

## Оригинальные исследования

**Возможности традиционной и жидкостной цитологии в сочетании с иммуноцитохимической детекцией некоторых молекулярных маркеров в дооперационной диагностике высококодифференцированного рака щитовидной железы**

*Берёзкина И.С.<sup>1</sup>, Саприна Т.В.<sup>1</sup>, Зима А.П.<sup>1</sup>, Исаева А.В.<sup>1</sup>,  
Латыпова В.Н.<sup>1</sup>, Мухамедов М.Р.<sup>1,2</sup>, Базилевич Л.Р.<sup>3</sup>, Попов О.С.<sup>1</sup>,  
Касоян К.Т.<sup>4</sup>, Брынова О.В.<sup>5</sup>, Бразовская Н.Г.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск

<sup>2</sup> ФГБУ «Томский научно-исследовательский институт онкологии», Томск

<sup>3</sup> ОГАУЗ «Томская областная клиническая больница», Томск

<sup>4</sup> ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» Минздрава России, Москва

<sup>5</sup> ГАУЗ города Москвы «Московская городская онкологическая больница № 62 Департамента здравоохранения города Москвы», Москва

**Актуальность.** Существует проблема дифференциальной диагностики узловых образований щитовидной железы (ЩЖ). Было предложено множество биомаркеров для решения этой проблемы, однако различные методы исследования дают по одним и тем же маркерам противоречивые результаты.

**Цель работы.** Установить диагностическую значимость жидкостной и традиционной цитологической диагностики с иммуноцитохимической детекцией (ИЦХ) белков (галектина-3, нуклеофосмина, Ki-67) в дооперационной диагностике высококодифференцированного рака щитовидной железы (РЩЖ). Задачей исследования также являлось проведение анализа возможного влияния аутоиммунного процесса в ЩЖ на точность диагностики РЩЖ используемыми методами.

**Материал и методы.** Было исследовано 107 пунктатов из узловых образований щитовидных желез традиционной и жидкостной цитологией, проведена ИЦХ на 56 образцах с гистологическими заключениями: коллоидный зоб — 24 случая, аутоиммунный тиреоидит — 4 случая, фолликулярная аденома — 4 случая, папиллярный рак — 22 случая.

**Результаты.** Представлены результаты сопоставления цитологических и гистологических заключений, результаты диагностической точности исследования экспрессии галектина-3, нуклеофосмина, Ki-67 для диагностики РЩЖ. Разработана формула, которая позволяет с высокой точностью определить наличие злокачественного процесса в ЩЖ.

**Заключение.** Диагностическая точность метода жидкостной цитологии выше, чем метода традиционной цитологии. Метод ИЦХ экспрессии Ki-67 обладает 81,8% чувствительностью и 100% специфичностью для дооперационной диагностики РЩЖ, а совместное определение HS (Histochemical Score) Ki-67 и проведение жидкостного цитологического исследования повышает чувствительность и специфичность дооперационной диагностики высококодифференцированного РЩЖ до 100%. Не обнаружено связи между экспрессией маркеров галектина-3, нуклеофосмина, Ki-67 и наличием аутоиммунного процесса в ЩЖ.

**Ключевые слова:** щитовидная железа, рак щитовидной железы, узловое образование, иммуноцитохимия, Ki-67, галектин-3, нуклеофосмин, аутоиммунный тиреоидит.

**Possibilities traditional and liquid-based cytology combined with immunocytochemical detection of some molecular markers in the preoperative diagnosis of well-differentiated thyroid cancer**

*Berjozskina I.S.<sup>1</sup>, Saprina T.V.<sup>1</sup>, Zima A.P.<sup>1</sup>, Isaeva A.V.<sup>1</sup>, Latipova V.N.<sup>1</sup>,  
Muhamedov M.R.<sup>1,2</sup>, Bazilevich L.R.<sup>3</sup>, Popov O.S.<sup>1</sup>, Kasojan K.T.<sup>4</sup>,  
Brynova O.V.<sup>5</sup>, Brazovskaya N.G.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

<sup>2</sup> Tomsk Cancer Research Institute, Tomsk, Russian Federation

<sup>3</sup> Regional Hospital in Tomsk, Tomsk, Russian Federation

<sup>4</sup> Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Moscow, Russian Federation

<sup>5</sup> Moscow cancer hospital No. 62, Moscow, Russian Federation

**Aim.** To establish the diagnostic value of liquid and traditional cytological diagnosis with immunocytochemical (ICC) detection proteins (galectin-3, nucleophosmin, Ki-67) in the preoperative diagnosis of well-differentiated thyroid cancer and analysis of the effect of the autoimmune process in the thyroid gland in the diagnostic accuracy.

**Materials and methods.** The traditional liquid-based cytology was performed on 107 samples and immunocytochemistry performed on 56 samples with histological findings: colloid goiter in 24 cases, 4 cases of Hashimoto's thyroiditis, 4 cases of follicular adenoma, 22 cases of papillary cancer.

**Results.** The results of a comparison of cytological and histological findings. The results of studies of diagnostic accuracy expression of galectin-3, nucleophosmin, Ki-67 for the diagnosis of thyroid cancer. A formula was developed to help determine the presence of malignancy in thyroid with high accuracy.

