

На правах рукописи

КИМ ЕКАТЕРИНА ИГОРЕВНА

**ПРЕДИКТОРЫ АГРЕССИВНОГО ТЕЧЕНИЯ ОПУХОЛЕЙ
ОКОЛОЩИТОВИДНЫХ ЖЕЛЕЗ**

3.1.19. Эндокринология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2024

Работа выполнена в Государственном научном центре Российской Федерации Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Мокрышева Наталья Георгиевна

доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН

Официальные оппоненты:

Бирюкова Елена Валерьевна

доктор медицинских наук, профессор; Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации; профессор кафедры эндокринологии и диабетологии

Данилова Наталья Владимировна

доктор медицинских наук, доцент; Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Медицинский научно-образовательный институт, факультет фундаментальной медицины; доцент кафедры физиологии и патологии

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «__» _____ 2024 года в ____ часов на заседании диссертационного совета 21.1.045.01 в ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России по адресу: 117292, г. Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России – www.endocrincentr.ru

Автореферат разослан «__» _____ 2024 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор медицинских наук

Мазурина Наталия Валентиновна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Первичный гиперпаратиреоз (ПГПТ) – третье по распространенности эндокринное заболевание, связанное с автономной гиперпродукцией паратгормона (ПТГ) одной или несколькими измененными околощитовидными железами (ОЩЖ). ПГПТ в 80–85% случаев обусловлен солитарной аденомой ОЩЖ, в 10–15% – гиперплазией или множественными аденомами, в 1–5% – карциномой.

Частота атипических опухолей (АО) до сих пор точно неизвестна, согласно данным литературы, они становятся причиной ПГПТ в 0,5–4,4% случаев. Дифференциальная диагностика опухолей ОЩЖ имеет важное значение в определении дальнейшей тактики ведения и прогноза. Схожие морфологические характеристики АО и карциномы ОЩЖ, не всегда очевидные признаки инвазивного роста, затрудняют дифференциальную диагностику между данными типами опухолей, даже среди опытных специалистов.

Рак ОЩЖ – редкое злокачественное новообразование эндокринной системы, характеризуется тяжелым течением вследствие развития жизнеугрожающей гиперкальциемии. В настоящее время не существует единых подходов послеоперационной стратификации рисков данной когорты пациентов и отсутствуют эффективные методы системного лечения диссеминированной формы.

Эффективность цитотоксической химио- и лучевой терапии при лечении рака ОЩЖ, за исключением единичных случаев низкая, а протоколы лечения не разработаны. Определение неблагоприятных прогностических факторов течения заболеваний поможет решить вопрос рациональности расширенного объема первичного оперативного вмешательства и целесообразности применения адъювантных методов лечения.

В последнее время большое внимание уделяется роли иммуноокружения в распространении опухолей различных локализаций не только с точки зрения прогноза, но и оценки терапевтического потенциала блокаторов контрольных точек иммунного ответа. В литературе опубликованы единичные работы по изучению иммуноокружения карцином ОЩЖ. Впервые в отечественной практике будут оценены клеточный состав иммунного инфильтрата и экспрессия лиганда программируемой смерти 1 (PD-L1) в ткани опухоли, проанализировано их влияние на прогноз и течение заболевания, что позволит прогнозировать исходы.

Цель исследования

Поиск предикторов агрессивного течения образований околощитовидных желез со злокачественным потенциалом на основании анализа клинико-anamnestических и генетических данных, морфологических и иммуногистохимических (ИГХ) характеристик опухоли.

Задачи исследования

1. Определить частоту и основание для пересмотра диагноза атипической опухоли в рак околощитовидной железы по результатам иммуногистохимического анализа.

2. Провести анализ клинических, генетических особенностей первичного гиперпаратиреоза, гистологических характеристик опухоли у пациентов с верифицированным диагнозом рака околощитовидных желез.

3. Определить клинические, генетические и гистологические факторы, ассоциированные с рецидивом рака околощитовидных желез.

4. Выявить иммуногистохимические предикторы рецидива рака околощитовидных желез на основании клеточного состава иммуноокружения опухоли.

Научная новизна

Впервые в Российской Федерации оценена роль ИГХ исследования в дифференциальной диагностике атипических опухолей и карцином ОЩЖ. Впервые проанализирован широкий спектр показателей и определены факторы, ассоциированные с развитием рецидива у пациентов с карциномой ОЩЖ. Впервые в Российской Федерации исследована взаимосвязь клеточного состава иммунного окружения и агрессивного течения рака ОЩЖ.

Теоретическая и практическая значимость

На основании результатов исследования определена частота и основание для пересмотра диагноза атипической опухоли в карциному околощитовидной железы после ИГХ анализа, обозначен спектр необходимых маркеров, а также выявлены клинические признаки, ИГХ характеристики опухоли, ассоциированные с агрессивным течением рака ОЩЖ. Полученные результаты позволяют выделить группу пациентов с повышенным риском рецидива рака ОЩЖ, и как следствие, выбрать оптимальную тактику ведения и наблюдения.

Личное участие автора в получении научных результатов

Автором выполнен анализ состояния научной проблемы на основании литературных мировых и отечественных данных. Личный вклад автора заключается в разработке цели, задач, дизайна и методологии исследования. Автор лично проводил набор участников в исследование, сбор анамнеза, осуществлял осмотр и клиничко-лабораторное обследование, а также консультировал пациентов по результатам динамического наблюдения.

Автор лично выполнил весь экспериментальный фрагмент работы, непосредственно проводил ИГХ исследование послеоперационного материала. Автором выполнены создание базы данных, статистическая обработка и интерпретация полученных результатов, сформулированы основные положения, выводы и практические рекомендации, написан основной текст рукописи, подготовлены научные публикации по теме диссертационной работы.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Дополнение морфологического исследования иммуногистохимическим при атипических опухолях околощитовидных желез позволяет пересмотреть диагноз в рак в 18,5% случаев, преимущественно за счет выявления сосудистой инвазии.

2. Герминальная мутация в гене CDC73 выявляется у 12% пациентов с раком околощитовидных желез, а потеря ядерной экспрессии парафибромина в ткани опухоли – у 33%. Рецидив заболевания возникает в 24% случаев. 5- и 10-летняя безрецидивная выживаемость при карциноме околощитовидных желез составляет 64% и 43% соответственно.

3. Факторами, влияющими на безрецидивную выживаемость пациентов с раком околощитовидных желез, являются высокий уровень дооперационного общего кальция, стадия pTNM, соотношение CD163+/CD68+ в паренхиме и в строме опухоли.

Апробация результатов работы

Официальная апробация диссертационной работы состоялась 16 июля 2024 года (протокол № 8) на расширенной межкафедральной научной конференции ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (далее ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России).

Материалы работы представлены на отечественных и международных конгрессах: онлайн-конференция по минеральному обмену и патологии околощитовидных желез «ЭндоКальций 20222 (г. Москва, Россия, 2022 г.); 25th European Congress of Endocrinology (г. Стамбул, Турция, 2023 г.); 26th European Congress of Endocrinology (г. Стокгольм, Швеция, 2024 г.); V (XXX) Национальный конгресс эндокринологов «Инновационные технологии в эндокринологии» (г. Москва, 2024 г.).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 7 печатных работ, в том числе 3 в рецензируемых научных изданиях, включенных в перечень изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 133 страницах, состоит из введения, обзора литературы, глав с описанием материалов и методов, результатов собственных исследований, обсуждения результатов и заключения, выводов и практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, приложения.

Библиография включает 269 источников литературы (12 отечественных и 257 зарубежных). Диссертация иллюстрирована 20 таблицами и 35 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено на базе ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (директор – член-корреспондент РАН Н.Г. Мокрышева). Набор пациентов производился в отделении патологии ОЩЖ и нарушений минерального обмена (зав. отделением – к. м. н. А. К. Еремкина) отдела терапевтической эндокринологии Института клинической эндокринологии, оперативное лечение в отделе хирургии (зав. отделом – д. м. н. Н. С. Кузнецов). Источники случаев – электронные истории болезни базы ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России и бумажные версии с 2004–2024 гг.

В соответствии с поставленной целью и задачами научная работа была разделена на 2 этапа. Дизайн исследования представлен на Рисунке 1.

