

Иванов А.А.<sup>1</sup>, Авдалян А.М.<sup>1</sup>, Лушникова Е.Л.<sup>3</sup>, Молодых О.П.<sup>3</sup>, Зоркина Ю.Н.<sup>2</sup>, Круглова Н.М.<sup>1</sup>, Лазарев А.Ф.<sup>1,4</sup>

## ИНДЕКС Ki-67 И ТИП ЭКСПРЕССИИ HSP70 В ФОРМИРОВАНИИ ПРОГНОСТИЧЕСКИХ ГРУПП ПАЦИЕНТОВ С ПАПИЛЛЯРНЫМ РАКОМ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

<sup>1</sup>Алтайский филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 656049, г. Барнаул, Россия;

<sup>2</sup>КГБУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер», 656043, Барнаул, Россия;

<sup>3</sup>ФГБНУ «Институт молекулярной патологии и патоморфологии», 630117, г. Новосибирск, Россия;

<sup>4</sup>ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, 656038, г. Барнаул, Россия

*Целью работы стало определение возможности стратификации пациентов с папиллярным раком щитовидной железы (ПРЩЖ) на группы прогноза в зависимости от индекса Ki-67 и типа экспрессии HSP70. В исследование включили 89 пациентов с ПРЩЖ, у которых известен прогноз на 2005–2017 гг., пролеченных в Алтайском краевом онкологическом диспансере и перенёвших операцию по поводу ПРЩЖ в 2005–2013 гг. Иммуногистохимическое исследование проводили с антителами Ki-67 (клон MIB-1, «ДАКО») и HSP70 (W27 «Diagnostic BioSystems») на слайдере Ventana XT по стандартным протоколам. Для стандартизации исследования использовался метод тканевых матриц.*

*Различные варианты ПРЩЖ в зависимости от уровня экспрессии Ki-67 в сочетании с типом реакции HSP70 позволили выделить 3 группы прогноза ПРЩЖ. В группу благоприятного прогноза были включены пациенты, образцы у которых имели цитоплазматический тип реакции HSP70 и Ki-67 < 6,3%, смешанный тип реакции HSP70 и Ki-67 < 6,3%, цитоплазматический тип реакции HSP70 и Ki-67 > 6,3%. Группу промежуточного прогноза составили пациенты с опухолями со смешанным типом реакции HSP70 и Ki-67 > 6,3%, с ядерным типом реакции HSP70 и Ki-67 < 6,3%. В группу неблагоприятного прогноза входили больные с ядерным типом реакции HSP70 и Ki-67 > 6,3%.*

*10-летняя выживаемость в группе благоприятного прогноза составила  $89,6 \pm 3,5\%$ , в группе промежуточного прогноза –  $45 \pm 14,5\%$ , в группе неблагоприятного прогноза ни один пациент не переживает отметку в 6 лет.*

**Ключевые слова:** папиллярный рак щитовидной железы; экспрессия Ki-67; HSP70; прогноз.

**Для цитирования:** Иванов А.А., Авдалян А.М., Лушникова Е.Л., Молодых О.П., Зоркина Ю.Н., Круглова Н.М., Лазарев А.Ф. Индекс Ki-67 и тип экспрессии HSP70 в формировании прогностических групп пациентов с папиллярным раком щитовидной железы. *Российский онкологический журнал*. 2018; 23 (2): 90–95. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1028-9984-2018-23-2-90-95>

**Для корреспонденции:** Иванов Анатолий Акимович, научный сотрудник лаборатории исследований молекулярно-генетических характеристик опухолей; 656049, г. Барнаул, ул. Никитина, д. 77. E-mail: Anatolij0199@yandex.ru.

Ivanov A.A.<sup>1</sup>, Avdalyan A.M.<sup>1</sup>, Lushnikova E.L.<sup>3</sup>, Molodykh O.P.<sup>3</sup>, Zorkina Yu.N.<sup>2</sup>, Kruglova N.M.<sup>1</sup>, Lazarev A.F.<sup>1,4</sup>

## KI-67 INDEX AND TYPE OF HSP70 EXPRESSION IN THE FORMATION OF PROGNOSTIC GROUPS OF PATIENTS WITH PAPILLARY THYROID CANCER

<sup>1</sup>Altai branch of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Barnaul, 656049, Russian Federation;

<sup>2</sup>Altai Oncology Center, Barnaul, 656043, Russian Federation;

<sup>3</sup>Institute of Molecular Pathology and Pathomorphology, Novosibirsk, 630117, Russian Federation;

<sup>4</sup>Altai State Medical University, Barnaul, 656038, Russian Federation

*The aim of our work was to determine the possibility of stratification of papillary thyroid cancer (PTC) patients into prognosis groups depending on the Ki-67 index and the type of HSP70 expression. The study included 89 patients with a known prognosis for the period of 2005–2017, treated for PTC over the period of 2005–2013. The immunohistochemical study was carried out with Ki-67 and HSP70 antibodies on the Ventana XT Steiner device using standard protocols. The method of tissue matrices was used to standardize the study.*

*Different variants of PTC, depending on the level of Ki-67 expression in combination with the HSP70 response allowed identifying 3 groups of PTC prognosis. The favorable prognosis group included patients with samples with cytoplasmic type of HSP70 expression and Ki-67 response < 6.3%, with mixed type of HSP70 expression and Ki-67 response < 6.3%, with cytoplasmic HSP70 expression and Ki-67 response > 6.3%. The intermediate prognosis group consisted of patients with tumors with mixed type of HSP70 expression and Ki-67 response > 6.3%, with nuclear HSP70 expression and Ki-67 response < 6.3%. The group of poor prognosis included patients with nuclear HSP70 expression and Ki-67 response > 6.3%.*

*In the group of favorable prognosis, the 10-year survival rate was  $89.6 \pm 3.5\%$ . In the intermediate prognosis group, the 10-year survival rate was  $45 \pm 14.5\%$  and in the unfavorable prognosis group, no patient survives 6 years.*

**Key words:** papillary thyroid carcinoma; Ki-67 expression; HSP70; survival.

**For citation:** Ivanov A.A., Avdalyan A.M., Lushnikova E.L., Molodykh O.P., Zorkina Yu.N., Kruglova N.M., Lazarev A.F. Ki-67 index and type of HSP70 expression in the formation of prognostic groups of patients with papillary thyroid cancer. *Rossiiskii onkologicheskii zhurnal. (Russian Journal of Oncology)*. 2018; 23 (2): 90–95. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1028-9984-2018-23-2-90-95>.