**Conclusion.** The diagnostic accuracy of the method of liquid-based cytology is higher than the traditional method of cytology. ICC expression of Ki-67 method has 81.8% of sensitivity and 100% of specificity for the preoperative diagnosis of thyroid cancer. Conjoint definition HS Ki-67 and liquid-based cytology increases the sensitivity and specificity of the diagnosis of well-differentiated thyroid cancer preoperative to 100%. There no detected relations between the expression of galectin-3, NFM, Ki-67 and the presence an autoimmune process in the thyroid.

**Key words:** thyroid gland, thyroid cancer, node of thyroid gland, immunocytochemistry, Ki-67, galectin-3, nucleophosmin, Hashimoto's thyroiditis.

Распространенность рака щитовидной железы (РЩЖ) увеличилась с 2003 до 2014 г. почти в 2 раза — с 55 до 97,1 на 100 000 населения [1]. До сих пор проблема дифференциальной диагностики узловых образований щитовидной железы (ЩЖ) остается актуальной и является причиной выполнения большого количества “лишних” оперативных вмешательств, процент которых, по данным разных авторов, достигает 71% [2].

Особо сложна предоперационная дифференциальная диагностика фолликулярного РЩЖ/фолликулярной аденомы и фолликулярной формы папиллярного РЩЖ. Так как на этапе цитологического исследования эти формы патологии невозможно дифференцировать, было предложено использовать генетические методы исследования, однако их выполнение достаточно длительное и дорогостоящее [3, 4].

Известно, что индукция и промотория РЩЖ осуществляются в результате мутаций в разных онкогенах, что приводит к ингибированию апоптоза, пролиферации клеток и повышению экспрессии определенных рецепторов [5]. Вследствие этого для диагностики различных гистопатологических групп узловых образований ЩЖ было предложено множество биомаркеров. Большее количество этих исследований по понятным причинам проведено на постоперационном материале. К настоящему времени уже определился круг наиболее перспективных молекулярных маркеров, которые можно использовать для дифференциальной диагностики доброкачественных/злокачественных узловых образований ЩЖ. Однако на всех этапах исследования от пред- до послеоперационного встречается немалое количество противоречий в молекулярной дифференциальной диагностике узловых образований ЩЖ.

На примере использования некоторых онкомаркеров высокодифференцированного РЩЖ осветим данную проблему.

### Галектин-3

Это галактозид-связывающий белок с молекулярной массой 26 кДа, принадлежащий к семейству галектинов. Показано, что галектин-3 контролирует клеточный цикл и препятствует апоптозу Т-клеток путем взаимодействия с членами семейства Bcl-2. Экспрессия этого лектина повышается не только при воспалении, но и при пролиферации, дифференцировке клеток, а также при опухолевой трансформации.

Достаточно много работ посвящено иммуноцитохимическому методу определения экспрессии данного маркера. Одни авторы считают, что обнаружение галектина-3 в пунктате узлового образования ЩЖ со специфичностью 100% свидетельствует о раке, что исключает необходимость повторного цитологического исследования, однако данный метод обладает низкой чувствительностью (55%), что неминуемо приведет к гиподиагностике рака [6]. Другие, наоборот, находят высокую чувствительность дооперационного определения экспрессии данного маркера (93,8%), но более низкую специфичность (67,3%) в установлении диагноза РЩЖ иммуногистохимическим (ИГХ) методом. Однако имеются данные, что с помощью другого метода — полимеразно-цепной реакции в режиме реального времени нельзя достоверно различить доброкачественную и злокачественную патологию [7].

В 2015 г. был опубликован патент на метод диагностики высокодифференцированного РЩЖ, основанный на исследовании уровня галектина-3 в смыве аспирата, полученного при тонкоигольной аспирационной биопсии (ТАБ) из узлов ЩЖ методом иммуноферментного анализа (ИФА) [8]. Содержание галектина-3 в смыве ниже 1,0 нг/мл авторы предлагали оценивать как критерий отсутствия высокодифференцированного рака, выше 1,6 нг/мл — диагностировать как высокодифференцированный

рак. Чувствительность данного метода в диагностике высокодифференцированного РЩЖ оценивалась на уровне 59,7%, специфичность — 90,7%. Однако недостатком метода ИФА является низкая воспроизводимость, так как уровень определяемого маркера напрямую зависит от количества полученного пункционного материала, а следовательно, результаты оценки данного белка при проведении пункционной биопсии в другом медицинском учреждении или другим специалистом будут отличаться от полученных. Этим же авторским коллективом было предложено аналогичным способом интерпретировать уровень тиреоглобулина: его содержание менее 272,5 нг/мл предполагало отсутствие высокодифференцированного РЩЖ, определение в интервале 272,5–355,5 нг/мл — определяло риск высокодифференцированного РЩЖ, выше 355,5 нг/мл — позволяло диагностировать РЩЖ. Чувствительность данного метода, по мнению авторов, составляет 64,9%, специфичность — 95,3%.

Некоторые исследователи приходят к выводу, что определение галектина-3 нельзя использовать в качестве единственно необходимого и достаточного молекулярного анализа, несмотря на то что экспрессия данного маркера достоверно отражает высокую вероятность злокачественного характера узла ЩЖ, но только в комбинации с другими маркерами [2, 9, 10].

