5	90	0	0	0	5
	Метастаз	5	90	0	0	0	5

Случай 4	Опухоль	24	53	11	11	0	1
	Метастаз	18	64	7	7	0	4
Случай 5	Опухоль	6	92	0	0	0	2
	Метастаз	7	91	0	0	0	2
Случай 6	Опухоль	12	51	35	0	2	0
	Метастаз	5	28	67	0	0	0
Случай 7	Опухоль	0	100	0	0	0	0
	Метастаз	0	100	0	0	0	0
Случай 8	Опухоль	2	92	3	0	3	0
	Метастаз	2	92	3	0	3	0
Случай 9	Опухоль	25	47	19	0	4	5
	Метастаз	15	81	1	0	3	4
Случай 10	Опухоль	5	90	0	0	0	5
	Метастаз	5	90	0	0	0	5
Случай 11	Опухоль	0	54	46	0	0	0
	Метастаз	0	54	46	0	0	0
Случай 12	Опухоль	31	11	57	0	1	0
	Метастаз	15	13	72	0	0	0
Случай 13	Опухоль	3	97	0	0	0	0
	Метастаз	6	94	0	0	0	0
Случай 14	Опухоль	3	75	22	0	0	0
	Метастаз	3	75	22	0	0	0
Случай 15	Опухоль	18	71	6	2	1	2
	Метастаз	77	16	5	1	1	0

В 12 (80,0%) случаях клеточный состав первичной опухоли и метастаза остается неизменным, с сохранением преобладающего компонента. Однако в 3

(20,0%) случаях было выявлено изменение преобладающего клеточного компонента АР. В двух случаях первичная опухоль относилась к группе бифазного строения. И лишь в одном случае отмечалось полное расхождение как гистологического строения, так и клеточного состава первичной опухоли и метастаза.

С учетом совпадения гистологического строения и клеточного состава первичной опухоли и метастаза в 80,0% случаев соответственно, а также объяснения наличия расхождений ввиду бифазного строения первичной опухоли и различного соотношения ее компонентов в метастазах, морфологические характеристики первичной опухоли и метастаза следует признать идентичными.

Дальнейший цитоморфологический анализ был проведен только на препаратах первичной опухоли для группы пациентов с первичным АР, и на препаратах рецидивной/метастатической опухоли для группы пациентов со вторичным АР.

### **3.3 Особенности экспрессии иммуногистохимических маркеров в анапластическом раке**

Экспрессия опухолевыми клетками PanCK 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 PAX8 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 PAX8 (min – 5,0%, max – 100,0%). Экспрессия TGB была отмечена в 2 (6,7%) случаев со слабым окрашиванием 50,0% опухолевых клеток. Пять случаев (16,7%) не продемонстрировали экспрессии органоспецифических маркеров. Наиболее типичная картина характера экспрессии опухолевых маркеров представлена ниже (Рисунки 22 и 23).

Ни один случай из представленной выборки не продемонстрировал сочетанного отсутствия экспрессии эпителиальных и органоспецифических маркеров.

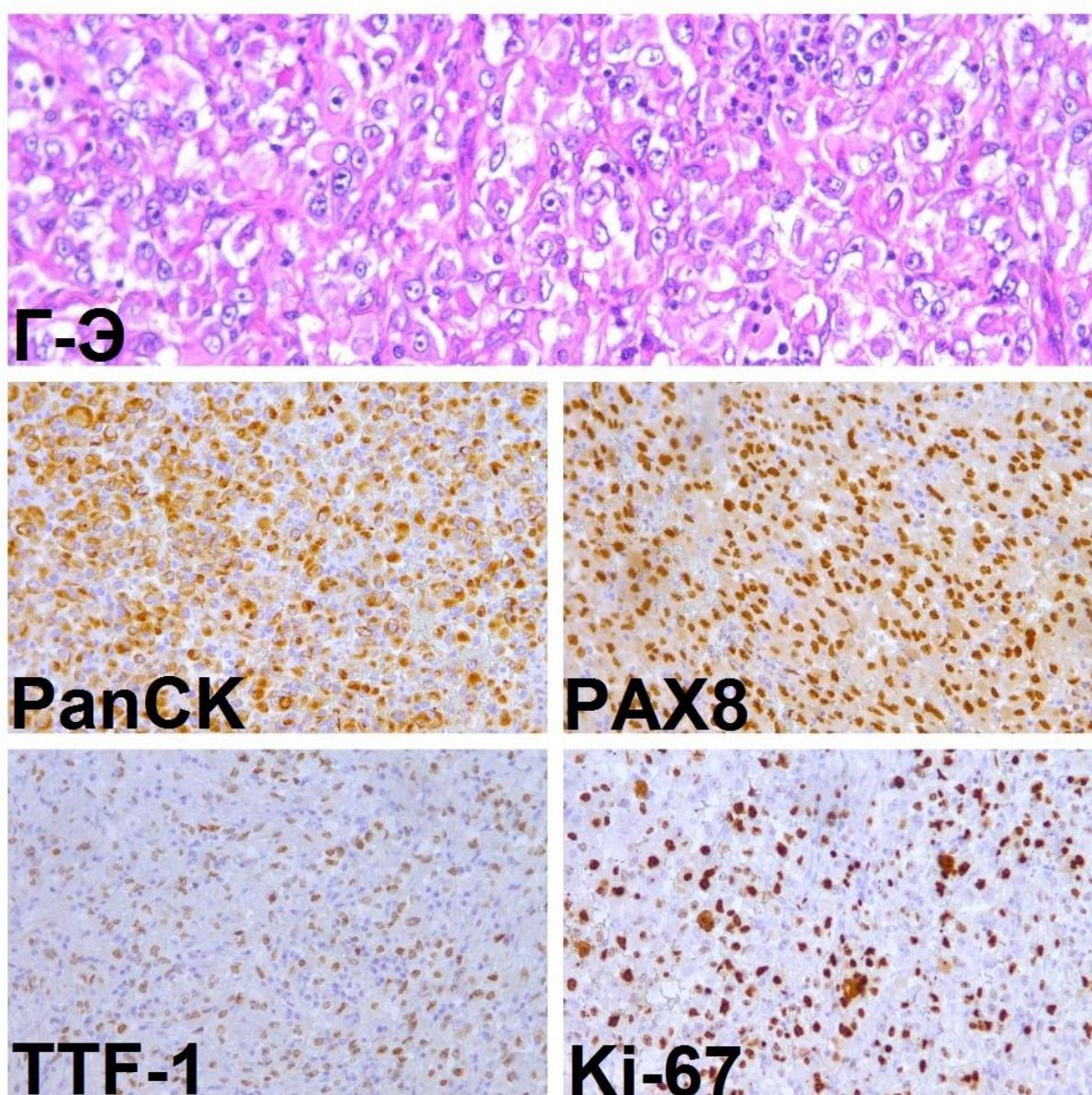
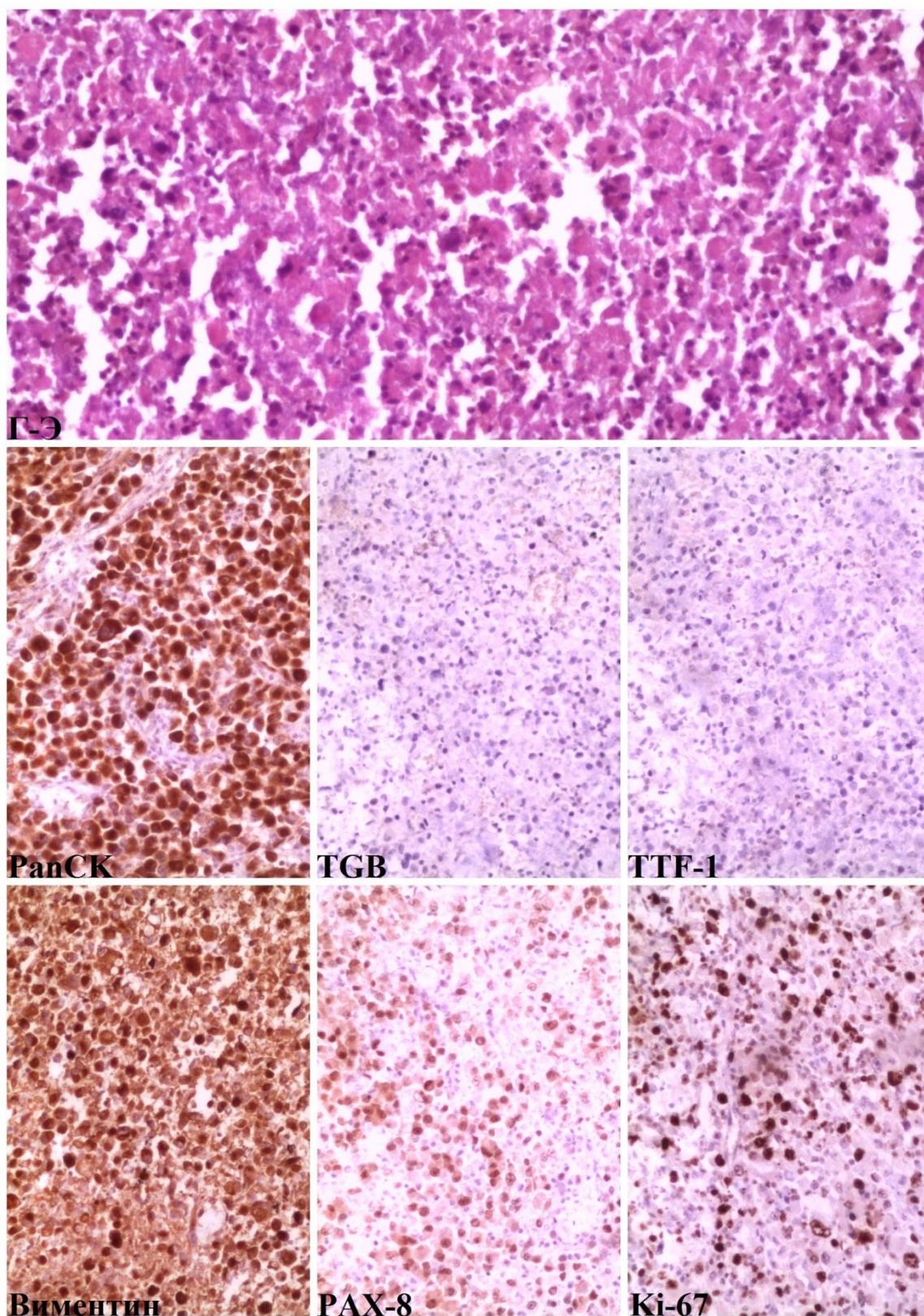


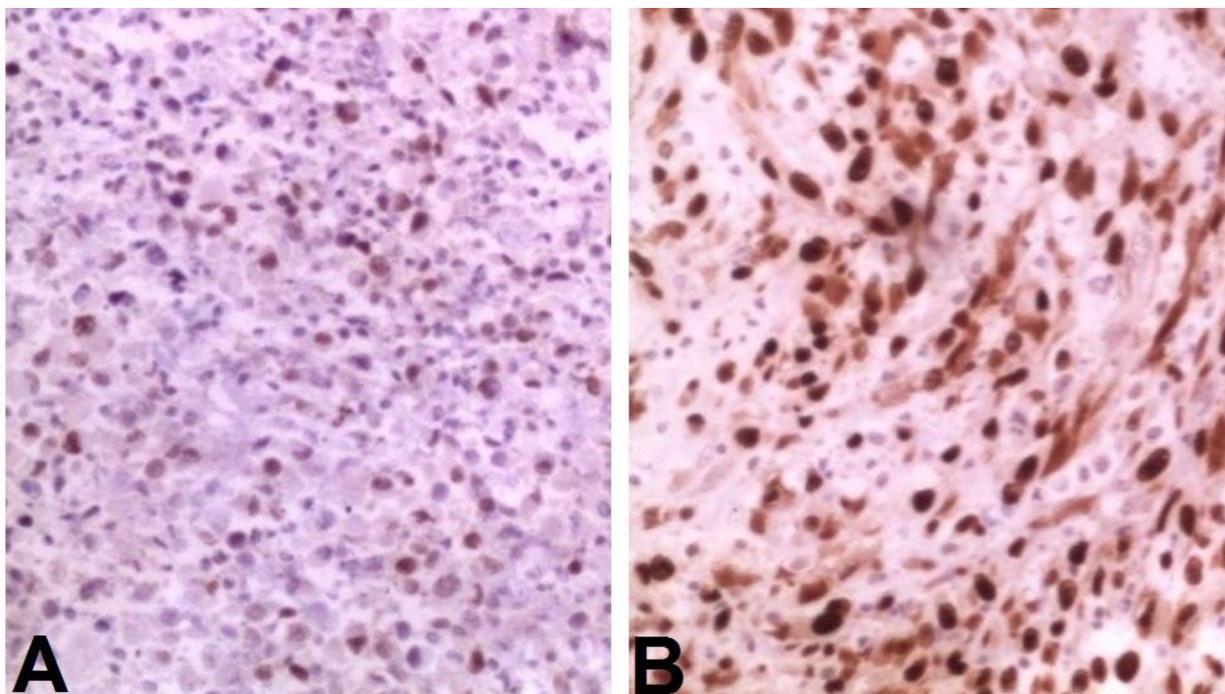
Рисунок 22 – Характер распределения маркеров в эпителиоидно-сквамиеидном варианте анапластического рака щитовидной железы



**Рисунок 23** – Характер распределения маркеров в недифференцированном варианте анапластического рака щитовидной железы

Ядерная гиперэкспрессия p53, суррогатного маркера мутации гена TP53, наблюдалась в 18 (60,0%) случаях. При этом остальные 12 (40,0%) случаев

продемонстрировали экспрессию p53, соответствующую дикому типу гена TP53 (Рисунок 24). Ни в одном из наблюдений не было отмечено полного отсутствия экспрессии p53, либо его цитоплазматического окрашивания.