Этап 1 - одномоментное сравнительное исследование

Определение роли ИГХ анализа в дифференциальной диагностике АО и карцином ОЩЖ

- Изучаемая популяция – пациенты с исходным морфологическим диагнозом АО ОЩЖ (n=65)
- По результатам ИГХ исследования сформированы 2 группы: АО (n=53) и карциномы ОЩЖ (n=12) с последующим сравнительным анализом клинических, лабораторно-инструментальных, морфологических и ИГХ характеристик

Этап 2- ретроспективное сравнительное исследование

- Изучаемая популяция - пациенты с верифицированным диагнозом карциномы ОЩЖ (n=85)

Часть 1. Ассоциации клинических, лабораторно-инструментальных, генетических, морфологических и ИГХ характеристик с рецидивом рака ОЩЖ

- Сравнительная характеристика пациентов в ремиссии (n=61) и с рецидивом (n=19) рака ОЩЖ

Часть 2. Оценка прогностического потенциала иммуноокружения опухоли ОЩЖ

- Сравнительная характеристика пациентов с агрессивным (n=13) и неагрессивным течением (n=13)

Рисунок 1 – Дизайн исследования

Таблица 1 – Критерии соответствия

1-й этап	2-й этап	
	Часть 1	Часть 2
<i>Критерии включения</i>		
<ul style="list-style-type: none"> • Пол: мужчины и женщины. • Возраст: 18 лет и старше. • Гистологический диагноз «АО ОЩЖ» согласно критериям, ВОЗ эндокринных опухолей 2017 г./2022 г. по данным морфологического исследования. • Доступность гистологического материала удовлетворительного качества для последующего ИГХ-исследования 	<ul style="list-style-type: none"> • Пол: мужчины и женщины. • Возраст: 18 лет и старше. • Гистологический диагноз «карцинома ОЩЖ» согласно критериям, ВОЗ эндокринных опухолей 2017 г./2022 г. по данным морфологического исследования. • Доступность гистологического материала для пересмотра патоморфологом 	<p>А. Агрессивное течение рака ОЩЖ (группа 1):</p> <ul style="list-style-type: none"> • Пол: мужчины и женщины. • Возраст: 18 лет и старше. • Рецидив или персистенция ПГПТ после первичного хирургического лечения (по причине инвазивного роста опухоли в прилежащие органы или наличия метастазов). • Доступность гистологического материала после первичной операции по поводу карциномы ОЩЖ удовлетворительного качества для последующего ИГХ-исследования <p>Б. Неагрессивное течение рака ОЩЖ (группа 2):</p> <ul style="list-style-type: none"> • Пол: мужчины и женщины. • Возраст: 18 лет и старше. • Ремиссия ПГПТ после первичного хирургического лечения не менее 2 лет. • Доступность гистологического материала после первичной операции по поводу карциномы ОЩЖ удовлетворительного качества для последующего ИГХ-исследования

Продолжение таблицы 1

1-й этап	2-й этап	
	Часть 1	Часть 2
<i>Способ формирования выборки</i>		
Сплошной	Ручной подбор пар к наблюдениям группы 1 по следующим критериям: пол (однозначное соответствие), возраст (максимальное различие для м – 20 лет, ж – 8 лет), объем хирургического вмешательства (однозначное соответствие)	
<i>Критерии исключения не применялись</i>		

Клиническое обследование пациентов

У всех пациентов с карциномами и АО ОЦЖ оценивались варианты и возраст манифестации заболевания, длительность наблюдения, осложнения, статус в послеоперационном периоде, время до развития рецидива ПГПТ (при наличии), а также проводилась оценка данных лабораторно-инструментального, морфологического и ИГХ, генетического исследований, сопоставление результатов с клиническими данными.

Диагноз персистенция заболевания, так же, как и рецидив ПГПТ, устанавливались в соответствии с действующими клиническими рекомендациями при сочетании гиперкальциемии, повышенного уровня иПТГ, а также при сочетании нормокальциемии и повышенного иПТГ в случае исключения вторичного гиперпаратиреоза. Метастазы рака ОЦЖ верифицировались морфологически, по результатам смыва ПТГ с пункционной иглы или при визуализации очагов с помощью лучевых методов диагностики в случае отсутствия возможности проведения биопсии.

Лабораторные методы исследования

Забор крови проводился из кубитальной вены натошак. Анализируемые лабораторные показатели включали кальций общий (Са общ.), кальций ионизированный (Са ион.), кальций, скорректированный по альбумину (Са скорр.), фосфор (Р), щелочную фосфатазу (ЩФ), креатинин, скорость клубочковой фильтрации по формуле СКД-ЕРІ (рСКФ по СКД-ЕРІ); паратгормон (иПТГ), остеокальцин и С-концевой телопептид коллагена I типа (СТХ) сыворотки крови; кальций в суточной моче. Определение Са общ., Р, ЩФ сыворотки крови, суточной кальциурии проводилось на биохимическом анализаторе ARCHITECT c8000 (Abbott, США); иПТГ, остеокальцина и СТХ на электрохемилюминесцентном анализаторе Cobas 6000 (Roche, Германия). Уровень Са скорр. рассчитывали по следующей формуле: общий кальций сыворотки (мг/дл) – 0,8 × (сывороточный альбумин (г/дл) – 4,0).

Инструментальные исследования

Диагноз остеопороза был установлен при наличии низкоэнергетических переломов, по результатам рентгенографии (Axiom R200, Siemens) и двойной рентгеновской абсорбциометрии (Lunar iDXA, GE Health), минеральная плотность костной ткани (МПК) измерялась в поясничном отделе позвоночника (L1-L4), шейке бедра (neck), и radius 33% (R33%). Наличие нефрокальциноза/нефролитиаза подтверждалось результатами ультразвукового (УЗ) или компьютерно-томографического (КТ) исследования почек; эрозивно-язвенного поражения верхних отделов ЖКТ данными эзофагогастродуоденоскопии (ЭГДС); фиброзно-кистозного остеита при наличии признаков «бурых опухолей» по данным лучевых методов диагностики (КТ, рентгенография). УЗИ почек и околощитовидных желез проводились на аппаратах Voluson E8 датчиками RAB 6-D, C1-5 (GE Healthcare, США) или Aplio 500 датчиком 6C1 (Toshiba, Япония). Объем ОЩЖ рассчитывался по формуле эллипса: $V \text{ (см}^3\text{)} = (A \times B \times C) \times 0,49$.

Генетические исследования

Проводилось в лаборатории общей, молекулярной и популяционной генетики (зав. лабораторией – к. б. н. С. В. Попов) НИИ персонализированной медицины ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России.

Всего результаты генетического исследования были доступны у 49/85 (56%) пациентов с карциномой ОЩЖ. На момент начала исследования результаты генетического исследования были известны у 35 взрослых пациентов с раком ОЩЖ: ранее, секвенирование панели «Гиперпаратиреоз 11 генов» было проведено 32 пациентам в рамках исследования Крупиновой Ю. А., у 3 пациентов мутации в гене *CDC73* были выявлены в работе Мамедовой Е. О. (исследовалась панель «Гиперпаратиреоз 9 генов»). Выравнивание прочтений проводилось на референсную последовательность генома человека GRCh37/hg19. 11 пациентам также выполнено секвенирование расширенной панели «Гиперпаратиреоз 27 генов», 1 пациентке панели «Аденомы гипофиза», еще одной – панели «Эндом» (более 200 генов, ассоциированных с наследственными заболеваниями). Выравнивание прочтений проводилось на референсную последовательность генома человека HG38. В одном случае были предоставлены результаты анализа гена *CDC73* с наличием патогенной мутации, однако исследование выполнялось в стороннем учреждении и подробные характеристики выявленной мутации указаны не были.

Генетическое исследование в лаборатории общей, молекулярной и популяционной генетики проводилось методом массового параллельного секвенирования (МПС, NGS) на платформе Illumina методом парно-концевого чтения. Обогащенные библиотеки секвенировались на секвенаторе MiSeq (Illumina, США) с использованием MiSeq Reagent kit v.2 (Illumina, США). Для оценки клинической релевантности выявленных вариантов использованы база данных OMIM, HGMD, специализированные базы данных по отдельным заболеваниям (при наличии) и литературные данные. Заключение о клинической значимости найденных вариантов дано с учетом рекомендаций American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) и российского руководства по

интерпретации данных NGS. Нами были включены только варианты, имеющие возможное отношение к клиническим проявлениям у пациента.

Морфологическое и иммуногистохимическое исследование

Патоморфологическое и ИГХ-исследования опухолей ОЩЖ проводились в отделе фундаментальной патоморфологии (руководитель отдела – к. м. н. Л. С. Урусова) НИИ персонализированной медицины ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России.

Гистологический материал опухолей ОЩЖ фиксировали в 10%-м буферном формалине, обрабатывали в аппарате гистологической проводки фирмы Leica ASP6025 и заливали в парафин. Далее серийные срезы готовились толщиной 3–4 мкм (не менее 10 срезов), помещенные помещением на полилизиновые стекла (Leica, Германия) окрашивали на аппарате «Leica ST5010 AXL» («Leica Biosystems», Германия) гематоксилином и эозином по стандартной методике.

Диагноз карциномы и АО ОЩЖ верифицировали в соответствии с классификацией опухолей эндокринных органов Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) 2017/2022 гг. Во всех случаях диагноз карциномы ОЩЖ был подтвержден на основании пересмотра препаратов опытным патоморфологом, специализирующимся на патологии эндокринных органов. Оценивался послеоперационный гистологический материал после первичного хирургического вмешательства по поводу ППП.

ИГХ исследование проводилось на полностью автоматизированном иммуногистостейнере (Leica Bond III, Германия) с использованием безбиотиновой полимерной системы Bond Polymer Refine Detection System по стандартным протоколам, рекомендованным фирмой-производителем. Панель исследуемых антител включала: ПТГ (клон MRQ-31 в разведении 1:1000, Cell Marque, США), Ki-67 (MIB-1, 1:100, ДАКО, Дания), парафибромин (2H1, 1:50, Santa Cruz Biotechnology, inc, США), CD31 (JC70A, Leica Biosystems, Германия), CD34 (QBEnd/10, Leica Biosystems, Германия), CD3+ (мышинные LN10, Leica Biosystems, Германия), CD4+ (мышинные 4B12, Leica Biosystems, Германия), CD8+ (мышинные 4B11, Leica Biosystems, Германия), CD45+ (мышинные X16/99, Leica Biosystems, Германия), CD68+ (мышинные, 514H12, Leica Biosystems, Германия), CD163+ (мышинные MRQ-26, 1:100, Cell Marque, США), Anti-PD-L1 (кроличьи SP142, 1:100, Abcam, inc, Великобритания), FOXP3 (кроличьи EP340 1:200, Cell Marque, США), PNH3 (кроличьи H3-S10, 1:2000, Abclonal, Китай). При постановке ИГХ реакций проводился положительный контроль, который выбирался в соответствии со спецификациями от фирмы производителя.