### Ki-67

Наиболее специфическим маркером для установления выраженности пролиферативных процессов в ткани является Ki-67. Экспрессия Ki-67 позволяет выделить опухолевые клетки, находящиеся в различных фазах клеточного цикла, кроме G0, и распознается с помощью моноклональных антител [11]. Различными исследователями отмечается важность оценки индекса пролиферативной активности в дифференциальной диагностике фолликулярных аденом и карцином ЩЖ. Есть работы, где уровень экспрессии Ki-67 при ИГХ-исследовании был достоверно выше в злокачественных новообразованиях ЩЖ, в том числе и при фолликулярном раке, в отличие от доброкачественного процесса [12–15].

Однако существует необходимость установления пороговых значений для дифференцировки злокачественных и доброкачественных новообразований ЩЖ по уровню экспрессии данного маркера. Есть работы, в которых подобная закономерность характерна только в отношении фолликулярной аденомы и карциномы, но увеличение Ki-67 не отмечалось при папиллярном РЩЖ [16]. В некоторых же исследованиях [17, 18], наоборот, отмечается уменьшение экспрессии белка Ki-67 в ЩЖ больных папиллярным, в меньшей степени фолликулярным раком [19] по сравнению с доброкачественными изменениями.

Другие исследователи вообще не выявили статистически значимых различий в экспрессии Ki-67 между папиллярным раком и доброкачественными узловыми образованиями в ЩЖ, но отметили, что данный маркер предоставляет полезную информацию о пролиферативной активности ткани ЩЖ [20]. В одной из последних работ авторы предлагают третью стадию пролиферации (повышение индекса пролиферации Ki-67 более 70% при послеоперационном исследовании методом ИГХ) оценивать как дисплазию III степени и считать предраковой [21].

### Нуклеофосмин (NFM)

Этот ключевой нерибосомный белок ядрышка является переносчиком белков, постоянно мигрирующих между ядром и цитоплазмой, он осуществляет защиту белков от агрегации [22]. По данному маркеру (NFM) есть исследования, в которых методом ИГХ было выявлено увеличение экспрессии данного маркера в фолликулярных аденомах и папиллярной карциноме в отличие от нормальной ткани ЩЖ [23]. Из чего авторы сделали вывод, что избыточная экспрессия нуклеофосмина в ткани ЩЖ является ранним признаком трансформации в опухолевую ткань. К сожалению, за рубежом проводились единичные исследования, посвященные изучению диагностической ценности определения нуклеофосмина при РЩЖ, а в России такие исследования не проводились вовсе.

Таким образом, в литературе представлены различные противоречивые сведения по данным белкам в качестве онкомаркеров РЩЖ: например, чувствительность галектина-3 в диагностике злокачественной патологии колеблется от 55 до 93,8%, а специфичность — от 67,3 до 100%, одни авторы отмечают увеличение экспрессии Ki-67, другие — уменьшение. Предлагаются также различные методы исследования данных белков, что, несомненно, повлечет и большой размах диагностических критериев, и различные уровни диагностической точности. Однако, несмотря на все противоречия, появляются новые современные и перспективные методы исследования, такие как жидкостная цитология, клеточная сепарация, которые предоставляют большую возможность для точной и надежной дооперационной дифференциальной диагностики РЩЖ, что и является основанием для дальнейшей апробации данных белков в качестве онкомаркеров высокодифференцированного РЩЖ, а также его различных гистологических вариантов.

**Цель исследования** — установление диагностической значимости жидкостной и традиционной цитологической диагностики с иммуноцитохимической детекцией (ИЦХ) белков (галектина-3, нуклеофос-

мина, Ki-67) в дооперационной диагностике высокодифференцированного РЩЖ. Задачей исследования также явилось проведение анализа возможного влияния на точность диагностики РЩЖ используемыми методами на фоне аутоиммунного процесса в ЩЖ.

### Материал и методы

Дизайн исследования: обсервационное одномоментное неконтролируемое исследование. В исследование было включено 749 пациентов с узловым или многоузловым зобом, которым была показана ТАБ с последующим проведением цитологического исследования. Учитывались следующие данные: пол, возраст, стаж заболевания, известные факторы риска развития РЩЖ, данные общеклинического обследования (общий и биохимический анализ крови), гормонального профиля (тиреотропный гормон, св. Т<sub>4</sub>, св. Т<sub>3</sub>, антитела к тиреопероксидазе и тиреоглобулину), УЗИ щитовидной железы, проведенные на базе различных поликлиник города Томска, эндокринологического отделения консультативно-диагностической поликлиники ОГАУЗ ТОКБ, отделения хирургии ОГАУЗ ТОКБ, отделения общей хирургии ГБОУ ВПО СибГМУ, НИИ онкологии за период 2012–2015 гг. Пациентам по показаниям выполнялась ТАБ под контролем УЗИ. Показаниями к ее проведению, согласно клиническим рекомендациям Российской ассоциации эндокринологов по диагностике и лечению узлового зоба [24], являлись: наличие узла размером 1 см и больше, а также узла меньше 1 см в сочетании с клиническими или ультразвукографическими признаками, позволяющими заподозрить его злокачественный характер.

