

ПОИСК МАРКЕРОВ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ТАКТИКИ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Зима Д. В.¹, Безруков О. Ф.¹, Зяблицкая Е. Ю.², Макалиш Т. П.², Голубинская Е. П.³, Максимова П. Е.²

¹Клинический медицинский многопрофильный центр Святого Луки, ФГАУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», 295051, бульвар Ленина, 5/7, Симферополь, Россия ²Центральная научно-исследовательская лаборатория (ЦНИЛ)

³Кафедра патологической анатомии с секционным курсом, Медицинская академия имени С. И. Георгиевского ФГАУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», 295051, бульвар Ленина 5/7, Симферополь, Россия

Для корреспонденции: Зяблицкая Евгения Юрьевна, д.мед.н., доцент, заведующая ЦНИЛ Медицинской академии имени С. И. Георгиевского ФГАУ ВО «КФУ имени В. И. Вернадского», e-mail: evgu79@mail.ru

For correspondence: Zyablitskaya E. Yu., MD, Head of the central research laboratory, Medical Academy named after S.I. Georgievsky of Vernadsky CFU, e-mail: evgu79@mail.ru

Information about authors:

Zima D. V., <https://orcid.org/0000-0003-4732-0311>

Bezrukov O. F., <https://orcid.org/0000-0002-0161-8959>

Zyablitskaya E. Yu., <https://orcid.org/0000-0001-8216-4196>

Makalish T. P., <https://orcid.org/0000-0003-1884-2620>

Golubinskaya E. P., <https://orcid.org/0000-0003-3917-924X>

Maksimova P. E., <https://orcid.org/0000-0001-5920-8664>

РЕЗЮМЕ

Рутинное применение тонкоигольной аспирационной пункционной биопсии - один из наиболее информативных методов предоперационной диагностики новообразований щитовидной железы, а также перспективная база для совершенствования молекулярной диагностики в условиях клиники эндокринной хирургии во взаимодействии с патоморфологической лабораторией. Целью работы является анализ экспрессии сигнальных молекул клеточного цикла при различных заболеваниях щитовидной железы: токсический зоб, аденоматозный зоб, аутоиммунный тиреоидит и папиллярный рак. Мы исследовали количественное соотношение экспрессии маркеров апоптоза CD-95 (Fas-R) и митоза Ki-67, выявленных в тироцитах методом иммуноцитохимии и иммуногистохимии стандартными протоколами. Предложен индекс $Z = \text{Fas} / (\text{Ki}67 + 1)$.

Проведенный кластерный анализ Z-индекса, вычисленного на материале иммуноцитохимии пунктата, позволил выделить группу пациентов, относительно однородную по его значению (в этой группе у всех пациентов на послеоперационном гистологическом материале был верифицирован диагноз папиллярного рака). Значения экспрессии маркеров составило 2,3-9,0 для Ki67 и 0,9-4,1 для Fas, а Z-индекс в пределах 0,6- 3,9. Данные показатели могут быть использованы для дифференциальной диагностики рака щитовидной железы по материалу пунктата, что важно при принятии решения об объеме оперативного вмешательства, а также при морфологическом обосновании прогноза заболевания.

Математический анализ показал, что если процент делящихся ядер, визуализируемых иммуногистохимически маркером Ki-67 не перспективен как сингулярный диагностический показатель, то в сочетании с маркером апоптоза он играет важную роль в комплексной оценке. Эти данные интересны и в контексте патофизиологической закономерности ингибирования экспрессии CD95 опухолевыми клетками. Это важно для обоснования подходов химиотерапии или иммунотерапии рака разной тканевой принадлежности.

Ключевые слова: щитовидная железа, патология, рак, диагностика, хирургия, апоптоз.