**For correspondence:** *Anatoliy A. Ivanov*, MD, researcher of the Laboratory of molecular genetic characteristics of tumors; Barnaul, 656049, Russian Federation. E-mail: [Anatolij0199@yandex.ru](mailto:Anatolij0199@yandex.ru).

**Information about authors:**

Ivanov A.A., <http://orcid.org/0000-0001-5040-8854>  
 Avdalyan A.M., <http://orcid.org/0000-0002-2229-1713>  
 Lushnikova E.L., <http://orcid.org/0000-0003-3283-7932>  
 Molodykh O.P., <http://orcid.org/0000-0002-1001-3310>  
 Zorkina Yu.N., <http://orcid.org/0000-0003-3793-1549>  
 Kruglova N.M., <http://orcid.org/0000-0002-0032-1715>  
 Lazarev A.F., <http://orcid.org/0000-0003-1080-5294>

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Acknowledgment.** The study had no sponsorship.

Received 07 March 2018

Accepted 29 March 2018

У пациентов Алтайского края папиллярный рак щитовидной железы (ПРЩЖ) является основным морфологическим вариантом рака щитовидной железы (РЩЖ), составляя 71% от числа диагностированных случаев [1]. Чаще всего ПРЩЖ имеет благоприятный прогноз [2]. Однако папиллярные карциномы щитовидной железы отличаются клинико-морфологической неоднородностью. В связи с этим в 10–15% случаев ПРЩЖ, по данным различных авторов, заболевание отличается агрессивным течением с ранними метастазами и высоким показателем смертности [3]. При этом смерть от РЩЖ занимает 1% в структуре смертности онкологических пациентов [4]. Общепринято, что главными факторами прогноза, влияющими на продолжительность жизни оперированных больных ПРЩЖ, являются клинико-морфологические параметры опухоли. Международная классификация по системе TNM несовершенна в плане прогнозирования течения заболевания, так как в один и тот же показатель включаются большие ПРЩЖ, неоднородные по другим параметрам, имеющим прогностическое значение. Поэтому часто после хирургического лечения больных ПРЩЖ, однородных по системе TNM, у одних наблюдается выздоровление, а у других происходит прогрессирование и рецидивирование болезни. Следовательно, актуальным является исследование фундаментальных молекулярно-биологических параметров, определяющих как прогноз, так и показателя для последующей радиойодтерапии и направленной таргетной терапии ПРЩЖ. Поэтому необходимо выработать определённый алгоритм для прогнозирования течения данного заболевания, учитывая не только давно уже известные факторы неблагоприятного прогноза, такие как мужской пол, возраст старше 40 лет, размер опухоли более 4 см, прорастание капсулы железы и наличие отдалённых метастазов, но и молекулярные особенности опухоли [2].

Использование иммуногистохимических (ИГХ) исследований, базированных на изучении пролиферативной активности (ПА) и апоптоза, позволяет при ряде онкологических заболеваний, таких как рак молочной железы, рак лёгкого, колоректальный рак, оценить злокачественный потенциал рака с дальнейшим выделением молекулярных типов опухоли. При ПРЩЖ первые попытки использования оценки пролиферативного потенциала и апоптоза привели исследователей к неоднозначным выводам.

Для оценки ПА распространённым и доступным методом является ИГХ-измерение уровня экспрессии Ki-67. ПРЩЖ, как правило, характеризуется низким индексом Ki-67 [5, 6].

Попытки изучения экспрессии Ki-67 при ПРЩЖ во взаимосвязи с некоторыми параметрами уже были предприняты рядом исследователей. Индекс метки (ИМ) Ki-67 выше в клинически агрессивных случаях рака, хотя М. Rapotti и соавт. (1996 г.) не получили доказательств существования статистически значимых различий в этих случаях [7]. Т.Е. Свиридова и соавт. (2002 г.), Д.С. Ланцов (2006 г.) пришли к выводу о взаимосвязи между уровнем экспрессии Ki-67 и размерами опухоли [6, 8]. Y. Ito и соавт. (2005 г.) [9] установили, что папиллярные микрокарциномы (МК) с клинически определяемыми метастазами имеют более высокую ПА и меньший безрецидивный промежуток при сопоставлении с МК без таковых или с наличием оккультных метастазов. Нельзя не учитывать тот факт, что в фолликулярном варианте ПРЩЖ по большей части встречаются относительно высокие показатели экспрессии Ki-67, тогда как в варианте из высоких клеток ИМ Ki-67 низок, что указывает на определённую спорность оценки злокачественного потенциала ПРЩЖ только по уровню экспрессии Ki-67 [6, 10]. Некоторые исследователи утверждают, что ИМ Ki-67 может не всегда совпадать с клиническими проявлениями опухоли, иногда при низкой экспрессии Ki-67 опухоль показывает в значительной степени более агрессивное течение, чем аналогичная опухоль с более высоким уровнем Ki-67 [11].

Влияние и связь белка теплового шока 70 (HSP70) с целым рядом клинико-морфологических параметров ПРЩЖ остаются неизученными. С точки зрения мирового научного сообщества считается, что одним из весомых факторов в осуществлении разрывного трансмембранного митохондриального потенциала, влияющих на апоптоз, является HSP70 [12]. Значение HSP70 в осуществлении контроля клеточной пролиферации и дифференцировки координировано с функцией молекулярных шаперонов, регуляцией белкового синтеза, с продукцией, доставкой, стабилизацией или, напротив, протеолизом ядерных белков, взаимосвязанных с контролем клеточного цикла, таких как p53 [13, 14]. Однако на данный момент прогностическая и предиктивная значимость экспрессии молекулярного шаперона HSP70 при ПРЩЖ не изучена.