При наличии нескольких узлов производилась пункция наиболее подозрительных образований. Для цитологического исследования аспираты окрашивались азур-эозином по Гимзе. Из 749 пациентов 107 (14,3%) пациентам дополнительно к традиционному цитологическому (ТЦ) исследованию было выполнено исследование методом жидкостной цитологии (ЖЦ). Причем первых (47% от 107) пациентов повторно не пунктировали, а использовали иглу со шприцем после той же пункции, из которой брали материал для ТЦ. После получения первых результатов ввиду большого количества неинформативного материала (отсутствие клеток) при ЖЦ последующих пациентов (60% от 107 человек) пунктировали отдельно, и материал полностью использовался для ЖЦ. Для приготовления мазков для ЖЦ пунктат фиксировали в 1 мл стабилизирующего раствора Preservative Solution Novarper, далее в лаборатории готовили цитологические препараты на адгезивных стеклах центрифугированием 5 мин при скорости вращения ротора 1000 об/мин (Cellspin II (Tharmac,

Германия)), окрашивание по Папаниколау осуществляли на автоматическом приборе АФОМК-13-ПАП (ЭМКО, Россия), программа EMCO-PAP-16, с последующим определением экспрессии маркеров Ki-67, NFM и галектина-3. ИЦХ проводили непрямым трехступенчатым иммуноферментным LSAB (англ. Labeled streptavidin – biotin, DAKO Cytomation, LSAB 2 System – HRP) методом визуализации. Выявление пероксидазной активности осуществляли с помощью 3,3-диаминобензидина. Цитопрепараты докрашивали гематоксилином Майера. Подсчет иммунопозитивных клеток проводили в областях с максимальным проявлением диаминобензидина при анализе 200–300 клеток на микроскопе Axioskop (ZEISS, Германия). Оценивался показатель HS (Histochemical Score), который рассчитывался по формуле:  $HS = \sum P(i) \times i$ , где  $i$  – интенсивность окрашивания, выраженная в баллах (от 0 до 3),  $P(i)$  – процент клеток, окрашенных с разной интенсивностью. Окончательная верификация диагноза при узловом зобе осуществлялась путем анализа постоперационных гистологических препаратов, которые были приготовлены по стандартным методикам и окрашивались гематоксилином и эозином.

Статистическая обработка данных проводилась в программе SPSS Statistics 20. Описание количественных признаков, не соответствующих нормальному закону распределения, представлено в виде медианы и межквартильного размаха ( $Me(Q1-Q3)$ ). Сравнение двух независимых выборок по количественному признаку проводилось при помощи критерия Манна–Уитни, анализ качественных признаков – при помощи критерия хи-квадрат и точного критерия Фишера. Оценка взаимосвязи признаков проводилась при помощи корреляционного анализа путем расчета рангового коэффициента корреляции Спирмена. Критический уровень значимости в работе принят равным менее 0,05.

Методом бинарной логистической регрессии выявлены значимые предикторы, ассоциированные с наличием злокачественного образования в ЩЖ. Оценка качества логистической регрессионной модели проводилась путем расчета характеристик чувствительности, специфичности и точности модели.

### Результаты и обсуждение

Клиническая группа пациентов с узловым зобом, у которых проведено традиционное жидкостное цитологическое исследование с верификацией диагноза по постоперационному гистологическому заключению, представлена 107 пациентами, среди которых 97 (90,5%) женщин и 10 (9,5%) мужчин. Возрастной диапазон пациентов составил от 23 до 82 лет, средний –  $52,8 \pm 12,6$  года.



**Таблица 1.** Сопоставление цитологических заключений согласно классификации Bethesda 2009 г. для первой и второй подгруппы пациентов

| Категория Bethesda | Первая подгруппа (n = 47) |                      | Вторая подгруппа (n = 60) |                      |
|--------------------|---------------------------|----------------------|---------------------------|----------------------|
|                    | Традиционная цитология    | Жидкостная цитология | Традиционная цитология    | Жидкостная цитология |
| I                  | 9                         | 30                   | 9                         | 8                    |
| II                 | 13                        | 13                   | 16                        | 29                   |
| III                | 3                         | 1                    | 4                         | 0                    |
| IV                 | 14                        | 2                    | 15                        | 10                   |
| V                  | 4                         | 0                    | 9                         | 6                    |
| VI                 | 4                         | 1                    | 7                         | 7                    |

*Примечание:* Bethesda I – недиагностический материал, Bethesda II – доброкачественные изменения, Bethesda III – атипия неясного значения, Bethesda IV – фолликулярная опухоль/подозрение на фолликулярную опухоль, Bethesda V – подозрение на злокачественность, Bethesda VI – злокачественные опухоли.

**Таблица 2.** Соотношение цитологических заключений методом традиционной цитологии с характером патологического процесса по данным гистологического исследования

| Категория по Bethesda | Данные гистологического исследования |                                 |
|-----------------------|--------------------------------------|---------------------------------|
|                       | Доброкачественное новообразование    | Злокачественное новообразование |
| I                     | 18                                   | 0                               |
| II                    | 28                                   | 1                               |
| III                   | 5                                    | 2                               |
| IV                    | 23                                   | 6                               |
| V                     | 6                                    | 7                               |
| VI                    | 0                                    | 11                              |

**Таблица 3.** Соотношение цитологических заключений методом жидкостной цитологии с характером патологического процесса по данным гистологического исследования

| Категория по Bethesda | Данные гистологического исследования |                                 |
|-----------------------|--------------------------------------|---------------------------------|
|                       | Доброкачественное новообразование    | Злокачественное новообразование |
| I                     | 31                                   | 7                               |
| II                    | 39                                   | 3                               |
| III                   | 1                                    | 0                               |
| IV                    | 8                                    | 4                               |
| V                     | 1                                    | 5                               |
| VI                    | 0                                    | 8                               |

В первой подгруппе пациентов (пункция данным пациентам проводилась 1 раз, а материал отправлялся и на традиционное цитологическое исследование, и на ЖЦ) ввиду особенностей забора образцов было большее количество неинформативного материала при ЖЦ (63% против 13%), чем во второй подгруппе (пациенты, которых пунктировали дважды: для ТЦ и отдельно для ЖЦ с последующей ИЦХ). Из чего мы сделали вывод, что для проведения ЖЦ пациенту необходимо осуществлять отдельную пункцию. Цитологические заключения согласно классификации Bethesda 2009 г. для первой и второй подгруппы представлены в табл. 1.