А – дикий тип распределения маркера; В – мутантный тип распределения маркера

**Рисунок 24** – Характер распределения p53 в клетках опухоли

Индекс пролиферации опухолевых клеток (индекс Ki-67) в среднем составил 55,0% ( $\sigma \pm 16,14$ ), min – 30,0%, max – 90,0%.

В трех случаях АР, гистологически сходных с ангиосаркомой, была выполнена оценка экспрессии маркеров эндотелиальной дифференцировки (CD31, Fli-1) в клетках опухоли. Во всех случаях экспрессия CD31 и Fli-1 была ограничена клетками эндотелия интра- и перитуморальных капилляров, без окрашивания опухолевой ткани, что позволило исключить ангиосаркому.

## Резюме

Несмотря на наличие в нашем исследовании лишь пяти пациентов с анамнестически доказанным вторичным АР, фокусы более дифференцированной опухоли отмечались в 12 случаях.

При определении гистологического варианта опухоли в большей степени стоит ориентироваться на гистоархитектонику опухоли. Клеточный же состав АР крайне разнообразен, и может включать не только описанные в литературе остеокластоподобные и рабдоидные элементы, но и вакулизированные клетки. Однако процентное соотношение подобных элементов в нашем исследовании не превышает 12%, что не позволяет выделить опухоли с наличием подобных элементов в отдельную гистологическую группу.

Хотя высокая митотическая активность опухолевых клеток и наличие очагов некроза является характерным для АР, в нашем исследовании имеются случаи без очагов некроза (8 случаев) и случаи с низкой митотической активностью (4 митоза в 10 РПЗ). Отсутствие очагов некроза и низкая митотическая активность клеток опухоли в нашем исследовании не влияло на постановку диагноза, однако служит поводом для дальнейшего изучения этих параметров.

Гистологическое строение и клеточный состав первичной метастатической опухоли в подавляющем большинстве идентично. Отличия в гистоархитектонике обусловлены бифазным характером строения первичной опухоли.

Можно отметить характерную особенность в экспрессии дифференцированных маркеров: PanCK и виментин относятся к наиболее часто экспрессируемым маркерам анапластического рака. При среднем значении экспрессии PanCK в 45–91%, в нашем исследовании оно составило 77,0%. ЕМА же относится к группе вариабельно экспрессируемых маркеров, и в данном исследовании он экспрессируется менее чем в половине случаев (46,7%).

Распределение экспрессии органоспецифических маркеров также соответствует результатам, отмеченным в ранее проводимых исследованиях.

Наиболее часто экспрессируемым маркером АР принято считать PAX-8. В ходе исследования было установлено, что до 20% случаев АР не экспрессируют PAX-8. Так, экспрессия PAX-8 отмечалась в 23 (79,3%) случаях со средним значением 78,7% (min – 5%, max – 100%). TTF-1 принято относить к вариабельно экспрессируемым маркерам. Экспрессия TTF-1 была отмечена в 11 (37,93%) случаях АР со средним значением 79,0% (min – 30%, max – 100%).

Несмотря на то, что TGB относится к минимально экспрессируемым маркерам в АР, его экспрессия описана в 0-50% исследований АР (преимущественно как слабая и фокальная). Нами была выявлена экспрессия TGB лишь в 1 (3,45%) случае со слабым окрашиванием 50% опухолевых клеток.

Ядерная гиперэкспрессия p53-наблюдалась в 18 (60,0%) случаях, что так же соответствует данным различных исследований (в 30-70% случаев).

Иммуногистохимические характеристики случаев АР, представленных в нашей выборке, совпадают с уже описанными в мировой литературе. Из вышеизложенного следует, что наша выборка является репрезентативной.

## ГЛАВА 4. ФАКТОРЫ ПРОГНОЗА АРЦЖ

### 4.1 Клинические факторы прогноза

Одним из наиболее значимых клинических факторов прогноза АР является возраст пациента. Так, в ряде исследований было показано, что возраст старше 50-70 лет является неблагоприятным фактором прогноза [22, 24, 94-96, 98-99]. Для установления прогностического порога возраста, характерного для населения РФ, нами было проведено сопоставление данных о возрасте пациентов и ОВ. Так как в нашей выборке всего один пациент моложе 50 лет и три пациента моложе 55 лет, начальной точкой отсчета был выбран возраст 60 лет, далее расчеты производились с шагом в пять лет. Наиболее значимая разница медиан ОВ была выявлена для групп  $\leq 65$  лет и  $> 65$  лет (Рисунок 25). У пациентов старше 65 лет медиана ОВ достоверно меньше в 2,25 раза, чем у пациентов моложе 65 лет ( $p < 0,050$ ).

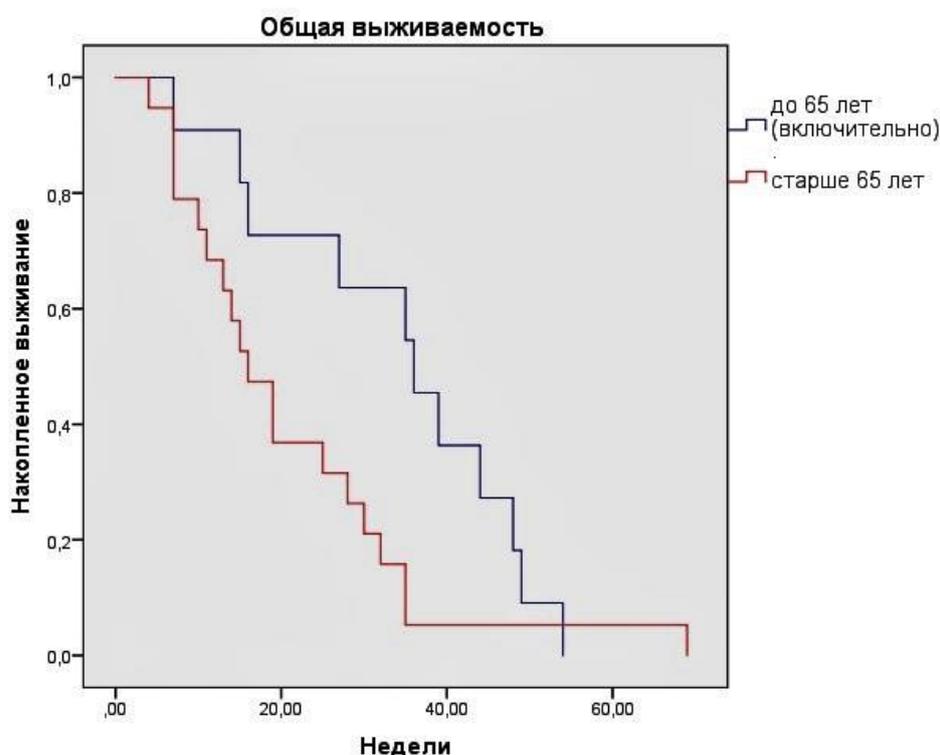
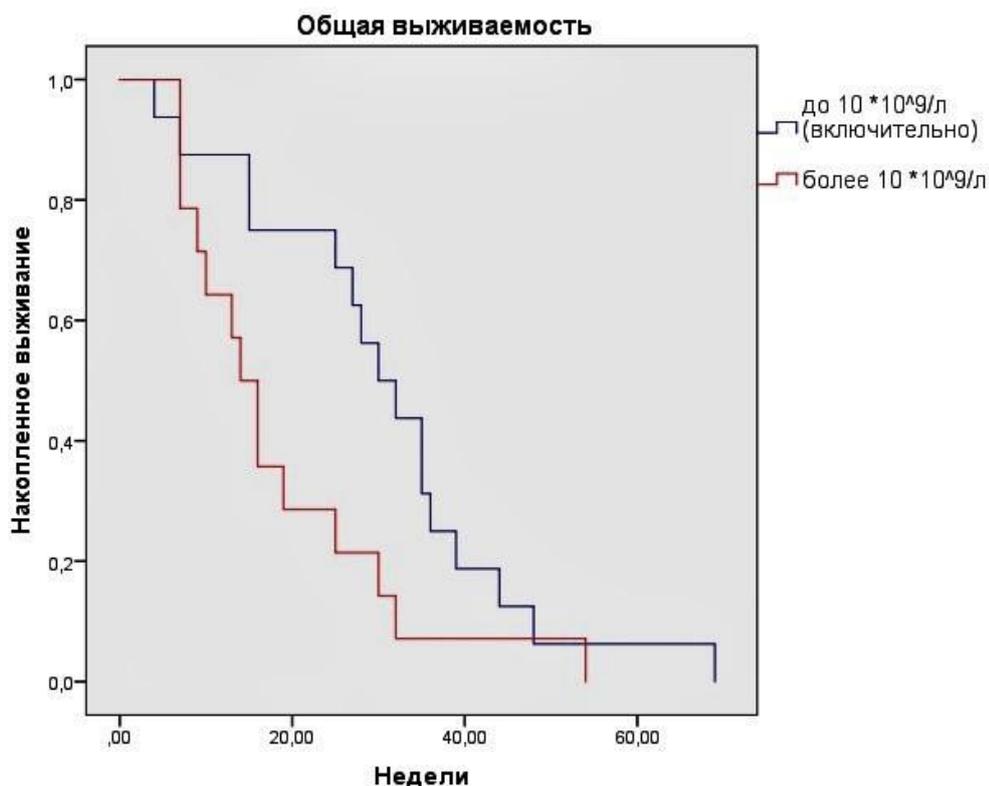


Рисунок 25 – Общая выживаемость пациентов в зависимости от возраста

Не менее значимым неблагоприятным прогностическим признаком является лейкоцитоз  $>10,000$  WBC/ $\text{мм}^3$  [98-100]. Мы также проанализировали этот параметр у всех пациентов с АР (Рисунок 26). У пациентов с лейкоцитозом  $>10,000$  WBC/ $\text{мм}^3$  медиана ОВ достоверно более чем в 2 раза меньше, чем у пациентов с меньшим уровнем лейкоцитов ( $p=0,046$ ).



**Рисунок 26** – Общая выживаемость пациентов в зависимости от уровня лейкоцитов периферической крови

Учитывая наличие данных о благоприятной прогностической значимости предсуществующих заболеваний щитовидной железы<sup>(75)</sup>, мы изучили взаимосвязь ОВ пациентов в зависимости от наличия и характера предсуществующего заболевания ЩЖ (Таблицы 6 и 7).

**Таблица 6** – 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 7** – 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.

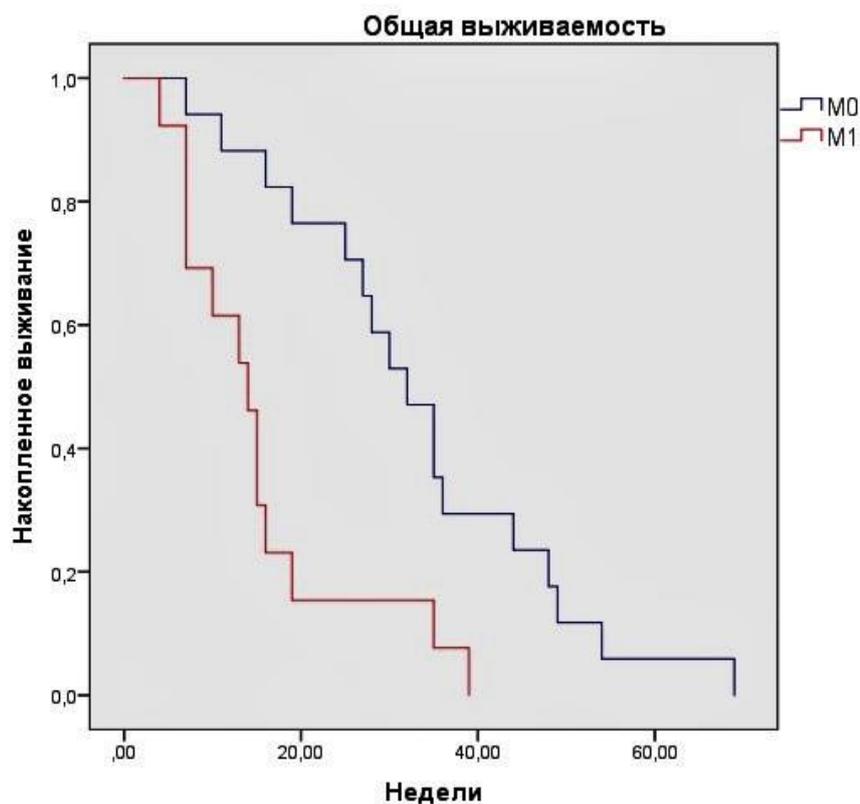
Также была проанализирована связь ОВ пациентов с наличием регионарных метастазов. Для оценки влияния данного параметра пациенты были разделены на группу с наличием регионарных метастазов и отсутствием отдаленных метастазов (N1M0) и группу с отсутствием регионарных и отдаленных метастазов (N0M0). Для достоверности оценки влияния данного параметра в группы сравнения не были включены пациенты с наличием отдаленных метастазов (M1) и не учитывался размер первичной опухоли (T).