SEARCH FOR MOLECULAR DIAGNOSTIC MARKERS TO OPTIMIZE SURGICAL TACTICS FOR THYROID DISEASES

Zima D. V.¹, Bezrukov O. F.¹, Zyablitskaya E. Yu.², Makalish T. P.², Golubinskaya E. P.³, Maksimova P. E.²

¹Clinical medical multidisciplinary center of St. Luke, V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia ²Georgievsky of Vernadsky CFU, Simferopol, Russia ³Central research laboratory ³Department of Pathological Anatomy with a sectional course, Medical Academy named after S. I. Georgievsky of Vernadsky CFU, Simferopol, Russia

SUMMARY

The routine execution of a fine-needle aspiration puncture biopsy is the most informative method for the preoperative diagnosis of thyroid neoplasms, as well as a promising base for improving molecular diagnostics in an endocrine surgery clinic in conjunction with a pathological laboratory. The aim of our work was a comparative analysis of the expression of cell cycle signaling molecules in various thyroid diseases: toxic goiter, adenomatous

2020, том 23, № 3

goiter, autoimmune thyroiditis and papillary cancer. We investigated the quantitative ratio of expression of apoptosis markers CD-95 (Fas-R) and Ki-67 mitosis detected in thyrocytes by immunocytochemistry and immunohistochemistry using standard protocols. The index $Z = \text{Fas} / (\text{Ki67} + 1)$ is proposed.

The performed cluster analysis of the Z-index calculated on the basis of punctate immunocytochemistry material allowed us to identify a group of patients relatively uniform in value (in this group, after the operation, the diagnosis of papillary cancer was histologically confirmed in all patients). Marker expression values were 2,3-9,0 for Ki67 and 0,9-4,1 for Fas, and the Z-index was in the range 0,6-3,9. It can be useful for the differential diagnosis of thyroid cancer based on punctate material, which is important when deciding on the amount of surgical intervention, as well as in the morphological substantiation of the prognosis of the disease.

Mathematical analysis showed that if the percentage of fissile nuclei visualized immunohistochemically with the Ki-67 marker is unpromising as a singular diagnostic indicator, then in combination with the apoptosis marker it plays an important role in a comprehensive assessment. These data are also interesting in the context of the pathophysiological pattern of inhibition of the expression of CD95 by tumor cells. This is important to justify the approaches of chemotherapy or immunotherapy of cancer of different tissue belonging.

Key words: thyroid gland, pathology, cancer, diagnosis, surgery, apoptosis.

Дифференциальная диагностика узловых новообразований щитовидной железы на догоспитальном этапе базируется на анализе данных ультразвукового исследования, статуса тиреотропных и тиреоидных гормонов пациенты, а также результатах тонкоигольной аспирационной пункционной биопсии (ТАПБ), играющей решающую роль при постановке диагноза [1]. Такой подход позволяет классифицировать выявленные изменения не только в диагностические группы, но и определить последующую терапевтическую тактику и/или объем оперативного вмешательства.

Несмотря на стандартизацию механизма диагностики, в ряде случаев по-прежнему остается затруднительной и субъективной цитологическая диагностика неопластических процессов. Связано это с тем, что тироциты доброкачественных фолликулярных неоплазий по морфологическим характеристикам неотличимы от клеток фолликулярной карциномы [2]. Кроме того, в цитологическом материале не всегда визуализируются клетки с достоверными ядерными изменениями папиллярной или медулярной карциномы. Таким образом, под понятием «фолликулярная опухоль» объединяются все узловые образования в щитовидной железе, характеризующиеся наличием в пунктате клеток фолликулярного эпителия, в том числе с «сомнительной» атипией [3]. При этом только 10–20% данных случаев после гистологического исследования оказываются злокачественными [4].

Остаются неустановленными механизмы канцерогенеза неоплазий щитовидной железы, в том числе папиллярного рака. До настоящего времени нет ответа на вопрос: почему клетки опухоли, которые на протяжении многих десятилетий находились в ткани щитовидной железы, не проявляя биологической активности, так называемые «окультуренные раки», неожиданно начинают активно делиться, и карцинома переходит в клиническую форму.

