

РА391039 (ДС133541)

Хоперія, Вікторія Геннадіївна.

Чинники прогнозу пухлин щитоподібної залози [Текст] : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.01.14 / Хоперія Вікторія Геннадіївна ; Укр. наук.-практ. центр ендокрин. хірургії, трансплантації ендокрин. органів і тканин. - К., 2012. - 32 с.

Рубрикатор НБУВ:

P569.452-5

Тематичні рубрики:

Пухлини щитовидної залози

Дод. точки доступу:

Український науково-практичний центр ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин

Видання зберігається у :

Основний фонд

Дисертацію є рукопис.

Роботу виконано в Українському науково-практичному центрі ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України (м. Київ)

Науковий консультант:

доктор медичних наук, професор, Заслужений лікар України Ларін Олександр Сергійович, Український науково-практичний центр ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України (м. Київ), директор

Офіційні опоненти:

доктор медичних наук, професор Сергієнко Олександр Олексійович, Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького МОЗ України, завідувач кафедри ендокринології

доктор біологічних наук, професор Богданова Тетяна Іванівна, ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.ІІ. Комісаренка НАМН України», завідувач лабораторії морфології ендокринної системи (м. Київ)

доктор медичних наук, професор, Заслужений діяч науки і техніки України Гичка Сергій Григорович, Київський медичний університет Української асоціації народної медицини, завідувач кафедри патологічної анатомії, гістології та судової медицини

Захист дисертації відбудеться «18» серпня 2012 р. о 17 годині на засіданні спеціалізованої вченої Д 26.631.01 при Українському науково-практичному центрі ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України (01021, м. Київ, Кловський узвіз, 13 А).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотечі Українського науково-практичного центру ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України (01021, м. Київ, Кловський узвіз, 13 А).

Автореферат розісланий «15» травня 2012 р.

Вчений секретар спеціалізованої вченої ради
Д 26.631.01, кандидат медичних наук



Т.Ю. Юзвенко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Вивчення проблеми розвитку та прогресії пухлин щитоподібної залози (ЩЗ), розробка ефективних методів їх діагностики та лікування є одним із пріоритетних напрямів у сучасній хірургії, ендокринології та онкології (І.В. Комісаренко і співавт., 2006).

Діагностика, лікування та моніторинг пухлин ЩЗ вимагає комплексного підходу через певні специфічні особливості патології. Так, рак ЩЗ (РЩЗ) представлено переважно диференційованими формами (папілярним або фолікулярним різновидами), що зберігають певні ендокринні властивості, зокрема – залежність від регулюючого впливу тиреотропного гормону гіпофіза (ТТГ) і здатність до накопичення атомів йоду, а також синтезу тиреоглобуліну (ТГ) (M.J. Schlumberger, 1998). Це дає можливість підвищувати ефективність хірургічного лікування таких пацієнтів за допомогою руйнування залишків пухлини або її метастазів радіоактивним йодом і супресивної (щодо ТТГ) терапії тироксином, а також контроль вилікування за рівнем ТГ і результатами діагностичного сканування з ізотопами йоду (М.П. Павловський, 2008). Тривалий перебіг захворювання та можливість рецидиву не лише у перші 5, але й через 30-40 років обумовлюють надзвичайну важливість тривалого моніторингу пацієнтів, а також дбайливого ставлення до якості життя хворих (D.S. Cooper et al., 2006; А.П. Калинин, 2004).

Менш поширеним (5-10%) та агресивнішим є медулярний РЩЗ. Така пухлина є гормонально активною, що дає можливість її розпізнавання за підвищеним рівнем кальцитоніну у крові, а також моніторингу процесу за цим же показником (J. Moley, E. Fialkowski, 2007).

Найнебезпечніша з пухлин ЩЗ та одна з найагресивніших форм раку людини – анапластичний РЩЗ, що характеризується цілковитою втратою ознак диференціювання тиреоцитів і складає 2-4% усіх випадків тиреоїдного раку, – демонструє наразі очевидну безпорадність засобів комбінованого лікування. Це спонукає до пошуку будь-яких способів подовження терміну виживання пацієнтів як хірургічним шляхом, так і променевим або хіміотерапевтичним, або їх комбінацією (E. Sanders et al., 2007; B. Hung-Hin Lang, C.-Y. Lo, 2007; A. Shaha, 2007).

Отже, загальноновизнаними складовими ефективного лікування РЩЗ є хірургічне втручання на ЩЗ і лімфатичних вузлах шиї та радіойодтерапія (І.В. Комісаренко, С.Й. Рибakov, 2002; С.М. Черенько і співавт., 2000; Е.В. Эпштейн и соавт., 2002; V. Oliynyuk et al., 2001, 2005; M. Tronko et al., 2007). Не виключено, що у найближчому майбутньому стане можливим застосування генетично спрямованих засобів попередження та лікування хвороби (T. Lairmore, 2007).

З 1980 по 2000 р. у діагностиці патології ЩЗ частота застосування УЗД зросла з 3% до 84,4%, цитологічного аналізу – з 4,5% до 23%, тоді як радіоізотопного сканування – зменшилася з 89,4% до 49%. Водночас поширеність РЩЗ серед оперованих хворих зросла з 12,5% до 37%.

(AACE/AAES medical/surgical guidelines for clinical practice: management of thyroid carcinoma, 2001). За результатами багатофакторного аналізу встановлено, що лише цитологічне дослідження поряд з іншими методами передопераційної діагностики є значущим чинником показника захворюваності на РЩЗ. Більшість авторів сходяться на думці, що сьогодні оптимальним варіантом залишається проведення УЗД з подальшою тонкоголковою аспіраційною пункційною біопсією (ТАПБ). Натомість ефективність даної методики значно знижується за наявності у ЩЗ численних вузлових утворень. До того ж, клінічний досвід показує, що ранні діагностичні ознаки РЩЗ і дотепер далеко не завжди виявляються сучасними інструментальними методами. Цитологічна верифікація РЩЗ наразі залишається однією з найскладніших і вимагає високої кваліфікації як лікаря, який виконує ТАПБ, так і лікаря-цитолога.

Розвиток пухлини ЩЗ тісно пов'язано з багатьма генами та різними фенотипами пухлин (Yu, Nikiforov et al., 2009). Онкогенні зміни тирозинкіназ (*RET/PTC*, *TPK*) є характерними рисами папілярного РЩЗ (ПРЩЗ). Останнім часом систематичний скринінг генів, що кодують шлях RAS-RAF-MEK-ERK-MAP-кіназ, продемонстрував значущість *BRAF*-мутацій у тиреоїдному канцерогенезі. Серед злоякісних пухлин ЩЗ *BRAF*-мутації виявлено у ПРЩЗ. Мутації онкогенів *RAS* і *PPAR-PAX8* є типовими для фолікулярного РЩЗ (ФРЩЗ). Зв'язок *PTEN*-мутацій і ФРЩЗ виявлено за синдрому Коудена. Також доведено роль P13K сигнального шляху та, надто, РКВ у канцерогенезі фолікулярних пухлин. У хворих із комплексом Карні (аутосомно-домінантне захворювання, пов'язане з розвитком доброякісних вузлів ЩЗ і ФРЩЗ) виявлено інактивацію мутації регуляторного відділу 1A в РКА. Для низькодиференційованого раку (НРЩЗ) та анапластичного раку (АР) ЩЗ характерними є генетичні аномалії *p53*. Якщо в основних видах РЩЗ аномалії генів детально розглянуто, то значно менше відомо про генетичні зміни у групі, так званих «фолікулярних пухлин із невизначеним потенціалом малігнізації» (ФПНПМ) (J. Rosai, 1992; 2011). Бракує знань про біологічне значення клітинної атипії та солідного характеру росту в ФПНПМ. Також невизначеним залишається співвідношення між ФПНПМ і мінімально інвазивним ФРЩЗ і фолікулярним варіантом (ФВ) ПРЩЗ.

Очевидно, слід погодитися з думкою, що жоден із вживаних наразі діагностичних методів не дозволяє отримати повної інформації про характер змін у ЩЗ. Про злоякісність утворень у ЩЗ можна висловлюватися лише з більшою або меншою мірою ймовірності. Все це свідчить про необхідність подальшого вдосконалення існуючих і розробки нових інформативних методів діагностики осередкових уражень ЩЗ із наступним визначенням їх місця в діагностичному алгоритмі.

Ці проблеми обумовлено браком наших знань про природу й еволюцію доброякісних вузлів ЩЗ. Механізми росту нормальних клітин ЩЗ, що призводять до гіперплазії, а потім, ймовірно, до аденоми ЩЗ, вивчено недостатньо. З іншого боку, певний прогрес у діагностиці РЩЗ знайшов своє відображення у результатах лікування пацієнтів із РЩЗ у розвинутих країнах

світу. Так, у США смертність від РЩЗ зменшилася за останні 3 десятиріччя на 50% (D.S. Cooper et al., 2006). На жаль, навіть неповні статистичні дані свідчать про 3-4-разове перевищення рівня смертності від РЩЗ в Україні порівняно зі США. За вибірковими даними, такі наслідки операцій, як парез гортані та гіпокальціємія, трапляються у 5-10 разів частіше, ніж у спеціалізованих клініках світу, а численні повторні втручання внаслідок нерадикального первинного лікування не аналізуються через відсутність послідовності спостереження пацієнтів (Статистика МОЗ України, 2007; З.М. Митник і співавт., 2008).

Отже, попри значний активний інтерес до проблеми РЩЗ і глибоке вивчення окремих аспектів цього питання науковцями України протягом останніх десятиріч залишаються суперечливими дані про прогностичні чинники захворювання, у тому числі молекулярно-біологічні, підходи до оцінки ефективності лікування з точки зору безпосередніх і віддалених результатів, оптимальні обсяги хірургічного втручання та комбінованого лікування, адекватні організаційні заходи.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Роботу виконано в рамках планових науково-дослідних робіт Українського науково-практичного центру ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України: «Оптимізація хірургічного лікування та післяопераційного моніторингу у хворих на пухлини щитоподібної залози в залежності від їх морфологічних і патогенетичних форм, у тому числі впливу радіоактивного опромінення» (2003-2007 рр., № держреєстрації 0103U000589), де автор була виконавцем фрагмента, та «Молекулярні механізми інвазії раку щитоподібної залози» (2007-2010 рр., № держреєстрації 0107U002116), де автор була керівником НДР.

Мета роботи – розробка нових підходів у діагностиці та лікуванні пухлин ЩЗ на підставі вивчення механізмів канцерогенезу та визначення прогностичних чинників.