При помощи построения таблиц сопряженности (для общей группы пациентов) было установлено, что метод ТЦ в отношении диагностики РЩЖ на дооперационном этапе обладает чувствительностью 67%, специфичностью 92,5% и точностью 83%, ЖЦ – 65, 98 и 88% соответственно (табл. 2, 3).

ИЦХ была проведена 56 (52,3% из 107 пациентов) пациентам на материале, взятом на ЖЦ, в случае, если материал был информативным. На этапе гистологического исследования этим пациентам были выставлены следующие заключения: коллоидный зоб – 24 случая, аутоиммунный тиреоидит (АИТ) – 14 слу-

чаев (из них 8 являлось фоном узлового коллоидного зоба), фолликулярная аденома – 4 случая, папиллярный рак – 22 случая, из них 1 случай папиллярного рака с фокусами фолликулярного.

Мы определяли корреляцию экспрессии маркеров Ki-67, NFM, галектина-3, выраженной в Histochemical Score (HS), с наличием РЩЖ. HS маркеров NFM и галектина-3 не продемонстрировал корреляции с высокодифференцированным РЩЖ ( $p = 0,2$  и  $p = 0,15$  соответственно). HS Ki-67 показал сильную положительную корреляцию ( $p < 0,05$ ,  $r = 0,8$ ) с наличием рака в ЩЖ. Результаты сравнения HS Ki-67, NFM, галектина-3 представлены в табл. 4. Как видно из таблицы, оценка HS NFM и галектина-3 незначима для выявления РЩЖ. Уровень же HS Ki-67 в группе пациентов с карциномой ЩЖ был значимо выше.

При помощи метода бинарной логистической регрессии были проанализированы потенциальные предикторы РЩЖ на основании определения HS Ki-67, галектина-3 и NFM. В результате пошагового отбора в модель не вошли такие показатели как HS галектина-3 и NFM, так как данные признаки имели уровень значимости низкий ( $p > 0,05$ ) и в полученной формуле не принимали участие. Так как HS Ki-67

**Таблица 4.** Медиана и межквартильный размах (Ме (Q1–Q3)) показателей, характеризующие доброкачественное и злокачественное образование в щитовидной железе

| Показатель     | Доброкачественный узел | Злокачественный узел | Значение |        |
|----------------|------------------------|----------------------|----------|--------|
|                |                        |                      | U        | p      |
| HS Ki-67       | 0 (0–11)               | 122,5 (32–149)       | 7        | <0,001 |
| HS галектина-3 | 52 (17–85)             | 135 (29–207)         | 59       | 0,1    |
| HS NFM         | 100 (21–142)           | 122,5 (84–185)       | 64       | 0,3    |

*Примечание.* При  $p > 0,5$  образование наиболее вероятно является злокачественным.

**Таблица 5.** Медиана и межквартильный размах (Ме (Q1–Q3)) показателей в зависимости от наличия фонового аутоиммунного процесса в щитовидной железе

| Показатель | АИТ (–)      | АИТ (+)         | Значение |      |
|------------|--------------|-----------------|----------|------|
|            |              |                 | U        | p    |
| HS Ki-67   | 11 (0–84)    | 15 (0–155)      | 63       | 0,6  |
| HS Гал-3   | 52 (15–130)  | 138,5 (57–213)  | 32       | 0,07 |
| HS NFM     | 116 (78–174) | 92,5 (15,7–111) | 39,5     | 0,1  |

коррелировал с риском выявления РЩЖ, то только на основании включения данного коэффициента и была построена модель, которая позволяет предположить злокачественный процесс (табл. 4).

Представленная модель продемонстрировала статистическую значимость ( $\chi^2 = 22,78$ ,  $p < 0,001$ ). Качество построенной модели характеризуют: коэффициент множественной детерминации (R2 Найджелкерка = 0,769), критерий согласия Хосмера–Лемешова ( $\chi^2 = 3,34$ ,  $p = 0,647$ ), коэффициент конкордации – 88,9%, чувствительность – 81,8%, специфичность – 93,8%, точность – 88,8%, предсказательная ценность положительного результата – 90%, предсказательная ценность отрицательного результата – 88,2%.

Однако с учетом того, что в формулу вошел только один маркер, значимость расчета данного показателя была определена и ROC-анализом. Площадь под кривой составила 0,96. Отрезной диагностической точкой был определен уровень HS Ki-67 35,0, при котором чувствительность метода его определения составила 81,8%, специфичность – 100%, точность – 92,5%.

При учете результатов двух методик – ТЦ и определения HS Ki-67 – диагностическая ценность улучшалась до 93,3% чувствительности и 100% специфичности, а с использованием метода ЖЦ + определение HS Ki-67 – до 100% чувствительности и специфичности.