В связи с относительно благоприятным течением онкопроцесса в щитовидной железе среди хирургов сформировались две полярные точки зрения на объем оперативного вмешательства при ранних стадиях папиллярной карциномы, выявленной на догоспитальном этапе при помощи ТАПБ и УЗИ. Правильный выбор объема хирургического вмешательства приобретает особо важное значение, поскольку после внедрения в клиническую практику ТАПБ с цитологическим исследованием биоптата все большее количество больных с ранними стадиями папиллярного рака подвергаются оперативным вмешательствам. Ряд хирургов [5] считают операцией выбора при папиллярном раке щитовидной железы тотальную тиреоидэктомию, другие же [6] считают возможным оставлять интактную долю в случае небольшого инкапсулированного рака. Нет единого мнения на послеоперационное динамическое наблюдение больных, которым были произведены органосохраняющие оперативные вмешательства.

Таким образом, остается актуальным поиск как ключевых точек злокачественной трансформации тиреоидного эпителия, так и доступных методик объективизации их диагностики. Мы считаем, что иммуноцитохимия (ИЦХ) и иммуногистохимия (ИГХ) на клеточном блоке является перспективным дополнительным методом в спорных случаях дифференциальной диагностики рака щитовидной железы, а вместе с ИГХ операционного материала – и для оценки потенциала злокачественности [7].

Цель нашего исследования: поиск маркеров ИГХ и ИЦХ диагностики для оптимизации хирургической тактики при заболеваниях щитовидной железы.

Задачи исследования: определить динамику экспрессии маркеров пролиферативной активности и апоптоза на материале ТАПБ методом ИЦХ, на операционном материале и материале клеточного блока – методом ИГХ; сделать математический анализ и выводы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследованы 61 пациент в одном последовательном протоколе: УЗИ+ТАПБ → цитология мазков → операция → гистология+ИГХ+ИЦХ+ cell-block. Несомненно, ИЦХ и cell-block – это предоперационный этап, в нашей работе мы не ставили цель диагностики на догоспитальном этапе этими методами, а набирали материал для установления закономерностей. Поэтому для исследовательских задач брали пунктат во время операции с удаленной железы тотчас перед ее погружением в формалин для исключения ненужной травмы при повторных пункциях, поскольку от одного прокола материала не хватает для трех методик (цитология, ИЦХ и cell-block). Техника пункции соответствовала классическому варианту ТАПБ. С биоэтических позиций считаем это правомочным.

В исследование были включены мужчины и женщины возраста от 30 до 75 лет, жители Республики Крым, пациенты клиники эндокринной хирургии Клинического медицинского многопрофильного центра Святителя Луки (структурное подразделение ФГАОУ ВО «КФУ имени В. И. Вернадского»), нуждающиеся по данным цитологии ТАПБ или по клиническим показаниям в оперативном лечении – гемитиреоидэктомии, подписавшие информированное согласие на исследование.

Критерием исключения было отсутствие потребности в операции на щитовидной железе.

Пункцию проводили под УЗИ контролем по стандартной методике в хирургическом отделении КММЦ Святителя Луки. Материал ТАПБ для цитологии доставляли в контейнерах на стандартных стеклах, для ИЦХ – на высокоадгезивных стеклах фирмы Leica (Германия). Для клеточных блоков использовали нативный пунктат. Операционный материал, полученный при тиреоидэктомии или гемитиреоидэктомии, фиксировали в нейтральном забуференном формалине в течение суток.

Морфологические исследования выполнили в гистологической лаборатории Центра коллективного пользования «Молекулярная биология» на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории Медицинской академии имени С. И. Георгиевского. Использовано оборудование фирмы Leica (Германия, Австралия, Австрия) и Millestone (Италия) – комплект гистологических приборов, осуществляющих полный цикл автоматизированного преаналитического (вырезная станция LEEC LTD, гистопроцессор LOGOS, микротом Leica RM 2255) и аналитического этапов (иммуногистостейнер Leica BondMax, Микроскоп Leica MD 2000 с объективами Plan 10x, 40x, и цифровой камерой 0,5x, сканер гистопрепаратов Leica Aperio CS 2), использованы расходные материалы фирмы Бювитрум (Россия), Leica (Германия), антитела Ki67 (клон ММ1, RTU;

Novocastra, Великобритания) и Fas (ab82419, разведение 1:200; Abcam, США).