Задачі дослідження:

1. Проаналізувати клініко-морфологічні дані, результати лікування та прогностичні чинники відповідно до класифікацій ВООЗ і TNM у пацієнтів із пухлинами ЩЗ фолікулярного походження.
2. Визначити прогностичні чинники доброякісних і злоякісних пухлин ЩЗ на підставі кореляції гістологічної будови, цитологічних ознак, експресії маркерів малігнізації та клінічних результатів.
3. Провести дослідження ранніх етапів канцерогенезу пухлин щитоподібної залози фолікулярного походження.
4. Дослідити біологічне значення атиpii клітин і молекулярних змін у фолікулярних пухлинах із невизначеним потенціалом малігнізації.
5. Визначити взаємозв'язок між фолікулярними пухлинами з невизначеним потенціалом малігнізації та мінімально інвазійним фолікулярним раком щитоподібної залози, а також між фолікулярними пухлинами з невизначеним потенціалом малігнізації і фолікулярним варіантом папілярного раку щитоподібної залози.

6. Визначити роль мутацій і транслокацій генів у канцерогенезі щитоподібної залози.
7. Оцінити роль епітеліально-мезенхімальної трансформації у міграції клітин раку щитоподібної залози. Дослідити рівень експресії мезенхімальних білків у ділянках інвазії та метастазах раку щитоподібної залози, ступінь експресії онкогенів.
8. Дослідити фенотипові зміни клітин раку щитоподібної залози у зонах інвазії, а також встановити роль колективної міграції клітин у процесі інвазії раку щитоподібної залози.

Об'єкт дослідження – пухлики щитоподібної залози на різних етапах діагностики, лікування та моніторингу.

Предмет дослідження – клінічні, морфологічні, інструментально-діагностичні та молекулярно-біологічні особливості доброякісних і злоякісних пухлин ЩЗ у різних контингентів хворих. ЩЗ і регіонарні лімфатичні вузли пацієнтів, які зазнали хірургічного лікування з приводу захворювань ЩЗ.

Методи дослідження. Клінічні (аналіз історій хвороб), інструментальні (ультразвукове дослідження, тонкоіголова аспіраційна пункційна біопсія), цитологічні, гістологічні, макроскопічні, імуноцито- та гістохімічні, морфометричні, молекулярно-біологічні, конфокальна мікроскопія, вестерн-блот аналіз, кількісна ПЦР, екстракція ДНК, РНК, білків, моделювання інвазії клітин, імунофлюоресценція, статистичні дослідження (середнє арифметичне і середньоквадратичне відхилення, параметричні та непараметричні методи варіаційної та рангової статистики із застосуванням t-критерію Стюдента-Фішера, U-критерію Вілкоксона-Манна-Уїтні, непараметричний тест Колмогорова-Смірнова, дискримінантний аналіз, chi-square test, критерій рангової суми Вілкоксона, SAS Versions 9.0 і 9.12 software).

Наукова новизна отриманих результатів. Визначено основні прогностичні чинники розвитку пухлин ЩЗ. Виявлено основні тенденції захворюваності та перебігу окремих клініко-морфологічних форм РЩЗ, їх зв'язок із патогенетичними чинниками і впливом скринінгових заходів.

Шляхом комп'ютерного морфометричного аналізу зображень розрізнили клітини фолікулярної аденоми від клітин фолікулярного та папілярного РЩЗ. За результатами молекулярних і морфометричних досліджень встановлено, що ФПНПМ можуть бути початковим етапом у розвитку фолікулярного та папілярного РЩЗ.

Вперше на найсучаснішому рівні визначено молекулярно-біологічні та клініко-морфологічні прогностичні критерії високого ризику рецидиву, метастазування РЩЗ, інвазії в оточуючі тканини та судини.

Доведено суттєвий вплив радіаційного опромінення внаслідок аварії на ЧАЕС на розвиток РЩЗ не лише серед постраждалих дітей, але й серед опромінених дорослих.

Доведено високу ефективність у діагностиці пухлин ЩЗ і доцільність застосування як скринінгових таких досліджень: ТАПБ із застосуванням маркерів малігнізації, надто у дітей хубертатного віку.

Встановлено роль ЕМТ у процесі інвазії та метастазування РЩЗ шляхом дослідження рівня експресії мезенхімальних білків у ділянках інвазії і метастазах, а також визначення ступеня експресії генів, залучених до сигнальних шляхів РЩЗ. Доведено, що наявність *BRAF*-мутацій у РЩЗ є маркером несприятливого прогнозу, а їх визначення на передопераційному етапі є показанням до застосування більш агресивної тактики хірургічного лікування.

Доведено, що забарвлені цитологічні препарати ТАПБ вузлів ЩЗ можна використовувати для виділення ДНК і подальшої оцінки наявності *BRAF*-мутацій методом ПЦР. Визначено, що виявлення даних мутацій має обмежене значення для діагностики злоякісного процесу у випадках із сумнівними цитологічними висновками ТАПБ.

Доведено роль Akt у процесі інвазії та метастазування РЩЗ. Активована Akt є перспективною мішенню для хіміотерапії тиреоїдних карцином.

Доведено, що механізми регуляції метилювання Е-кадгерину відіграють важливу роль в індукції ЕМТ у первинній пухлині, а також у зміні мезенхімального фенотипу.

Доведено роль вірусу простого герпесу (ВПГ) у туморогенезі ЩЗ. Показано, що чутливість клітин пухлин ЩЗ до ВПГ збільшується через підвищення експресії вірусного рецептора Nectin-1, активації мітогенних сигналів та індукції ЕМТ у метастатичних РЩЗ.

Практична значущість отриманих результатів. Визначення основних прогностичних чинників пухлин ЩЗ дозволяє застосовувати у клінічній практиці диференційований підхід до діагностики та лікування вузлових новоутворень ЩЗ. Врахування встановлених клініко-морфологічних особливостей форм РЩЗ, їх зв'язок із патогенетичними чинниками дозволить підвищити ефективність діагностики та лікування пацієнтів із РЩЗ. Встановлення того факту, що ФПНПМ є початковим етапом у розвитку фолікулярного та папілярного РЩЗ, є підґрунтям для впровадження у клінічну практику морфологічних критеріїв діагностики таких пухлин, що дозволить уникати неадекватних хірургічних втручань з приводу доброякісних утворень залози. Застосування маркерів малігнізації під час цитологічного аналізу аспіратів ТАПБ вузлів ЩЗ підвищує ефективність методу та дозволяє уникати хибно-позитивних і хибно-негативних результатів. Доведено, що виявлення *BRAF*-мутацій можливо на стандартно забарвлених цитологічних препаратах ТАПБ вузлів ЩЗ і має обмежене значення для діагностики злоякісного процесу у випадках сумнівних висновків, проте може бути корисним для передопераційного визначення пухлин із високим ризиком наявності екстраорганної інвазії та метастазів у лімфовузлах (МЛВ). Впровадження результатів дослідження матиме не лише медичне, але й економічне значення, оскільки дозволить

підвищити працездатність пацієнтів і знизити інвалідизацію та смертність внаслідок РЩЗ. Результати дослідження впроваджено у клінічну практику лікарів-ендокринологів, радіологів, терапевтів, хірургів, цитологів, патологоанатомів ендокринологічних та онкологічних стаціонарів, диспансерів.

Особистий внесок здобувача. Дисертантові належить ідея дослідження, формулювання мети та задач роботи, складання протоколу дослідження. Дисертант брала безпосередню участь у виконанні майже всіх діагностичних процедур і морфологічних досліджень. Аналітична робота у повному обсязі, обробка архівного матеріалу, результатів дослідження та лікування, систематизація та узагальнення отриманих даних, їх статистичне обчислення виконано дисертантом особисто. Всі розділи дисертації, висновки та практичні рекомендації сформульовано та написано автором самостійно.

У публікаціях, що їх видано у співавторстві, дисертантові належить основна роль, а саме – ідея роботи, отримання та аналітична обробка результатів, підготовка до друку. Співавтори публікацій і винаходів надавали консультативну, методологічну та аналітичну допомогу, брали участь у патентних дослідженнях та аналізі літератури, в оформленні документів – загалом не більше 50% роботи.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи доповідались і обговорювались на науково-практичних конференціях республіканського та міжнародного рівня: XXI з'їзді хірургів України (Київ, 2005 р.), республіканських конференціях із міжнародною участю «Актуальні проблеми клінічної ендокринології та ендокринної хірургії» (Київ, 2005-2011 рр.); науково-практичній конференції з міжнародною участю та III конференції українського дивізіону Інтернаціональної академії патології «Актуальні проблеми онкоморфології» (Харків, 2011 р.); II Українсько-Російському симпозиумі «Современные аспекты хирургической эндокринологии» (Харків, 2011 р.); «Тиреошколі» (Дніпропетровськ, Львів, Олеса 2011 р.), конгресах Американської тиреоїдної асоціації (Нью-Йорк, 2007 р., Палм Біч, 2009 р.); конгресі Європейської спілки хірургів (Барселона, 2008 р.), конгресах Міжнародного ендокринологічного товариства (Сан-Дієго, 2005 р., Торонто, 2007 р., Вашингтон, 2009 р., Бостон, 2011 р.), багатьох республіканських фахових симпозиумах.

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 39 наукових праць. Із них 19 – у періодичних виданнях, рекомендованих ВАК України для публікації матеріалів дисертації, 9 – в авторитетних іноземних періодичних виданнях, які визнаються ВАК України, 9 тез і матеріалів доповідей на наукових з'їздах, конгресах і конференціях (зокрема 3 – в іноземних збірках). Прийнято заявку на патент на корисну модель, видано 2 методичні рекомендації МОЗ України.

Обсяг і структура дисертації. Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, 4 розділів власних результатів, їх аналізу та узагальнення, висновків, практичних рекомендацій.

списку використаних літературних джерел (нараховує 306 посилань, у тому числі 18 вітчизняних і 288 іноземних першоджерел). Роботу викладено на 265 сторінках друкованого тексту, вона містить 35 таблиць і 70 ілюстрацій.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали і методи дослідження. Основу клініко-морфологічних і молекулярно-біологічних досліджень дисертаційної роботи склали цитологічні препарати аспіратів ТАПБ вузлів ЩЗ 15 225 пацієнтів і гістологічні препарати видалених ЩЗ 1809 хворих, прооперованих у хірургічному відділенні Українського науково-практичного центру ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України за період 1998-2010 рр. з приводу доброякісних і злоякісних пухлин ЩЗ. Для встановлення характеру процесу у передопераційний період усім хворим проводили ТАПБ вузлів ЩЗ із подальшим стандартним цитологічним аналізом аспіратів на препаратах, забарвлених за методом Май-Грюнвальда-Гімза, за допомогою світлового мікроскопа, а також із застосуванням маркерів малігнізації (імуноцитохімічне визначення активності ТПО із MoAt 47 і цитохімічне визначення активності ДАП IV за рекомендованими методиками).