Целью данного исследования стало определение возможности стратификации пациентов с ПРЩЖ на группы прогноза в зависимости от индекса экспрессии Ki-67 и локализации молекулярного шаперона HSP70 в опухолевой клетке.

**Материал и методы**

В работу включили 89 больных ПРЩЖ с известным прогнозом на 2005–2017 гг., пролеченных

в КГБУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер» и перенёсших операцию по поводу ПРЦЖ в 2005–2013 гг. Исследование материала выполнено на базе лаборатории молекулярной диагностики Алтайского филиала ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России и на базе КГБУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер».

Информация о выживаемости пациентов получена из канцер-регистра Алтайского краевого онкологического диспансера. Основная суть работы заключается в специфической выборке больных для исследования, состоящей из значимого пула ретроспективно исследованных пациентов, умерших от прогрессирования ПРЦЖ. За данный период прооперировано 3101 больной, из них умерли по причине прогрессирования болезни 35 пациентов, 25 из которых были включены в исследование.

Средний возраст больных ПРЦЖ составил  $50,4 \pm 13,9$  года (17–78 лет), 66% пациентов были в возрасте 30–60 лет. Большинство – 77 (87%) больных были женского пола, мужчин – 12 (13%) человек. Не выявлено различий полового состава, связанных с возрастом больных. У больных женского пола преобладающим гистопатологическим типом ПРЦЖ был классический (66%), у мужчин с равной частотой (по 33%) встречались фолликулярный и классический вариант. В большинстве (2/3) случаев объём операции соответствовал тиреоидэктомии, в остальных (1/3) случаях – гемитиреоидэктомии. Расширение объёма операции за счёт иссечения паратрахеальной клетчатки, фасциально-фулярного иссечения клетчатки шеи или операции Крайля зависело от распространённости процесса. Предоперационная и постоперационная химиолучевая терапия не проводилась. Случаи, в которых лечение ПРЦЖ осуществлялось с помощью использования радиоактивного йода, исключили из исследования в связи с нерепрезентативностью малой выборки. Случаи с первично-множественными опухолями также были исключены из исследования. Клинико-морфологические параметры и стадия заболевания определены согласно классификации TNM (7-е издание, 2010 г.).

Материалом для анализа послужила операционная ткань, фиксированная в 10%-ном нейтральном забуференном формалине в течение 6–24 ч и заключённая в парафин. С парафиновых блоков выполняли срезы толщиной 4 мкм, которые размещали на предметном стекле и окрашивали с помощью гематоксилина и эозина в автостейнере. Под оптическим микроскопом исследовали ткань опухоли для выявления общей морфологической картины, определения гистогенеза и степени гистологической дифференцировки опухоли. Далее выполняли ИГХ-исследование, которое проводили с антителами Ki-67 (клон М1В-1, «DAKO») и HSP70 (W27 «Diagnostic BioSystems») на стейнере Ventana XT по стандартным протоколам. Для стандартизации исследования использовался метод тканевых матриц (столбики 2 мм).

Для оценки клинико-морфологических параметров и прогноза для индекса Ki-67 использовали пороговую величину 6,3%, представляющую собой среднее арифметическое показателя маркера в нашей выборке. Анализ выживаемости выполняли с помощью метода Каплана–Мейера, многофакторный анализ проводили по Коксу с определением ряда статистических предикторов для многофакторных и моновариантных

систем просчёта с уровнем безошибочного суждения 95% для непараметрических систем анализа. Статистически достоверным считался уровень ошибки  $p \leq 0,05$  и  $t \geq 2$ . Для статистической обработки данных использовали программу Statistica v. 10.

## Результаты и обсуждение

Уровень ПА в образцах нашей работы имел достаточно высокий разброс, и средняя величина экспрессии Ki-67 составила  $6,3 \pm 0,9\%$ . По данным разных авторов, индекс ПА при РЦЖ в зависимости от дифференцировки ткани также изменялся в широком диапазоне – от 0,2 до 52% [15–17] (рис. 1, см. 4-ю полосу вклейки).

При анализе взаимосвязи уровня экспрессии Ki-67 с полом было выявлено, что уровень ПА у мужчин был статистически значимо выше и составил  $13,8 \pm 3,6\%$ , у женщин –  $5,1 \pm 0,8\%$  ( $p < 0,000$ ). Отмечалось статистически значимое увеличение ИМ Ki-67 у больных с IV стадией заболевания по сравнению с I стадией ( $p = 0,029$ ). Индекс Ki-67 у пациентов с размером узла  $\geq 1,99$  см был статистически значимо выше, чем при узле размером  $< 1,99$  см, и составил  $12,2 \pm 2,8$  против  $4,0 \pm 0,5$  ( $p = 0,008$ ). Возраст пациентов, показатель T по TNM, инвазия опухоли капсулы железы и окружающих мягких тканей, наличие метастазов в регионарных лимфоузлах, вариант ПРЦЖ статистически не были связаны с уровнем экспрессии Ki-67 ( $p > 0,05$ ).

Молекулярный шаперон HSP70 блокирует каспазо-зависимый путь апоптоза, поэтому изучение данного маркера является достаточно важным во взаимосвязи не только с клиническими, но и с морфологическими характеристиками отвечающих за апоптоз и ПА клеток. При проведении ИГХ-реакции с антителом HSP70 (клон W27) на ткани ПРЦЖ можно было проследить различные типы реакции: цитоплазматическую, смешанную, ядерную, ядрышковую и ядерно-ядрышковую (рис. 2, см. 4-ю полосу вклейки).