Несмотря на различие медиан выживаемости в данных группах сравнения, статистической достоверности данный параметр не получил (Таблица 8).

**Таблица 8** – 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 отдаленных метастазов (Рисунок 27) и наличием острых симптомов (Таблица 9).



**Рисунок 27** – Общая выживаемость пациентов в зависимости от наличия отдаленных метастазов

**Таблица 9** – 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	

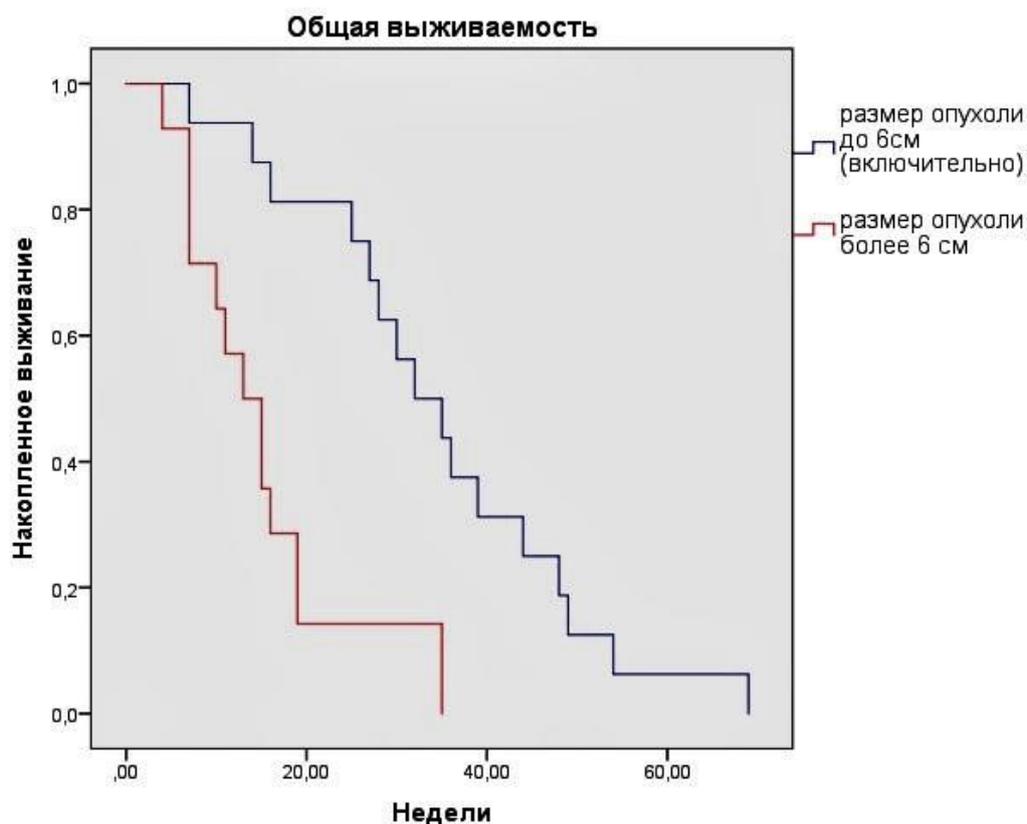
Прослеживается значительная разница между ОВ пациентов с наличием и отсутствием отдаленных метастазов, а также с наличием и отсутствием острых симптомов на момент манифестации заболевания. Однако достоверным неблагоприятным фактором прогноза при статистической оценке является только наличие отдаленных 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. За начальную точку был взят наименьший описанный в литературе прогностически значимый размер, равный 5 см. При изучении связи наибольшего размера опухоли с ОВ пациентов, нами было выявлено закономерное снижение ОВ при увеличении размеров опухоли (Таблица 10).

**Таблица 10** – Общая выживаемость групп пациентов с различными размерами опухоли

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

Также выявлено увеличение соотношения медиан ОВ при увеличении размера опухоли: в первой группе оно составило 1,75, во второй – 2,4. Так как первым наибольшим размером опухоли, при котором выявилось статистически значимое различие медиан ОВ, был порог «6см» ( $p=0,000$ ) (Рисунок 28), то это значение мы использовали как пороговое в дальнейших расчетах.



**Рисунок 28** – Общая выживаемость групп пациентов размером опухоли до 6см включительно и более

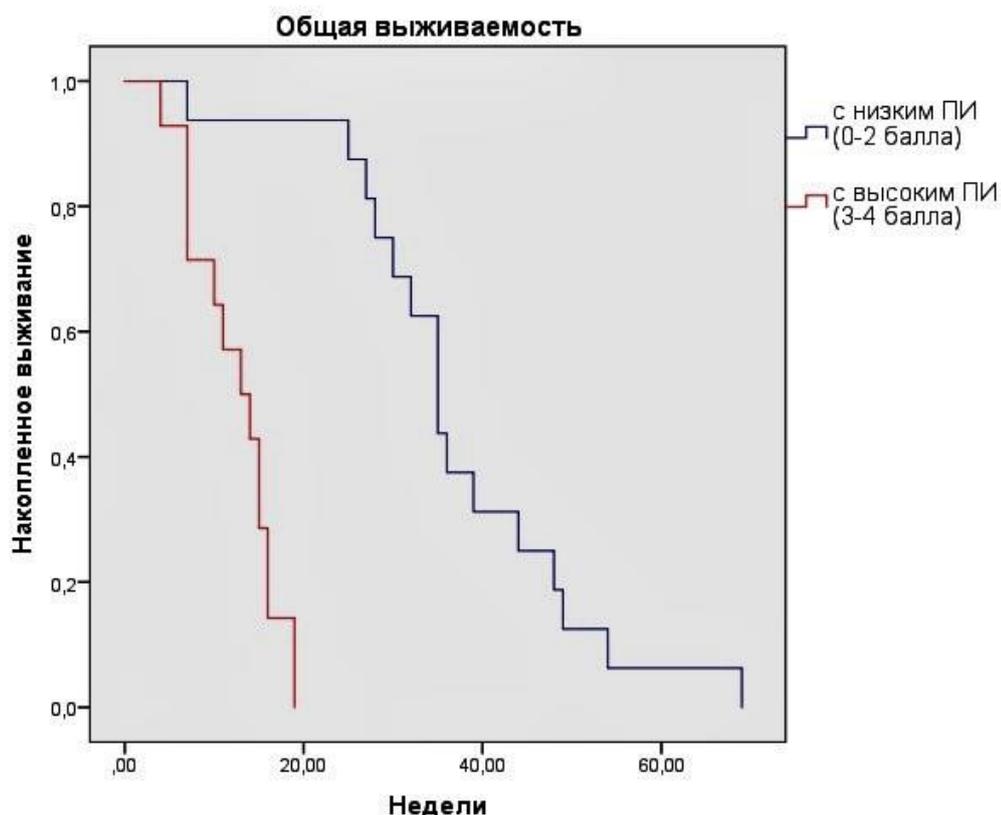
Для наиболее точного суждения о прогностической значимости наиболее часто встречающихся в мировой литературе факторов прогноза, мы применили прогностический индекс Sugitani. Данный индекс основан на четырех факторах: наличие острых симптомов, размер опухоли (>5см), лейкоцитоз (>10,000 WBC/мм<sup>3</sup>) и наличие отдаленных метастазов. В связи с тем, что в нашем исследовании прогностически значимым оказался наибольший размер опухоли

6см, мы модифицировали индекс Sugitani, изменив пороговое значение размера опухоли на >6см. При наличии признака ему присваивается 1 балл (Таблица 11).

**Таблица 11** – Общая выживаемость пациентов с разным значением модифицированного индекса Sugitani

ПИ (баллы)	Пациенты (n)	ОВ (медиана, нед)
0	6	33,5
1	4	26,5
2	6	37,5
3	11	15,0
4	3	7

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 29). Нами было получено статистически достоверное различие между группами с высоким и низким ПИ ( $p=0,000$ ).



**Рисунок 29** – Общая выживаемость пациентов с прогностическим индексом 0-2 и 3-4 балла

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

#### 4.2 Гистологические факторы прогноза

Мы рассмотрели взаимосвязь ОВ пациентов с гистологическим строением и особенностями цитоморфологического состава опухоли (Таблица 12). 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 ранее уже рассматривались как пациенты с вторичным АР.

**Таблица 12** - 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	

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 АР (Таблица 13). 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 13** - 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

При сравнении ОВ пациентов с различным преобладающим клеточным компонентом не удается обозначить достоверно выделяющуюся группу (Таблица

14). Также можно говорить о несоответствии ОВ пациентов с эпителиоидно-сквамозидным гистотипом опухоли и с преобладающим эпителиоидным клеточным компонентом, с саркоматоидным гистотипом опухоли и преобладающим веретенклеточным компонентом, соответственно.

**Таблица 14** – Общая выживаемость пациентов с различным преобладающим клеточным компонентом в опухоли

Преобладающий клеточный компонент	Пациенты (n)	ОВ (медиана, нед)
Эпителиоидный	18	22,0
Саркоматоидный	8	21,5
Без преобладающего компонента	4	27,5

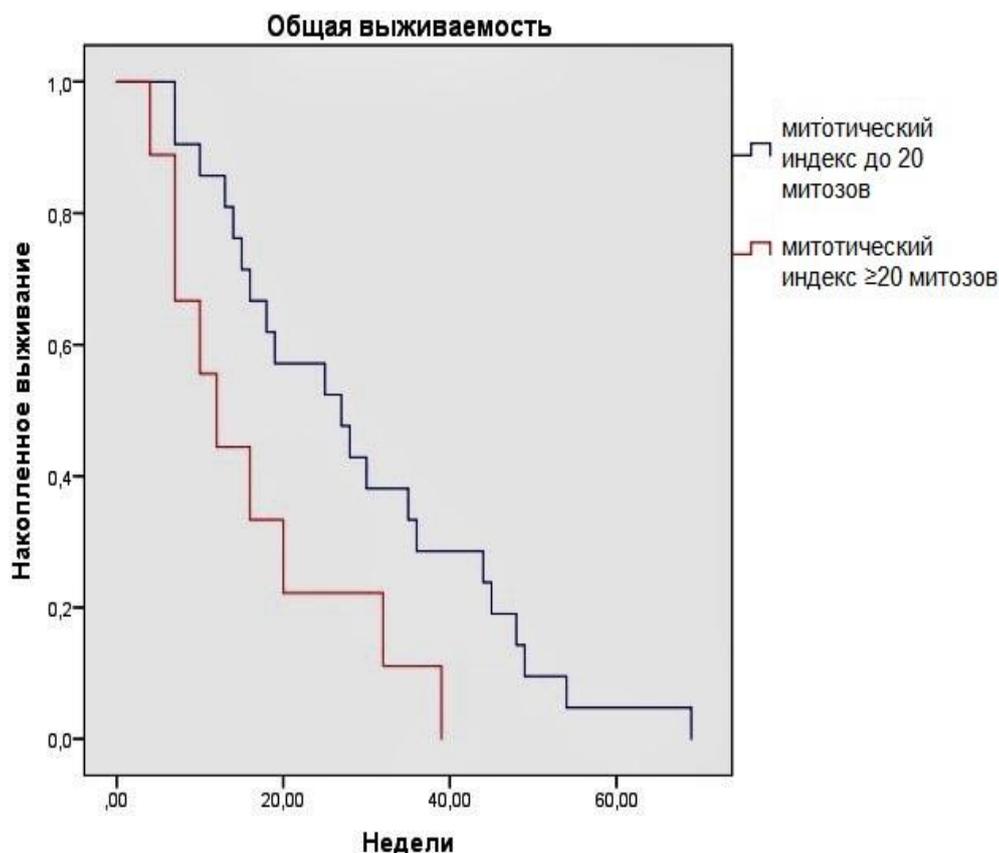
Нами было проанализировано соотношение уровня митотической активности опухоли с индексом пролиферации опухолевых клеток и медианой ОВ пациентов (Таблица 15).

**Таблица 15** – 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  $\geq 20$  митозов в 10 РПЗ ( $p=0,033$ ) (Рисунок 30).



**Рисунок 30** – 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 16). Как можно заметить, не отмечается корреляции между гистологическим типом опухоли, уровнем ее митотической активности и индексом Ki-67 опухолевых клеток.