Гистологические и ИГХ препараты отсканированы с помощью системы Aperio производства Leica Biosystems с целью создания электронного архива препаратов, а также для лучшего анализа данных и их сопоставления. Полученные оцифрованные препараты анализировались с помощью программы «QuPath» v0.4.3 (University of Edinburgh, Великобритания). Подсчет иммунных клеток выполнялся в пяти полях зрения общим размером 0,25 мм² отдельно для стромы и паренхимы в репрезентативных полях зрения, проводился

автоматический подсчет числа позитивных клеток с последующей проверкой результата «ручным» способом.

Статистический анализ

Статистический анализ проводился в программном пакете Statistica 13 (TIBCO Software Inc., США, 2017), а также с помощью языка программирования Python 3.11 (Python Software Foundation). Статистический анализ выполнен совместно с главным аналитиком, врачом-статистиком отдела цифровой трансформации Елфимовой А. Р.

Размер выборки предварительно не рассчитывался. Описательная статистика количественных показателей представлена медианами, первым и третьим квартилями в виде $Me [Q1; Q3]$. Описательная статистика качественных показателей представлена в виде абсолютных и относительных частот в виде n (%). Доверительные интервалы (ДИ) для относительных частот определялись методом Клоппера – Пирсона. Так как данные были неполными, для каждого показателя представлено количество доступных наблюдений (N).

Различия между двумя независимыми группами по количественным признакам оценивали с использованием критерия Манна – Уитни (U-тест), по качественным признакам – точного двустороннего критерия Фишера (ТКФ2). Сравнение трех независимых групп для количественных данных выполнялось с помощью критерия Краскела – Уоллиса ANOVA с дальнейшим post-hoc анализом.

Для выявления статистически значимых независимых переменных для прогнозирования рецидива рака ОЩЖ использовали лог-ранг тест, расчет проводился для групп с числом значений не менее 3. Количественные данные были представлены в виде бинарных переменных путем деления их по медиане или по литературным данным. С целью анализа безрецидивной выживаемости (БРВ) использовали метод Каплана – Майера.

Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05. Для множественных сравнений применялась поправка Бонферрони (P_0) путем коррекции критического уровня значимости на определенное количество гипотез. Рассчитанные уровни значимости приведены в комментариях к таблицам с результатами.

Этическая экспертиза. Исследование проводилось в соответствии с Хельсинкской декларацией и утвержденным протоколом на заседании локального этического комитета ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России от 22.12.2021 (протокол № 26). Все пациенты ознакомились с информацией и подписали информированное согласие на участие в процедурах, использование их биологического материала, обработку персональных данных до того, как они приняли участие в исследовании.

Источник финансирования. Исследование проведено в рамках Государственного задания «Оптимизация Российского электронного реестра пациентов с первичным гиперпаратиреозом» № 121030100032-7 и гранта НЦМУ (соглашение № 075-15-2022-310).

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Оценка роли ИГХ анализа в дифференциальной диагностике АО и карцином ОЩЖ

В данный этап исследования было включено 65 пациентов с исходным морфологическим диагнозом АО ОЩЖ. Медиана возраста на момент постановки диагноза в общей группе составила 56 лет [47; 65], соотношение мужчин: женщин – 1:4.

По результатам ИГХ исследования у 12/65 пациентов (18,5%; 95%-й ДИ 10–30%) диагноз был пересмотрен в сторону карциномы ОЩЖ: у 11 из них (91,7%; 95%-й ДИ 62–100%) выявлена сосудистая инвазия с помощью эндотелиальных маркеров CD 34/CD 31, у 1 (8,3%; 95%-й ДИ 0–38%) при проведении дополнительной серии срезов в окружающей жировой клетчатке за пределами капсулы опухоли выявлены очаги опухолевого роста с участком прорастания опухоли капсулы с использованием антител к ПТГ.

По результатам сравнительного анализа в группах АО и карцином ОЩЖ статистически значимых различий по клинико-лабораторным и инструментальным характеристикам ППТ выявлено не было (Таблица 2).

Таблица 2 – Сравнительная характеристика клинических, лабораторно-инструментальных признаков на дооперационном этапе, интраоперационные характеристики в группах АО и карцином ОЩЖ

Признак		Атипичическая опухоль		Карцинома		P
		N	Me [Q ₁ ; Q ₃] / n (%)	N	Me [Q ₁ ; Q ₃] / n (%)	
Пол	Мужской	53	9 (17%)	12	4 (33%)	0,237 ²
	Женский		44 (83%)		8 (67%)	
Возраст на момент постановки диагноза, лет		53	56 [49; 66]	12	56 [44; 62]	0,236 ¹
Показатели минерального обмена						
ПТГ, пг/мл (15–65)		53	240,5 [150,9; 765,9]	12	448,7 [209,6; 1207,0]	0,442 ¹
Са общ., ммоль/л (2,15–2,55)		50	2,98 [2,79; 3,31]	11	3,06 [2,88; 3,50]	0,499 ¹
Са скорр., ммоль/л (2,15–2,55)		34	2,88 [2,67; 3,26]	6	2,93 [2,67; 3,02]	0,835 ¹
Са ион, ммоль/л (1,03–1,29)		29	1,42 [1,30; 1,57]	3	1,92; 1,68; 1,32;	0,232 ¹
P, ммоль/л (0,74–1,5)		42	0,80 [0,71; 0,93]	7	0,68 [0,66; 0,77]	0,198 ¹
pСКФ по СКД-ЕРІ, мл/мин/1,73м ²		45	83 [58; 96]	8	84 [69; 102]	0,419 ¹
ЩФ, Ед/л (40–150)		35	125,0 [94,0; 178,5]	5	138; 70; 108; 249; 1199	0,526 ¹
Остеокальцин, нг/мл (11–43)		23	87,8 [50,5; 300,0]	4	60,53; 68,8; 300,0; 254,9	0,678 ¹
b-cross laps, нг/мл (0,3–0,57)		22	1,275 [0,777; 2,663]	4	1,56; 1,78; 4,19; 1,76	0,374 ¹
Са в суточной моче, ммоль/сут (2,5–8)		37	9,0 [5,5; 12,0]	6	8,9 [5,9; 10,2]	0,752 ¹

Продолжение таблицы 2

Признак		Атипичическая опухоль		Карцинома		P
		N	Me [Q ₁ ; Q ₃] / n (%)	N	Me [Q ₁ ; Q ₃] / n (%)	
Осложнения ППТ						
Снижение СКФ менее 90		46	27 (59%)	8	4 (50%)	0,711 ²
Снижение СКФ менее 60		45	12 (27%)	9	1 (11%)	0,428 ²
Нефролитиаз/нефрокальциноз		50	31 (62%)	11	6 (55%)	0,738 ²
Остеопороз на момент постановки диагноза (DEXA)		44	21 (48%)	10	4 (40%)	0,736 ²
Низкоэнергетические переломы		49	13 (27%)	10	2 (20%)	1,000 ²
Фиброзно-кистозный остеоит		47	7 (15%)	10	2 (20%)	0,650 ²
Язвенное поражение ЖКТ		50	10 (20%)	11	1 (9%)	0,670 ²
Данные топической диагностики по УЗИ						
Локализация опухоли	Правая верхняя	52	7 (13%)	12	3 (25%)	0,381 ²
	Правая нижняя	52	15 (29%)	12	2 (17%)	0,490 ²
	Левая верхняя	52	15 (29%)	12	1 (8%)	0,266 ²
	Левая нижняя	52	9 (17%)	12	4 (33%)	0,243 ²
	Интрапиреюидно	52	4 (8%)	12	1 (8%)	1,000 ²
	Атипично ³	52	3 (6%)	12	1 (8%)	0,574 ²
Наибольший диаметр образования ОЦЖ по УЗИ, мм		51	25 [18; 33]	12	30 [16; 35]	0,930 ¹
Объем образования ОЦЖ по УЗИ, см ³		51	2,4 [0,8; 6,5]	12	3,1 [1,4; 5,3]	0,618 ¹
Кальцинаты при УЗИ		51	1 (2%)	12	2 (17%)	0,090 ²
Интраоперационные характеристики						
Интраоперационные признаки инвазии в окружающие структуры		53	8 (15%)	12	2 (17%)	1,000 ²
Объем хирургического лечения	Селективная паратиреоидэктомия (ПТЭ)	53	46 (87%)	12	10 (83%)	0,213 ²
	<i>En-bloc</i>		7 (13%)		1 (8%)	
	Другое		0 (0%)		1 (8%)	
Примечание – ¹ – U-тест; ² – двусторонний точный критерий Фишера; ³ – атипичное расположение (средостение, параэзофагеально, паратрахеально и т.д.); пороговый уровень значимости с учетом поправки Бонферрони $P_0 = 0,05/40 = 0,001$						

Разницы по частоте морфологических признаков, характерных для АО в обеих группах отмечено не было. Тенденция к статистически значимым различиям выявлена только по наличию атипических митозов – выявлялись только у пациентов с карциномой (0% vs 17%, $p = 0,034$). Группы не различались по индексу клеточной пролиферации Ki-67, а также экспрессии парафибромина. Подробный сравнительный анализ представлен в Таблице 3.