Статистическая обработка полученных данных показала отсутствие достоверных различий в группах опухолей с ядерной, ядерно-ядрышковой и ядрышковой реакцией по сравниваемым параметрам, поэтому было принято решение объединить эти группы в одну. При анализе взаимосвязи типа реакции молекулярного шаперона HSP70 с возрастом пациентов выявлено статистически достоверное увеличение возраста больных в группе с ядерной реакцией HSP70 (ядерная, ядерно-ядрышковая и ядрышковая) в отличие от смешанной и цитоплазматической ( $p = 0,000$ ). Анализ взаимосвязи типа реакции молекулярного шаперона HSP70 с полом, размером узла и наличием метастазов в регионарных лимфоузлах не выявил статистически значимых закономерностей ( $p > 0,05$ ).

Общая 10-летняя выживаемость больных ПРЦЖ в нашей выборке составила  $71,9 \pm 4,9\%$ . (рис. 3). Безусловно, низкая выживаемость в нашей выборке обусловлена заведомо специальной стратификацией пациентов, характеризующейся высокой долей больных с агрессивными процессами, у 25 из которых болезнь закончилась летально. Реальная общая 10-летняя выживаемость среди пациентов КГБУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер» с ПРЦЖ составляет  $98,9 \pm 1,0\%$ .

При анализе 10-летней выживаемости во взаимосвязи с уровнем экспрессии Ki-67 были получены

интересные данные. Так, в группе с Ki-67 < 6,3% 10-летняя выживаемость составила 80,9 ± 4,5%, а в группе с Ki-67 > 6,3% – всего 36,8 ± 21,5% (табл. 1; рис. 4).

Наши результаты совпадают с данными исследований, в которых были обнаружены корреляционные связи высокого уровня индекса Ki-67 с неблагоприятным прогнозом [18, 19]. В работе Y. Ito и соавт. у пациентов с ПРЦЖ и уровнем экспрессии Ki-67 > 3% выживаемость была достоверно ниже, чем в группе пациентов с Ki-67 < 3% ( $p < 0,0001$ ) [18]. Вместе с тем ряд авторов не разделяют мнение о прогностической значимости индекса экспрессии Ki-67 и связи его с патоморфологическими параметрами [17].

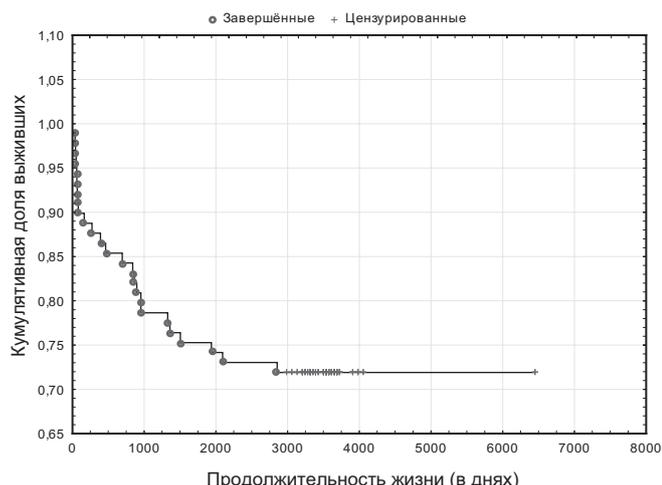


Рис. 3. График общей кумулятивной 10-летней выживаемости по Каплану–Мейеру.

Таблица 1

**10-летняя выживаемость больных ПРЦЖ в зависимости от индекса Ki-67**

Показатель	10-летняя выживаемость	Z, p
Ki-67 < 6,3%	80,9 ± 4,5% (55 из 68)	Z = 3,617084
Ki-67 > 6,3%	36,8 ± 21,5% (7 из 19)	p = 0,00024*

Примечание. \* – различия статистически значимы.

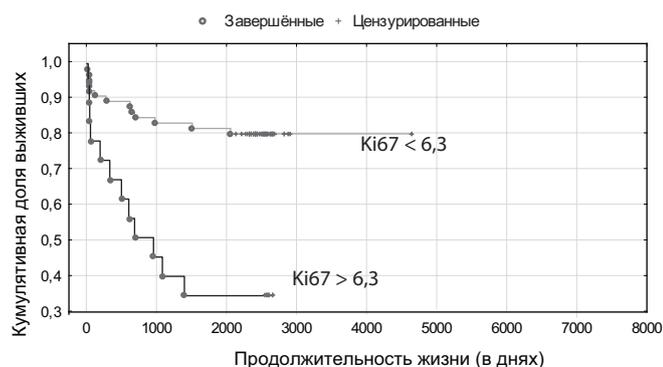


Рис. 4. Анализ 10-летней выживаемости больных ПРЦЖ по Каплану–Мейеру в зависимости от индекса Ki-67.

Таблица 2

**10-летняя выживаемость больных ПРЦЖ в зависимости от типа экспрессии HSP70**

Реакция	10-летняя выживаемость	p, $\chi^2$
Ядерная	17,6 ± 5,9% (3 из 17)	$p = 0,00000^*$ $\chi^2 = 33,0$
Смешанная	79,4 ± 5,1% (27 из 34)	
Цитоплазматическая	91,4 ± 3,6% (32 из 35)	

Примечание. \* – различия статистически значимы.

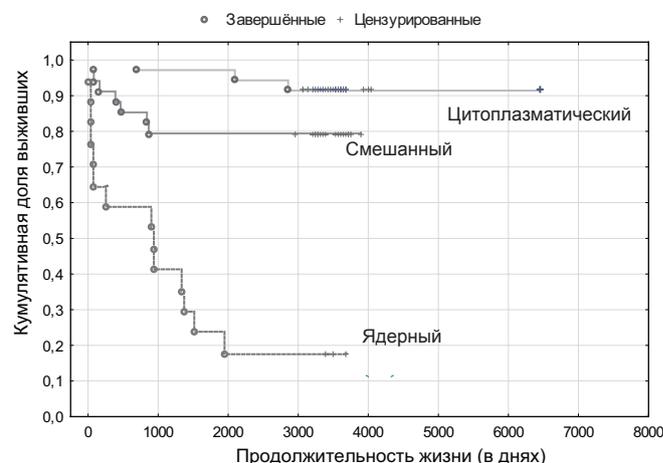


Рис. 5. Анализ 10-летней выживаемости больных ПРЦЖ по Каплану–Мейеру в зависимости от типа экспрессии HSP70.