**Таблица 16** – Характер пролиферации опухолевых клеток в разных типах анапластического рака

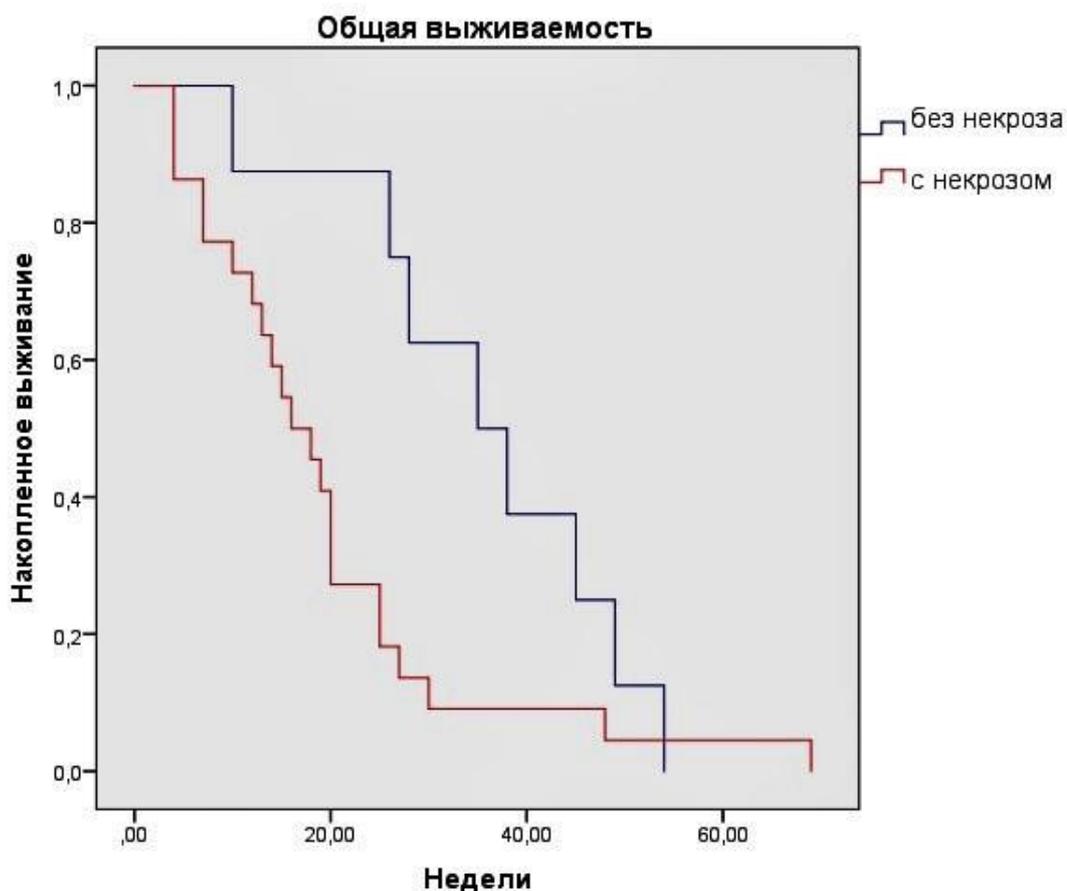
Гистологический тип	Митозы, (медиана, 10РПЗ)	Индекс Ki-67 (медиана, %)
Эпителиоидно- сквамозидный	13	50,4
Саркоматоидный	11	52,2
Бифазный	19	68,4
Недифференцированный	14	60,0

Отмечается тенденция к уменьшению медианы ОВ пациентов с увеличением объема очагов интратуморального некроза (Таблица 17).

**Таблица 17** – Общая выживаемость пациентов с различным объемом интратуморальных очагов некроза

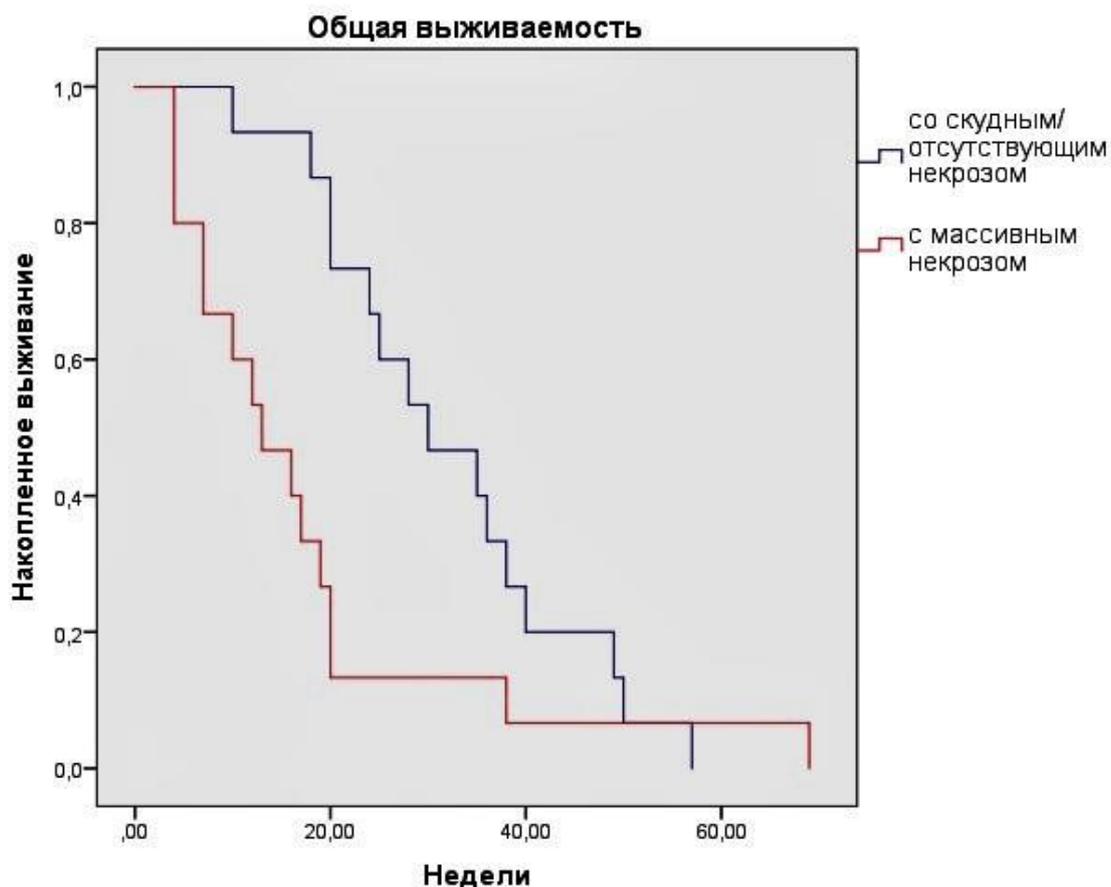
Очаги некроза	Пациенты (n)	ОВ (медиана, нед)	P
Отсутствие	8	32,5	0,044
Мелкие очаги некроза (<10% объема опухоли)	7	25,0	
Крупные очаги некроза (≥10% объема опухоли)	15	15,0	0,038

При статистической обработке данных параметров нами было отмечено достоверное различие ОВ в группах с отсутствием и наличием интратуморальных очагов некроза ( $p=0,044$ , Рисунок 31).



**Рисунок 31** – Общая выживаемость пациентов в зависимости от наличия очагов некроза в опухоли

Различия в группах с крупными интратуморальными очагами некроза и мелкими / отсутствием очагов некроза ( $p=0,038,$ ) представлены на рисунке 32.



**Рисунок 32** – Общая выживаемость пациентов в зависимости от размеров очагов некроза в опухоли

Прослеживается прямая связь между наличием лимфоваскулярной инвазии на ОВ пациентов (Таблица 18). Наблюдается увеличение количества пациентов с наличием регионарных и отдаленных метастазов в группе с доказанной лимфоваскулярной инвазией. Однако мы можем отметить наличие пациентов с регионарными и отдаленными метастазами и в группе без гистологически доказанной лимфоваскулярной инвазии. Следовательно, данный параметр не может быть применим для оценки способности опухоли к метастазированию.

**Таблица 18** – Общая выживаемость пациентов в зависимости от выявления лимфоваскулярной инвазии

Пациенты, (n, %)	Сосудистая инвазия	
	Отсутствие	Наличие
Пациенты, (n / %)	16 / 53,3%	14 / 46,7%
Пациенты с регионарными метастазами, (n / %)	11 / 68,8%	12 / 85,7%
Пациенты с отдаленными метастазами, (n / %)	5 / 31,3%	7 / 58,3%
ОВ (медиана, нед)	31,5	17,5

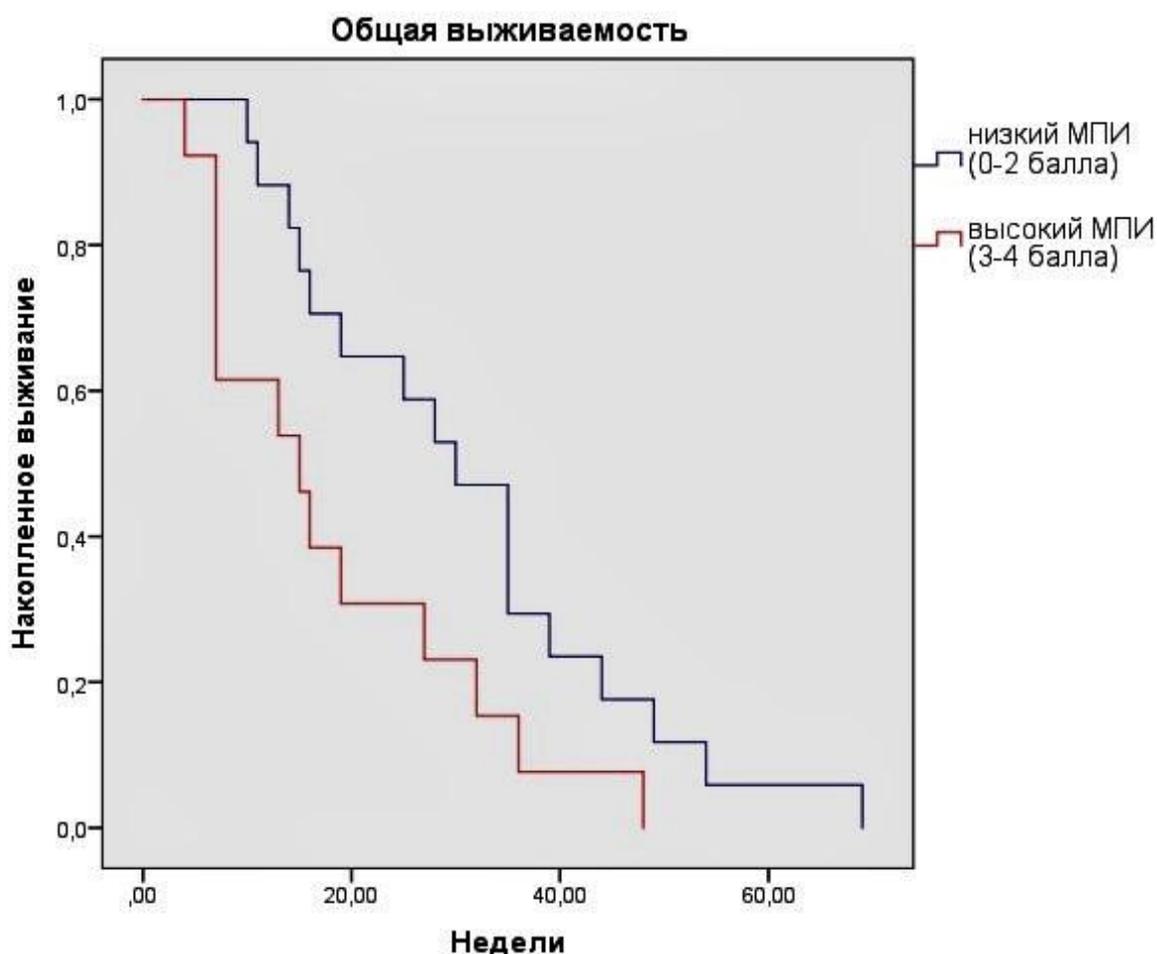
Проведенный анализ гистологических параметров позволил нам сформировать морфологический прогностический индекс (МПИ), в основу которого легли ранее выявленные прогностически значимые морфологические параметры (Таблица 19).

**Таблица 19** – 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)	$\geq 20$	1-20
Объем некроза	$\geq 10\%$	Нет / $< 10\%$

Каждому неблагоприятному морфологическому фактору был присвоен 1 балл МПИ, а благоприятному фактору, соответственно, 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 33).



**Рисунок 33** – Общая выживаемость пациентов с морфологическим прогностическим индексом 0-2 и 3-4 балла

С целью получения более точного прогностического индекса, мы совместили клинические и морфологические параметры пациентов. Система

присвоения баллов не изменилась, а суммарный индекс (СИ), таким образом, возрос до 8 баллов. Пациенты также были разделены на две группы с СИ 0-4 баллов и с СИ 5-8 баллов (Таблица 20).

**Таблица 20** – Общая выживаемость пациентов с суммарным индексом 0-4 и 5-8 балла

СИ (баллы)	Пациенты (n)	ОВ (медиана, нед)	p
0-4	17	35,0	0,626
5-8	13	14,0	

Стоит отметить более высокую медиану ОВ пациентов в группе с низким СИ по сравнению с группой высокого СИ (5-8 баллов), 35,0 и 14,0 недель соответственно. Однако статистического подтверждения суммарный индекс не имеет ( $p=0,626$ ).