Таблица 3 – Морфологические и ИГХ характеристики в группах АО и карцином ОЦЖ

Признак	Атипичическая опухоль		Карцинома		p
	N	Me [Q ₁ ; Q ₃] / n (%)	N	Me [Q ₁ ; Q ₃] / n (%)	
Морфологические признаки					
Узловой и/или солидный тип роста	48	38 (79%)	12	11 (92%)	0,435 ²
Подозрение на капсулярную инвазию	52	31 (60%)	12	10 (83%)	0,185 ²
Подозрение на сосудистую инвазию / протрузия сосудов	52	22 (42%)	12	5 (42%)	1,000 ²
Подозрение на инвазию в жировую клетчатку	53	4 (8%)	12	3 (25%)	0,111 ²
Широкие фиброзные тяжи	52	30 (58%)	12	8 (67%)	0,747 ²
Фокусы некроза	52	2 (4%)	12	1 (8%)	0,470 ²
Патологические митозы	50	0 (0%)	12	2 (17%)	0,034 ²
Ядерная атипия	52	8 (15%)	12	5 (42%)	0,056 ²
Оценка пролиферативной активности и экспрессии парафибромина					
Ki-67%	53	1,6 [1,0; 4,0]	12	2,0 [1,9; 4,7]	0,184 ¹
Парафибромин	Есть	18 (56%)	8	4 (50%)	0,808 ²
	Утрата	2 (6%)		0 (0%)	
	Очаговая	12 (38%)		4 (50%)	
<i>Примечание</i> – ¹ – U-тест; ² – ТКФ ₂ ; пороговый уровень значимости с учетом поправки Бонферрони $P_0 = 0,05/40 = 0,001$					

Данные динамического наблюдения имелись у 26/53 пациентов в группе АО, Me времени наблюдения составила 8,5 месяцев [6; 14,8], от 3 до 38 месяцев. Рецидив возник в 0% случаев, персистенция в 7,7% (2/26) случаев по причине множественного поражения ОЦЖ.

В группе карцином только по 5 пациентов имелись данные динамического наблюдения (4, 6, 12, 14, 33 месяцев после первичной операции), рецидивов не отмечено.

Общая характеристика группы карцином ОЦЖ

Во 2-й этап исследования вошло 85 пациентов с подтверждённой карциномой ОЦЖ. Медиана возраста на момент постановки диагноза составила 54 года [40; 62], соотношение по полу (мужчины: женщины) – 1:3 (25%:75%). Показатели минерального обмена на момент манифестации ПГПТ, частота осложнений в общей выборке пациентов представлены в Таблице 4.

Из общего расчета показателей минерального обмена ввиду значимого самостоятельного влияния почечно-заместительной терапии терминальной хронической почечной недостаточностью (ХПН) были исключены пациенты с хронической болезнью почек (ХБП) С5Д (n = 7).

Таблица 4 – Показатели минерального обмена, структура костных и висцеральных осложнений ПГПТ до первичного хирургического лечения в общей группе, группах мужчин и женщин

Параметр, единицы измерения, РИ	Общая выборка		Мужчины		Женщины		p
	N	Me [Q ₁ ; Q ₃] / n (%)	N	Me [Q ₁ ; Q ₃] / n (%)	N	Me [Q ₁ ; Q ₃] / n (%)	
Возраст на момент постановки диагноза, годы	85	54 [40; 62]	21	54 [45; 59]	64	51 [40; 63]	0,737 ¹
Показатели кальций-фосфорного обмена (исключены пациенты с ХБПС5Д)							
Са общ., ммоль/л (2,15–2,55)	67	3,32 [3,00; 3,75]	16	3,40 [2,89; 3,92]	51	3,31 [3,03; 3,74]	0,906 ¹
Са ион., ммоль/л (1,03–1,29)	49	1,58 [1,40; 1,77]	13	1,56 [1,40; 1,81]	36	1,58 [1,46; 1,76]	0,856 ¹
Са скорр. на альбумин, ммоль/л (2,15–2,55)	58	3,25 [2,97; 3,77]	13	3,12 [2,80; 3,96]	45	3,26 [3,00; 3,55]	0,723 ¹
ПТГ, пг/мл (15–65)	72	935,5 [478,6; 1644,2]	19	988,0 [372,0; 1387,0]	53	901,0 [490,0; 1695,0]	0,335 ¹
Фосфор, ммоль/л (0,74–1,52)	54	0,75 [0,66; 0,99]	11	0,71 [0,68; 0,96]	43	0,75 [0,63; 0,99]	0,974 ¹
pСКФ по СКД-ЕРІ, мл/мин/1,73м ²	62	66 [37; 88]	13	57 [42; 66]	49	72 [37; 89]	0,462 ¹
ЩФ, Ед/л (40–150)	43	229 [122; 540]	8	204 [118; 398]	35	234 [131; 540]	0,864 ¹
Остеокальцин, нг/мл (11–43)	14	300,0 [237,0; 300,0]	4	300,0; 671,5; 474,0; 300,0	10	280,5 [97,1; 300,0]	0,091 ¹
b-cross laps, нг/мл (0,3–0,57)	12	2,87 [1,95; 4,03]	2	4,12; 2,61	10	2,87 [1,57; 3,79]	0,758 ¹
Са в суточной моче, ммоль/сут (2,5–8)	21	9,90 [4,20; 13,00]	4	23,0; 1,5; 9,9; 13,2	17	9,42 [4,20; 12,63]	0,517 ¹
Осложнения ПГПТ							
Снижение СКФ менее 90	80	50 (63%)	19	12 (63%)	61	38 (62%).	1,000 ²
Снижение СКФ менее 60	80	36 (45%)	19	9 (47%)	61	27 (44%)	1,000 ²
Гиперкальциемический криз в анамнезе	82	6 (7%)	20	1 (5%)	62	5 (8%).	1,000 ²
МКБ/нефролитиаз/нефрокальциноз	81	49 (61%)	20	11 (55%)	61	38 (62%)	0,605 ²
Остеопороз на момент постановки диагноза (DEXA)	80	54 (68%)	19	11 (58%)	61	43 (71%)	0,401 ²
Наличие переломов	85	27 (32%)	21	7 (33%)	64	20 (31%)	1,000 ²
Количество переломов (при наличии)	23	3 [1; 4]	5	1; 1; 11; 1; 8	18	4 [1; 4]	0,700 ¹
Рентгенологические фиброзно-кистозного остеита	70	26 (37%)	17	6 (35%)	53	20 (38%)	1,000 ²
Язвенное поражение ЖКТ	65	9 (14%)	17	4 (24%)	48	5 (10%)	0,225 ²
Примечание – ¹ – U-тест; ² – ТКФ ₂ ; пороговый уровень значимости с учетом поправки Бонферрони P ₀ = 0,05/20 = 0,002							

Дополнительно нами были проанализированы показатели минерального обмена в зависимости от стадии ХБП: все пациенты были разделены на группы ХБПС5Д, ХБП С4-С5, ХБП С3а-С3б, $\text{pСКФ} \geq 60$ мл/мин/1,73м² (пороговый уровень значимости с учетом поправки Бонферрони составил $P_0 = 0,05/6 = 0,008$). Ион. кальций статистически значимо был выше у пациентов с ХБП С4-С5 по сравнению с $\text{pСКФ} \geq 60$ мл/мин/1,73м² ($p = 0,021$); уровень иПТГ статистически значимо ниже при $\text{pСКФ} \geq 60$ мл/мин/1,73м² по сравнению с больными с более низкой pСКФ ($p < 0,005$); уровень фосфора среди лиц с ХБПС5Д статистически значимо выше по сравнению с остальными ($p < 0,05$), у пациентов с ХБП С4-С5 уровень фосфора также выше, чем у больных с $\text{pСКФ} \geq 60$ мл/мин/1,73м² ($p < 0,05$).

По результатам анализа медицинской документации, у 81/85 (95,3%) пациентов имелись данные о визуализирующих методах исследований на предоперационном этапе, у 77/81 (95%; 95%-й ДИ 88–99%) пациентов выявлены объемные образования ОЩЖ. У 3/81 (3,7%) пациентов по данным УЗИ подозревался узловой зоб, у 1 пациента образование было расценено как опухоль мягких тканей шеи. Среди пациентов ($n = 77$), у которых визуализировались образования ОЩЖ, у 23/77 (30%; 95%-й ДИ 20–41%) в качестве метода топической диагностики проводилось только УЗИ, у 10 из них (43,5%) дополнялось тонкоигольной аспирационной биопсией (ТАБ) с цитологическим описанием, и только у 3/23 (13%) – смывом на ПТГ. Всего ТАБ образования проводилась 30/81 (37%; 95%-й ДИ 27–48%) пациентам, из них с цитологическим описанием у 28/30 (93%), смыв на ПТГ только у 12/30 (40%). В 11/28 случаев результаты цитологического исследования интерпретированы как Bethesda II, в 5/28 – подозрение на новообразование ОЩЖ (с учетом смыва на ПТГ), в 4/28 – Bethesda IV, в 4/28 – Bethesda V, в 2/28 – Bethesda VI, а также 2/28 – Bethesda I. Медиана наибольшего диаметра образования ОЩЖ по данным УЗИ ($n = 81$) составила 33 мм [25; 40], объема образования ОЩЖ – 6,7 см³ [3,6; 14,8], максимальный размер – 68 мм (конгломерат), минимальный – 12 мм.