Таблица 3

**Группы пациентов в зависимости индекса Ki-67 и типа экспрессии HSP70**

Группа	Характеристика
I	С цитоплазматическим типом реакции HSP70 и Ki-67 < 6,3%
II	Со смешанным типом реакции HSP70 и Ki-67 < 6,3%
III	С ядерным типом реакции HSP70 и Ki-67 < 6,3%
IV	С цитоплазматическим типом реакции HSP70 и Ki-67 > 6,3%
V	Со смешанным типом реакции HSP70 и Ki-67 > 6,3%
VI	С ядерным типом реакции HSP70 и Ki-67 > 6,3%

Достаточно интересным и убедительным со статистической точки зрения оказался анализ взаимосвязи 10-летней выживаемости с типом реакции молекулярного шаперона HSP70. Так, в группе с ядерной реакцией, куда были отнесены 3 типа реакции (ядерная, ядрышковая и ядерно-ядрышковая), 10-летняя выживаемость составила всего 17,6 ± 5,9%, в группе со смешанной реакцией – 79,4 ± 5,1%, а в группе с цитоплазматической реакцией – 91,4 ± 3,6% (табл. 2; рис. 5).

В связи с наличием статистически достоверных различий между уровнем Ki-67 в группах больных с высокой и низкой выживаемостью, а также корреляции типа экспрессии HSP70 с 10-летней выживаемостью, было принято решение исследовать выживаемость в зависимости от коэкспрессии данных маркеров. Для этого всех пациентов разделили на 6 групп в зависимости от параметров, характеризующих их молекулярные особенности (табл. 3).

Таблица 4

**Клинико-морфологические и биомолекулярные маркёры в прогнозе ПРЦЖ**

Маркёр	$\chi^2$	<i>p</i>
Индекс Ki-67 (относительно уровня 6,3%)	12,4	0,00044*
Тип экспрессии HSP70 (цитоплазматический, смешанный, ядерный)	33,0	0,00000*
Группа прогноза (благоприятная, промежуточная, неблагоприятная)	33,7	0,00000*

Примечание. \* – различия статистически значимы.

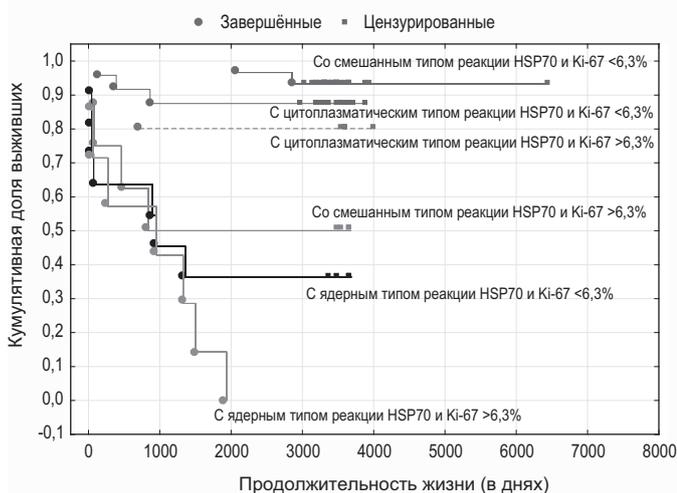


Рис. 6. Анализ 10-летней выживаемости больных ПРЦЖ по Каплану–Мейеру в зависимости от индекса Ki-67 и типа экспрессии HSP70.

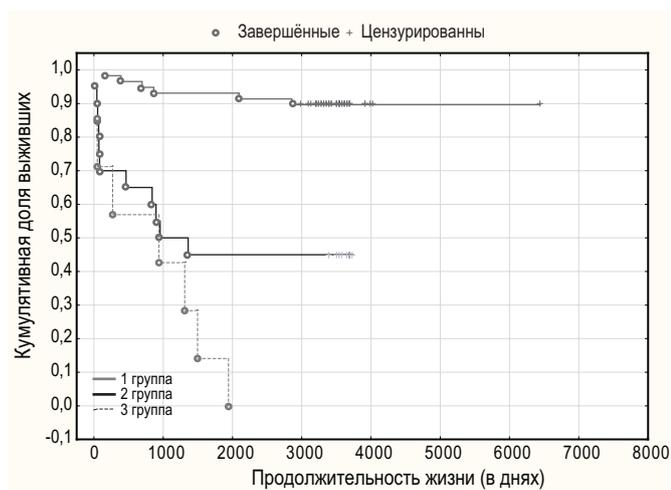


Рис. 7. Анализ 10-летней выживаемости больных ПРЦЖ по Каплану–Мейеру в зависимости от группы прогноза.

В I группе 10-летняя выживаемость составила  $93,33 \pm 2,6\%$ , во II группе –  $87,5 \pm 3,4\%$ , в III группе –  $36,3 \pm 6,6\%$ , в IV группе –  $80,0 \pm 4,4\%$ , в V группе –  $50,0 \pm 5,4\%$ , в VI группе –  $0\%$  (рис. 6).

Достоверных различий 10-летней выживаемости в I, II и IV группе нами не обнаружено ( $p = 0,51629$ ). Также не было статистически значимых различий 10-летней выживаемости в III и V группе ( $p = 0,58525$ ). Таким образом, оптимальным со статистической точки зрения оказался формат объединения 6 вышеперечисленных групп в 3 группы. Такое распределение на 3 группы легко объясняется тем, что рост ПА связан с апоптотической и антиапоптотической активностью, а также накоплением канцерогенного стресса. Белки теплового шока появляются на пороге блокирования активности каспаз, и чем активнее они мигрируют из цитоплазмы в ядро, тем сильнее их связь с процессами пролиферации и апоптоза.