З метою підтвердження діагнозу злоякісності та виявлення метастазів під час операції проводили експрес-гістологічне дослідження вузлів ЩЗ на заморожених зрізах. Для встановлення остаточного діагнозу та стадії процесу гістологічне дослідження операційного матеріалу згідно з класифікацією ВООЗ пухлин ЩЗ (R. DeLelis et al., 2004) і 7-им виданням класифікації TNM (L.H. Sobin et al., 2009) проводили після стандартної обробки та забарвлення парафінових зрізів гематоксилін-еозином.

Для вивчення фенотипових змін клітин раку ЩЗ, рівня експресії мезенхімальних білків, ступеня експресії генів, залучених до сигнальних шляхів RAS, PPAR-PAX8, PTEN RAS-RAF-ERK і PI3K/PDK1/AKT, проводили екстракцію ДНК, РНК, білків, кількісну ПЛР, конфокальну мікроскопію, вестерн-блот-аналіз, моделювання інвазії клітин, імунофлюоресценцію.

Для обробки отриманого цифрового матеріалу застосовували параметричні та непараметричні методи варіаційної та рангової статистики.

Основні результати роботи. З метою оцінки біологічного значення ядерних змін у ФПНПМ за допомогою комп'ютерної морфометрії проаналізовано цифрові зображення 3000 ядер клітин типових і атипичних фолікулярних пухлин ЩЗ (10 ФА, 10 ФРЩЗ, 10 ФВПРЩЗ, 9 ФПНПМ). Отримані дані порівняли з результатами визначення мутацій N2-RAS і RET.

Для калібрування методики аналізу як контрольні використано ознаки ядер класичних фолікулярних аденом, а також фолікулярних і папілярних карцином, що дало змогу розрізнати ядра клітин ФА, ФРЩЗ і ПРЩЗ (рис. 1). За допомогою даного методу успішно діагностовано РЩЗ у 19/20 випадків. Чутливість такого методу для діагностики злоякісного процесу складала 95%.

Точність для діагностики типу пухлини склала 86,6%, що підтверджує можливість виділення ядер клітин фолікулярних пухлин і ПР ЩЗ за допомогою морфометричного аналізу.

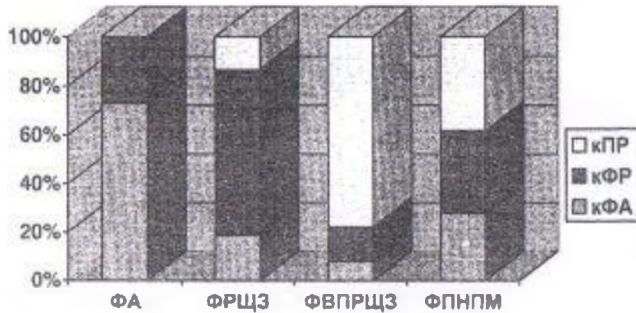


Рис. 1. Результати морфометричної рекласифікації клітин фолікулярної аденоми (ФА) фолікулярного раку (ФРЩЗ), фолікулярного варіанту ПРЩЗ (ФВПРЩЗ) та аденоми фолікулярної пухлини з невизначеним потенціалом малігнізації (ФПНПМ): кПР – клітини, характерні для ФВПРЩЗ; кФР – для ФРЩЗ; кФА – для ФА.

У випадках ФА не виявлено жодної мутації генів *RAS* або *RET*-транслокацій. Мутації *N2-RAS* визначено у 33,3% ФПНПМ, 20,0% ФРЩЗ і 20,0% ФВПРЩЗ без кореляції зі структурою хроматину. Експресію *RET*-білка за допомогою імуногістохімічної реакції з відповідними антитілами виявлено у 45,2% ФПНПМ, 20,0% ФР і 50,0% ФВПРЩЗ, що співпадало з ядерними ознаками, характерними для ПРЩЗ. Отже, до групи ФПНПМ входили доброякісні пухлини та пухлини з морфологічними та молекулярними особливостями ФРЩЗ і ПРЩЗ. Виявлення мутацій *N2-RAS* у випадках ФПНПМ та істинно злоякісних пухлин фолікулярної будови свідчить, що діяльність цього гена може підтримувати фолікулярний тип росту незалежно від ядерного фенотипу. Експресію *RET*-білка виявлено з аналогічною частотою у випадках ФПНПМ і ФВПРЩЗ (45,2% і 50,0% відповідно). Експресію *RET*-білка визначено у 40-86% випадків ПРЩЗ. Відмінності у частоті експресії *RET*-білка пов'язують із географічними та епідеміологічними особливостями (Elisei R., 2001). Найчастіше таку експресію визначали в пухлинах ЩЗ пацієнтів після зовнішнього або внутрішнього опромінення (Collins B.J., 2002). Не виявлено експресії *RET*-білка у випадках ФА без ознак атиpii клітин, тоді як частота імунопозитивних випадків за ФПНПМ була подібною до ФВПРЩЗ. У випадках ФПНПМ, як і у ПР ЩЗ, імунореактивність *RET*-білка специфічно

корелювала з часткою моделей-клітин ПРЦЗ, що підтверджує дані про те, що саме активація гена *RET* викликає у клітинах ЦЗ появу морфологічних ядерних ознак ПРЦЗ (просвітлення хроматину, нерегулярність контуру).

Цікаво, що у трьох випадках (1 ФПНПМ, 1 ФРЦЗ і 1 ФВПРЦЗ) мутації *RAS* і *RET* виявлено в кожній пухлині, що вказує на можливість різних молекулярно-генетичних порушень за умов «фолікулярного» і «папілярного» шляхів канцерогенезу ЦЗ.

Отже, група фолікулярних пухлин ЦЗ є гетерогенною і включає істинно доброякісні пухлини, позбавлені ознак ядерної атипії, а також ФПНПМ, які мають деякі морфологічні та генетичні характеристики злоякісних новоутворень, що дозволяє припустити можливість їх передування будь-якому типу РЦЗ. Цей факт узгоджується з багаторічною клінічною картиною спостереження ФРЦЗ на тлі вузлового зоба та пояснює вузловий, повільний та інкапсульований характер росту більшості ФВПРЦЗ. У плані тривалих дискусій щодо термінології фолікулярних пухлин, одержані результати додають аргументів на користь існування проміжного етапу між аденомою та раком. Який би термін не буде обрано для найменування таких «атипових» фолікулярних пухлин, існує необхідність їх виділення із загальної групи аденом для аналізу прогностичних чинників і тривалого спостереження, що дозволить розробити оптимальну тактику лікування.

ПРЦЗ складає 80% усіх випадків РЦЗ. 5-річне виживання хворих на ПРЦЗ складає 90%. Існує декілька класифікаційних систем, розроблених з метою прогнозування РЦЗ. Для розподілу пацієнтів по групах ризику використовують різні критерії (вік, стать, розмір пухлини, ознаки екстраорганної інвазії, повнота первинної резекції пухлини, наявність відділених метастазів). Проте жодна з цих систем не враховує гістологічний варіант пухлини як прогностичний чинник. Однією з задач нашого дослідження було визначення співвідношення між гістологічними варіантами ПР ЦЗ і прогностичними групами ризику за критеріями класифікації AMES. Ретроспективно проаналізовано 114 ПР ЦЗ. Пухлини високого ризику найчастіше (72,0%) виявлялися за солідного гістологічного варіанту ПРЦЗ, за висококлітинного варіанту їх частота складала 29,5%, за класичного та фолікулярного варіантів ПРЦЗ – 12,0% і 3,3% відповідно (рис. 2). Інкапсульований варіант і мікрокарциному класифіковано як пухлини групи низького ризику. Отримані дані показують, що існує асоціація між різними гістологічними варіантами ПРЦЗ і групами ризику. Для солідного та висококлітинного варіантів ПРЦЗ, що складали найбільшу частку в групі високого ризику, характерний агресивніший перебіг. Для фолікулярного, інкапсульованого варіантів і мікрокарциноми характерний більш сприятливий прогноз, тому більшість із них складають групу низького ризику.



Рис. 2. Співвідношення гістологічних варіантів папілярного раку щитоподібної залози та груп ризику за системою AMES.

Тобто, існує асоціація між гістологічними варіантами ПРЩЗ і прогнозом хвороби. Крім того, результати нашого дослідження, як і дані інших авторів, показують, що ПРЩЗ у цілому має сприятливий прогноз, 75,4% випадків було класифіковано як групу низького ризику. Отже, особливу увагу під час гістологічного дослідження РЩЗ слід приділяти визначенню гістологічного варіанту ПРЩЗ, урахування якого дозволяє визначати оптимальну тактику лікування, індивідуального прогнозування, поопераційного моніторингу.

Окрему дослідну групу склали випадки папілярної мікрокарциноми ЩЗ (ПМЩЗ), адже питання визначення оптимальної тактики лікування за даної патології залишається відкритим. Для аналізу частоти та структури метастазів у лімфовузлах (МЛВ) проаналізовано клініко-морфологічні ознаки 253 випадків ПМЩЗ, у 107 (42,3%) з яких було проведено дисекцію лімфовузлів ший. Результати порівнювали між ПМЩЗ, виявленими випадково на тлі доброякісних захворювань залози, та ПМЩЗ, які було прооперовано як солітарні вузли ЩЗ, а також між ПМЩЗ діаметром ≤ 5 мм і > 5 мм.

Метастази у регіонарних лімфовузлах ПМЩЗ виявлено у 14,9% (16/107) випадків, із них 43,7% (7/16) в іпсилатеральній групі, 56,2% (9/16) – у центральній. Ознаки інвазії в оточуючу тканину залози за ПМЩЗ у 100% випадків асоціювалися з МЛВ, у 20% випадків МЛВ виявлено на тлі пухлин діаметром ≤ 5 мм. Багатофокусний ріст виявлено у 29 (11,5%) випадках ПМЩЗ, серед яких 17 (58,6%) локалізувалися у контрлатеральній частці ЩЗ, ознаки екстраорганої інвазії – у 40 випадках (15,8%). Отже, за нашими даними, не розмір ПМЩЗ, а наявність ознак інвазивності є критерієм несприятливого прогнозу.

У нашому дослідженні кількість випадків ПМЩЗ із метастатичними депозитами розміром 1 мм склала 62% від загальної кількості випадків МЛВ, що дозволяє стверджувати: існуюча практика візуальної оцінки лімфовузлів під час операції хірургом не дозволяє вірогідно визначити адекватний обсяг хірургічного втручання. Тому ми вважаємо за доцільне проведення радикального хірургічного втручання у хворих на ПМЩЗ в обсязі екстрафасціальної тиреоїдектомії з іпсилатеральною та центральною модифікованою дисекцією шиї та визначення хірургічної операції як можливої підготовки до радіологічного етапу лікування диференційованого РЩЗ. Ця робота мала певні обмеження, пов'язані з відсутністю даних про рецидиви ПМЩЗ і результати радіоізотопного лікування, тому остаточний висновок щодо тактики ведення пацієнтів із ПМЩЗ вимагає проведення тривалих проспективних досліджень.