Цитологию мазков проводили при окраске методом Майн-Грюнвальд-Гимзы.

Для ИЦХ мазки фиксировали в парах формалина и сушили в термостате ночь при 36°C. Используются протоколы постановки реакции: высокотемпературная демаскировка (20 минут при температуре 90°C с буфером Bond Epotop Retrieval Solution 2, pH 9.0), подавление внутриклеточной пероксидазы (5 минут при комнатной температуре), инкубация с первичным антителом (30 минут при комнатной температуре), детекция системой Bond Polymer Refine Detection (Leica, Великобритания), включающая докраску ядер гематоксилином. Для реакции с антителами Fas время инкубации с первичным антителом было увеличено до 40 минут. Для ИГХ и cell-block – аналогично после депарафинизации.

Использованы методы статистической обработки данных: стандартные методы описательной статистики, метод Манна-Уитни для выявления различий между группами, а также кластерный анализ полученных данных. Все вычисления проводили с использованием программы Statistica 10.

Расчет индекса соотношения проводили по формуле $Z = \text{Fas} / (\text{Ki67} + 1)$, где Z – индекс, Fas и Ki67 – среднее количество позитивных клеток, окрашенных соответствующим маркером, по 10 полям зрения в препарате.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Полученные результаты ИЦХ окрашивания на маркеры Fas оказались неоднозначными. В большинстве препаратов лишь незначительное количество тироцитов дают иммунопозитивную, чаще слабоинтенсивную окраску. В отдельных случаях обнаружены позитивно окрашенные ядра, что не является специфичным для данного маркера. При этом в 95% такого окрашивания ядер гистологический диагноз подтвердил наличие папиллярной карциномы. Это, по-видимому, не является артефактом и может быть связано с интрануклеарной локализацией в процессе синтеза активной части молекулы данного белка-регулятора, взаимодействующей с антителом диагностикума.

Количество Ki67+ клеток редко превышает 10 в поле зрения. Наиболее высокие значения пролиферативного маркера (15–20 клеток в поле зрения) наблюдаются у пациентов с гистологически подтвержденным диагнозом токсический зоб или аутоиммунный тиреоидит. При этом, такие высокие значения встречаются очагово, в «горячих» точках и не влияют на средние показатели для пациента. Парное сравнение нозологических групп по уровню экспрессии исследуемых маркеров методом Манна-Уитни не выявило значимых отличий (табл. 1).

Таблица 1

Экспрессия маркеров Ki67 и Fas, а также Z-индекса в тироцитах на материале ИЦХ

Диагноз	Число случаев, n	Маркер (m; Me [Min; Max])		
		Fas	Ki67	Z-индекс
Папиллярная карцинома	31	7,2; 3,8 [0,0; 59,2]	4,4; 3,3 [0,5; 19,1]	2,8; 0,9 [0,0; 39,5]
Токсический зоб	13	2,7; 1,1 [0,0; 13,1]	3,0; 1,5 [0,0; 11,0]	0,7; 0,3 [0,0; 3,6]
Аутоиммунный тиреоидит	5	6,5; 2,0 [0,0; 26,3]	2,5; 1,4 [0,5; 5,5]	2,9; 0,9 [0,0; 11,0]
Аденоматозный зоб	12	3,4; 2,6 [0,0; 13,9]	3,7; 1,5 [0,5; 14,9]	1,1; 0,4 [0,0; 5,12]

Однако, проведенный кластерный анализ (табл. 2) позволил выделить группу пациентов (кластер №3), достаточно сходную по значению обоих маркеров, а следовательно, и Z-индекса. У всех пациен-

тов этой группы гистологически верифицирована папиллярная карцинома. Значения экспрессии маркеров составило 2,3–9,0 для Fas и 0,9–4,1 для Ki67. Z-индекс варьировал в пределах 0,6–3,9.