В первую группу включили пациентов, образцы у которых имели цитоплазматический тип реакции HSP70 и Ki-67 < 6,3%, смешанный тип реакции HSP70 и

Ki-67 < 6,3%, цитоплазматический тип реакции HSP70 и Ki-67 > 6,3%. Во вторую группу объединили больных с опухолями со смешанным типом реакции HSP70 и Ki-67 > 6,3%, с ядерным типом реакции HSP70 и Ki-67 < 6,3%. В третью группу вошли пациенты с ядерным типом реакции HSP70 и Ki-67 > 6,3%.

При исследовании 10-летней выживаемости в 3 группах прогноза мы получили интересные данные. В первой группе 10-летняя выживаемость составила  $89,6 \pm 3,5\%$ , во второй группе  $45 \pm 14,5\%$ , в третьей группе ни один пациент не пережил рубеж 6 лет (рис. 7).

Таким образом, нам удалось выделить 3 различные группы больных ПРЦЖ в зависимости от ко-экспрессии Ki-67 и HSP70: группу благоприятного прогноза, группу промежуточного прогноза и группу неблагоприятного прогноза.

Многофакторный анализ выживаемости по Коксу дал возможность выделить независимый прогностический критерий. Им стал биомолекулярный критерий, объединивший такие параметры, как индекс Ki-67 и тип реакции HSP70 (табл. 4).

Таким образом, мы показали, что существует возможность дополнения существующих систем прогноза ПРЦЖ, таких как TNM, AGES (возраст, степень дифференцировки, экстрагистоеидное распространение и размер опухоли), AMES (возраст, метастазы, экстрагистоеидное распространение и размер опухоли) и MACIS (метастазы, возраст, радикальность хирургического вмешательства, инвазивные свойства и размер опухоли), новыми важными ИГХ-параметрами. Данный подход может существенно перераспределить потоки пациентов по типу и объёму проводимого лечения и, как следствие, снизить риски рецидива и осложнений после проведённой терапии.

**Выводы**

1. Анализ различных вариантов ПРЦЖ в зависимости от уровня экспрессии Ki-67 в сочетании с типом реакции HSP70 позволил выделить 3 группы прогноза ПРЦЖ. В группу благоприятного прогноза были включены пациенты, у которых образцы имели цитоплазматический тип реакции HSP70 и Ki-67 < 6,3%, смешанный тип реакции HSP70 и Ki-67 < 6,3%, цитоплазматический тип реакции HSP70 и Ki-67 > 6,3%. Группу промежуточного прогноза составили пациенты с опухолями со смешанным типом реакции HSP70 и Ki-67 > 6,3%, с ядерным типом реакции HSP70 и Ki-67 < 6,3%. В группу неблагоприятного прогноза входили больные с ядерным типом реакции HSP70 и Ki-67 > 6,3%.

2. В группе благоприятного прогноза 10-летняя выживаемость составила  $89,6 \pm 3,5\%$ , в группе промежуточного прогноза –  $45 \pm 14,5\%$ , а в группе неблагоприятного прогноза ни один пациент не переживает отметку в 6 лет.
3. При многофакторном анализе выживаемости больных ПРЩЖ независимым фактором прогноза является группа прогноза (благоприятный, промежуточный, неблагоприятный). В этом случае  $\chi^2 = 33,7$  при  $p \leq 0,00000$ .

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

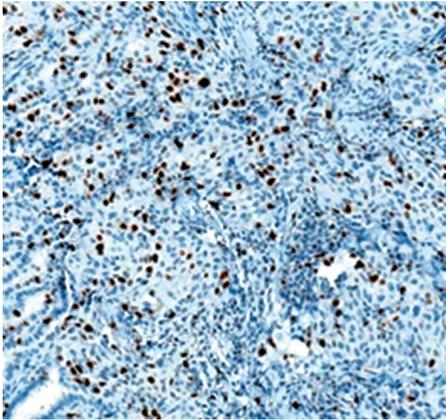
**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