Аутоиммунные заболевания ЩЖ относятся к числу многофакторных патологических процессов, развитие которых определяется генетическими, гормональными факторами, а также факторами внешней среды [25]. Мы также предприняли попытку установить возможное наличие связи экспрессии маркеров Ki-67, NFM, галектина-3 с сопутствующим

аутоиммунным процессом в ЩЖ, но не обнаружили статистически значимых различий изучаемых онкомаркеров на фоне АИТ и без него (табл. 5).

Однако наличие аутоиммунного процесса значимо влияло на правильность постановки цитологического диагноза: при ТЦ процент ошибки был выше при аутоиммунном процессе, чем без данной патологии, – 42,9% против 10% ( $\chi^2 = 3,7$ ,  $p = 0,05$ ), при проведении ЖЦ наличие АИТ не искажало точность цитологического диагноза ( $\chi^2 = 0,1$ ,  $p = 0,7$ ), однако тенденция сохранялась (процент ошибки – 14,3% против 9,5%). Таким образом, метод ЖЦ позволяет более точно, чем метод ТЦ, выявлять тип патологического процесса в ЩЖ при наличии сопутствующего АИТ и имеет преимущество при учете данной патологии. Плюсы данного метода складываются из технологии цитоцентрифугирования, которая обеспечивает индивидуальный подход к каждому образцу, позволяет учитывать концентрацию клеточного материала в питательной среде, дает возможность равномерного распределения клеточного материала на стекле, лучшей визуализации деталей ядра и цитоплазмы, значительного снижения числа элементов воспаления, эритроцитов, артефактов, достижение более тщательного анализа структур клетки. Хотя в литературе указывается и обратная ситуация: при диагностике АИТ есть трудности при проведении именно ЖЦ, так как реактивные изменения эпителия ЩЖ из-за отсутствия лимфоидных элементов могут быть ошибочно приняты за комплексы папиллярного рака. Так, значительное снижение или отсутствие фоновых элементов, с одной стороны, позволяет сконцентрировать патологические клетки в препарате, детально рассмотреть особенности морфологии ядра и цитоплазмы, с другой – лишает важной диагностической информации [26, 27].

## Выводы

1. Метод иммуноцитохимического определения экспрессии Ki-67 обладает высокой чувствительностью (81,8%), специфичностью (100%) и точностью (92,5%) на дооперационном этапе диагностики РЩЖ, а совместное определение HS Ki-67 и проведение жидкостного цитологического исследования повышает чувствительность и специфичность дооперационной диагностики высокодифференцированного РЩЖ до 100%.

2. Разработана формула, которая на основании определения HS Ki-67 позволяет с высокой точностью определить наличие злокачественного процесса в ЩЖ. Однако требуются дальнейшие исследования в данном направлении, особенно в группе пациентов с фолликулярной неоплазией, установленной по данным цитологического заключения.

3. Не обнаружено связи между экспрессией маркеров галектина-3, NFM, Ki-67 и наличием аутоиммунного процесса в ЩЖ.

4. Диагностическая точность метода жидкостной цитологии выше, чем метода традиционной цитологии, в отношении обнаружения злокачественной патологии в ЩЖ (88% против 83%), особенно при наличии сопутствующего аутоиммунного воспалительного процесса.

## Информация о финансировании и конфликте интересов

Исследования выполнены при поддержке Гранта совета при Президенте РФ для поддержки ведущих научных школ (№ НШ-4184.2014.7, НШ-7906.2016.7), Гранта совета при Президенте РФ для поддержки молодых докторов наук (№ 16.120.11.1233-МД).

Все авторы заявляют об отсутствии потенциальных и явных конфликтов (двойственности) интересов, связанных с публикацией данной статьи

**Участие авторов:** Берёзкина И.С. — сбор и обработка материалов, анализ полученных данных, написание текста; Саприна Т.В. — концепция и дизайн исследования, анализ полученных данных, написание и редактирование текста; Зима А.П. — концепция и дизайн исследования; Исаева А.В. — сбор и обработка материалов; Латыпова В.Н. — сбор информации; Мухамедов М.Р. — сбор информации; Базилевич Л.Р. — сбор информации; Попов О.С. — сбор информации; Касоян К.Т. — анализ полученных данных; Брынова О.В. — анализ полученных данных; Бразовская Н.Г. — статистическая обработка данных.

## Список литературы

1. Состояние онкологической помощи населению России в 2014 году. / Под ред. Каприна А.Д., Старинского В.В., Петровой Г.В. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена; 2015. [Kaprin

AD, Starinskiy VV, Petrova GV, editors. Sostoyanie onkologicheskoy pomoshchi naseleniyu Rossii v 2014 godu. Moscow; 2015. (In Russ).]