### 4.3 Иммуноморфологические факторы прогноза

Ввиду отсутствия единого специфичного иммуноморфологического профиля АР и выраженного разнообразия иммуноморфологических признаков изученных случаев, мы также рассмотрели взаимосвязь между гистологическим строением опухоли, характером экспрессии иммуногистохимических маркеров и общей выживаемостью пациентов.

Мы разделили иммуногистохимические маркеры на эпителиальные (PanCK и ЕМА) и органоспецифичные (ТТF-1, ТGВ, РАХ8). Так как в нашей выборке 100% случаев характеризуется выраженной экспрессией виментина, то оценка его значимости для общей выживаемости пациентов с АР не представляется возможным.

Согласно теории дедифференцировки АР из ВДР ЦЖ, промежуточным этапом данного процесса является НДР ЦЖ. Также обращает на себя характер

экспрессии органоспецифичных маркеров данных новообразований: с увеличением анаплазии опухолевые клетки утрачивают экспрессию органоспецифичных маркеров. В первую очередь клетки опухоли утрачивают экспрессию TGB, затем TTF-1 и PAX8. 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.

Согласно произведенным расчетам, можно отметить увеличение ОВ больных АР с экспрессией эпителиальных маркеров в 1,7 раза по сравнению с группой больных АР без экспрессии эпителиальных маркеров (Таблица 21). Однако ввиду малого количества пациентов в группе с отсутствием экспрессии опухолевыми клетками эпителиальных маркеров, проведение статистического анализа в данных группах сравнения не представляется возможным.

**Таблица 21** – Общая выживаемость пациентов в зависимости от экспрессии эпителиальных маркеров

Характер экспрессии (PanCK и ЕМА)	Пациенты (n)	ОВ (медиана, нед)
Присутствует	26	26,0
Отсутствует	4	15,5

При сравнении групп пациентов в зависимости от характера экспрессии органоспецифичных маркеров, мы не можем отметить какой-либо характерной закономерности (Таблица 22).

**Таблица 22** – 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

Учитывая встречающиеся в мировой литературе данные о благоприятном прогностическом значении экспрессии PAX8, мы рассмотрели взаимосвязь между наличием экспрессии данного маркера и ОВ пациентов (Таблица 23). В нашем исследовании мы отметили тенденцию к уменьшению ОВ пациентов при наличии экспрессии PAX8, однако данный параметр оказался статистически недостоверным.

**Таблица 23** – 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 AP имеет более благоприятный прогноз. Мы проанализировали характер экспрессии маркеров AP в различных гистологических вариантах (Таблица 24).

Можно отметить отсутствие закономерностей в экспрессии ИГХ-маркеров в различных гистологических типах АР.

**Таблица 24** - 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)
Саркоматоидный	11	10 (90,9)	8 (72,7)
Бифазный	5	3 (60)	5 (100)
Недифференцированный	3	3 (100)	3 (100)

#### 4.4 Молекулярно-генетические факторы прогноза

В 12 случаях (40,0%) была выявлена мутация V600E гена BRAF. 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%) отмечалось сочетание мутаций в генах TP53 и BRAF, и в 9 (30,0%) случаях сочетание мутаций в генах TP53 и TERT.

Сочетание мутаций в трех генах TP53, BRAF и TERT отмечалось лишь в 4 (13,3%) случаях. Отсутствие мутация в АР отмечалось лишь в 3 (10,0%) случаях.

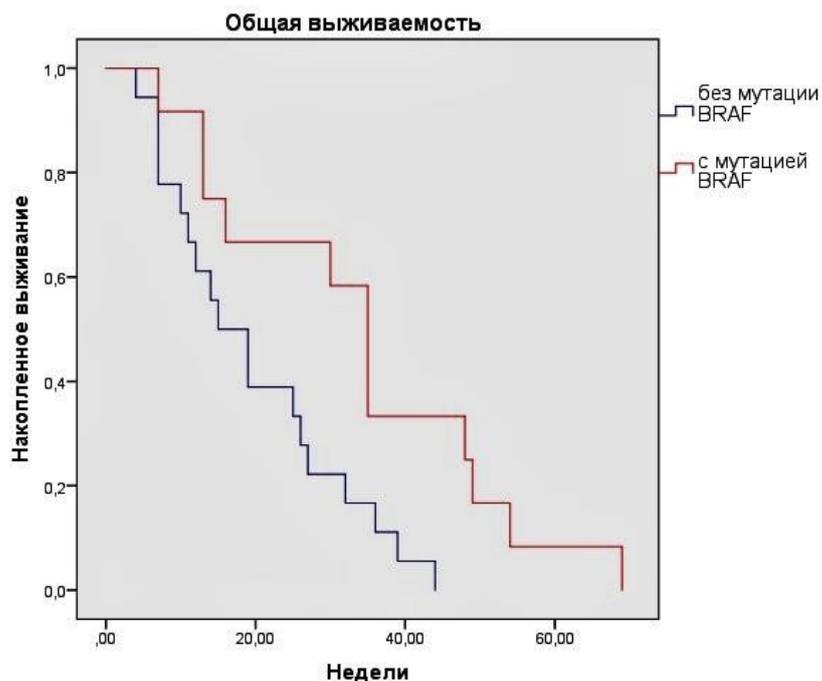
Мы проанализировали взаимосвязь наличия мутаций в генах TP53, BRAF и TERT (Таблица 25) в опухоли с ОБ пациентов.

**Таблица 25** – Общая выживаемость пациентов в зависимости от мутационного статуса опухоли

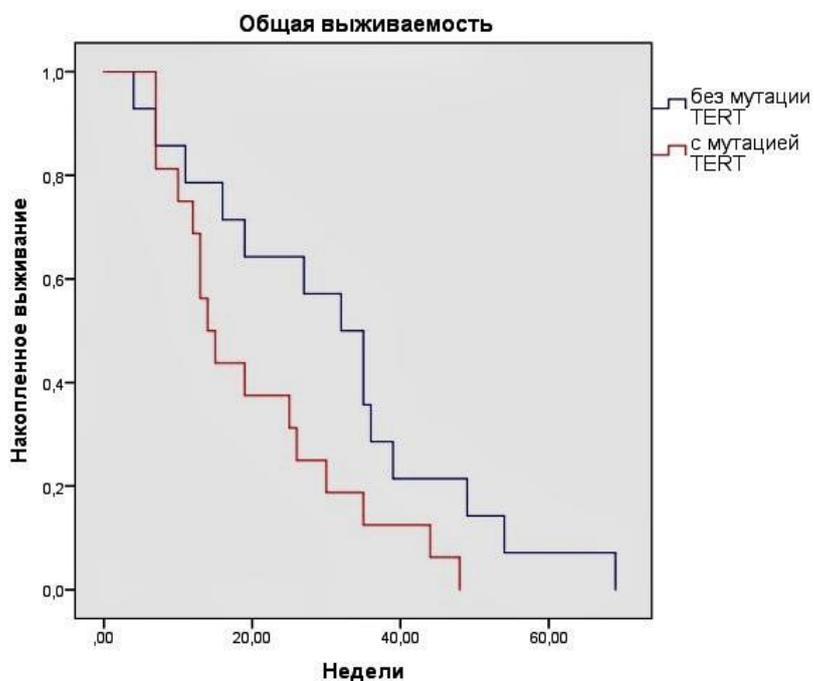
Локализация мутации		Пациенты, n	ОВ (медиана, нед)	p
TP53	wild type	12	22,0	0,325
	Мутация	18	24,5	
BRAF	wild type	18	17,0	0,014
	Мутация	12	35,0	
TERT	wild type	14	33,5	0,049
	Мутация	16	15,5	

В первую очередь стоит отметить отсутствие разницы ОВ в группах пациентов с наличием мутации в гене TP53 и с отсутствием этой мутации. Также наблюдается достоверное увеличение ОВ больных AP с мутацией в гене BRAF по сравнению с группой пациентов с отсутствием этой мутации в 1,8 раза ( $p=0,014$ , Рисунок 34). Стоит также уточнить, что ввиду ретроспективного анализа мутационного статуса опухоли, группа больных AP с мутацией в гене BRAF не получала специфического лечения, которое могло бы отобразиться на данных ОВ пациентов этой группы.

Среди больных AP с мутацией в гене TERT отмечается обратная корреляция: выявлено достоверное уменьшение ОВ больных с мутацией в гене TERT по сравнению с группой пациентов с отсутствием мутации более чем в 2 раза ( $p=0,049$ , Рисунок 35).



**Рисунок 34** – Общая выживаемость пациентов в зависимости от наличия мутации в гене BRAF



**Рисунок 35** – Общая выживаемость пациентов в зависимости от наличия мутации в гене TERT

Так как в мировой литературе описаны данные о неблагоприятном течении ВДР ЦЖ с наличием сочетанных мутаций в генах BRAF и TERT, мы проанализировали потенциальное влияние нескольких сочетанных мутаций на ОБ пациентов (Таблица 26).

**Таблица 26** – Общая выживаемость пациентов в зависимости от наличия сочетанных мутаций

Сочетанные мутации		Пациенты, n	ОБ (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

Стоит отметить отсутствие взаимосвязи между группами больных АР с сочетанием мутаций в генах BRAF и TERT и в группах с сочетанием мутацией в генах BRAF, TERT и TP53. В этих выборках медианы ОБ пациентов составили 23,0 и 22,0 недель в зависимости от наличия или отсутствия сочетанных мутаций соответственно. Разница медиан выживаемости в данных группах незначительна, поэтому можно высказать о достоверном отсутствии прогностической значимости сочетанных мутаций в этих генах.

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 1,7раз. 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 мутация в клетках AP 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 AP с участками более дифференцированной опухоли и без них (Таблица 27), а также в его гистологических типах (Таблица 28).

**Таблица 27** – Характер распределения мутаций в различных типах анапластического рака

Мутация	AP, n (%)	AP с участками более дифференцированной опухоли, n (%)
BRAF	2 (16,7)	10 (83,3)
TERT	11 (68,7)	5 (31,3)

**Таблица 28** – 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 AP с участками более дифференцированной опухоли. Как и наличие мутации в гене BRAF, присутствие в AP фокусов более дифференцированной опухоли имеет

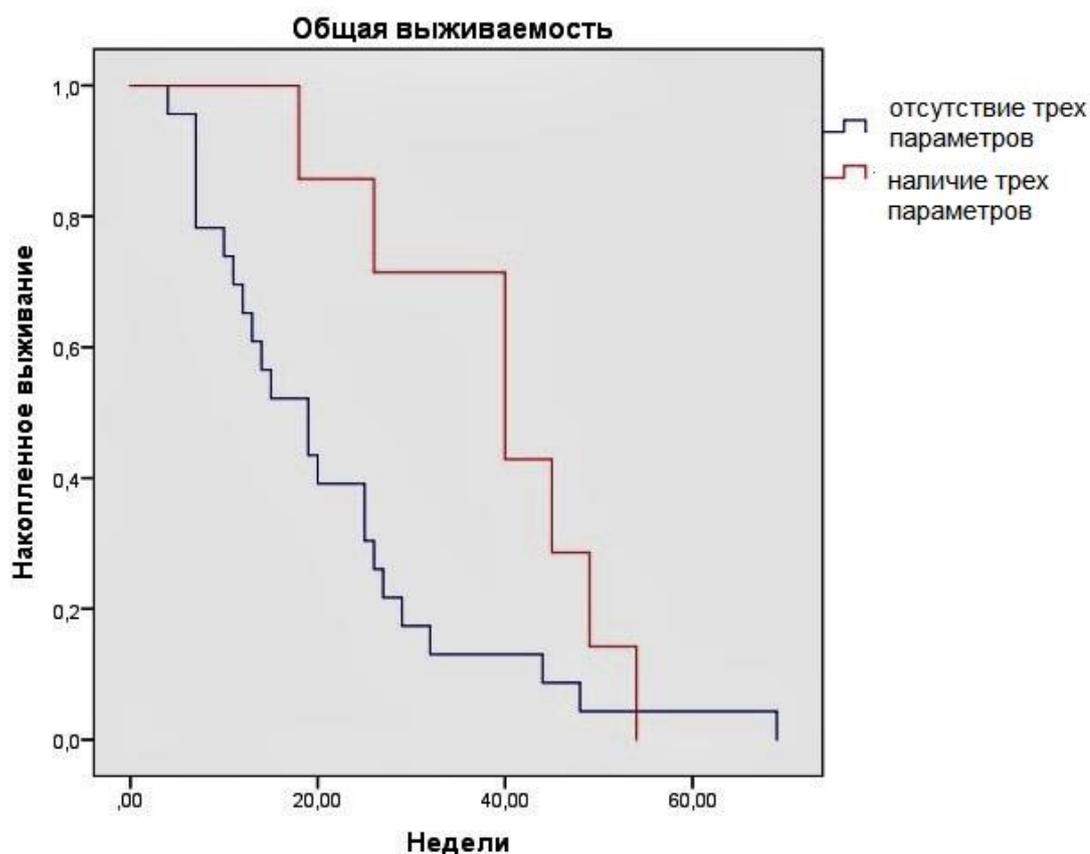
благоприятное прогностическое значение, пациенты с данных группах имеют доказанное увеличение ОБ по сравнению с другими группами. Обратную взаимосвязь можно отметить в случаях с мутацией в гене TERT: наличие мутации более характерно для АР без фокусов более дифференцированной опухоли.