## ЛИТЕРАТУРА

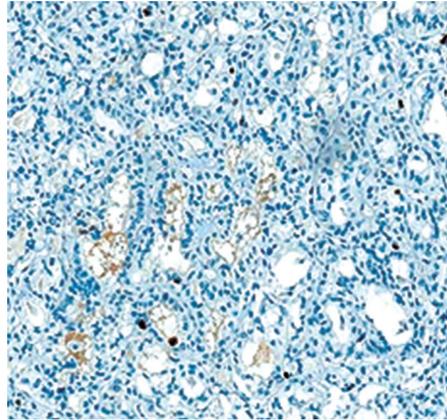
1. Гервальд В.Я., Климачев В.В., Иванов А.А., Рагулина В.Д., Авдальян А.М., Бобров И.П., Лазарев А.Ф. Рак щитовидной железы. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2014; 8-3: 17–8.
2. Иванов А.А., Авдальян А.М., Гервальд В.Я., Лушников Е.Л., Зоркина Ю.Н., Круглова Н.М., Лазарев А.Ф. Молекулярные типы в прогнозе папиллярного рака щитовидной железы на основе анализа статуса BRAF V600E и индекса экспрессии Ki-67. *Российский онкологический журнал*. 2017; 22(4): 188–93.
3. Шкурко О.А. Клинико-морфологические и иммуногистохимические факторы прогноза при папиллярном раке щитовидной железы. *Вопросы онкологии*. 2008; 54(1): 19–24.
4. Тимофеева Л.А., Алёшина Т.Н. Применение системы TI-RADS в дифференциальной диагностике рака щитовидной железы. *Казанский медицинский журнал*. 2017; 98(4): 632–6.
5. Пальцев М.А., Коган Е.А., Тунцова О.И. Иммуногистохимия биомолекулярных маркеров раннего рака щитовидной железы. *Архив патологии*. 1997; 59(6): 18–23.
6. 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; 64(6): 19–23.
7. Papotti M., Torchio B., Grassi L., Favero A., Bussolati G. Poorly differentiated oxyphilic (Hurtle cell) carcinomas of the thyroid. *Am. J. Surg. Path.* 1996; 20(6): 686–94.
8. Ланцов Д.С. Пролиферативная активность папиллярной микрокарциномы щитовидной железы. *Архив патологии*. 2006; 5: 14–6.
9. Ito Y., Uruno T., Takamura Y. et al. Papillary microcarcinomas of the thyroid with preoperatively detectable lymph node metastasis show significantly higher aggressive characteristics on immunohistochemical examination. *Oncology*. 2005; 68: 87–96. DOI: 10.1159/000085701
10. Sobrinho-Simoes M. Hail to the histologic grading of papillary thyroid carcinoma? *Cancer*. 2000; 88(8): 1766–7.
11. Lorenzato M., Abboud P., Lechki C. et al. Proliferation assessment in breast cancer: a double-staining technique for AgNOR quantification in MIB-1 positive cells especially adapted for image cytometry. *Micron*. 2000; 31(2): 151–9.
12. van Loo G., Saelens X., van Gorp M., MacFarlane M., Martin S.J., Vandenaabeele P. The role of mitochondrial factors in apoptosis: a Russian roulette with more than one bullet. *Cell Death Differ.* 2002; 9(10): 1031–42. DOI: 10.1038/sj.cdd.4401088
13. Pechan P.M. Heat shock proteins and cell proliferation. *FEBS Lett.* 1991; 280(1): 1–4.
14. Mizoguchi M., Manabe M., Kawamura Y., Kondo Y., Ishidoh K., Kominami E. et al. Deimination of 70-kD Nuclear Protein During Epidermal Apoptotic Events In Vitro. *J. Histochem. Cytochem.* 1998; 46(11): 1303–9.
15. Wallin G., Backdahl M., Christensson B., Grimelius L., Auer G. Nuclear protein content and Ki-67 immunoreactivity in nonneoplastic and neoplastic thyroid cells. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 1992; 14(4): 296–303.
16. Basolo F., Pollina L., Fontanini G., Fiore L., Pacini F., Baldanzi A. Apoptosis and proliferation in thyroid carcinoma: correlation with bcl-2 and p53 protein expression. *Br. J. Cancer*. 1997; 75(4): 537–41.
17. Katoh R., Bray C.E., Suzuki K., Komiyama A., Hemmi A., Kawaoi A. et al. Growth activity in hyperplastic and neoplastic human thyroid determined by an immunohistochemical staining procedure using monoclonal antibody MIB-1. *Hum. Pathol.* 1995; 26(2): 139–46.
18. Ito Y., Miyauchi A., Kakudo K., Hirokawa M., Kobayashi K., Miya A. Prognostic significance of Ki-67 labeling index in papillary thyroid carcinoma. *World J. Surg.* 2010; 34: 3015–21. DOI: 10.1007/s00268-010-0746-3
19. Sugitani I., Yanagisawa A., Shimizu A., Kato M., Fujimoto Y. Clinicopathologic and immunohistochemical studies of papillary thyroid microcarcinoma presenting with cervical lymphadenopathy. *World J. Surg.* 1998; 22(7): 731–7.

## REFERENCES

1. Gervald V.Ja., Klimachev V.V., Ivanov A.A., Ragulina V.D., Avdalyan A.M., Bobrov I.P., Lazarev A.F. Thyroid cancer. *Mezhdunarodnyj nauchno-issledovatel'skij zhurnal*. 2014; 8-3: 17–8. (in Russian)
2. Ivanov A.A., Avdalyan A.M., Gervald V.J., Lushnikova E.L., Zorkina Yu.N., Kruglova N.M., Lazarev A.F. Molecular types in the prognosis of papillary thyroid cancer based on the analysis of the status of BRAF V600E, index and expression of Ki-67. *Rossiyskiy onkologicheskij zhurnal (Russian Journal of Oncology)*. 2017; 22 (4): 188–93. (in Russian)
3. Shkurko O.A. Clinico-morphological and immunohistochemical factors of prognosis in papillary thyroid cancer. *Voprosy onkologii*. 2008; 54 (1): 19–24. (in Russian)
4. Timofeeva L.A., Aleshina T.N. Use of TI-RADS system in differential diagnosis of thyroid cancer. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2017; 98 (4): 632–6. (in Russian)
5. Paltsev M.A., Kogan E.A., Tuntsova O.I. Immunohistochemistry of biomolecular markers of early cancer of thyroid gland. *Arkhiv patologii*. 1997; 59(6): 18–23. (in Russian)
6. Sviridova T.E., Kogan E.A., Pal'cev M.A., Seredin V.P. Histological and molecular-genetic markers of malignancy in various variants of papillary thyroid cancer. *Arkhiv patologii*. 2002; 64(6): 19–23. (in Russian)
7. Papotti M., Torchio B., Grassi L., Favero A., Bussolati G. Poorly differentiated oxyphilic (Hurtle cell) carcinomas of the thyroid. *Am. J. Surg. Path.* 1996; 20(6): 686–94.
8. Lancov D.S. Proliferative activity of the papillary microcarcinoma of the thyroid gland. *Arkhiv patologii*. 2006; 5: 14–6. (in Russian)
9. Ito Y., Uruno T., Takamura Y. et al. Papillary microcarcinomas of the thyroid with preoperatively detectable lymph node metastasis show significantly higher aggressive characteristics on immunohistochemical examination. *Oncology*. 2005; 68: 87–96. DOI: 10.1159/000085701
10. Sobrinho-Simoes M. Hail to the histologic grading of papillary thyroid carcinoma? *Cancer*. 2000; 88(8): 1766–7.
11. Lorenzato M., Abboud P., Lechki C. et al. Proliferation assessment in breast cancer: a double-staining technique for AgNOR quantification in MIB-1 positive cells especially adapted for image cytometry. *Micron*. 2000; 31(2): 151–9.
12. van Loo G., Saelens X., van Gorp M., MacFarlane M., Martin S.J., Vandenaabeele P. The role of mitochondrial factors in apoptosis: a Russian roulette with more than one bullet. *Cell Death Differ.* 2002; 9(10): 1031–42. DOI: 10.1038/sj.cdd.4401088
13. Pechan P.M. Heat shock proteins and cell proliferation. *FEBS Lett.* 1991; 280(1): 1–4.
14. Mizoguchi M., Manabe M., Kawamura Y., Kondo Y., Ishidoh K., Kominami E. et al. Deimination of 70-kD Nuclear Protein During Epidermal Apoptotic Events In Vitro. *J. Histochem. Cytochem.* 1998; 46(11): 1303–9.
15. Wallin G., Backdahl M., Christensson B., Grimelius L., Auer G. Nuclear protein content and Ki-67 immunoreactivity in nonneoplastic and neoplastic thyroid cells. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 1992; 14(4): 296–303.
16. Basolo F., Pollina L., Fontanini G., Fiore L., Pacini F., Baldanzi A. Apoptosis and proliferation in thyroid carcinoma: correlation with bcl-2 and p53 protein expression. *Br. J. Cancer*. 1997; 75(4): 537–41.
17. Katoh R., Bray C.E., Suzuki K., Komiyama A., Hemmi A., Kawaoi A. et al. Growth activity in hyperplastic and neoplastic human thyroid determined by an immunohistochemical staining procedure using monoclonal antibody MIB-1. *Hum. Pathol.* 1995; 26(2): 139–46.
18. Ito Y., Miyauchi A., Kakudo K., Hirokawa M., Kobayashi K., Miya A. Prognostic significance of Ki-67 labeling index in papillary thyroid carcinoma. *World J. Surg.* 2010; 34: 3015–21. DOI: 10.1007/s00268-010-0746-3
19. Sugitani I., Yanagisawa A., Shimizu A., Kato M., Fujimoto Y. Clinicopathologic and immunohistochemical studies of papillary thyroid microcarcinoma presenting with cervical lymphadenopathy. *World J. Surg.* 1998; 22(7): 731–7.