Селективная ПТЭ выполнена у 39/84 (46%; 95%-й ДИ 35–58%) пациентов, резекция «en bloc» у 40/84 (48%; 95%-й ДИ 36–59%) и другой объем оперативного вмешательства (к примеру, ПТЭ с резекцией полюса ЩЖ) у 5/84 (6%). В 58/85 случаев (68%) хирургическое лечение проведено в ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, в 9 случаях – в других специализированных центрах (7/68 случаев – в ГБУЗ МО МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского, в 1/68 – в НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского, в 1/68 – в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России). Остальные пациенты были прооперированы по месту жительства.

В раннем послеоперационном периоде снижение уровня ПТГ более чем на 50% от исходного отмечалось у 78/85 (92%). Среди них у 24/58 (41,3%) пациентов развилась гипокальциемия: медиана концентрации Са общ. через сутки – 1,99 ммоль/л [1,81; 2,03], Са ион. – 0,99 ммоль/л [0,92; 1,03]. Персистенция заболевания отмечена у 5 пациентов (5,9%; 95%-й ДИ 1,9–13,2%).

Морфологические критерии, на основании которых был установлен диагноз карциномы ОЩЖ, а также ИГХ характеристика образований представлены в Таблице 5.

Таблица 5 – Морфологические критерии рака ОЦЖ и ИГХ характеристика образований

Характеристика		N	Me [Q ₁ ; Q ₃] / n (%; 95%-й ДИ)
Морфологические критерии			
Капсулярная инвазия		76	60 (79%, 68–87)
Сосудистая инвазия		82	64 (78%, 68–86)
Инвазия в окружающую жировую клетчатку		80	48 (60%, 48–71)
Инвазия в окружающие органы	Инвазия в щитовидную железу (Т2)	78	22 (28%, 19–40)
	Инвазия в окружающие органы и ткани (Т3)	80	8 (10%, 4–19)
	Инвазия в крупные кровеносные сосуды или позвоночник (Т4)	79	3 (4%, 1–11)
Положительный лимфатический статус		71	5 (7%, 2–19)
ИГХ характеристика			
Ki-67 (%)		68	5 [3; 10]
Экспрессия парафибромина	есть	46	27 (59%, 43–73)
	утрата		15 (33%, 20–48)
	очагово		4 (9%, 2–21)
Экспрессия ПТГ	слабая	65	4 (6%, 2–15)
	умеренная		24 (37%, 25–50)
	выраженная		37 (57%, 44–69)

У 14/85 (16,5%) пациентов диагноз был пересмотрен в сторону карциномы ОЦЖ по результатам ИГХ исследования/пересмотра гистологических препаратов после развития рецидива/выявления метастазов: в 7/14 случаев исходный морфологический диагноз – аденома ОЦЖ, в 6/14 случаев – АО ОЦЖ, в 1 случае – опухоль неизвестной этиологии (дифференцировать между злокачественным поражением щитовидной железы (ЩЖ) и ОЦЖ).

По результатам генетического исследования герминальная мутация в гене *CDC73* выявлена у 6/49 пациентов (12,2%; 95%-й ДИ 5–25%). У 3 пациентов обнаружены мутации гена *MEN1* (в 2 случаях – патогенные варианты). Мутации в гене *RET* с неясным клиническим значением были отмечены для троих пациентов. Также у одной пациентки выявлены мутации в генах *MET* и *CDKN1C* неясного клинического значения. У 32 пациентов имелись результаты ИГХ-анализа с антителами к парафибромину и генетического исследования: у 8 пациентов отмечена полная утрата ядерной экспрессии парафибромина в ткани опухоли, у 3 из них подтверждена герминальная мутация в гене *CDC73*.

Медиана наблюдения после первичного хирургического вмешательства в общей выборке составила – 36 месяцев [14; 57]. Рецидив возник у 19/80 пациентов (24%; 95%-й ДИ 15–35%), 10-летняя БРВ – 43%; 5-летняя БРВ – 64%, рецидив – у 16 человек. Время до развития рецидива составило 26 месяцев [15; 47], медиана кальция общ. после первичного рецидива – 3,55 ммоль/л [3,21; 3,81]. У 16/19 (84%) пациентов выявлялись локальные метастазы в регионарные лимфатические узлы, у

7/19 (36,8%) отдаленные метастатические очаги в легких, у 5/19 (26,3%) в костях, у 2/19 (10,5%) в печень, у 1/19 (5,3%) в подкожно-жировую клетчатку передней брюшной стенки. Время до достижения исходного максимального уровня кальция общ. после диагностики рецидива составило 14 месяцев [8; 42]. Повторное хирургическое вмешательство на органах шеи проведено 16/19 (84 %) больным, из них ремиссия достигнута в 7/16 (44 %) случаев. Среднее число операций в группе повторных хирургических вмешательств – 2,7, максимальное – 5.

С целью контроля гиперкальциемии у пациентов с рецидивом заболевания чаще всего назначался деносумаб – в 12/19 (63,2%), в 11/19 (57,9%) случаев цинакальцет, парентеральные бисфосфонаты назначались 7/19 (36,8%) пациентам. У 6/19 (31,6%) пациентов назначение гипокальциемической терапии позволило добиться нормокальциемии с помощью комбинации деносумаба и цинакальцета.

В качестве противоопухолевой терапии 6/19 (31,6%) пациентам назначалась таргетная терапия мультикиназными ингибиторами (сорафениб в дозе 400–800 мг в сутки, средняя продолжительность приема препарата составила 3–16 месяцев), в 2 случаях – дистанционная лучевая терапия, еще 2 больным – химиотерапия.

5/19 (26%) пациентов с рецидивом умерли в процессе наблюдения (в большинстве случаев причина неизвестна), время смерти с момента рецидива составило 12, 20, 33, 53 и 75 месяцев.

В общей выборке пациентов летальный исход отмечен в 11/85 случаях, время до смерти от момента первичной операции – 46 мес [34; 57], возраст на момент смерти – 63 года [48; 69]. Пятилетняя общая выживаемость (ОВ) составила 78%, десятилетняя – 68%.

Ассоциации клинических, лабораторно-инструментальных, генетических, морфологических и ИГХ характеристик с рецидивом рака ОЩЖ

На данном этапе исследования все пациенты с подтвержденной карциномой ОЩЖ были разделены на 2 группы: ремиссия и рецидив ПГПТ (пациенты с персистенцией (n = 5) не включались) с последующим сравнительным анализом. Характеристика групп представлена в Таблицах 6 и 7.

Таблица 6 – Клиническая характеристика пациентов с ремиссией и рецидивом рака ОЩЖ

Признак		Ремиссия		Рецидив	
		N	Me [Q ₁ ; Q ₃] / n (%)	N	Me [Q ₁ ; Q ₃] / n (%)
Пол	Мужской	61	16 (26%)	19	4 (21%)
	Женский		45 (74%)		15 (79%)
Возраст на момент постановки диагноза, лет		61	54 [44; 61]	19	54 [33; 60]
Минеральный обмен (до первичного хирургического лечения)					
Время наблюдения, мес		61	26 [12; 49]	19	74 [49; 109]
ПТГ, пг/мл (15–65)		57	1034,0 [358,4; 1772,0]	18	1011,5 [740,2; 1641,5]

Продолжение таблицы 6

Признак	Ремиссия		Рецидив		
	N	Me [Q ₁ ; Q ₃] / n (%)	N	Me [Q ₁ ; Q ₃] / n (%)	
Са общ., ммоль/л (2,15–2,55)	54	3,09 [2,84; 3,50]	17	3,74 [3,36; 4,10]	
Са скорр., ммоль/л (2,15–2,55)	48	3,02 [2,82; 3,46]	14	3,62 [3,36; 4,13]	
Са ион, ммоль/л (1,03–1,29)	39	1,54 [1,33; 1,66]	12	1,69 [1,55; 1,81]	
P, ммоль/л (0,74–1,5)	44	0,81 [0,68; 1,08]	14	0,71 [0,64; 0,91]	
ЩФ, Ед/л (40–150)	35	213 [130; 616]	11	262 [182; 594]	
Са в суточной моче, ммоль/сут (2,5–8)	15	9,90 [5,76; 12,82]	4	10,2; 2,08; 13,84; 9,42	
Осложнения ППТ на момент манифестации заболевания					
Снижение СКФ менее 60	58	27 (47%)	19	9 (47%)	
Гиперкальциемический криз	60	2 (3%)	19	4 (21%)	
Нефролитиаз/нефрокальциноз	57	31 (54%)	19	15 (79%)	
Остеопороз на момент постановки диагноза	56	33 (59%)	19	17 (89%)	
Фиброзно-кистозный остеоит	51	15 (29%)	16	10 (62%)	
Язвенное поражение ЖКТ	51	5 (10%)	12	4 (33%)	
Данные предоперационной топической диагностики (УЗИ)					
Наибольший диаметр образования ОЦЖ, мм	61	34 [25; 42]	15	33 [31;35]	
Объем образования ОЦЖ, см ³	61	6,3 [3,0; 16,1]	15	8,3 [4,3; 11,3]	
Объем первичного оперативного лечения					
Объем хирургического лечения	Селективная ПТЭ	61	28 (46%)	19	10 (53%)
	En-bloc		28 (46%)		9 (47%)
	Другое		5 (8%)		0 (0%)
Лимфодиссекция	Не проводилась	61	52 (85%)	19	17 (89%)
	Центральная		9 (15%)		1 (5,3%)
	Боковая		0 (0%)		1 (5,3%)
Послеоперационные лабораторные показатели					
ПТГ через 15 минут, пг/мл	19	93,00 [42,56; 203,50]	4	130; 210; 140; 107	
Дельта ПТГ через 15 минут, %	19	91 [87; 92]	4	85; 92; 92; 90	
ПТГ через сутки, пг/мл	43	22,77 [14,48; 72,45]	7	12,28 [10,25; 21,50]	
Са общ. через сутки, ммоль/л	47	2,15 [2,00; 2,39]	8	2,37 [2,22; 2,42]	
Са ион. через сутки, ммоль/л	42	1,07 [0,99; 1,16]	5	1,25; 1,14; 1,57; 0,68; 1,23	