2. Bartolazzi A, Orlandi F, Saggiorato E, et al. Galectin-3-expression analysis in the surgical selection of follicular thyroid nodules within determinate fine-needle aspiration cytology: a prospective multicentre study. *Lancet Oncol.* 2008;9(6):508-510. doi: 10.1016/S1470-2045(08)70132-3.
3. Knauf JA, Fagin JA. Role of MAPK pathway oncoproteins in thyroid cancer pathogenesis and as drug targets. *Current Opinion in Cell Biology.* 2009;21(2):296-303. doi: 10.1016/j.cceb.2009.01.013.
4. Kopczyńska E, Junik R, Tyrakowski T. BRAF gene mutation in thyroid cancer. *Pol Merkur Lekarski.* 2006;20(116):210-213. doi: 10.1677/erc.1.0978.
5. Sethi K, Sarkar S, Das S, et al. Biomarkers for the diagnosis of thyroid cancer. *J Experimental Therapeutics and Oncology.* 2010; 8(4):341-352.
6. Raggio E, Camandona M, Solerio D, et al. The diagnostic accuracy of the immunocytochemical markers in the pre-operative evaluation of follicular thyroid lesions. *J Endocrinol Invest.* 2010;33(6):378-381. doi: 10.3275/6444.
7. Martins L, Matsuo SE, Ebina KN, et al. Galectin3 messenger ribonucleic acid and protein are expressed in benign thyroid tumors. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(10):4806-4810.
8. Патент РФ на изобретение № 2546011/ 10.04.2015. Бюл. № 10. Олиферова О.С., Кналян С.В., Трынов Н.Н., и др. Способ диагностики высокодифференцированного рака щитовидной железы. [Patent RUS №2546011/ 10.04.2015. Byul. №10. Olinerova OS, Knaljan SV, Trynov NN. A method for diagnosing highly differentiated thyroid cancer. (In Russ).]
9. Коган Е.А., Петунина Н.А., Чернышова Т.В., Лукьянченко Д.В. Определение экспрессии галектина-3 в ткани фолликулярных опухолей щитовидной железы // *Клиническая и экспериментальная тиреоидология.* — 2011. — Т. 7. — №1. — С. 45–49. [Kogan EA, Petunina NA, Chernyshova TV, Lukyanchenko DV. Determination of galectin-3 expression in the tissue of follicular thyroid tumors. *Clinical and experimental thyroidology.* 2011;7(1): 45-49. (In Russ).] doi: 10.14341/ket20117145-49.
10. Chui MH, Cassol CA, Asa SL, Mete O. Follicular epithelial dysplasia of the thyroid: morphological and immunohistochemical characterization of a putative preneoplastic lesion to papillary thyroid carcinoma in chronic lymphocytic thyroiditis. *Virchows Arch.* 2013;462(5):557-563. doi: 10.1007/s00428-013-1397-1.
11. Das DK, Khanna CM, Tripathi RP, et al. Solitary nodular goiter. Review of cytomorphologic features in 441 cases. *Acta Cytol.* 1999;43(4):563-572.
12. Choudhury M, Singh S, Agarwal S. Diagnostic utility of Ki67 and p53 immunostaining on solitary thyroid nodule — a cytohistological and radionuclide scintigraphic study. *Indian J Pathol Microbiol.* 2011;54(3):472-475. doi: 10.4103/0377-4929.85077.
13. Dinets A, Hulchiy M, Sofiadis A, et al. Clinical, genetic, and immunohistochemical characterization of 70 Ukrainian adult cases with post-Chernobyl papillary thyroid carcinoma. *Eur J Endocrinol.* 2012;166(6):1049-1060. doi: 10.1530/EJE-12-0144.
14. Pujani M, Arora B, Pujani M, et al. Role of Ki-67 as a proliferative marker in lesions of thyroid. *Indian J Cancer.* 2010;47(3):304-307. doi: 10.4103/0019-509X.