*a*

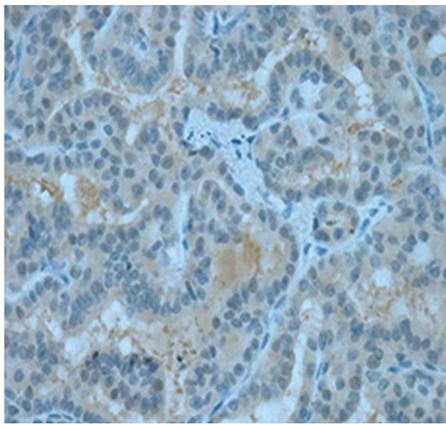


*б*

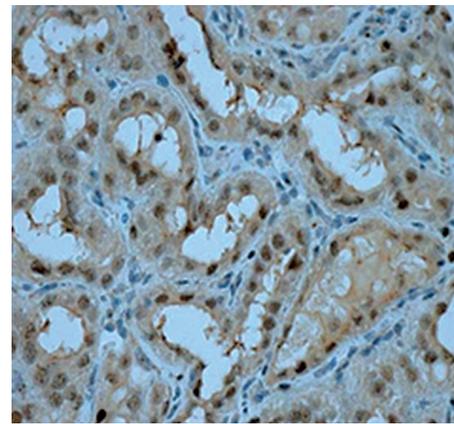
Рис. 1. Иммуногистохимическая реакция с антителами к Ki-67.

*a* – образец с относительно высоким уровнем экспрессии Ki-67 (18,7%), ув. 200;

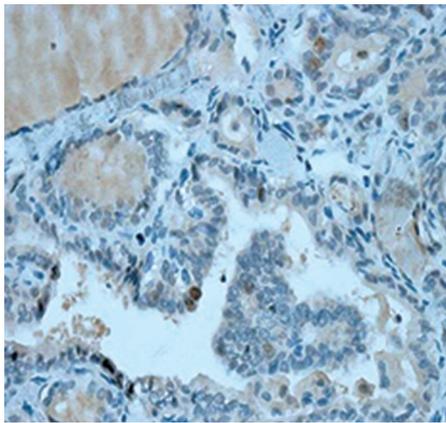
*б* – образец с низким уровнем экспрессии Ki-67 (1,9%), ув. 200.



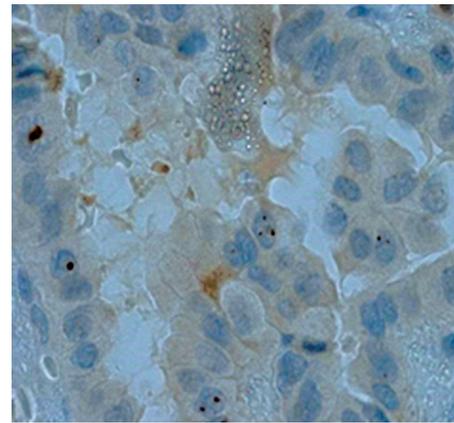
*a*



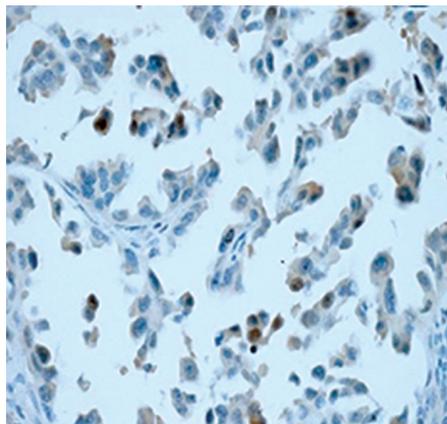
*б*



*в*



*г*



*д*

Рис. 2. Иммуногистохимическая реакция с антителом HSP70.

*a* – цитоплазматическая реакция (ув. 400); *б* – смешанная ядерно-цитоплазматическая реакция (ув. 400); *в* – ядерная реакция (ув. 400); *г* – ядрышковая реакция (ув. 1000); *д* – ядерно-ядрышковая реакция (ув. 400).