Продолжение таблицы 6

Признак	Ремиссия		Рецидив	
	N	Me [Q ₁ ; Q ₃] / n (%)	N	Me [Q ₁ ; Q ₃] / n (%)
Лабораторные данные динамического наблюдения				
ПТГ через 6 месяцев, пг/мл	22	48,85 [33,00; 104,47]	6	166,00 [64,25; 363,00]
Са общ. через 6 месяцев, ммоль/л	20	2,29 [2,21; 2,44]	5	2,41; 3,55; 3,17; 2,72; 2,29
Са ион. через 6 месяцев, ммоль/л	11	1,10 [1,05; 1,23]	3	1,13; 1,6; 1,27
Са-скорр. через 6 месяцев, ммоль/л	15	2,20 [2,16; 2,29]	1	3,09
ПТГ через 12 месяцев, пг/мл	23	48,96 [35,02; 71,50]	3	51; 65; 2170
Са общ. через 12 месяцев, ммоль/л	24	2,34 [2,22; 2,44]	3	1,97; 2,27; 4,0
Са ион. через 12 месяцев, ммоль/л	17	1,11 [1,07; 1,20]	2	0,94; 1,1
Са-скорр. через 12 месяцев, ммоль/л	16	2,23 [2,21; 2,30]	0	–
Результаты генетического исследования				
Наличие герминальной мутации в гене <i>CDC73</i>	32	2 (6%)	13	4 (31%)

Таблица 7 – Морфологическая и ИГХ характеристика пациентов с ремиссией и рецидивом рака ОЩЖ

Признак	Ремиссия		Рецидив	
	N	Me [Q ₁ ; Q ₃] / n (%)	N	Me [Q ₁ ; Q ₃] / n (%)
Морфологические критерии				
Капсулярная инвазия	56	44 (79%)	15	12 (80%)
Сосудистая инвазия	61	47 (77%)	16	13 (81%)
Инвазия в окружающую жировую клетчатку	60	32 (53%)	15	11 (73%)
Стадия pTNM по AJCC 2017	T1	43 (72%)	19	11 (58%)
	T2	15 (25%)		3 (16%)
	T3	2 (3%)		2 (11%)
	T4	0 (0%)		3 (16%)
Сочетание с ПРЦЖ	59	5 (8%)	18	1 (6%)
ИГХ характеристика				
Ki-67%	48	5 [2; 8]	15	8 [5; 15]
Парафибромин	есть	20 (65%)	11	4 (36%)
	утрата	8 (26%)		7 (64%)
	очаговая	3 (10%)		0 (0%)
Экспрессия ПТГ	слабая	3 (7%)	14	1 (7%)
	умеренная	16 (35%)		7 (50%)
	выраженная	27 (59%)		6 (43%)

По результатам анализа связи клинических, лабораторно-инструментальных характеристик до хирургического лечения ППТ, генетических и морфологических данных, послеоперационных лабораторных показателей с развитием рецидива карциномы ОЩЖ с помощью лог-ранг теста, с учетом поправки Бонферрони ($P_0 = 0,05/50 = 0,001$), выявлена статистически значимая ассоциация с концентрацией общего кальция ($\geq 3,30$ ммоль/л, $p < 0,001$).

На уровне статистической тенденции выявлена ассоциация рецидива с уровнем кальция скорр. ($\geq 3,22$ ммоль/л, $p = 0,002$), наличием нефролитиаза/нефрокальциноза ($p = 0,021$), уровнем ПТГ через 6 месяцев после первичной операции ($\geq 56,95$ пг/мл, $p = 0,023$).

Среди морфологических маркеров статистическая значимая ассоциация была выявлена для Т4 стадии ($p < 0,001$) по классификации рTNM (AJCC 2017), взаимосвязь на уровне статистической тенденции – для инвазии в окружающие органы (Т3) ($p = 0,007$), наличия/полной утраты экспрессии парафибромина в ткани опухоли ($p < 0,05$).

Для данных параметров были построены графики функции выживаемости с помощью метода Каплана – Майера.

При анализе доли рецидивов у пациентов в зависимости от уровней Са общ. (Рисунок 2А) и Са скорр. наблюдается, что рецидивы регистрируются только среди пациентов с высокими концентрациями данных показателей, низкая 10-летняя БРВ – 21% (рецидив был у 17 пациентов) и 29% (рецидив был у 14 пациентов) у пациентов с уровнями выше медианы для Са общ. $\geq 3,3$ ммоль/л и Са скорр. $\geq 3,22$ ммоль/л соответственно. 5-летняя БРВ составила 100% (95%-й ДИ 100–100%) при концентрации дооперационного Са общ. $< 3,30$, а у пациентов с Са общ. $\geq 3,30$ – 44% (95%-й ДИ 23–64%). Рецидивы у обследованных со стадиями Т3, Т4 наблюдаются в первые 2 года, а со стадией Т2 в первые 6 лет, в то время как 10-летняя БРВ у пациентов со стадией Т1 составила 52%. 5-летняя БРВ при Т1 стадии (рTNM) – 69% (95%-й ДИ 46–84%), Т2 – 73% (95%-й ДИ 24–93%), Т3 – 38% (95%-й ДИ 1–81%), Т4 – 0% (95%-й ДИ 0–0%) (Рисунок 2Б).

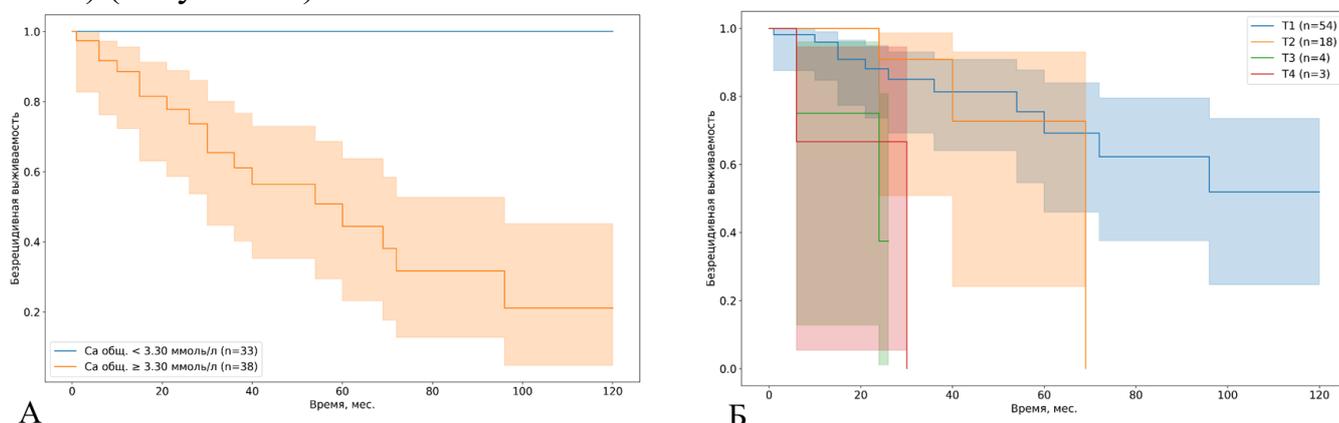


Рисунок 2 – Кривые Каплана – Майера, характеризующие БРВ в зависимости от уровня Са общ. (А), стадии рTNM по AJCC 2017 (Б)

Оценка прогностического потенциала иммуноокружения опухоли ОЩЖ

Во 2-й части второго этапа исследования исходя из критериев соответствия в анализ было включено 26 пациентов с карциномой ОЩЖ (по 13 в каждой группе агрессивного и неагрессивного течения), оценивались следующие показатели: паттерн роста, преобладающий тип клеток, экспрессия PD-L1, Ki-67%, митотическая активность (количество митозов на 2 мм^2 , оцененные по экспрессии PNH3), количество CD45+, CD3+, CD4+, CD8+, FOXP3+, CD68+, CD163+ клеток, а также соотношения CD4+/CD8+, CD8+/Foxp3+, CD3+/CD163+, CD3+/CD68+, CD163+/CD68+. Группы были сопоставимы по возрасту, полу и объему первичного оперативного вмешательства. Медиана времени наблюдения составила 44,5 месяцев [28; 58]. Анализ количественных данных осуществлялся путем деления их по медиане. Для митотической активности (оцененной по PNH3) и индекса пролиферативной активности (Ki-67%) деление проводилось с учетом литературным данных о значении высокой митотической (> 5 на 2 мм^2) и Ki-67 $>5\%$, для экспрессии PD-L1 отрезной точкой определено значение – 1%, что считается положительной экспрессией в большинстве злокачественных опухолей. Пороговый уровень значимости с учетом поправки на множественные сравнения (Бонферрони) составил $P_0 = 0,05/31 = 0,001$.