Таблица 2

Экспрессия маркеров Ki67 и Fas в тироцитах в материале ИЦХ для кластеров

Кластер	1	2	3	4	5
Маркер					
Me [Max;Min]	n=12	n=7	n=10	n=21	n=11
Fas	4,67 [0,0; 15,1]	14,6 [10,5; 59,2]	4,9 [2,3; 9,0]	1,4 [0,0; 3,9]	0,0 [0,0; 2,5]
Ki67	8,7 [6,0; 19,1]	1,6 [0,5; 2,6]	2,5 [0,9; 4,1]	1,0 [0,0; 2,0]	4,5 [3,2; 6,4]
Z	0,3 [0,0; 1,8]	5,9 [3,1; 39,5]	1,8 [0,6; 3,9]	0,8 [0,0; 2,6]	0,0 [0,0; 0,4]

В кластер 2 вошли пациенты, у которых по результатам предоперационной ТАПБ был коллоидный узел, который подтвердился гистологически у большинства пациентов этой группы. Остальные группы оказались достаточно гетерогенны по диагнозу. Полученные результаты ИГХ совпали с результатами, полученными на клеточных блоках, и отличаются от ИЦХ по цитоплазматическому маркеру Fas (табл. 3), что связано с техникой изготовления

мазка и частого отсутствия цитоплазмы у клеток в мазке.

Как показано в табл. 3, группа больных с папиллярной карциномой демонстрировала максимальные значения маркера пролиферативной клеточной активности и минимальный процент Fas+ клеток. Статистический анализ показал достоверность отличий этой группы по показателям Fas от группы больных токсическим зобом.

Таблица 3

Экспрессия маркеров Ki67 и Fas, а также Z-индекса в тироцитах на материале ИГХ

Диагноз	Число случаев, n	Маркер (m; Me [Min; Max])		
		Fas (%)	Ki67 (кл в 10 п/з)	Z-индекс
Папиллярная карцинома	31	52,4; 60,5 [23,5; 65,0]	4,1; 3,3 [0,3; 9,5]	21,6; 17,2 [2,2; 50,0]
Токсический зоб	13	85,0; 84,5 [75,0; 96,0]	2,7; 2,8 [0,2; 5,2]	32,5; 22,9 [13,6; 25,9]
Аутоиммунный тиреоидит	5	82,3; 82,0 [74,0; 91,0]	4,6; 4,4 [3,9; 5,6]	15,1; 15,7 [11,2; 17,5]
Аденоматозный зоб	12	78,1; 78,8 [66,0; 89,0]	4,2; 4,0 [1,3; 7,7]	20,0; 20,5 [8,7; 30,2]

ОБСУЖДЕНИЕ ки масштаба аутоиммунного поражения ткани

В литературе встречаются исследования эффективности использования ИГХ маркеров для диагностики пролиферативной активности ткани щитовидной железы на основе экспрессии белков Ki67 (клон MIB-1), p53 (клон DO-7), Тиреоидного фактора транскрипции TTF-1 (клон 8G7G3/1), тиреоглобулина (клон DAK-Tg6) и их взаимосвязи с возможностью рецидива зоба после оперативного лечения [8]. Среди разновидностей биомаркеров, о которых говорится в литературе, Nector Battifora mesothelial-1 (HBME-1), galectin-3 (GAL-3), цитокератин 19 (CK19), Cbp/p300-взаимодействующий трансактиватор с насыщенным Glu/Asp-карбоксихонцевым доменом 1 (CIT-ED1) и TPO являются наиболее перспективными. Однако нет ни одного достаточно чувствительного маркера, чтобы обеспечить окончательную верификацию диагноза злокачественной неоплазии [9].

CD95 (Fas/APO-1) – трансмембранный белок 1-го типа, обнаруженный двумя группами исследователей как рецептор, передающий цитотоксический сигнал при связывании со специфическими антителами. CD95 экспрессируется в самых разнообразных клетках и тканях. CD95 и CD95L играют важную роль в основном в трех физиологических процессах, обеспечивающих апоптоз: 1) периферическое удаление активированных Т-клеток в конце иммунного ответа; 2) убивания целей, таких как зараженные вирусом клетки или раковые клетки при помощи цитотоксических Т-клеток и NK-клеток;

- 3) уничтожение воспалительных клеток в «иммунонаважных» структурах со сложными гисто-тканевыми барьерами, таких как глазное яблоко. CD95 и CD95L также причастны к патологическому подавлению иммунной реакции, а именно, к удалению специфически воздействующих на опухоль иммунных клеток в некоторых опухолях, которые интенсивно выделяют CD95L [10].