Исходя из полученных данных, можно говорить о преимущественном наличие 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 ( $p=0,050$ , Таблица 29, Рисунок 36).

**Таблица 29** – Взаимосвязь общей выживаемости пациентов в зависимости от гистотипа, наличия мутации в гене BRAF и участков более дифференцированной опухоли

Эпителиоидный АР с мутацией в гене BRAF и фокусами более дифференцированной опухоли	Пациенты, n	ОБ (медиана, нед)
Наличие трех параметров	7	35,0
Отсутствие, по крайней мере, одного из параметров	23	19,0



**Рисунок 36** – Взаимосвязь общей выживаемости пациентов в зависимости от гистотипа, наличия мутации в гене BRAF и участков более дифференцированной опухоли

### Резюме

В нашем исследовании можно выделить следующие клинические параметры, имеющие неблагоприятное прогностическое значение: возраст пациентов >65 лет, наличие лейкоцитоза >10,000 WBC/мм<sup>3</sup>, наличие отдаленных метастазов, размер опухоли >6 см. Целесообразно для определения прогноза заболевания использовать модифицированный прогностический индекс Sugitani, который является статистически достоверным методом стратификации пациентов.

Показано, что такие гистологические параметры опухоли как эпителиоидно-сквамозный гистотип, наличие  $\leq 20$  митозов в 10 полях зрения и отсутствие интрамуральных очагов некроза достоверно ассоциированы с большей медианой выживаемости. Особо стоит отметить пациентов с имеющимися в анамнезе предсуществующими заболеваниями ЩЖ и случаи с наличием более дифференцированных зон в АР. Эти параметры также ассоциированы с более благоприятным прогнозом.

Впервые проанализированный в данном исследовании морфологический прогностический индекс является статистически достоверным и демонстрирует потенциал для дальнейшего применения в рутинной практике. Суммарный индекс не демонстрирует преимуществ по сравнению с модифицированным индексом Sugitani.

Оценить гистологический тип АР представляется возможным только на светооптическом уровне. Экспрессия эпителиальных и органоспецифичных маркеров клетками АР должна рассматриваться исключительно в диагностических целях. Индекс Ki-67 опухолевых клеток также стоит рассматривать в диагностических целях, возможность его применения в качестве прогностического фактора в настоящем исследовании не была доказана.

Наличие мутации в гене TP53, определяемой с помощью экспрессии опухолевыми клетками ИГХ-маркера p53 не имеет прогностической значимости для ОВ пациентов. В свою очередь наличие мутации в гене BRAF имеет достоверно благоприятное прогностическое значение даже при отсутствии специфического лечения ( $p < 0,05$ ). Наличие мутации в гене TERT имеет достоверно неблагоприятное прогностическое значение, в то время как сочетание нескольких мутаций в одной опухоли не имеет прогностического значения.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

АР является наиболее агрессивной опухолью щитовидной железы и отличается крайне неблагоприятным прогнозом. Средняя выживаемость после постановки диагноза составляет 4-12 месяцев, однако в мировой литературе зафиксированы случаи двух- и пятилетней выживаемости.

Нами были изучены такие клинические параметры как пол и возраст пациентов; лейкоцитоз; размеры опухоли; наличие острых симптомов; наличие в анамнезе пациентов злокачественных, доброкачественных или опухолеподобных заболеваний щитовидной железы; наличие регионарных или отдаленных метастазов; клиническая стадия заболевания. В качестве гистологических параметров были исследованы наличие интратуморальных очагов ВДР, гистологическое строение и клеточный состав опухоли, митотическая активность, наличие и объем интратуморальных очагов некроза. Было проведено иммуногистохимическое исследование каждого случая АРЩЖ с панелью антител, каждая из которых обязательно включала маркеры эпителиальной и мезенхимальной дифференцировки, органоспецифические маркеры и маркеры-регуляторы клеточного цикла. Также было проведено молекулярно-генетическое исследование всех образцов с целью выявления мутаций в генах BRAF, TP53 и TERT.

Оценки гистологического строения и клеточного состава первичной и метастатической опухоли показала идентичность морфологических особенностей очагов независимо их локализации. Отличия в гистоархитектонике могут быть обусловлены бифазным характером строения первичной опухоли. В обоих выявленных случаях расхождения гистологической картины первичного и вторичного очагов, гистоархитектоника опухоли нами была определена как бифазная, что коррелирует с неблагоприятным течением заболевания.

Иммуногистохимические характеристики случаев АР, представленных в нашей выборке, совпадают с уже описанными в мировой литературе.

В настоящее время общепризнанными неблагоприятными факторами прогноза являются возраст пациентов более 60 лет и лейкоцитоз  $>10,000$  WBC/ $\text{мм}^3$ , однако значение гистологических параметров на течение и прогноз заболевания остается неисследованным.

В нашем исследовании мы рассмотрели взаимосвязь некоторых гистологических и генетических параметров АРЦЖ с ОВ пациентов. Ввиду небольшой выборки пациентов, для получения достоверных результатов исследования мы также рассмотрели влияние общепризнанных клинически неблагоприятных факторов на ОВ пациентов.

Как и в общемировых исследованиях клинических факторов прогноза АРЦЖ, в нашем исследовании достоверно неблагоприятными факторами стали возраст пациентов  $>65$  лет и лейкоцитоз  $>10,000$  WBC/ $\text{мм}^3$ . Еще одним клинически неблагоприятным фактором проза стало наличие отдаленных метастазов, что также не противоречит другим исследованиям клинических факторов прогноза. Также статически достоверным оказался и прогностический индекс Sugitani с корреляцией на полученные нами данные о возрасте пациентов и размерах опухоли (6 см). Эти данные доказывают репрезентативность нашей выборки и достоверность полученных результатов исследования морфологических факторов прогноза АРЦЖ.

В нашем исследовании морфологическими неблагоприятными статически значимыми морфологическими факторами прогноза оказались высокая митотическая активность клеток опухоли  $\geq 20$  митозов в 10 РПЗ и наличие интратуморальных очагов некроза, занимающих более 10% объема опухоли ( $p < 0,05$ ). Статически благоприятным фактором прогноза стало полное отсутствие интратуморальных очагов некроза.

Наличие участков ВДР в АРЦЖ, а также его гистоархитектоника не показали статически достоверной значимости на течение и прогноз заболевания. Однако при учете данных параметров в морфологическом прогностическом индексе, мы получили статически значимое различие в результатах.

Экспрессия эпителиальных и органоспецифичных маркеров клетками AP должна рассматриваться исключительно в диагностических целях. Индекс Ki-67 опухолевых клеток также стоит рассматривать в диагностических целях, возможность его применения в качестве прогностического фактора в настоящем исследовании не была доказана.

Наличие мутации в гене TP53, определяемой с помощью экспрессии опухолевыми клетками ИГХ-маркера p53 не имеет прогностической значимости для ОВ пациентов. В свою очередь наличие мутации в гене BRAF имеет достоверно благоприятное прогностическое значение даже при отсутствии специфического лечения ( $p < 0,05$ ). Наличие мутации в гене TERT имеет неблагоприятное прогностическое значение, в то время как сочетание нескольких мутаций в одной опухоли не имеет прогностического значения.

## ВЫВОДЫ

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

2. Все случаи АР 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%) АР 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 экспрессии эпителиальных и органоспецифических маркеров. Ядерная гиперэкспрессия p53 наблюдалась в 18 (60,0%) случаях. Индекс пролиферации опухолевых клеток (индекс Ki-67) в среднем составил 55,0% (min – 30,0%, max – 90,0%).

5. Статистически достоверно прогностически неблагоприятные параметры АР: возраст пациентов более 65 лет, уровень лейкоцитов периферической крови до начала лечения  $>10,000$  WBC/ $\text{мм}^3$ , наличие отдаленных метастазов, максимальный размер опухолевого узла  $>6$ 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 диссекцию 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 исключительно на 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 АРЦЖ даже в тех случаях, в которых таргетное лечение проводится не будет.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

AP – анапластический рак

ВДР – высокодифференцированный рак

ЗНО – злокачественное новообразование

ИГХ – иммуногистохимический

НДР – низкодифференцированный рак

НПС – недифференцированная плеоморфная саркома

ППР – первичный плоскоклеточный рак щитовидной железы

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РПЗ - репрезентативные поля зрения

ТАБ – тонкоигольная аспирационная биопсия

ЩЖ – щитовидная железа

$\beta$ -ХГЧ –  $\beta$ -субъединица хорионического гонадотропина человека

CASTLE – рак щитовидной железы с тимусоподобной дифференцировкой  
(Carcinoma Showing Thymus-Like Differentiation)

CEA – раково-эмбриональный антиген

EGFR – семейство рецепторов эпидермального фактора роста

EMA – эпителиальный мембранный антиген

Ki-67 – антиген пролиферирующих клеток

OGFR – рецептор опиоидного фактора роста

p16 – Tumor suppressor protein encoded by CDKN2A gene

p21 – негативный регулятор клеточного цикла в G2-M и G1-S фазах

p53 – протеиновый продукт экспрессии гена TP53

PanCK – панцитокератин

PAX-8 – транскрипционный фактор 8 семейства Paired box

TGB – тиреоглобулин

TTF-1 – тиреоидный транскрипционный фактор 1

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Anaplastic Carcinoma of the Thyroid. A 24-year Experience / R. K. Tan, R. K. Finley 3rd, D. Driscoll [et all.] // *Head&Neck*. – 1995. – Vol. 17. – № 1. – P. 41-47.
2. Anaplastic Thyroid Carcinoma in Denmark 1996-2012. A National Prospective Study of 219 Patients / G. B. Hvilsom, S. C. Londero, C. H. Hahn [et all.] // *Cancer Epidemiology*. – 2018. – № 53. – P. 65-71.
3. Anaplastic Thyroid Carcinoma. Changing Trends of Treatment Strategies and Associated Overall Survival / S. Wächter, C. Vorländer, J. Schabram [et all.] // *European Archives of Oto-rhino-laryngology*. – 2020. – Vol. 227. – № 5. – P. 1507-1514.
4. Rao, S. N. Anaplastic thyroid cancer: An update / S. N. Rao, R. C. Smallridge // *Best Practice & Research. Clinical Endocrinology & Metabolism*. – 2023. – Vol. 37. – № 1. – P. 101-117.
5. Anaplastic Thyroid Carcinoma. A 25-year Single-Institution Experience / A. Mohebati, M. Dilorenzo, F. Palmer F [et all.] // *Annals of Surgical Oncology*. – 2014. – Vol. 21. – № 5. – P. 1665-70.
6. Anaplastic Carcinoma of the Thyroid Gland: Treatment and Outcome Over 13 Years at One Institution / I. Segerhammar, C. Larsson, I-L. Nilsson [et all.] // *Journal of Surgical Oncology*. – 2012. – Vol. 106. – № 8. – P. 981-986.
7. Survival in Anaplastic Thyroid Cancer in Relation to Pre-existing Goiter: a Population-based Study / L. C. Steggink, B. A. C. van Dijk, T. P. Links, J. T. M. Plukker // *American Journal of Surgery*. – 2015. – Vol. 209. – № 6. – P. 1013-1019.
8. Пинский, С. Б. Анапластический (недифференцированный) рак щитовидной железы / С. Б. Пинский, В. В. Дворниченко, О. Р. Репета // *Сибирский медицинский журнал*. – 2008. – № 8. – С. 14-20.
9. Anaplastic Carcinoma Thyroid in a Young Child - an Extremely Rare Occurrence / S. C. Sharma, P. Sakthivel, S. Raveendran [et all.] // *Acta Medica (Hradec Kralove)*. – 2018. – Vol. 61. – №. 4. – P. 150-152.

10. Ain, K. B. Anaplastic Thyroid Carcinoma: a Therapeutic Challenge / K. B. Ain // *Seminars in Surgical Oncology*. – 1999. – Vol. 16. – № 1. – P. 64-69.
11. Ain, K. B. Anaplastic Thyroid Carcinoma: Behaviour, Biology and Therapeutic Approaches / K. B. Ain // *Thyroid*. – 1998. Vol. 8. – № 8. – P. 715-726.
12. The Relative Roles of Endemic Goiter and Socioeconomic Development Status in the Prognosis of Thyroid Carcinoma / F. Bakiri, F. K. Djemli, L. A. Mokrane, F. K. Djidel // *Cancer*. – 1998. – Vol. 82. – № 6. – P. 1146-1153.
13. Anaplastic Thyroid Cancer: a Case Report of a Long Term Survival Patient and Review of Literature Data / S. Ursino, F. Fiorica, A. Stefanelli [et all.] // *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. – 2014. – Vol. 18. – № 9. – P. 1368-1372.
14. Huang, S. H. Overview of the 8th Edition TNM Classification for Head and Neck Cancer / S. H. Huang, B. O'Sullivan // *Current Treatment Opinions in Oncology*. – 2017. – Vol. 18. – № 7. – P. 40-47.
15. Spires, J. R. Anaplastic Thyroid Carcinoma. Association with Differentiated Thyroid Cancer / J. R. Spires, M. R. Schwartz, R. H. Miller // *Archives of Otorhinolaryngoogy-Head&Neck Surgery*. – 1988. – Vol. 114. – № 1. – P. 40–44.
16. Are, C. Anaplastic Thyroid Carcinoma. Biology, Pathogenesis, Prognostic Factors, and Treatment Approaches / C. Are, A. R. Shaha // *Annals of Surgical Oncology*. – 2006. – Vo. 13. – № 4. – P. 453-64.
17. Anaplastic Thyroid Carcinomas Incidentally Found on Postoperative Pathological Examination / A. Yoshida, K. Sugino, I. Sugitani, A. Miyauchi // *World Journal of Surgery*. – 2014. – Vol. 38. – № 9. – P. 2311-2316.
18. Thyroid Carcinoma – Biologic Behaviour and Mortality: Post Mortem Findings in 42 Cases Including 27 in Which the Disease Was Fatal / M. L. Ibanez, W. O. Russell, J. Albores-Saavedra [et all.] // *Cancer*. – 1996. – Vol. 19. – № 8. – P. 1039-52.
19. Anaplastic Thyroid Cancer: Prevalence, Diagnosis and Treatment / S. Chiacchio, A. Lorenzoni, G. Boni [et all.] // *Minerva Endocrinologica*. – 2008. – Vol. 33. – № 4. – P. 341-57.