15. Бондаренко О.О., Шпонька И.С., Гриценко П.А. Использование онкомаркеров в морфологической диагностике эпителиальных опухолей щитовидной железы. // *Морфология*. — 2010. — Т. 3. — №2 — С. 12–16. [Bondarenko OO, Shponka IS, Gricenko PA. Using of oncomarkers in morphological diagnostics of epithelial tumors of thyroid gland. *Morfologija*. 2010;3(2):12-16. (In Russ).]
16. Aiad HA, Bashandy MA, Abdou AG, Zahran AA. Significance of AgNORs and ki-67 proliferative markers in differential diagnosis of thyroid lesions. *Pathol Oncol Res*. 2013;19(2):167-175. doi: 10.1007/s12253-012-9565-1.
17. Свиридова Т.Е., Коган Е.А., Пальцев М.А., Середин В.П. Гистологические и молекулярно-генетические маркеры злокачественности в различных вариантах папиллярного рака щитовидной железы. *Архив патологии*. — 2002. — Т. 6. — С. 19–23. [Sviridova TE, Kogan EA, Palcev MA, Seredin VP. The histological and molecular genetic markers of malignancy in various variants of papillary thyroid cancer. *Arhiv patologii*. 2002;6:19-23. (In Russ).]
18. Пальцев М.А., Коган Е.А., Тунцова О.И. Иммуногистохимия биомолекулярных маркеров раннего рака щитовидной железы. *Архив патологии*. — 1997. — Т. 6. — С. 18–23. [Palcev MA, Kogan EA, Tuncova OI. Immunohistochemistry biomolecular markers of early thyroid cancer. *Arhiv patologii*. 1997;6:18-23. (In Russ).]
19. Цыган В.Н., Казаков С.П., Заботина Т.Н., Кушлинский Н.Е. Маркеры апоптоза и пролиферации у больных с онкологическими и аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы. // *Вестник Российской военно-медицинской академии*. — 2010. — Т. 32. — №4 — С. 197–204. [Cygan VN, Kazakov SP, Zabolina TN, Kushlinskij NE. Proliferation and apoptosis markers in patients with cancer and autoimmune thyroid diseases. *Vestnik Rossijskoj voenno-meditsinskoj akademii*. 2010; 32(4):197-204. (In Russ).]
20. Song Q, Wang D, Lou Y, et al. Diagnostic significance of CK19, TG, Ki67 and galectin-3 expression for papillary thyroid carcinoma in the northeastern region of China. *Diagn Pathol*. 2011;126(6). doi: 10.1186/1746-1596-6-126.
21. Боташева В.С., Калоева А.А., Эркенова Л.Д. Оценка пролиферативной активности тиреоцитов при узловом зобе. *Фундаментальные исследования*. — 2015. — №1 — С. 699–703. [Botasheva VS, Kaloeva AA, Jerkenova LD. Rating of proliferative of thyrocytes in nodular goiter. *Fundamentalnye issledovaniya*. 2015;1:699-703. (In Russ).]
22. Szebeni A, Mehrotra B, Baumann A, et al. Nucleolar protein B23 stimulates nuclear import of the HIV-1 Rev protein and NLS-conjugated albumin. *Biochemistry*. 1997;36(13):3941-3949.
23. Pianta A, Puppini C, Passon N, et al. Nucleophosmin delocalization in thyroid tumour cells. *Endocr Pathol*. 2011;22(1):18-23. doi: 10.1007/s12022-011-9147-x.
24. Бельцевич Д.Г., Ванушко В.Э., Мельниченко Г.А., и др. ПРОЕКТ: Клинические рекомендации Российской ассоциации эндокринологов по диагностике и лечению узлового зоба (новая редакция 2015 года). *Эндокринная хирургия*. — 2015. — №1 — С. 15–21. [Bel'cevic DG, Vanushko VJ, Melnichenko GA, et al. DRAFT: Russian Association of Endocrinologists Clinic Guidelines for Thyroid Nodules Diagnostic and Treatment. *Endocrine Surgery*. 2015;1:15-21. (In Russ).] doi: 10.14341/serg2015115-21.
25. Саприна Т.В., Прохоренко Т.С., Резцова В.М., и др. Особенности продукции и рецепции цитокинов Th1/Th2 профиля при болезни Грейвса. *Клиническая и экспериментальная тиреоидология*. — 2012. — Т. 8. — №2 — С. 43–49. [Saprina TV, Prohorenko TS, Rezcova VM, et al. Th1/Th2 cytokine production and reception features in Graves' disease. *Clinical and Experimental Thyroidology*. 2012;8(2):43-49. (In Russ).] doi:10.14341/ket20128243-49.
26. Волченко Н.Н., Славнова Е.Н., Тугулукова А.А. Жидкостная цитология в онкологии. *Онкология*. — 2013. — Т.1. — №5 — С. 26–31. [Volchenko NN, Slavnova EN, Tugulukova AA. Liquid-based cytology in oncology. *Onkologija*. 2013;1(5):26-31. (In Russ).]
27. Брынова О.В., Касоян К.Т., Шабалова И.П. и др. Метод жидкостной цитологии в диагностике заболеваний щитовидной железы. // *Клиническая лабораторная диагностика*. — 2016. — Т. 61. — № 4. — С. 225–228. [Brynova O.V., Kasoyan K.T., Shabalova I.P., et al. The technique of fluid cytology in diagnostic of thyroid diseases. // *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2016;61(4):225-228. (In Russ).] doi:10.18821/0869-2084-2016-61-4-225-228.]

**Березкина Ирина Сергеевна** — аспирант кафедры эндокринологии и диабетологии ГБОУ ВПО СибГМУ, г. Томск. **Саприна Татьяна Владимировна** — д.м.н., профессор кафедры эндокринологии и диабетологии ГБОУ ВПО СибГМУ, г. Томск. **Зима Анастасия Павловна** — д.м.н., профессор кафедры молекулярной медицины и клинической лабораторной диагностики ГБОУ ВПО СибГМУ, г. Томск. **Исаева Анна Владимировна** — аспирант кафедры патологической физиологии ГБОУ ВПО СибГМУ, г. Томск. **Латыпова Венера Насхатовна** — к.м.н., доцент кафедры эндокринологии и диабетологии ГБОУ ВПО СибГМУ, г. Томск. **Мухамедов Марат Рафкатович** — д.м.н., ведущий научный сотрудник, заведующий отделением опухолей головы и шеи НИИ онкологии СО РАМН, профессор кафедры оториноларингологии ГБОУ ВПО СибГМУ, г. Томск. **Базилевич Леонид Романович** — к.м.н., хирург отделения общей хирургии ОГАУЗ ТОКБ, г. Томск. **Попов Олег Сергеевич** — д.м.н., профессор кафедры общей хирургии СибГМУ, г. Томск. **Касоян Карина Тимуровна** — к.м.н., доцент кафедры клинической лабораторной диагностики Российской медицинской академии последиplomного образования, г. Москва. **Брынова Ольга Васильевна** — врач клинической лабораторной диагностики, Государственное автономное учреждение здравоохранения города Москвы “Московская городская онкологическая больница № 62 Департамента здравоохранения города Москвы”, г. Москва. **Бразовская Наталья Георгиевна** — к.м.н., доцент кафедры медицинской и биологической кибернетики ГБОУ ВПО СибГМУ, г. Томск.

Для корреспонденции: Березкина Ирина Сергеевна — berezkina.is@mail.ru