По результатам пересмотра гистологических препаратов были выделены следующие паттерны роста: солидный в 42% случаев ($n = 11$), трабекулярный – в 26,9% ($n = 7$), альвеолярный – в 15,4% ($n = 4$), микрофолликулярный – в 7,7 % ($n = 2$), карциноидоподобного паттерта роста отмечено не было.

При анализе клеточного состава – преобладающим типом клеток выступили главные (73,1%, $n = 19$); светлые (водянисто-светлые) клетки встречались в 19,2 % ($n = 5$) случаев, онкоцитарные (оксифильные) – 7,7 % случаев ($n = 2$).

По результатам лог-рангового теста с агрессивным течением карциномы ОЩЖ статистически значимой ассоциацией обладают соотношения CD163+/CD68+ в паренхиме ($\geq 0,48$, $p < 0,001$) и строме ($\geq 0,52$, $p < 0,001$) опухоли; на уровне статистической тенденции митотическая активность ≥ 5 ($p = 0,029$), уровни CD68+ (≥ 69 , $p = 0,028$) и CD163+ (≥ 31 , $p = 0,020$) в паренхиме опухоли (Рисунок 3). Графики БРВ для показателей, обладающих статистической значимостью представлены на Рисунке 4. Различий в экспрессии PD-L1 выявлено не было.

В дальнейшем с целью уточнения статистической значимости выявленных предикторов агрессивного течения в отношении рецидива заболевания проведен сравнительный анализ в группах рецидива и ремиссии заболевания (пациенты с персистенцией не включались, Таблица 8).

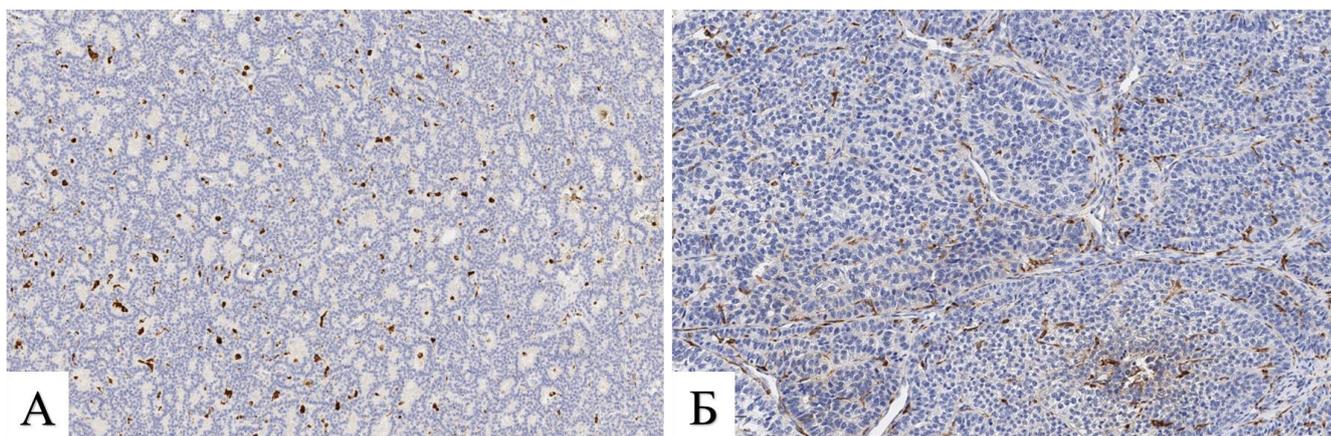


Рисунок 3 – ИГХ окрашивание с антителами к CD68+ (А), к CD163+ (Б) в паренхиме опухоли ($\times 100$)

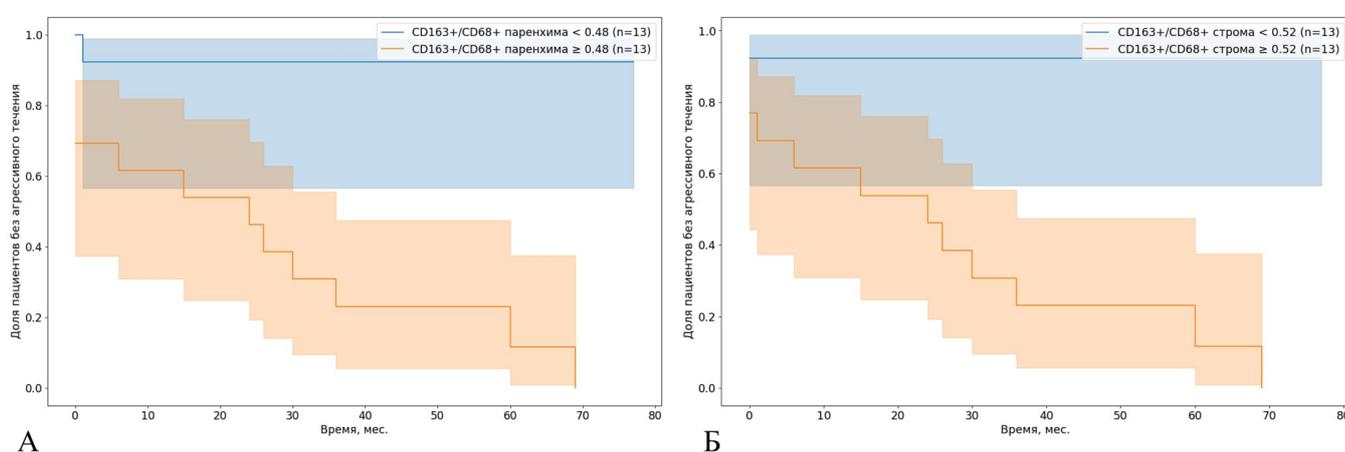


Рисунок 4 – Графики БРВ пациентов с карциномой ОЦЖ в зависимости от CD163+/CD68+ в паренхиме (А) и строме (Б) опухоли

Таблица 8 – Анализ влияния морфологических и ИГХ характеристик клеточного состава иммунного инфильтрата на рецидив карциномы ОЦЖ

Признак		Количество наблюдений	Рецидивы в группе с отсутствием фактора		Рецидивы в группе с наличием фактора		p, лог-ранг тест
			N	n (%)	N	n (%)	
1		2	3	4	5	6	7
Морфологическая характеристика							
Патерн роста	1 – солидный	13 ц. + 9 не ц. *	12	4 (33%)	10	5 (50%)	0,059
	2 – трабекулярный		15	7 (47%)	7	2 (29%)	0,303
	3 – альвеолярный		19	7 (37%)	3	2 (67%)	0,854
	4 – микрофолликулярный		20	9 (45%)	2	0 (0%)	–
Преобладающий тип клеток	1 – главные	13 ц. + 9 не ц. *	6	4 (67%)	16	5 (31%)	0,029
	2 – онкоцитарные		20	7 (35%)	2	2 (100%)	–
	3 – светлые		18	7 (39%)	4	2 (50%)	0,379

Продолжение таблицы 8

1	2	3	4	5	6	7
Экспрессия PD-L1						
PD-L1 $\geq 1\%$	13 ц. + 9 не ц. *	4	3 (75%)	18	6 (33%)	0,670
Пролиферативная и митотическая активность						
Ki-67 $\geq 5\%$	13 ц. + 9 не ц. *	11	3 (27%)	11	6 (55%)	0,427
Митотическая активность >5 на 2мм^2 (оцененная по РННЗ)	13 ц. + 9 не ц. *	10	2 (20%)	12	7 (58%)	0,125
Клеточный состав иммунного инфильтрата паренхимы опухоли						
CD45+ ≥ 27	13 ц. + 9 не ц. *	11	6 (55%)	11	3 (27%)	0,304
CD3+ ≥ 13	13 ц. + 9 не ц. *	11	5 (45%)	11	4 (36%)	0,894
CD4+ ≥ 1	13 ц. + 9 не ц. *	10	6 (60%)	12	3 (25%)	0,292
CD8+ ≥ 5	13 ц. + 9 не ц. *	11	5 (45%)	11	4 (36%)	0,982
Foxp3+ ≥ 1	13 ц. + 9 не ц. *	11	6 (55%)	11	3 (27%)	0,027
CD68+ ≥ 69	13 ц. + 9 не ц. *	12	4 (33%)	10	5 (50%)	0,052
CD163+ ≥ 31	13 ц. + 9 не ц. *	12	2 (17%)	10	7 (70%)	0,037
CD4+/CD8+ $\geq 0,02$	13 ц. + 9 не ц. *	10	6 (60%)	12	3 (25%)	0,292
CD8+/FoxP3+ $\geq 0,62$	8 ц. + 3 не ц. *	6	3 (50%)	5	0 (0%)	0,129
CD3+/CD163+ $\geq 0,4$	11 ц. + 9 не ц. *	10	6 (60%)	10	3 (30%)	0,447
CD3+/CD68+ $\geq 0,20$	13 ц. + 9 не ц. *	11	6 (55%)	11	3 (27%)	0,299
CD163+/CD68+ $\geq 0,48$	13 ц. + 9 не ц. *	13	1 (8%)	9	8 (89%)	0,005
Клеточный состав иммунного инфильтрата стромы опухоли						
CD45+ ≥ 38	13 ц. + 9 не ц. *	11	4 (36%)	11	5 (45%)	0,613
CD3+ ≥ 24	13 ц. + 9 не ц. *	11	4 (36%)	11	5 (45%)	0,154
CD4+ ≥ 5	13 ц. + 9 не ц. *	11	6 (55%)	11	3 (27%)	0,360
CD8+ ≥ 13	13 ц. + 9 не ц. *	11	4 (36%)	11	5 (45%)	0,154
Foxp3+ ≥ 0	13 ц. + 9 не ц. *	0	–	22	9 (41%)	–
CD68+ ≥ 77	13 ц. + 9 не ц. *	11	2 (18%)	11	7 (64%)	0,098
CD163+ ≥ 28	13 ц. + 9 не ц. *	11	2 (18%)	11	7 (64%)	0,098
CD4+/CD8+ $\geq 0,34$	13 ц. + 9 не ц. *	11	4 (36%)	11	5 (45%)	0,838
CD8+/FoxP3+ $\geq 1,3$	8 ц. + 3 не ц. *	6	2 (33%)	5	1 (20%)	0,970
CD3+/CD163+ $\geq 1,14$	12 ц. + 9 не ц. *	10	7 (70%)	11	2 (18%)	0,234
CD3+/CD68+ $\geq 0,53$	13 ц. + 9 не ц. *	12	6 (50%)	10	3 (30%)	0,750
CD163+/CD68+ $\geq 0,52$	13 ц. + 9 не ц. *	12	0 (0%)	10	9 (90%)	0,001
<i>Примечание – * – ц. (полные), не ц. (не полные); пороговый уровень значимости с учетом поправки Бонферрони $P_0 = 0,05/32 = 0,001$</i>						