Как известно, у нормально функционирующих тиреоидных клеток экспрессия FasR на мембране незначительна, на фоне активной экспрессии FasL. Исследования С. Giordano и соавторов, указывают на то, что экспрессия FasL на тироцитах является обязательной. Вероятно, такой механизм защищает тиреоидную ткань от воздействия клеток собственной иммунной системы [11]. При аутоиммунных процессах в щитовидной железе на поверхности мембран тироцитов происходит повышение экспрессии FasR. В результате на эпителиальных клетках щитовидной железы одновременно экспрессируется большое количество молекул обоих видов (FasR и FasL) и аутокринное взаимодействие между ними индуцирует сигнал для включения генов запрограммированной гибели тироцитов [11]. Таким образом, определение количества FasR и FasL на мембране может быть полезным для оцен-

ки масштаба аутоиммунного поражения ткани щитовидной железы. Кроме того, недавние данные указывают на то, что оба CD95L и CD95 расположены во внутриклеточных депо [10].

Ряд исследований сообщили о том, что CD95 может быть использован в качестве положительных прогностических маркеров рака [12].

Было обнаружено снижение сывороточного FasR у онкологических больных, что по мнению авторов, вероятно, связано с блокадой экспрессии FasR стимуляторами опухолевого роста, которые защищают опухолевые клетки от развития в них процессов апоптоза. Это приводит к блокаде апоптоза, следствием которой является бесконтрольная пролиферация опухолевых клеток [12]. Таким образом, можно предположить, что критерием отличия клеток нормальной ткани щитовидной железы от клеток опухоли может быть количество FasR на мембранах этих клеток. В наших исследованиях мы получили данные, подтверждающие данную гипотезу и интересный статистически значимый новый материал для дальнейшей работы и внедрения в практику.

Неоднозначность полученных нами результатов можно объяснить наличием в выборке исключительно тяжелых форм заболеваний, для которых показано оперативное лечение, чем объясняется также преобладание пациентов с папиллярным раком. Тем не менее, мы заметили некоторую тенденцию в плане снижения экспрессии Fas-R тироцитами при онкопатологии. Пилотное исследование с иммуноцитохимией на пунктатах ткани щитовидной железы выявило некоторые недостатки данного метода, однако позволило нивелировать их, используя методику изготовления cell-block, которая позволяет сохранить больше клеток в неповрежденном виде. Кроме того, использование клеточных блоков позволяет меньше травмировать пациента и неоднократно возвращаться к полученному материалу для постановки дополнительных иммуногистохимических реакций.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссонанс между возможностью и удобством использования морфологических и ИГХ методов на догоспитальном этапе, а также отсутствие диагностически значимых критериев и дифференциальных маркеров, принципиально важных для выбора тактики оперативного лечения определяет актуальность и социальную значимость работы.

Изолированная оценка ИЦХ реакций с маркерами Fas или Ki67 на материале ТАПБ не является диагностически значимой. Однако, может быть использована в комплексе с цитологическими характеристиками мазка для прогностической оценки злокачественного потенциала новообразования. Так, низкие значения Fas и повышенные Ki67 на

2020, том 23, № 3

фоне отсутствия признаков аутоиммунного тиреоидита свидетельствует об активации неопластических процессов.

При наличии цитологических характеристик фолликулярной опухоли низкие показатели Fas и повышенные Ki67 сигнализируют о большей вероятности наличия фолликулярной карциномы.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что дальнейшее исследование выбранных маркеров перспективно в поисках достоверных признаков дифференциальной диагностики онкопатологии щитовидной железы.

Данная публикация является фрагментом научной работы, поддержанной программой развития ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского» и внутреннего гранта КФУ № АААА-А18-118112690030-2.