Проведено ретроспективний аналіз препаратів 68 хворих. До I (основної) групи увійшли 34 хворих із кістозними ПРЩЗ. Кістозними вважали ті пухлини, в яких вміст кістозного компоненту складав $\geq 50\%$. До II групи (порівняння) теж включено 34 хворих на ПРЩЗ без ознак кістозної дегенерації. Визначено більшу у 2,6 разу частоту метастазування у групі кістозних ПРЩЗ (76,47% проти 29,41%; $p=0,041$). Це може свідчити про більш агресивну поведінку кістозних раків ЩЗ, що суперечить традиційній думці про низький ризик їх метастазування. Також встановлено прямий кореляційний зв'язок між розміром пухлини, ознаками екстраорганної інвазії та наявністю МЛВ за кістозних ПРЩЗ. Отримані дані можуть бути використані для більш ефективного диференційованого підходу у хірургічному лікуванні пацієнтів зі злоякісними вузлами ЩЗ із наявністю кістозної дегенерації.

З метою аналізу прогностичного значення ознак екстраорганної інвазії за ПРЩЗ досліджено 5 випадків інвазії ПРЩЗ у прищитоподібні залози (ПЩЗ). У 3 із цих 5 випадків виявлено інвазію у ПЩЗ шляхом безпосереднього розповсюдження ПРЩЗ, у двох інших випадках інвазія у ПЩЗ була у вигляді метастатичних депозитів без видимого зв'язку з пухлиною та асоціювалася з МЛВ. У 2 випадках не виявлено МЛВ, а в 1 випадку визначено інвазію у гортанний нерв. Наші результати не можуть свідчити про стадію злоякісного процесу, адже в усіх випадках ПРЩЗ виявлено ознаки екстраорганної інвазії, а ПЩЗ розташована у безпосередній близькості до злоякісної пухлини. З іншого боку, метастазування у ПЩЗ може здійснюватися через лімфатичні капіляри, які з'єднують ЩЗ і ПЩЗ анатомічно.

Для оцінки можливості радикалізації хірургічних втручань і визначення ризику післяопераційного гіпаратиреозу у випадках локального розповсюдження ПРЩЗ у ПЩЗ досліджено клініко-морфологічні характеристики пухлин і стан кальцієвого обміну у 197 пацієнтів із ПРЩЗ, серед яких 95 (48,2%) осіб мали ознаки екстраорганної інвазії та 73 (37,1%) – МЛВ. У 5/15 видалених прищитоподібних залозах визначено ознаки інвазії ПРЩЗ (безпосереднє розповсюдження пухлини у ПЩЗ або метастатичні

депозити ПРЦЗ). В усіх випадках уражена ПЦЗ була розташована на боці первинної пухлини. Загалом у 2,5% випадків ПРЦЗ виявлено ураження прищитоподібної залози.

Запропоновано алгоритм хірургічного втручання, який дозволяє мінімізувати ризик розвитку післяопераційного гіпопаратиреозу. Видалення однієї ПЦЗ не супроводжувалося стійкими порушеннями кальцієвого обміну. За даними літератури, ураження ПЦЗ за інвазійного РЩЗ виявляється у 5% випадків. З метою забезпечення радикальності операції доцільно видаляти прилеглу до пухлини ПЦЗ, забезпечивши перед цим збереженість і життєздатність інших трьох. Втім, має сенс вивчити віддалені результати (якість і тривалість життя) для визначення впливу як інвазії до ПЦЗ, так і метастазування до них.

З огляду на схильність ПР ЦЗ метастазувати до регіонарних лімфатичних вузлів ший проаналізовано частоту метастазів та їх структуру. МЛВ виявлено у 29,5% досліджених лімфовузлів.

Найчастіше ПРЦЗ виявлявся у віковій групі від 50 до 59 років, тоді як найбільшу частоту метастазів у лімфовузлах визначено у хворих віком від 40 до 49 років (рис. 3).

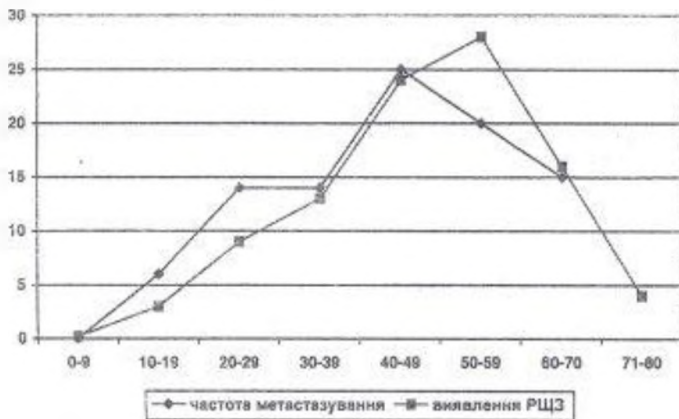


Рис. 3. Залежність частоти виявлення папілярного раку щитоподібної залози та частоти його метастазування у регіонарні лімфатичні вузли від віку пацієнта.

За результатами порівняльної оцінки особливостей метастатичного ураження регіонарних лімфатичних вузлів залежно від статі та віку хворого частота МЛВ у групі пацієнтів віком 10-19 років виявилася значно вищою серед хлопчиків, а також відзначено поступове збільшення частоти МЛВ у

групі чоловіків віком понад 60 років і її зниження серед жінок цієї групи (рис. 4).

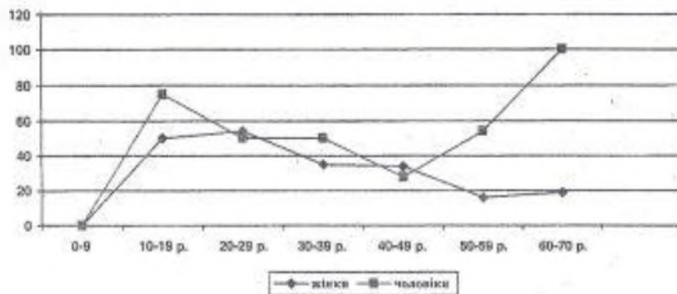


Рис. 4. Залежність частоти метастазування папілярного раку щитоподібної залози у регіонарні лімфатичні вузли від віку та статі пацієнта.

Визначено пряму залежність частоти регіонарного метастазування від розміру пухлини ПРЩЗ, частота метастазів у групі пухлин, близьких до 1 см, була досить високою і не відрізнялася від такої для пухлин розміром до 4-6 см (рис. 5).

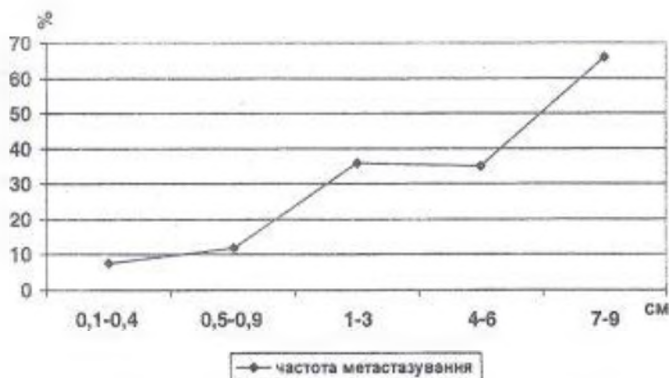


Рис. 5. Залежність частоти метастазування папілярного раку щитоподібної залози у регіонарні лімфатичні вузли залежно від розміру пухлини.

Не знайдено статистично вірогідної залежності між розташуванням пухлини у ЩЗ і локалізацією МЛВ, за винятком пухлин перешийка, коли ураження центрального колектора визначалося у 97,4% випадків (рис. 6). Враховуючи високу частоту метастатичного ураження лімфатичних вузлів центрального колектора (30%), переважно невеликий діаметр метастазів (59,2% випадків ≤ 3 мм), вважаємо за доцільне виконання рутинної центральної дисекції ший за ПР ЩЗ. Впровадження стандартизованого підходу до виконання дисекції лімфатичних колекторів ший привело до 2-кратного збільшення частоти виявлення МЛВ.

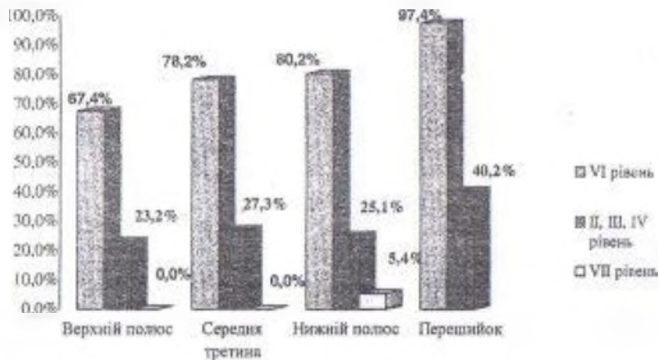


Рис. 6. Розподіл метастазів папілярного раку щитоподібної залози у колекторах ший залежно від локалізації пухлини у щитоподібній залозі.

Отримані нами дані відносно прогностично несприятливого характеру регіонарного розповсюдження РЩЗ за таких умов, як наявність *BRAF*-мутацій, спадковий характер для МР і певні гістологічні форми диференційованого РЩЗ (висококлітинний, колоноклітинний, дифузно-склерозуючий, солідний), а також в усіх випадках низькодиференційованого та недиференційованого (анапластичного) РЩЗ дають право наполягати на обов'язковому виконанні не лише центральної, але й унілатеральної радикальної модифікованої дисекції ший у таких випадках. Питання щодо білатеральної радикальної дисекції ший вирішується індивідуально, залежно від результатів експрес-гістологічного дослідження селективно видалених лімфатичних вузлів відповідних рівнів метастазування.

Для вивчення можливості індивідуального прогнозування рецидиву захворювання для конкретного хворого ретроспективно проаналізовано клініко-морфологічні характеристики хворих із рецидивами ПР ЩЗ. До дослідження залучено 21 пацієнта, яким виконано повторні хірургічні втручання з приводу рецидиву ПР ЩЗ.

Термін від видалення первинної пухлини до виявлення першого рецидиву склав 6-64 місяці. Згідно з класифікацією AMES, групу низького

ризикі склали 11 хворих (52,4%), групу високого ризику – 10 (47,6%). Рецидиви ПРЦЗ виявлялися частіше серед пацієнтів групи низького ризику. Серед гістологічних варіантів ПРЦЗ найчастішим був класичний варіант (85,7%). Розмір первинної пухлини складав 0,7-6 см. МЛВ та ознаки екстраорганної інвазії були у 16 (76,2%) пацієнтів, багатофокусність, ознаки інвазії до лімфатичних судин – у 5 (23,8%) і 6 (28,6%) хворих відповідно.