Мы получили схожие результаты: с рецидивом карциномы ОЩЖ статистически значимой ассоциацией обладает соотношение CD163+/CD68+ в строме опухоли ($p < 0,001$); ассоциацией на уровне статистической тенденции – соотношение CD163+/CD68+ в паренхиме ($p = 0,005$) опухоли, а также FOXP3+ ($p = 0,027$) и CD163+ в паренхиме опухоли ($p = 0,037$). С отсутствием рецидива на уровне статистической тенденции ассоциирован преобладающий главный тип клеток ($p = 0,029$).

Согласно полученным данным 5-летняя БРВ пациентов с соотношением CD163+/CD68+ в строме опухоли $< 0,52$ составила 100% (95%-й ДИ 100–100%), $\geq 0,52$ – 15% (95%-й ДИ 1–46%); в группе с соотношением CD163+/CD68+ $< 0,48$ в паренхиме – 92% (95%-й ДИ 57–99%), $\geq 0,48$ – 17% (95%-й ДИ 1–49%); инфильтрацией Foxp3+ в паренхиме < 1 – 39% (95%-й ДИ 11–67%); у лиц с Foxp3+ ≥ 1 – 61% (95%-й ДИ 8–91%).

ВЫВОДЫ

1. Выполнение иммуногистохимического анализа при исходном морфологическом диагнозе атипичической опухоли околощитовидных желез в 18,5% (95%-й ДИ 10–30%) случаев позволяет диагностировать карциному околощитовидных желез, что в 92% (62–100%) случаев подтверждается на основании выявленной сосудистой инвазии при окрашивании эндотелиальными маркерами.

2. Рак околощитовидных желез характеризуется мутацией в гене *CDC73* в 12,2% (5–25%) случаев; полной потерей ядерной экспрессии парафибромина опухолью в 33%; возникновением рецидива заболевания в 24% (15–35%) (медиана времени до развития рецидива – 26 месяцев [15; 47]). 5 и 10-летняя безрецидивная выживаемость составляет 64% и 43% соответственно.

3. Рецидив рака околощитовидных желез ассоциирован с высоким дооперационным уровнем кальция общего (5-летняя безрецидивная выживаемость при уровне < 3,3 ммоль/л составила 100% (100%; 100%), а при значении $\geq 3,3$ ммоль/л – 44% (23%; 64%); T4 стадией согласно классификации pTNM (5-летняя безрецидивная выживаемость при T1 стадии – 69% (46%; 84%), T2 – 73% (24%; 93%), T3 – 38% (1%; 81%), T4 – 0% (0%; 0%).

4. По итогам оценки клеточного состава иммунного инфильтрата рецидив рака околощитовидных желез ассоциирован с преобладанием M-2 макрофагов над M-1 ($CD163+/CD68+ \geq 0,52$) в строме первичной опухоли. 5-летняя безрецидивная выживаемость пациентов с соотношением $CD163+/CD68+$ в строме опухоли < 0,52 составила 100% (100%; 100%), $\geq 0,52$ – 15% (1%; 46%). Ассоциации инфильтрации $CD45+$, $CD3+$, $CD4+$, $CD8+$, $FOXP3+$, экспрессии PD-L1 с неблагоприятным прогнозом заболевания по результатам лог-ранг теста не обнаружено.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В случае выявления подозрительных в отношении злокачественного потенциала признаков по результатам морфологического исследования, являющихся критериями диагностики атипичической опухоли околощитовидных желез, целесообразно проведение иммуногистохимического анализа (окрашивание на эндотелиальные маркеры и ПТГ) для исключения рака околощитовидных желез.

2. Для прогнозирования клинического течения рака околощитовидных желез после оперативного лечения целесообразно проведение иммуногистохимического исследования с антителами к $CD 68+$, $CD 163+$.

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АВТОРОМ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Лечение рака околощитовидных желез: текущее состояние и ближайшие перспективы / Е. И. Ким, Ю. А. Крупинова, П. В. Белоусов, К. А. Трутнева, Н. Г. Мокрышева. – DOI 10.15690/vgramn2132 // *Вестник Российской академии медицинских наук*. – 2022. – Т. 77, № 5. – С. 362–370.

2. Казуистические случаи карциномы околощитовидной железы при верифицированной мутации в гене *MEN1* / С. В. Пылина, Е. И. Ким, Е. В. Бондаренко, Ю. А. Крупинова, А. К. Еремкина, Н. Г. Мокрышева. – DOI 10.14341/probl13176// *Проблемы Эндокринологии*. – 2023. – № 1 (69). – С. 15–27.

3. Multiple Metastases of Parathyroid and Papillary Thyroid Carcinoma in a Female Patient Treated with Long-Term Hemodialysis / J. Krupinova, E. Kim, A. Eremkina, L. Urusova, I. Voronkova, K. Slaschuk, E. Dobрева, N. Mokrysheva – DOI 10.3390/jpm13030548// *J. Pers. Med.* – 2023, Mar 19. – Vol. 3 (13). – P. 548.

4. Silent intrathyroid parathyroid carcinoma / E. Kim, E. Bondarenko, A. Eremkina, P. Nikiforovich, N. Mokrysheva. – DOI 10.1530/EDM-23-0027 // *Endocrinol. Diabetes. Metab. Case Rep.* – 2023, May 15. – Vol. 2. – P. 23–27.

5. Case report: Sagliker syndrome in the patient with recurrent tertiary hyperparathyroidism due to intrathyroidal parathyroid carcinoma / R. Salimkhanov, E. Bondarenko, A. Eremkina, E. Bibik, E. Kim, K. Begova, I. Kim, S. Kuznetsov, N. Mokrysheva. – DOI 10.3389/fendo.2023.1292993// *Front. Endocrinol.* – 2024. – Vol. 14. – P. 1292993.

6. Роль иммуногистохимического анализа в дифференциальной диагностике атипических опухолей и карцином околощитовидных желез / Е. И. Ким, А. А. Лавренюк, Л. С. Урусова, А. К. Еремкина, А. Р. Елфимова, Н. Г. Мокрышева/ – DOI 10.17116/patol2024860415// *Архив патологии.* – 2024. – Vol. 4 (86). – P. 5–12.

7. Combination approach for CDC73-related parathyroid carcinoma in an adolescent female patient: a case report and literature review / E. Kim, N. Kalinchenko, A. Eremkina, L. Urusova, R. Salimkhanov, N. Mokrysheva. – DOI 10.1177/17588359241265222 // *Ther. Adv. Med. Oncol.* – 2024, Aug 1. – Vol. 16. – Article ID 17588359241265222.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

PD-L1 – лиганд программируемой смерти 1

АО – атипическая опухоль

БРВ – безрецидивная выживаемость

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ИГХ – иммуногистохимическое исследование

КТ – компьютерная томография

МПК – минеральная плотность костной ткани

ОВ – общая выживаемость

ОЦЖ – околощитовидные железы

ПГПТ – первичный гиперпаратиреоз

ПТГ – паратиреоидный гормон

ПТЭ – паратиреоидэктомия

СТХ – С-концевой телопептид коллагена I типа

ТАБ – тонкоигольная аспирационная биопсия

ТКФ2 – точный двусторонний критерий Фишера

УЗИ – ультразвуковое исследование

ХБП – хроническая болезнь почек

ХПН – хроническая почечная недостаточность

ЩЖ – щитовидная железа

ЩФ – щелочная фосфатаза

ЭГДС – эзофагогастродуоденоскопия