Благодарность. Работа выполнена при финансовой поддержке в рамках государственного задания № FZEG-2020-0060 Минобрнауки России в сфере научной деятельности темы «Алгоритмы молекулярно-генетической диагностики злокачественных новообразований и подходы к их таргетной терапии с применением клеточных и генетических технологий».

Acknowledgments. This work was financially supported by state task No FZEG-2020-0060 of the Russian Ministry of Science in the field of scientific research on the topic «Algorithms for molecular genetic diagnosis of malignant neoplasms and approaches to their targeted therapy using cellular and genetic technologies.»

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors have no conflict of interests to declare.

ЛИТЕРАТУРА

1. Feldkamp J., Führer D., Luster M., Musholt T. J., Spitzweg C., Schot M. Fine Needle Aspiration the Investigation of Thyroid Nodules. *Dtsch Arztebl Int.* 2016;113(20):353-359. doi:10.3238/arztebl.2016.0353.
2. Габаидзе Д. И., Ипполитов Л. И. Спорные вопросы в диагностике и хирургическом лечении пациентов с «фолликулярной неоплазией» щитовидной железы. *Head and neck/голова и шея.* 2019;(2):70-74. doi: 10.25792/HN.2019.7.2.70-74.
3. Михайлова М. В., Зубаровский И. Н., Осипенко С. К. Диагностическая и лечебная тактика при «фолликулярной опухоли» щитовидной железы. *Вестн. хирургии им. И.И.Грекова.* 2015;(2): 77-80. doi.org/10.24884/0042-4625-2015-174-2-77-80.
4. Орлинская Н. Ю., Хмельницкая Н. М., Федоров А. А., Бедерина Е. Л. Клинико-морфологическая и иммуногистохимическая характеристика фолликулярных опухолей щитовидной железы. *Медицинский альманах.* 2015;2(37):135-138.

5. Vargas-Pinto S., Minerva A., Arenas R. Lobectomy Compared to Total Thyroidectomy for Low-Risk Papillary Thyroid Cancer: A Systematic Review. *Journal of Surgical Research.* 2019;(242):244-251. doi.org/10.1016/j.jss.2019.04.036.

6. Ahmed S. A., Basha M. A., Elshafie S. M. 1870P - Thyroid lobectomy versus total thyroidectomy among early-stage papillary thyroid carcinoma patient. *Annals of Oncology.* 2019;(30):758. doi.org/10.1093/annonc/mdz267.007.

7. Chernock R. D. Immunohistochemistry of thyroid gland carcinomas: clinical utility and diagnostic pitfalls. *Diagnostic Histopathology.* 2016;22(5):184-190. doi.org/10.1016/j.mpdhp.2016.04.008

8. Стяжкина С. Н., Порываева Е. Л., Климентов М. Н., Леднева А. В. Возможности иммуногистохимического исследования для оценки пролиферативной активности ткани щитовидной железы. *Современные проблемы науки и образования.* 2017;(2):21.

9. Калмин О. В., Чаиркин И. И., Калмин О. О., Иммуногистохимическое исследование фолликулярных опухолей щитовидной железы. *Известия высших учебных заведений.* 2017;1(41):28-38.

10. Peter M. E., Hadji A., Murmann A. E., Brockway S., Putzbach W., Pattanayak A., Ceppi P. The role of CD95 and CD95 ligand in cancer. *Cell Death Differ.* 2015;22(5):885-886. doi:10.1038/cdd.2015.3.

11. Гельцер Б. И., Здор В. В., Котельников В. Н. Эволюция взглядов на патогенез аутоиммунных заболеваний щитовидной железы и перспективы их таргетной терапии. *Клиническая медицина.* 2017;(6): 524-534.

12. Cruz A.C., Ramaswamy M., Ouyang C., Klebanoff C. A., Sengupta P., Yamamoto T. N., Meylan F., Thomas S. K., Richoz N., Eil R., Price S., Casellas R., Rao V. K., Lippincott-Schwartz J., Restifo N. P., Siegel R. M. Fas/CD95 prevents autoimmunity independently of lipid raft localization and efficient apoptosis induction. *Nat Commun.* 2016;(7):13895. doi:10.1038/ncomms13895.