Через сприятливий прогноз ПРЦЗ після хірургічного видалення первинної пухлини існує необхідність в обстеженні великої кількості пацієнтів із тривалим (понад 20 років) періодом спостереження для визначення чинників, прогностичних щодо рецидиву. На жаль, до цього дослідження було залучено невелику кількість пацієнтів із нетривалим періодом спостереження, що створило певні обмеження для визначення вірогідних незалежних чинників клінічного рецидиву.

Оцінено можливість застосування імуноцитохімічного дослідження НВМЕ-1, ТПО та цитохімічного дослідження ДАП IV для диференціювання злоякісних і доброякісних пухлин ЦЗ, доведено високу чутливість методів (92,0%) для виявлення ПРЦЗ.

Визначено високу імуноцитохімічну активність НВМЕ-1 у випадках ПРЦЗ і ФРЦЗ, проте специфічність даного методу була досить низькою (44%). Комбіноване застосування імуноцитохімічного визначення активності ТПО з МоАт 47 і цитохімічного визначення активності ДАП IV для цитологічного аналізу аспіратів вузлів ЦЗ дозволяє досягти найбільшої діагностичної ефективності – 99% (табл. 1).

Таблиця 1

Результати порівняння ефективності імуноцитохімічного дослідження ТПО, НВМЕ-1 і цитохімічного визначення активності ДАП IV у пухлинах щитоподібної залози (%)

Показник	Ч	С	ПЗ+	ПЗ-	ДЕ	ХП	ХН
ТПО	100	93,2	92,8	100	96,4	3,6	0
НВМЕ-1	98,0	44,0	60,7	96,3	69,4	29,7	0,9
ДАП IV	69,2	91,5	87,0	77,0	81,0	4,5	14,4
ТПО + ДАП IV	100	98,3	98,0	100	99,0	0,9	0

Примітка: Ч – чутливість; С – специфічність; ПЗ+ – позитивне прогностичне значення; ПЗ- – негативне прогностичне значення; ДЕ – діагностична ефективність; ХП – хибно-позитивні результати; ХН – хибно-негативні результати.

Ретроспективно проведено порівняльний аналіз 609 випадків ТАПБ у хворих, прооперованих у дитячому або підлітковому віці (від 6 до 18 років), а також вперше проаналізовано ефективність застосування імуноцитохімічного дослідження з МоАт 47 у цитологічній діагностиці вузлів у дітей і підлітків.

92,5% пацієнтів нашого дослідження народилися після аварії на ЧАЕС, тобто не мали радіаційного чинника в анамнезі. Крім того, більшість пацієнтів відносилася до пубертатного віку (від 10 до 17 років). Ці дані дозволяють припустити, що гормони, пов'язані зі статевим дозріванням, можуть сприяти розвитку РЩЗ у підлітковому віці.

За даними порівняльного аналізу результатів ТАПБ та остаточних гістологічних діагнозів виявлено високу прогностичну цінність ТАПБ. Тим не менше, сумнівні висновки ТАПБ були основним джерелом хибно-негативних, а також хибно-позитивних результатів. Ці дані показують, що сумнівні висновки ТАПБ є однією з основних діагностичних пасток у виборі терапевтичної тактики для педіатричних хворих. За результатами гістологічного аналізу випадки із сумнівними висновками ТАПБ відповідають злоякісним пухлинам (20,5%), пухлинам із невизначеним потенціалом злоякісності, або ФПНПМ (15,9%) та доброякісним пухлинам (63,6%). Ці дані відображають діагностичну дилему навколо фолікулярних пухлин ЩЗ.

Розглянуто доцільність імунocyтохімічного дослідження із МоАт 47 на аспіратах ТАПБ вузлів ЩЗ 54 дітей. Зменшення імунореактивності з МоАт 47 відзначено в усіх випадках злоякісних пухлин ЩЗ, а також у пухлинах із невизначеним потенціалом злоякісності. З іншого боку, виявлено високий рівень імунореактивності з МоАт 47 в усіх випадках доброякісних пухлин. Застосування даного методу в групі сумнівних висновків ТАПБ допомагає виявити доброякісні пухлини, що дозволяє уникнути неадекватних хірургічних втручань і значно підвищити чутливість і специфічність стандартного цитологічного дослідження.

Отже, чутливість і специфічність стандартного цитологічного аналізу ТАПБ вузлів ЩЗ серед дітей і підлітків виявилися аналогічними таким у дорослого населення, а імунocyтохімічне дослідження ТПО з МоАт 47 – ефективним методом у цитологічній діагностиці вузлових уражень ЩЗ, надто у випадках сумнівних ТАПБ.

З метою оцінки можливого застосування виявлення *BRAF*-мутацій як доповнення до стандартного цитологічного аналізу ТАПБ із рутинно забарвлених цитологічних препаратів екстраговано ДНК і проведено ПЦР. На цитологічних препаратах мутацію *BRAF*^{V600E} виявлено у 43 (46,2%) із 93 випадків із класичним ПРЩЗ і у чотирьох (36,3%) з 11 випадків ФВПР ПР, що загалом склало 45,2%. Доведено, що забарвлені цитологічні препарати ТАПБ вузлів ЩЗ можна використовувати для виділення ДНК та оцінки наявності *BRAF*-мутацій.

Не було виявлено вірогідної кореляції між наявністю мутації *BRAF*^{V600E} і віком або статтю пацієнта. Частота мутації *BRAF*^{V600E} істотно не відрізнялася серед пацієнтів віком на момент операції до 45 років і хворих віком 45 років і більше. Наявність мутації *BRAF*^{V600E} було пов'язано з такими клініко-морфологічними параметрами, як розмір пухлини, класична папілярна або фолікулярна будова, багатофокусний ріст, екстраорганна інвазія та наявність МЛВ. У пацієнтів із цитологічними висновками щодо

ПРЦЗ мутацію *BRAF*^{V600E} було виявлено у 45,2% випадків. Тобто, виявлення даної мутації має обмежене значення для діагностики злоякісного процесу у випадках із сумнівними цитологічними висновками ТАПБ, проте може бути корисним для передопераційного визначення пухлини ПР ЦЗ із високим ризиком екстраорганної інвазії та МЛВ.

З огляду на центральну роль Akt у тиреоїдній онкогенній передачі сигналів, а також дані щодо потенційного значення Akt у рухливості та інвазії клітин раку, ми висунули гіпотезу, що активація Akt буде найбільш значущою у зонах інвазії РЦЗ, яку було підтверджено. Визначено різну її субклітинну локалізацію у ПР і ФРЦЗ, а також асоціацію активації ядерної Akt з інвазією клітин РЦЗ *in vitro*.

Оцінено активацію Akt (pAkt), її ізоформ Akt1, Akt2 і Akt3 та експресію p27 на гістологічних препаратах 46 злоякісних пухлин ЦЗ, 20 фолікулярних аденом та оточуючої тканини залози.

Найбільший рівень активації Akt виявлено у зонах інвазії в капсулу пухлини, капсулу залози, а також у МЛВ. У 20 досліджених ФА ядерна активацію Akt виявлено у клітинах із цитологічними ознаками атипії. У 12 із 14 випадків свіжозаморожених препаратів РЦЗ рівень активації Akt у клітинах раку був значно вищий порівняно з оточуючою тканиною залози, а у випадках ПРЦЗ – асоціювався з експресією RET-білка.

Рух клітин РЦЗ через вкриту матригелем мембрану визначали шляхом забарвлення цитоплазматичного та ядерного Akt. Доведено, що здатність клітин до міграції пов'язана з переходом активованої Akt і Akt1 з ядра у цитоплазму. Міграцію клітин було зупинено застосуванням малої дози інгібітору Р13-кінази. Постійну активацію Akt1 пов'язано з прогресією РЦЗ, що доводить виключну перспективність розробок специфічних терапевтичних препаратів, які блокуватимуть активацію Akt у тиреоїтах.

Підтверджено роль *RET/PTC*-транслокацій, а саме *RET/PTC3*-транслокації у розвитку ПК ЦЗ після аварії на ЧАЕС (табл. 2). Визначений у ліквідаторів високий рівень онкогена *RET/PTC3* вказує на те, що ця ознака не обмежується лише дитячими випадками, тобто раками, що швидко розвиваються.

Виявлено зв'язок *BRAF*-мутацій із чинниками високого ризику рецидиву пухлини. Найчастіше *BRAF*-мутації виявляються у тих підтипах ПР ЦЗ (висококлітинний і класичний), для яких часто характерні екстраорганна інвазія, МЛВ і розповсюдженість пухлинного процесу.

Таблиця 2

Частота *RET/PTC*-транслокацій у пухлинах щитоподібної залози ліквідаторів і неопромінених українських і французьких пацієнтів

Групи обстежених	Кількість випадків	<i>RET/PTC</i> n (%)	<i>RET/PTC1</i> n (%)	<i>RET/PTC3</i> n (%)	<i>RET/PTC1</i> і <i>RET/PTC3</i> n (%)
Ліквідатори					
Папілярний рак	12	10 (83,3)	5 (41,7)	3 (25,0)	2 (16,7)
класичний	8	6	3	2	1
фолікулярний варіант	4	4	2	1	1
Неопромінені українські пацієнти					
Папілярний рак	17	11 (64,7)	7 (41,2)	3 (17,6)	1 (5,8)
класичний	10	8	5	2	1
фолікулярний варіант	7	3	2	1	0
Неопромінені французькі пацієнти					
Папілярний рак	21	9 (42,9)	8 (38,1)	1 (4,8)	0 (0)
класичний	9	4	3	1	0
фолікулярний варіант	12	5	5	0	0

З метою визначення незалежної кореляції між наявністю мутації *BRAF* і кожної з трьох патологічних особливостей високого ризику (екстраорганою інвазією, МЛВ, прогресивною стадією хвороби) та рецидивом пухлини було застосовано множинний аналіз із коректуванням на ці чинники (табл. 3).

Методом логістичної регресії доведено незалежний зв'язок *BRAF*-мутацій з рецидивом пухлини. Отже, *BRAF*-мутації можуть бути генетичним індикатором гіршого прогнозу для ПРЩЗ. Водночас визначення *BRAF*-мутацій в аспіратах пункцій вузлів ЩЗ дозволяє проводити стратифікацію ризику ПРЩЗ на передопераційному етапі та може сприяти оптимізації як первинного лікування, так і тривалого спостереження рецидиву у пацієнтів із ПРЩЗ.

Проведено імуногістохімічне дослідження експресії мезенхімальних білків у центральних відділах, зонах інвазії, нормальній тканині залози та МЛВ 34 випадків ПРЩЗ. У зонах інвазії виявлено експресію генів, залучених до ЕМТ, зокрема, визначено підвищену експресію генів сигнальних шляхів, які безпосередньо регулюють ЕМТ, що узгоджується з фактом виявлення у

клітинах зон інвазії зниження рівня мРНК білків (Е-кадгерину), які беруть участь у клітинній адгезії.