20. American Thyroid Association Guidelines for Management of Patients with Anaplastic Thyroid Cancer / R. C. Smallridge, K. B. Ain, S. L. Asa [et all.] // *Thyroid*. – 2012. – Vol. 22. – № 11. – P. 1104-1139.
21. Anaplastic Thyroid Carcinoma. A Comprehensive Clinical, Histologic, Immunophenotypic, and Molecular Study of 360 Cases / B. Xu, T. Fuchs, S. Dogan [et all.] // *Thyroid*. – 2020. – Vol. 30. – №10. – P. 1505-1517.
22. Clinical and Histological Differences in Anaplastic Thyroid Carcinoma / J. M. Rodriguez, A. Piñero, S. Ortiz [et all.] // *The European Journal of Surgery*. – 2020. – Vol. 116. – № 1. – P. 34-38.
23. Coexistent Anaplastic and Differentiated Thyroid Carcinoma. An Immunohistochemical Study / Y. Aratake, H. Nomura, T. Kotani [et all.] // *American Journal of Clinical Pathology*. – 2006. – Vol. 125 – № 3. – P. 399-406.
24. Anaplastic Thyroid Carcinoma: a 50-year Experience at a Single Institution / B. McIver, I. D. Hay, D. F. Giuffrida [et all.] // *Surgery*. – 2001. – Vol. 130. – № 6. – P. 1028-1034.
25. Anaplastic Carcinoma of the Thyroid with Osteoclast-like Giant Cells. An Ultrastructural and Immunohistochemical Study / S. Kobayashi, I. Yamadori, M. Ohmori [et all.] // *Acta Pathologica Japonica*. – 1987. – Vol. 37. – №. 5. – P. 807-815.
26. Wallin, G. Anaplastic Giant Cell Thyroid Carcinoma / G. Wallin, G. Lundell, J. Tennvall // *Scandinavian Journal of Surgery*. – 2004. – Vol. 93. - №. 4. – P. 272-277.
27. Nishiyama, R. H. Anaplastic Spindle-cell and Giant-cell Tumors of the Thyroid Gland / R. H. Nishiyama, E. L. Dunn, N. W. Thompson // *Cancer*. – 1972. – Vol. 30. – №. 1. – P. 113-127.
28. Anaplastic Thyroid Carcinoma with Osteoclast-like Giant Cells. A Clinicopathologic, Immunohistochemical and Ultrastructural Study / M. J. Gaffey, E. E. Lack, M. L. Christ, L. M. Weiss // *The American Journal of Surgical Pathology*. – 1991. – Vol. 15. – №. 2. – P. 160-168.
29. 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. – Т. 1. – №. 6. – С. 137.

30. Besic, N. Sites of Metastases of Anaplastic Thyroid Carcinoma: Autopsy Findings in 45 Cases from a Single Institution / N. Besic, B. Gazic // *Thyroid*. – 2013. – Vol. 23. – № 6. – P. 709-713.

31. Wan, S. K. Paucicellular Variant of Anaplastic Thyroid Carcinoma: a Mimic of Riedel's Thyroiditis / S. K. Wan, J. K. C. Chan, S. K. Tang // *American Journal of Clinical Pathology*. – 1996. – Vol. 105. – № 4. – P. 388–393.

32. Bronner, M. P. Spindle Cell Squamous Carcinoma of the Thyroid: an Unusual Anaplastic Tumor Associated With Tall Cell Papillary Cancer / M. P. Bronner, V. A. LiVolsi // *Modern Pathology*. – 1991. – Vol. 4. – № 5. – P. 637–643.

33. Thyroid Carcinosarcoma, a Rare and Aggressive Histotype: a Case Report / D. Giuffrida, M. Attard, L. Marasa [et all.] // *Annals of Oncology*. – 2000. – Vol. 11. – № 11. – P. 1497–1499.

34. Dominguez-Malagon, H. Lymphoepithelioma-like Anaplastic Thyroid Carcinoma: Report of a Case Not Related to Epstein-Barr Virus / H. Dominguez-Malagon, G. Flores-Flores, J. J. Vilchis // *Annals of Diagnostic Pathology*. – 2001. – Vol. 5 – № 1. – P. 21-24.

35. Carcinosarcoma Thyroid: an Unusual Morphology With a Review of the Literature / M. Agrawal, S. G. Uppin, S. Challa, A. K. Prayaga // *South Asian Journal of Cancer*. – 2013. – Vol. 2. – № 4. – P. 226.

36. Management of Thyroid Carcinosarcoma / S. S. al-Sobhi, F. Novosolov, U. Sabançi [et all.] // *Surgery*. – 1997. – Vol. 122. – №. 3. – P. 548-552.

37. A Rare Malignant Thyroid Carcinosarcoma With Aggressive Behavior and DICER1 Gene Mutation: a Case Report With Literature Review / J. Yang, C. Sarita-Reyes, D. Kindelberger, Q. Zhao // *Thyroid Research*. – 2018. – Vol. 11. – №11. – P. 1-5.

38. Beckwith, J. B. Histopathology and Prognosis of Wilms Tumors: Results from the First National Wilms' Tumor Study / J. B. Beckwith, N. F. Palmer // *Cancer*. – 1978. – Vol. 41. – № 5. – P. 1937–1948.

39. A Case of Submandibular Malignant Rhabdoid Tumor Transformed From Papillary Thyroid Carcinoma / T. Sumida, H. Hamakawa, M. Imaoka [et all.] // *Journal of Oral Pathology & Medicine*. – 2001. – Vol. 30. – № 7. – P. 443–447.
40. Chetty, R. Follicular Thyroid Carcinoma With Rhabdoid Phenotype / R. Chetty, D. Govender // *Virchows Archiv*. – 1999. – Vol. 435. – № 2. – P. 133–136.
41. Albores-Saavedra, J. Poorly Differentiated Follicular Thyroid Carcinoma With Rhabdoid Phenotype: a Clinicopathologic, Immunohistochemical and Electron Microscopic Study of 2 Cases / J. Albores-Saavedra, S. Sharma // *Modern Pathology*. – 2001. – Vol. 14. – № 2. – P. 98–104.
42. Rhabdoid Tumor of the Thyroid Gland. A Variant of Anaplastic Carcinoma / M. L. Lai, G. Faa, S. Serra [et all.] // *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. – 2015. – Vol. 129. – № 3. – P. 55-57.
43. Anaplastic Thyroid Carcinoma with Rhabdoid Features / G. Feng, W. B. Laskin, P. M. Chou, X. Lin // *Diagnostic Cytopathology*. – 2015. – Vol. 43. – № 5. – P. 416-420.
44. Anaplastic Thyroid Carcinoma with Rhabdoid Phenotype: an Unusual Case and a Comprehensive Review / S. Bansal, S. Sancheti, S. Kaur [et all.] // *Diagnostic Cytopathology*. – 2020. – Vol. 48. – № 11. – P. 1125-1130.
45. Anaplastic Carcinoma of the Thyroid With Rhabdomyosarcomatous Differentiation: a Report of Two Cases / C. Carda, J. Ferrer, M. Vilanova [et all.] // *Virchows Archiv*. – 2005. – Vol. 446. – № 1. – P. 46-51.
46. LiVolsi, V. A. Anaplastic Thyroid Tumors. Immunohistology / V. A. LoVolsi, J. J. Brooks, B. Arendash-Durand // *The American Journal of Clinical Pathology*. – 1987. – Vol. 87 – № 4. – P. 434–442.
47. Anaplastic Thyroid Carcinoma. A Study of 70 Cases / M. L. Carcangiu, T. Steeper, G. Zampi, J. Rosai // *The American Journal of Clinical Pathology*. – 1985. – Vol. 83. – № 2. – P. 135-158.
48. Anaplastic Thyroid Carcinoma. An Epidemiologic, Histologic, Immunohistochemical and Molecular Single Institution Study / A. Deeken-Draisey, G. Yang, J. Gao, B. A. Alexiev // *Human Pathology*. – 2018. – № 82. – P. 140-148.

49. Anaplastic Thyroid Carcinoma: From Clinicopathology to Genetics and Advanced Therapies / E. Molinaro, C. Romei, A. Biagini [et all.] // *Nature Reviews. Endocrinology*. – 2017. – Vol. 13. – № 11. – P. 644-660.
50. Anaplastic Thyroid Carcinoma: Immunocytochemical Study of 32 Cases / N. G. Ordonez, A. K. El-Naggar, R. C. Hickey, N. A. Samaan // *The American Journal of Clinical Pathology*. – 1991. – Vol. 96. – № 1. – P. 15–24.
51. Thyroglobulin Production by Malignant Thyroid Tumors. An Immunocytochemical and Radioimmunoassay Study / A. Ryff-de Leche, J. J. Staub, K. Faden [et all.] // *Cancer*. – 1986. – Vol. 57. – № 6. – P. 1145–1153.
52. Diagnostic Utility of Thyroid Transcription Factors Pax8 and TTF-2 (FoxE1) in Thyroid Epithelial Neoplasms / D. Nonaka, Y. Tang, L. Chiriboga [et all.] // *Modern Pathology*. – 2008. – Vol. 21. – № 2. – P. 192–200.
53. Bishop, J. A. PAX8 Immunostaining of Anaplastic Thyroid Carcinoma: a Reliable Means of Discerning Thyroid Origin for Undifferentiated Tumors of the Head and Neck / J. A. Bishop, R. Sharma, W. H. Westra // *Human Pathology*. – 2011. – Vol. 42. – № 7. – P. 1873–1877.
54. Expression of Thyroid-Specific Transcription Factors TTF-1 and PAX-8 in Human Thyroid Neoplasms / D. Fabbro, C. Di Loreto, C. A. [et all.] // *Cancer Research*. – 1994. – Vol. 54. – № 17. – P. 4744–4749.
55. Betts, G. GATA3 Shows Differential Immunohistochemical Expression Across Thyroid and Parathyroid Lesions / G. Betts, E. Beckett, D. Nonaka // *Histopathology*. – 2014. – Vol. 65. – № 2. – P. 288–291.
56. Diagnostic and Prognostic Role of HBME-1, Galectin-3, and b-Catenin in Poorly Differentiated and Anaplastic Thyroid Carcinomas / E. D. Rossi, P. Straccia, M. Palumbo [et all.] // *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. – 2013. – Vol. 21. – № 3. – P. 237–241.
57. Anaplastic Thyroid Carcinoma. A Clinical, Histologic, and Immunohistochemical Study / J. Shvero, R. Gal, I. Avidor [et all.] // *Cancer*. – 1988. – Vol. 62. – № 2. – P. 319-325.

58. Growth Activity in Hyperplastic and Neoplastic Human Thyroid Determined by an Immunohistochemical Staining Procedure Using Monoclonal Antybody MIB-1 / R. Katoh, C. E. Bray, K. Suzuki [et all.] // *Human Pathology*. – 1995. – Vol. 26. – № 2. – P. 136-146.
59. Insular and Anaplastic Thyroid Carcinoma of the Thyroid: a 45 Year Comparative Study at a Single Institution and a Review of the Significance of p53 and p21 / K. Y. Lam, C. Y. Lo, K. W. Chan, K. Y. Wan // *Annals of Surgery*. – 2000. – Vol. 231. – № 3. – P. 329-338.
60. Expression of Pax-8, p53 and BCL-2 in Human Benign and Malignant Thyroid Diseases / F. Puglis, D. Cesselli, G. Damante [et all.] // *Anticancer Research*. – 2000. – Vol. 20. – № 1A. – P. 311–316.
61. A Comparative Study of Cell Cycle Mediator Protein Expression Patterns in Anaplastic and Papillary Thyroid Carcinoma / J. Evans, H. Crist, S. Durvesh [et all.] // *Cancer Biology & Therapy*. – 2012. – Vol. 13. – № 9. – P. 776-781.
62. Romei, C. A Narrative Review of Genetic Alterations in Primary Thyroid Epithelial Cancer / C. Romei, R. Elisei // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Vol. 22. – № 4. – P. 1726-1732.
63. Ranganath, R. Anaplastic Thyroid Cancer / R. Ranganath, M. A. Shah, A. R. Shah // *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*. – 2015. – Vol. 22. – № 5. – P. 387-391.
64. Yang, J. Anaplastic Thyroid Carcinoma / J. Yang, J. A. Barletta // *Seminars in Diagnostic Pathology*. – 2020. – Vol. 37. – № 5. – P. 248-256.
65. The RNA Component of Human Telomerase / J. Feng, W. D. Funk, S. S. Wang [et all.] // *Science*. – 1995. – № 269. – P. 1236–1241.
66. Janknecht, R. On the Road to Immortality: hTERT Upregulation in Cancer Cells / R. Janknecht // *FEBS Letters*. – 2004. – Vol. 564. – № 1. – P. 9-13.
67. Genetic Alterations in Poorly Differentiated and Undifferentiated Thyroid Carcinomas / P. Soares, J. Lima, A. Preto [et all.] // *Current Genomics*. – 2011. – Vol. 12. – № 6. – P. 609-617.