13. Воробьев С. Л. Морфологическая диагностика заболеваний щитовидной железы (цитология для патологов, патология для цитологов). СПб.: Издательско-полиграфическая компания «КОСТА»; 2014.

REFERENCES

1. Feldkamp J., Führer D., Luster M., Musholt T. J., Spitzweg C., Schot M. Fine Needle Aspiration the Investigation of Thyroid Nodules. *Dtsch Arztebl Int.* 2016;113(20):353-359. doi:10.3238/arztebl.2016.0353.
2. Gabaidze D. I., Ippolitov L. I. Controversial issues in the diagnosis and surgical treatment of patients with «follicular neoplasia» of the thyroid gland. *Head and neck / head and neck.* 2019;(2):70-74. doi: 10.25792/HN.2019.7.2.70-74. (In Russ.).

3. Mikhailova M. V., Zubarovskiy I. N., Osipenko S. K. Diagnostic and therapeutic tactics for a «follicular tumor» of the thyroid gland. *Vestn. surgery them. I.I. Grekova*. 2015;(2): 77-80. doi.org/10.24884/0042-4625-2015-174-2-77-80. (2). (In Russ.)
4. Orlynskaya N. Y., Khmel'nitskaya N. M., Fedorov A. A., Bederina E. L. Clinical, morphological and immunohistochemical characteristics of follicular thyroid tumors. *Medical almanac*. 2015;2(37):135-138. (In Russ.).
5. Vargas-Pinto S., Minerva A., Arenas R. Lobectomy Compared to Total Thyroidectomy for Low-Risk Papillary Thyroid Cancer: A Systematic Review. *Journal of Surgical Research*. 2019;(242):244-251. doi.org/10.1016/j.jss.2019.04.036.
6. Ahmed S. A., Basha M. A., Elshafie S. M. 1870P - Thyroid lobectomy versus total thyroidectomy among early-stage papillary thyroid carcinoma patient. *Annals of Oncology*. 2019;(30):758. doi.org/10.1093/annonc/mdz267.007.
7. Chernock R. D. Immunohistochemistry of thyroid gland carcinomas: clinical utility and diagnostic pitfalls. *Diagnostic Histopathology*. 2016;22(5):184-190. doi.org/10.1016/j.mpdhp.2016.04.008. (In Russ)
8. Styazhkina S. N., Poryvaeva E. L., Klimentov M. N., Ledneva A. V. Possibilities of immunohistochemical studies to assess the proliferative activity of thyroid tissue. *Modern problems of science and education*. 2017;(2):21. (In Russ.)
9. Kalmin O. V., Chairkin I. I., Kalmin O. O., Immunohistochemical study of follicular tumors of the thyroid gland. *News of higher educational institutions*. 2017;1(41):28-38. (In Russ.)
10. Peter M. E., Hadji A., Murmann A. E., Brockway S., Putzbach W., Pattanayak A., Ceppi P. The role of CD95 and CD95 ligand in cancer. *Cell Death Differ*. 2015;22(5):885-886. doi:10.1038/cdd.2015.3.
11. Geltzer B. I., Zdor V. V., Kotelnikov V. N. The evolution of views on the pathogenesis of autoimmune diseases of the thyroid gland and the prospects for their targeted therapy. *Clinical medicine*. 2017;(6): 524-534. (In Russ.)
12. Cruz A. C., Ramaswamy M., Ouyang C., Klebanoff C.A., Sengupta P., Yamamoto T. N., Meylan F., Thomas S. K., Richoz N., Eil R., Price S., Casellas R., Rao V. K., Lippincott-Schwartz J., Restifo N. P., Siegel R. M. Fas/CD95 prevents autoimmunity independently of lipid raft localization and efficient apoptosis induction. *Nat Commun*. 2016;(7):13895. doi:10.1038/ncomms13895.
13. Vorob'ev S. L. Morphological diagnostics of thyroid diseases (cytology for pathologists, pathology for cytologists). SPb.: Publishing and printing company «КОСТА»; 2014.