Таблиця 3

Порівняння клініко-патологічних характеристик і статусу *BRAF*-мутації у різних гістологічних підтипах папілярного раку щитоподібної залози, медіана (%)

Характеристика	Класичний варіант	Фолікулярний варіант	Висококлітинний варіант	p
Загальна кількість	125	77	16	
Мутації <i>BRAF</i>	81 (64,8)	11 (14,3)	14 (87,5)	<0,001
Вік на момент встановлення діагнозу, р.	44 (38-56)	44 (35-52)	64 (39-73)	0,06
Стать, чол.	35 (28,0)	17 (22,1)	5 (31,3)	
Розмір пухлини, см	2,0 (1,5-2,7)	2,8 (1,5-3,5)	2,3 (1,9-3,5)	0,004
Багатофокусність	55 (44,0)	25 (32,5)	7 (43,8)	0,25
Екстраорганна інвазія	47 (37,6)	5 (6,5)	9 (56,3)	<0,001
Метастази у л/в	65 (52,0)	7 (9,1)	9 (56,3)	<0,001
Стадія пухлини				0,003
I	48 (38,4)	31 (40,3)	4 (25,0)	
II	43 (34,4)	39 (50,7)	4 (25,0)	
III	30 (24,0)	6 (7,8)	8 (50,0)	
IV	2 (1,6)	1 (1,0)	0 (0)	
Стадія пухлини III/IV	32 (25,6)	7 (9,1)	8 (50,0)	<0,001
Рецидиви	21 (16,8)	5 (6,5)	5 (31,3)	0,02
Кількість курсів I-131				0,83
0	25 (25,5)	16 (23,5)	3 (20,0)	
1	71 (72,5)	52 (76,5)	12 (80,0)	
2	2 (2,0)	0 (0)	0 (0)	
Загальна доза I-131, мСі	100 (0-103)	100 (0-103)	100 (50-100)	0,42
Період спостереження, міс.	16,5 (5-30)	13,0 (2-27)	20,5 (8-34)	0,55

Проаналізовано рівні експресії віментину та остеопонтину у серії ПРЦЗ із МЛВ. Встановлено вірогідний зв'язок між високим рівнем експресії віментину та ознаками екстраорганної інвазії, багатофокусним ростом, наявністю МЛВ, що підтверджує асоціацію експресії віментину з клінічно агресивною поведінкою ПРЦЗ.

Метилування промотора Е-кадгерину частіше виявлялося в пухлинах ПРЦЗ із МЛВ на момент операції порівняно з пухлинами без МЛВ. На цій

підставі можна припустити, що клітини РЩЗ із високою щільністю метилювання та зменшеною експресією Е-кадгерину найбільш здатні до інвазії.

Метилювання промотору Е-кадгерину досліджено у пухлинах РЩЗ та оточуючій тканині залози. У 26/66 (39,3%) випадках ПРЩЗ виявлено гіперметилювання 5' CpG острівців промотору Е-кадгерину.

В оточуючій нормальній тканині ЩЗ метилювання Е-кадгерину виявлено в 1/22 (4,5%) випадку. У цих випадках під час гістологічного дослідження виявлено ознаки хронічного тиреоїдиту. Клініко-морфологічну характеристику випадків ПРЩЗ залежно від статусу метилювання промотору Е-кадгерину наведено у табл. 4.

За результатами порівняльного аналізу у первинних пухлинах і відповідних лімфовузлах із метастазами виявлено динамічні зміни статусу метилювання Е-кадгерину та його експресії у процесі метастазування. У значній частині випадків збільшення експресії Е-кадгерину у МЛВ порівняно з первинними пухлинами було пов'язано зі втратою епігенетичного гальмування. Отже, в метастазах РЩЗ можлива втрата мезенхімального фенотипу та ЕMT.

У дослідженні *in vitro* виявлено прямий зв'язок між втратою експресії Е-кадгерину внаслідок метилювання та рухливістю клітин РЩЗ. Тобто, РЩЗ із високою щільністю метилювання та втратою експресії Е-кадгерину характеризується здатністю до метастазування.

Таблиця 4

Клініко-морфологічна характеристика папілярного раку щитоподібної залози залежно від статусу метилювання промотору Е-кадгерину

Клініко-морфологічна ознака	Статус метилювання промотору Е-кадгерину		p
	гіперметилюваний (n=26)	неметилюваний (n=40)	
Вік, роки	43,1±17,1	35,3±12,2	0,2949
Розмір пухлини, мм	33,4±0,6	22,3±0,8	0,4902
Стать, ч / ж	6 / 20	16 / 24	0,0164
Багатофокусний ріст, є / немає	12 / 14	12 / 14	0,2021
Метастази, є / немає	1 / 25	16 / 24	0,0011

Також встановлено взаємозв'язок між активацією онкоген-індукованих сигналів та епігенетичних механізмів у регуляції руху клітин ЩЗ. Активация сигнальних шляхів PI3K/AKT і RAS/ERK спричинює міграцію клітин раку незалежно від метилювання та експресії Е-кадгерину.

Експресія Е-кадгерину в клітинах РЩЗ регулюється епігенетичними механізмами. У процесі метастазування виявлено динамічні зміни статусу

метилування промотору Е-кадгерину. Епігенетичні механізми й активація сигналів, індукованих чинником некрозу пухлин α , є незалежними чинниками інвазії клітин РЩЗ, дія яких реалізується шляхом регуляції експресії та внутрішньоклітинної локалізації Е-кадгерину. Механізми регуляції метилування Е-кадгерину відіграють важливу роль в індукції ЕМТ у первинній пухлині, а також у зміні мезенхімального фенотипу на епітеліальний у метастазах.

З метою визначення прогностичного значення герпетичної інфекції в канцерогенезі ЩЗ проаналізовано ДНК вірусу простого герпесу 1-го та 2-го типу (ВПГ1 і ВПГ2) на гістологічних препаратах 109 хворих із доброякісними (44) і злоякісними (65) пухлинами ЩЗ. ВПГ виявлено у 43/109 (39,4%) випадків. ВПГ-позитивні пухлини характеризувалися експресією бета-інтерферону, ядерною експресією транскрипційного чинника NF κ B та активацією Акт. Частота виявлення ВПГ1 була однаковою у доброякісних і злоякісних пухлинах ЩЗ. Виявлено прямий зв'язок між наявністю ВПГ2 у пухлинах ПРЩЗ та у МЛВ. Експресію Nectin-1 виявляли частіше у пухлинах ЩЗ, ніж у нормальній тканині залози, надто у випадках ПРЩЗ.

Багатофакторний аналіз показав, що з урахуванням віку, статі пацієнтів і гістологічного типу пухлини виявлено значну асоціацію ВПГ з інтенсивністю реакції із IFN- β ($p=0,001$) і NF κ B ($p=0,0001$). У ВПГ-негативній нормальній тканині залози імунологічної реакції виявлено не було. Навпаки, у ВПГ-позитивній тканині ЩЗ виявлено підвищену експресію IFN- β , NF κ B і pAKT. Це підтверджує існуючі дані про виявлення ВПГ у тканині ЩЗ і демонструє зв'язок між ВПГ та активацією вірус-індукованих сигнальних шляхів у пухлині ЩЗ.

В епітеліальних клітинах нормальної ЩЗ виявлено експресію Nectin-1, проте інтенсивність її була низькою. У доброякісних і злоякісних пухлинах залози виявлено вищу імунореактивність Nectin-1 порівняно з нормальною тканиною залози. Рівень експресії Nectin-1 був значно вищим у випадках ФА порівняно з нормальною тканиною залози ($p=0,005$), проте не виявлено статистично вірогідної різниці в його експресії між ФРЩЗ і ФА. Знайдено більший рівень експресії Nectin-1 у випадках ПРЩЗ порівняно з ФА ($p=0,004$) і ФРЩЗ ($p=0,005$). У випадках класичного варіанту ПРЩЗ рівень експресії Nectin-1 був вищим, ніж за ФВПРЩЗ.

Рівень експресії Nectin-1 у клітинних лініях РЩЗ корелював з їх сприйнятливістю до ВПГ. Інгібіція сигнальних шляхів PI3K/AKT або MAPK/ERK не впливала на рівень експресії Nectin-1, але приводила до зниження сприйнятливості клітин РЩЗ до ВПГ. Виникнення ЕМТ корелювало з чутливістю клітин раку до вірусу.

Доведено, що наявність ВПГ пов'язано з активацією вірус-індукованих сигнальних шляхів у клітинах ЩЗ. У пухлинах ЩЗ виявлено високу експресію вірусних рецепторів (Nectin-1). Генетичні альтерації виявлено у 12/44 (27,2%) ВПГ-негативних пухлин і в 21/30 (70,0%) ВПГ-позитивних пухлин (табл. 5). RET/PTC-транслокації та BRAF-мутації

виявлялися частіше у випадках ВПГ2-позитивних, ніж ВПГ1-позитивними РЩЗ.

Показано, що активація мітогенних сигналів та індукція ЕМТ збільшує чутливість клітин ЩЗ до вірусу простого герпесу. ВПГ розглядається як можлива мішень у лікуванні РЩЗ. Також можливо, що запобігання ВПГ-інфекції стане одним із напрямків у попередженні розвитку РЩЗ.

Таблиця 5

Виявлення генетичних альтерацій у пухлинах залежно від наявності або відсутності у них вірусу простого герпесу

Статус ВПГ у пухлині	Кількість випадків	Генетичні альтерації			
		RAS-мутації	RET/PTC-транслокації	BRAF-мутації	Всього
Доброякісні (34 випадки)					
ВПГ (-)	27	2	1	0	3 (11,1%)
ВПГ1	6	0	1	0	1 (16,6%)
ВПГ2	1	0	0	0	0 (0%)
ВПГ1/2	0	0	0	0	1 (0%)
Злоякісні (36 випадків)					
ВПГ (-)	17	2	4	3	9 (52,9%)
ВПГ1	11	0	1	1	2 (18,1%)
ВПГ2	10	0	3	4	7 (70,0%)
ВПГ1/2	2	0	0	1	1 (50,0%)

Отже, ПРЩЗ і ФРЩЗ, що розвиваються із клітин фолікулярного епітелію, мають унікальні властивості, які роблять їх прикладом для вивчення формування пухлини. Описано більшість пухлинних ознак для найбільш розповсюдженого папілярного РЩЗ, і всі вони зводяться до єдиного сигнального RTK/RAS/BRAF/MAPK шляху. Наразі стає реальним розуміння наступних кроків онкогенезу ЩЗ, що вимагає подальших досліджень. Результатом цього, безумовно, стане розробка нових підходів у лікуванні РЩЗ.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне та клінічне вирішення проблеми діагностики пухлин щитоподібної залози на підставі вивчення механізмів канцерогенезу та визначення основних прогностичних чинників, що дало можливість оптимізувати тактику лікування пацієнтів із вузловими новоутвореннями.