68. Endocrine Tumours: Genetic Predictors of Thyroid Cancer Outcome / C. Tavares, M. Melo, J. M. C. Teijeiro [et all.] // *European Journal of Endocrinology*. – 2016. – Vol. 174. – № 4. – P. 117-126.

69. Tumor Genotype Determines Phenotype and Disease-Related Outcomes in Thyroid Cancer: A study of 1510 patients / L. Yip, M. N. Nikiforova, J. Y. Yoo [et all.] // *Annals of Surgery*. – 2015. – Vol. 262. – № 3. – P. 515-519.

70. Relationship Between Clinicopathologic Factors and FDG Avidity in Radioiodine-negative Recurrent or Metastatic Differentiated Thyroid Carcinoma / L. N. Ha, A. Iravani, N. T. Nhung [et all.] // *Cancer Imaging*. – 2021. – Vol. 21. – № 8. – P. 1-8.

71. BRAF(V600E) Mutation and Outcome of Patients with Papillary Thyroid Carcinoma: A 15-year Median Follow-up Study / R. Elisei, C. Ugolin, D. Viola [et all.] // *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2008. – Vol. 93. – № 10. – P. 3943-3949.

72. The BRAF(V600E) Mutation Is an Independent, Poor Prognostic Factor for the Outcome of Patients with Low-Risk Intrathyroid Papillary Thyroid Carcinoma: Single-Institution Results from a Large Cohort Study / R. Elisei, D. Viola, L. Torregrossa [et all.] // *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2012. – Vol. 97. – № 12. – P. 4390-4398.

73. BRAF Mutation in Papillary Thyroid Cancer and Its Value in Tailoring Initial Treatment: A Systematic Review and Meta-Analysis / R. P. Tufano, G. V. Teixeira, J. Bishop J [et all.] // *Medicine*. – 2012. – Vol. 9. – № 5. – P. 274-286.

74. Alhejaily, A. Anaplastic Thyroid Cancer: Pathogenesis, Prognostic Factors and Genetic Landscape (Review) / A. Alhejaily, O. Alhuzim O, Y. Alwelaie // *Molecular and Clinical Oncology*. – 2023. – Vol. 19. – № 6. – P. 99-106.

75. Scheffel, R. S. BRAF mutation in thyroid cancer / R. S. Scheffel, J. M. Dora, A. L. Maia // *Current Opinion in Oncology*. – 2022. – Vol. 34. – № 1. – P. 9-18.

76. Association Between BRAF V600E Mutation and Mortality in Patients with Papillary Thyroid Cancer / M. Xing, A. S. Alzahrani, K. A. Carson [et all.] // *Journal of the American Medical Association*. – 2013. – Vol. 309. – № 14. – P. 1493-1501.

77. Evidence that One Subset of Anaplastic Thyroid Carcinomas Are Derived from Papillary Carcinomas due to BRAF and p53 Mutations / R. M. Quiros, H. Ding, P. Gattuso [et all.] // *Cancer*. – 2005. – Vol. 103. – № 11. – P. 2261-2268.

78. Anaplastic Thyroid Carcinoma. Treatment in the Age of Molecular Targeted Therapy / M. E. Cabanillas, M. Zafereo, M. B. Gunn, R. Ferrarotto // *Journal of Oncology Practice*. – 2016. – Vol. 12. – № 6. – P. 511-518.

79. Anaplastic Thyroid Carcinoma / A. Taccaliti, F. Silveti, G. Palmonella, M. Boscaro // *Frontiers in Endocrinology*. – 2012. – Vol. 3. – № 1. – P. 79-84.

80. Anaplastic Thyroid Carcinoma: From Clinicopathology to Genetics and Advanced Therapies / E. Molinaro, C. Romei, A. Biagini [et all.] // *Nature Reviews. Endocrinology. Rev Endocrinol*. – 2017. – Vol. 13. – № 11. – P. 644-660.

81. Characterization of the Mutational Landscape of Anaplastic Thyroid Cancer Via Whole-Exome Sequencing / J. Kunstman, C. Juhlin, G. Goh [et all.] // *Human Molecular Genetics*. – 2015. – Vol. 15. – № 8. – P. 2318-2329.

82. BRAF Mutations in Anaplastic Thyroid Carcinoma: Implications for Tumor Origin, Diagnosis and Treatment / S. Begum, E. Rosenbaum, R. Henrique [et all] // *Modern Pathology*. – 2004. – Vol. 17. – № 11. – P. 1359-1363.

83. Влияние мутации BRAF на клинико-патологические проявления папиллярного рака щитовидной железы / С. А. Лукьянов, С. В. Сергейко, С. Е. Титов, Г. О. Щербаков // *Таврический медико-биологический вестник*. – 2020. – Т. 23. – № 2. – С. 92-99.

84. BRAF-позитивный малоклеточный вариант анапластической карциномы на фоне папиллярного рака щитовидной железы из высоких клеток / О. В. Должанский, Е. М. Пальцева, Д. Н. Хмелькова [и др.] // *Архив патологии*. – 2017. – Т. 79. – № 3. – С. 27-33.

85. Diagnosis and Management of Anaplastic Thyroid Cancer / A. Chintakuntlawar, R. L. Foote, J. Kasperbauer, K. C. Bible // *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*. – 2019. – Vol. 48. – № 1. – P. 269-284.

86. Highly Prevalent TERT Promoter Mutations in Aggressive Thyroid Cancers / X. Liu, J. Bishop, Y. Shan [et all] // *Endocrine-Related Cancer*. – 2013. – Vol. 20. – № 4. – P. 603–610.
87. TERT Promoter Mutations and Their Association with BRAF V600E Mutation and Aggressive Clinicopathological Characteristics of Thyroid Cancer / X. Liu, S. Qu, R. Liu [et all] // *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2014. – Vol. 99. – № 6. – P. 1130–1136.
88. Association of TERT Promoter Mutation 1,295,228 C>T With BRAF V600E Mutation, Older Patient Age, and Distant Metastasis in Anaplastic Thyroid Cancer / X. Shi, R. Liu, S. Qu [et all] // *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2015. – Vol. 100. – № 4. – P. 632-637.
89. A Study of 17 Cases for the Identification of Prognostic Factors for Anaplastic Thyroid Carcinoma / T. Masui, H. Uemura, U. Ota [et all] // *Molecular and Clinical Oncology*. – 2021. – Vol. 14. – № 1. – P. 1-8.
90. Prognostic Factors and Treatment Outcomes of 100 Cases of Anaplastic Thyroid Carcinoma / J. Akaishi, K. Sugino, W. Kitagawa [et all] // *Thyroid*. – 2011. – Vol. 21. – № 11. – P. 1183-1189.
91. Prognostic Factors in Anaplastic Carcinoma of the Thyroid — a Multivariate Survival Analysis of 188 Patients / N. Besic, M. Hocevar, J. Zgajnar J. [et all] // *Langenbeck's Archives Surgery*. – 2005. – Vol. 390. – № 3. – P. 203-208.
92. Anaplastic Thyroid Carcinoma: Risk Factors and Outcome / J. G. Demeter, S. A. De Jong, A. M. Lawrence, E. Paloyan E. // *Surgery*. – 1991. – Vol. 110. – № 6. – P. 956-963.
93. Anaplastic Thyroid Carcinoma: Clinical Outcome of 30 Consecutive Patients Referred to a Single Institution in the Past 5 Years / E. Brignardello, M. Gallo, I. Baldi [et all] // *European Journal of Endocrinology*. – 2007. – Vol. 156. – № 4. – P. 425-430.
94. Prognostic Factors for Thyroid Carcinoma. A Population Based Study of 15,698 Cases from the Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) Program 1973-1991 / F. D. Gilliland, W. C. Hunt, D. M. Morris, C. R. Key // *Cancer*. – 1997. – Vol. 79. – № 3. – P. 564-573.

95. Anaplastic Thyroid Cancer: Prognostic Factors, Patterns of Care, and Overall Survival / S. M. Glaser, S. F. Mandish, B. S. Gill [et all] // *Head & Neck*. – 2016. – № 38. – P. 1002-1012.
96. O'Neill, J. Anaplastic Thyroid Cancer / J. O'Neill, R. Ashok // *Oral Oncology*. – 2013. – Vol. 49. – № 7. – P. 702-706.
97. Jiang, J. Y. Prognostic Factors of Anaplastic Thyroid Carcinoma / J. Y. Jiang, F. Y. Tseng // *Journal of Endocrinological Investigation*. – 2006. – Vol. 29. – № 7. – P. 11-17.
98. Anaplastic Thyroid Carcinoma. Treatment Outcome and Prognostic Factors / E. Kebebew, F. S. Greenspan, O. H. Ckark [et all] // *Cancer*. – 2005. – Vol. 103. – № 7. – P. 1330-1335.
99. Prognostic Factors of Anaplastic Thyroid Carcinoma / M. Kihara, A. Miyauchi, A. Yamauchi, H. Yokomise. // *Surgery Today*. – 2004. – Vol. 34. – № 5. – P. 394-398.
100. Prognostic Factors for Korean Patients with Anaplastic Thyroid Carcinoma / T. Y. Kim, K. W. Kim, T. S. Junk [et all] // *Head & Neck*. – 2007. – Vol. 29. – № 8. – P. 765-772.
101. Treatment and Prognosis of Anaplastic Thyroid Carcinoma: Experience from a Single Institution in China / C. Sun, Q. Li, Z. Hu [et all] // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8. – № 11. – P. 1-8.
102. Survival and Prognostic Factors of Anaplastic Thyroid Carcinoma / I. R. Paunovic, S. B. Sipetic, G. V. Zoric [et all] // *Acta Chirurgica Belgica*. – 2015. – Vol. 115. – № 1. – P. 62-67.
103. Prognostic Factors and Treatment Outcomes for Anaplastic Thyroid Carcinoma: ATC Research Consortium of Japan Cohort Study of 677 Patients / I. Sugitani, A. Miyauchi, K. Sugino [et all] // *World Journal of Surgery*. – 2012. – Vol. 36. – № 6. – P. 1247-1254.
104. Age as a Prognostic Factor in Anaplastic Thyroid Cancer / V. Zivaljevic, K. Tausanovic, I. Paunovic [et all] // *International Journal of Endocrinology*. – 2014. – № 5. – P. 11-15.

105. Changes of Clinicopathologic Characteristics and Survival Outcomes of Anaplastic and Poorly Differentiated Thyroid Carcinoma / D. Y. Lee, J. K. Won, S. H. [et all] // *Thyroid*. – 2016. – Vol. 26. – № 3. – P. 404-413.

106. Evaluation of Overall Survival in Patients with Anaplastic Thyroid Carcinoma, 2000-2019 / A. Maniakas, R. Dadu, N. Busaidy [et all] // *American Medical Association of Oncology*. – 2016. – Vol. 6. – № 9. – P. 1397-1404.

107. Anaplastic Thyroid Carcinoma with Leukocytosis / S. Naeem, A. Riyaz, S. Naz [et all] // *Journal of Ayub Medical College*. – 2020. – Vol. 32. – № 4. – P. 678-680.

108. Dyspnea as a Prognostic Factor in Anaplastic Thyroid Carcinoma / L. Tashima, R. Mitzner, S. Durvesh, D. Goldenberg // *European Archives of Oto-rhinolaryngology*. – 2012. – Vol. 269. – № 4. – P. 1251-1255.

109. Prognostic Factors and Therapeutic Strategy for Anaplastic Carcinoma of the Thyroid / I. Sugitani, N. Kasai, Y. Fujimoto, A. Yanagisawa // *World Journal of Surgery*. – 2001. – Vol. 25. – № 5. – P. 617-622.

110. Histopathological Analysis of Anaplastic Thyroid Carcinoma Cases with Long-Term Survival: a Report from the Anaplastic Thyroid Carcinoma Research Consortium of Japan / M. Hirokawa, I. Sugitani, K. Kakudo [et all] // *Endocrine Journal C*. – 2016. – Vol. 63. – № 5. – P. 441-447.

111. Prognostic Significance of  $\beta$ -Human Chorionic Gonadotropin and PAX8 Expression in Anaplastic Thyroid Carcinoma / N. Becker, R. Chernock, B. Nussenbaum, J. S. Lewis // *Thyroid*. – 2014. – Vol. 24. – № 2. – P. 319-326.