1. Вперше шляхом комп'ютерного морфометричного аналізу зображень розрізнили клітини фолікулярної аденоми від фолікулярного та папілярного РЩЗ. Чутливість методу для діагностики злоякісного

процесу складала 95,3%, діагностична ефективність для діагностики типу пухлини – 86,6%. ФПНІМ можуть бути початковим етапом у розвитку злоякісних пухлин ШЦЗ, у них виявлено аномалії, характерні як для фолікулярного, так і для папілярного раку (мутації *N2-RAS* визначено в 33,3% випадків, експресію RET-білка – у 45,2%).

2. Найбільшу частку у групі високого ризику складає солідний та висококлітинний варіанти ПРЩЗ – 72,0% та 29,5% відповідно. Визначення гістологічного варіанту ПРЩЗ має важливе значення для індивідуального прогнозу та вибору тактики моніторингу.
3. Кістозний варіант ПРЩЗ характеризується у 2,6 разу більшою, ніж ПРЩЗ без кістозної дегенерації, частотою метастазування, на підставі чого слід розширювати обсяг дисекції під час хірургічного лікування ПРЩЗ з ознаками кістозної дегенерації.
4. Інвазія у ПЩЗ за ПРЩЗ виявляється у 2,2% випадків та асоціюється з ознаками екстраорганної інвазії та метастазуванням у регіонарні лімфовузли. В усіх випадках виявлення екстраорганної інвазії ПЩЗ необхідно видаляти прилеглу до пухлини прищитоподібну залозу, забезпечивши перед цим збереженість і життєздатність решти. Такий підхід відповідає вимогам онкологічної радикальності та не спричинює розвитку поопераційного гіпаратиреозу.
5. Частота метастазування ПРЩЗ у лімфовузли ший не залежить від локалізації пухлини у межах частки ШЦЗ. Висока частота метастатичного ураження лімфатичних вузлів центрального колектора (28,3%), переважно невеликий діаметр метастазів (59,2% випадків ≤ 3 мм), що не дозволяє виявити їх макроскопічно під час операції, обґрунтовують доцільність виконання рутинної центральної дисекції ший за ПРЩЗ.
6. Метод комбінованого застосування імуноцитохімічного дослідження НВМЕ-1, ТПО та цитохімічне дослідження ДАП IV має високу чутливість (92,0%) для виявлення ПРЩЗ і диференціювання злоякісних і доброякісних пухлин ШЦЗ. Застосування МоАт 47 у групі сумнівних висновків ТАПБ вузлів ШЦЗ у дітей дозволяє виявити доброякісні пухлини, уникнути неадекватних хірургічних втручань і значно підвищити чутливість і специфічність стандартного цитологічного дослідження.
7. Наявність *BRAF*-мутацій асоційовано із чинниками несприятливого прогнозу за ПРЩЗ. Доведено можливість виділення ДНК та оцінки наявності *BRAF*-мутацій на забарвлених аспіратах ТАПБ вузлів ШЦЗ. Виявлення даних мутацій має обмежене значення для діагностики злоякісного процесу у випадках із сумнівними висновками ТАПБ, а у випадках злоякісних висновків ТАПБ може бути корисним для передопераційного визначення пухлин із високим ризиком екстраорганної інвазії та наявності метастазів у лімфовузлах.

8. Встановлено надмірну активацію Akt у зонах інвазії РЩЗ, її різну субклітинну локалізацію за ПРЩЗ і ФРЩЗ, а також асоціацію активації ядерної Akt з інвазією клітин РЩЗ *in vitro*.
9. Доведено суттєвий вплив радіаційного опромінення внаслідок аварії на ЧАЕС на розвиток тиреоїдного раку не лише серед постраждалих дітей, але й серед опромінених дорослих, але кореляції між RET/PTC – транслокаціями, статтю пацієнта, стадією процесу та віку пацієнтів не визначено.
10. Встановлено роль ЕМТ у процесі інвазії та метастазування РЩЗ. У зонах інвазії ПРЩЗ виявлено експресію генів, залучених до ЕМТ. Встановлено вірогідний зв'язок між високим рівнем експресії віментину та ознаками екстраорганої інвазії, багатофокусним ростом, наявністю метастазів у лімфовузлах. Доведено роль метилювання Е-кадгерину в індукції ЕМТ, а також у зміні мезенхімального фенотипу.
11. Доведено, що ЩЗ є органом-мішенню для вірусу простого герпесу. Встановлено зв'язок останнього з туморогенезом ЩЗ. Показано, що збільшення експресії Nectin-1, активація мітогенних сигналів та індукція ЕМТ підвищують чутливість клітин пухлин ЩЗ до вірусу простого герпесу.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Визначення основних прогностичних чинників пухлин ЩЗ дозволяє застосовувати у клінічній практиці диференційований підхід до діагностики та лікування вузлових новоутворень ЩЗ.
2. Врахування встановлених клініко-морфологічних особливостей форм РЩЗ, їх зв'язок із патогенетичними чинниками дозволить підвищити ефективність діагностики та лікування пацієнтів із РЩЗ.
3. Той факт, що ФГЩПМ є початковим етапом у розвитку фолікулярного та папілярного РЩЗ, є підґрунтям для впровадження у клінічну практику морфологічних критеріїв діагностики таких пухлин, що дозволить уникати неадекватних хірургічних втручань з приводу доброякісних утворень залози.
4. Застосування маркерів малігнізації під час цитологічного аналізу аспіратів ТАПБ вузлів ЩЗ підвищує ефективність методу та дозволяє уникати хибно-позитивних і хибно-негативних результатів.
5. В усіх випадках виявлення екстраорганої інвазії РЩЗ доцільно видаляти прилеглу до пухлини прищитоподібну залозу, забезпечивши перед цим збереженість і життєздатність решти. Такий підхід відповідає вимогам онкологічної радикальності та не спричинює розвитку післяопераційного гіпопаратиреозу.
6. Виявлення BRAF-мутацій можливо на стандартно забарвлених цитологічних препаратах ТАПБ вузлів ЩЗ і має обмежене значення для діагностики злоякісного процесу у випадках сумнівних висновків, проте може бути корисним для передопераційного визначення пухлин

(12)

із високим ризиком наявності екстраорганої інвазії та метастазів у лімфовузлах.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Хірургічна тактика у випадках інвазії папілярного раку щитоподібної залози до прищитоподібної залози [Текст] / О.С. Ларін, С.М. Черенько, В.О. Паламарчук, В.Г. Кініченко, М.Б. Горобейко // Клін. ендокринологія та ендокринна хірургія. – 2006. – № 2 (15). – С. 33-36.
2. Інвазія папілярного раку щитоподібної залози у прищитоподібну залозу [Текст] / О.С. Ларін, В.Г. Кініченко, В.О. Паламарчук, С.М. Черенько // Клін. ендокринологія та ендокринна хірургія. – 2006. – № 1 (14). – С. 57-61.
3. Ларін О.С. Метастази у лімфатичних вузлах ший у хворих із папілярною мікрокарциномною щитоподібної залози [Текст] / О.С. Ларін, П.О. Золотарьов, В.Г. Кініченко // Клін. ендокринологія та ендокринна хірургія. – 2007. – № 2 (19). – С. 3-8.
4. Ларін О. С. Метастазування за папілярного раку щитоподібної залози [Текст] / О.С. Ларін, В.Г. Кініченко, П.О. Золотарьов // Клін. ендокринологія та ендокринна хірургія. – 2007. – № 4 (21). – С. 3-9.
5. Рак щитоподібної залози фолікулярного походження: клініко-морфологічні характеристики та прогноз [Текст] / О. С. Ларін, М. В. Кротевич, В. Г. Хоперія, К. О. Галахін // Клін. ендокринологія та ендокринна хірургія. – 2008. – № 3 (24). – С. 50-55.
6. Ларін О.С. Дифузно-склерозуючий варіант папілярного раку щитоподібної залози: клінічний випадок [Текст] / О.С. Ларін, В.Г. Хоперія, О.О. Гузь // Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. – 2009. – № 1 (26). – С. 12-14.
7. Ларін О.С. Рецидивний папілярний рак щитоподібної залози: клініко-морфологічні особливості [Текст] / О.С. Ларін, В.Г. Хоперія, О.О. Гузь // Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. – 2009. – № 2 (27). – С. 3-5.
8. Папілярний рак щитоподібної залози із кістозними змінами: клініко-морфологічні особливості [Текст] / О.С. Ларін, В.Г. Хоперія, О.О. Гузь, М.В. Кротевич // Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. – 2009. – № 3 (28) – С. 7-15.
9. Хоперія В.Г. Тонкогількова аспіраційна пункційна біопсія у дітей: кореляція цитологічних і гістологічних діагнозів [Текст] / В.Г. Хоперія // Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. – 2010. – № 2 (31) – С. 8-10.
10. Хоперія В.Г. Змішаний колоноклітинний і високо клітинний варіант папілярного раку щитоподібної залози [Текст] / В.Г. Хоперія, О.О. Гузь // Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. – 2010. – № 2 (31) – С. 71-73.
11. Хоперія В.Г. Імуноцитохімічне (НВМЕ-1, ТПО) та цитохімічне

- дослідження після ТАПБ вузлів щитоподібної залози [Текст] / В.Г. Хоперія // Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. – 2010. – № 3 (32) – С. 9-14.
12. Інтраопераційне гістологічне експрес-дослідження щитоподібної залози та при щитоподібних залоз [Текст] / Н.О. Шаповал, В.Г. Хоперія, О.Я. Гирявенко, П.О. Золотарьов // Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. – 2010. – № 4 (33) – С. 3-6.
13. Хоперія В.Г. Тонкогoliaкова аспіраційна пункційна біопсія вузлів щитоподібної залози: показання, техніка, клінічне застосування [Текст] / В.Г. Хоперія // Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. – 2011. – № 1 (34). – С. 57-67.
14. Хоперія В.Г. Роль BRAF-мутації у визначенні прогнозу папілярного раку щитоподібної залози [Текст] / В.Г. Хоперія // Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. – 2011. – № 2 (35). – С. 21-28.
15. Хоперія В.Г. Роль виявлення мутацій BRAF V600 під час проведення ТАПБ вузлів щитоподібної залози [Текст] / В.Г. Хоперія // Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. – 2011. – № 3 (36). – С. 24-29.
16. Хоперія В.Г. Цитологічні особливості медулярного раку щитоподібної залози [Текст] / В.Г. Хоперія, Н.І. Белемєць, О.О. Гузь // Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. – 2011. – № 4 (37). – С. 23-25.
17. Хоперія В.Г. Роль епітеліально-мезенхімальної трансформації у процесі інвазії раку щитоподібної залози. Журн. НАМН України. – 2011. – Т.17, № 4. – С. 402-405.
18. Хоперія В.Г. Роль експресії Е-кадгерину в процесі інвазії папілярного раку щитоподібної залози [Текст] / В.Г. Хоперія, О.С. Ларін, В.В. Васько // Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. – 2012. – № 1 (38). – С. 3-8.
19. Хоперія В.Г. Порівняльна характеристика доброякісних та злоякісних пухлин щитоподібної залози фолікулярного походження [Текст] / В.Г. Хоперія // Ендокринологія. – 2012. – Т.17, №1. – С.74-79.
20. Akt activation and localisation correlate with tumor invasion and oncogene expression in thyroid cancer [Text] / V. Vasko, M. Saji, E. Hardy, M. Kruhlik, O. Larin, V. Savchenko, M. Mijakawa, O. Isoxaki, H. Murakami, T. Tsushima, K. D. Burman, C. De Micco, M. D. Ringel // J. Med. Genet. – 2004. – V. 41, № 3. – P. 161-170.
21. Ret/PTC1 and ret/PTC3 in thyroid tumors from Chernobyl liquidators: comparison with sporadic tumors from Ukrainian and French patients [Text] / J. D. Cristofaro, V. Vasko, V. Savchenko, S. Cherenko, A. Larin, M. D. Ringel, M. Saji, M. Marcy, J. F. Henry, P. Carayon, C. De Micco // Endocr. Relat. Cancer. – 2005. – № 1. – P. 173-183.
22. High prevalence and possible de novo formation of BRAF mutation in metastasized papillary thyroid cancer in lymph nodes [Text] / V. Vasko, S. Hu, G. Wu, J. C. Xing, A. Larin, V. Savchenko, B. Trink, M. Xing // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2005. – V. 90, № 9. – P. 5265-5269.
23. Gene expression and functional evidence of epithelial-to-mesenchymal

- transition in papillary thyroid carcinoma invasion [Text] / V. Vasko, A.V. Espinosa, W. Scouten, H. He, H. Auer, S. Liyanarachchi, A. Larin, V. Savchenko, G. Francis, A. de la Chapelle, M. Saji, M. D. Ringel // *Proc. Natl. Acad. Sci USA*. – 2007. – V. 104, № 8. – P. 2803–2808.
24. Utility of malignancy markers in fine-needle aspiration cytology of thyroid nodules: comparison of Hector Battifora mesothelial antigen-1, thyroid peroxidase and dipeptidyl aminopeptidase IV [Text] / C. de Micco, V. Savchenko, R. Giorgi, F. Sebag, J.F. Henry // *Br. J. Cancer*. – 2008. – V. 98, № 4. – P. 818–823.
 25. Thyroid fine needle aspiration biopsies in children: study of cytological-histological correlation and malignancy markers [Text] / V. Hoperia, K. Jensen, O. Larin, A. Bauer, V. Vasko // *Int. J. Pediatr. Endocrinol.* – 2010. – V. 2010, No. 690108. – 5 p.
 26. Human herpes simplex viruses in benign and malignant thyroid tumors [Text] / K. Jensen, V. Hoperia, O. Larin, K. Yim, Y. Saji, A. Bauer, V. Hemming, V. Vasko // *J. Pathol.* – 2010. – V. 221, № 2. – P. 193–200.
 27. Dynamic changes in E-cadherin gene promoter methylation during metastatic progression in papillary thyroid cancer [Text] / K. Jensen, A. Patel, V. Hoperia, O. Larin, A. Bauer, V. Vasko // *Experimental and Therapeutic Medicine*. – 2010. – V. 1. – P. 457–462.
 28. BRAF(V600E) mutation analysis from May-Grünwald Giemsa-stained cytological samples as an adjunct in identification of high-risk papillary thyroid carcinoma [Text] / V. Hoperia, J. Klubo-Gwiedzinska, K. Jensen, A. Patel, O. Larin, A. Bauer, V. Vasko // *Endocr. Pathol.* – 2011. – V. 22, № 4. – P. 195–199.
 29. Морфологічні та клінічні аспекти інвазії тиреоїдного раку до щитоподібних залоз [Текст] / О.С. Ларін, В.Г. Кініченко, С.М. Черенько, В.О. Паламарчук // *Современные аспекты хирургического лечения эндокринной патологии: Материалы 1-го Украинско-Российского симпозиума по эндокринной хирургии с международным участием (13-14 октября 2006 г., Киев, Украина)*. – Киев, 2006. – С. 29–30.
 30. Васько В.В. BRAF-мутації за папілярного раку щитоподібної залози [Текст] / В.В. Васько, В.Г. Кініченко // *Современные аспекты хирургического лечения эндокринной патологии: Материалы 1-го Украинско-Российского симпозиума по эндокринной хирургии с международным участием. (13-14 октября 2006 г., Киев, Украина)*. – Киев, 2006. – С. 24.
 31. Herpes virus in thyroid cancer [Text] / V. Kinichenko, K. Jensen, A. Patel, A. Bauer, O. Larin, V. Vasko // *European Congress of Endocrine Surgeons*. – Barcelona (Spain), 2008. – P. 53.
 32. TREM signaling is activated in metastatic thyroid cancer cells [Text] / K. Jensen, A. Patel, V. Savchenko, O. Larin, A. Bauer, V. Vasko // *American Thyroid Association*. – Palm Beach, FL, 2009. – P. 51.
 33. BRAF V600 мутація та екстраорганна інвазія за папілярного раку щитоподібної залози [Текст] / О.С. Ларін, М.С. Кротевиц, В.Г. Хоперія,

- В.В. Васько // Матеріали науково-практичної конференції із міжнародною участю та III конференції українського дивізіону інтернаціональної академії патології «Актуальні проблеми онкоморфології», 12-13 травня, 2011 р., м. Харків. – Харків, 2011. – С. 43-44.
34. Папілярний рак щитоподібної залози із кістозними змінами: клініко-морфологічні характеристики [Текст] / О.С. Ларін, В.Г. Хоперія, О.О. Гузь, М.С. Кротевич // Матеріали науково-практичної конференції із міжнародною участю та III конференції українського дивізіону інтернаціональної академії патології «Актуальні проблеми онкоморфології», 12-13 травня, 2011 р., м. Харків. – Харків, 2011. – С. 44.
35. Структура рака щитовидной железы по данным специализированной клиники эндокринной хирургии [Текст] / В.Г. Хоперия, Р.М. Сичинава, В.В. Войтенко, Е.И. Мельниченко // Современные аспекты хирургической эндокринологии (с участием терапевтов-эндокринологов): материалы II Украинско-Российского симпозиума. – Харьков, 2011. – С. 439-443.
36. Хоперия В.Г. Морфологические особенности фолликулярных опухолей щитовидной железы с неопределенным потенциалом злокачественности [Текст] / В.Г. Хоперия, Н.И. Белемец, О.А. Гузь // Современные аспекты хирургической эндокринологии (с участием терапевтов-эндокринологов): материалы II Украинско-Российского симпозиума. – Харьков, 2011. – С. 436-438.
37. Detection of BRAFV600E mutation in May-Grunwald stained thyroid FNA samples can help in identification of cancers with a high risk of extra-thyroidal extension and metastases [Text] / V. Hoperia, J. Klubo-Gwiedzinska, K. Jensen, A. Patel, A. Bauer, V. Vasko // Annual meeting of Endocrine society. – Washington, USA, 2011 – P. 665.
38. Алгоритми обстеження та лікування дорослих хворих на рак щитоподібної залози, з числа ліквідаторів аварії на ЧАЕС: метод. рекомендації МОЗ України [Текст] / О.С. Ларін, С.М. Черенько, М.Б. Горобейко, Паламарчук В.О., Кініченко В.Г., Доготар В.Б., Січінава Р.М., Товкай О.А., Нечай О.П., Олійниченко Г.П. – К., 2004. – 46 с.
39. Ларін О. С. Діагностика та лікування високодиференційованого раку щитоподібної залози [Текст] / О.С. Ларін, С.М. Черенько, В.Г. Кініченко. – К., 2008. – 39 с.

АНОТАЦІЯ

Хоперія В.Г. Чинники прогнозу пухлин щитоподібної залози. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.01.14 – ендокринологія. – Український науково-практичний центр ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України, Київ, 2012.

Дисертацію присвячено вирішенню проблеми діагностики та оптимізації тактики лікування пухлин ЩЗ шляхом вивчення механізмів канцерогенезу та визначення прогностичних чинників.

Основу клініко-морфологічних і молекулярних досліджень склали 15 225 цитологічних аспіратів ТАПБ вузлів ЩЗ і гістологічні препарати ЩЗ 1809 пацієнтів, прооперованих з приводу доброякісних і злоякісних пухлин залози.

Для досягнення поставлених задач застосовано клініко-лабораторні, цитологічні, гістологічні, морфометричні, макроскопічні, імуноцито- та гістохімічні методи, конфокальну мікроскопію, вестерн-блот-аналіз, кількісну ПЦР, екстракцію ДНК, РНК, білків, моделювання інвазії клітин, імунофлюоресценцію, статистичні дослідження.

Визначено основні прогностичні чинники розвитку пухлин ЩЗ. Встановлено, що ФПНПМ можуть бути початковим етапом у розвитку РЩЗ. Визначено молекулярно-біологічні та клініко-морфологічні прогностичні критерії несприятливого прогнозу за умов РЩЗ. Доведено суттєвий вплив радіаційного опромінення внаслідок аварії на ЧАЕС на розвиток тиреоїдного раку не лише серед постраждалих дітей, але й серед опромінених дорослих. Доведено діагностичну ефективність ТАПБ із застосуванням маркерів малігнізації, надто у дітей пубертатного віку. Встановлено роль ЕМТ у процесі інвазії та метастазування РЩЗ. Доведено можливість визначення на передопераційному етапі *BRAF*-мутацій, що є показанням до застосування більш агресивної тактики хірургічного лікування. Встановлено роль Акт у процесах інвазії та метастазування РЩЗ. Доведено роль метилювання Е-кадгерину в індукції ЕМТ, а також у зміні мезенхімального фенотипу. Доведено, що ЩЗ є органом-мішенню для ВПГ. Встановлено зв'язок ВПГ із онкогенезом ЩЗ. Показано, що збільшення експресії Nectin-1, активація мітогенних сигналів та індукція ЕМТ обумовлюють підвищення чутливості клітин пухлин ЩЗ до ВПГ.

Ключові слова: пухлини щитоподібної залози, діагностика, прогноз.

АННОТАЦИЯ

Хоперия В.Г. Факторы прогноза опухолей щитовидной железы. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.14 – эндокринология. – Украинский научно-практический центр эндокринной хирургии, трансплантации эндокринных органов и тканей МЗ Украины, Киев, 2012.

Диссертация посвящена решению проблемы диагностики и оптимизации тактики лечения опухолей щитовидной железы путем изучения механизмов канцерогенеза и определения прогностических факторов.

Основу клинико-морфологических и молекулярных исследований составили 15 225 аспиратов ТАПБ узлов ЩЖ и гистологические препараты