

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ
„ПРОФ. Д-Р ПАРАСКЕВ СТОЯНОВ” – ВАРНА

КАТЕДРА ПО ВЪТРЕШНИ БОЛЕСТИ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНА

Д-Р МИРА ВАЛЕНТИНОВА СИДЕРОВА

**ИМУНОХИСТОХИМИЧНИ МАРКЕРИ
И УЛТРАЗВУКОВА ЕЛАСТОГРАФИЯ – НОВИ
ДИАГНОСТИЧНИ ВЪЗМОЖНОСТИ В УТОЧНЯВАНЕТО
НА ТИРЕОИДНИТЕ ВЪЗЛИ**

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертационен труд за присъждане на образователна и научна
степен „доктор”

НАУЧНА СПЕЦИАЛНОСТ:

03.01.16 - Ендокринология и болести на обмяната

НАУЧЕН РЪКОВОДИТЕЛ:

Доц. Д-р Кирил Христозов, дм

ОФИЦИАЛНИ РЕЦЕНЗЕНТИ:

Проф. Д-р Здравко Каменов, дмн

Доц. Д-р Иван Цинликов, дм

Варна, 2013

Дисертационният труд съдържа 140 страници и е онагледен с 21 таблици и 51 фигури. Библиографската справка включва 193 литературни източника, от които 9 на кирилица и 184 на латиница.

Дисертационният труд е обсъден и предложен за защита на катедрен съвет на Катедрата по вътрешни болести при Медицински Университет „Проф. д-р П. Стоянов” - Варна

Официалната защита на дисертационния труд ще се състои на от часа в аудитория на територията на МБАЛ „Св. Марина”, на открито заседание на научното жури.

СЪДЪРЖАНИЕ

I. ВЪВЕДЕНИЕ.....	5
II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ.....	7
III. ПАЦИЕНТИ И МЕТОДИ НА ИЗСЛЕДВАНЕ.....	8
IV. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ.....	15
1. Резултати от проведените ТАБ и разпределение на пациентите по цитологични категории. Сравнение на цитологичния и окончателния хистологичен резултат при оперираните пациенти и определяне диагностичната стойност на ТАБ.....	15
2. Значение на някои клинични рискови фактори – пол, възраст, фамилна обремененост, предходна радиация	18
3. Зависимост между серумното ниво на TSH и малигнения потенциал на тиреоидните възли.....	20
4. Резултати и анализ на УЗ характеристики на тиреоидните възли.....	22
5. Резултати от УЗ еластография на щитовидни възли.....	43
6. Резултати от имунохистохимичното изследване.....	50
7. Диагностично-лечебен алгоритъм при възлеста струма....	61
V. ИЗВОДИ.....	63
VI. ПРИНОСИ.....	65
VII. ПУБЛИКАЦИИ И НАУЧНИ СЪОБЩЕНИЯ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД.....	66

ЧЕСТО ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

ИХХ	Имунохистохимия
ЛВ	Лимфен възел
МВГ	Многовъзлеста гуша
НС	Нодозна струма
ПЕС	Перкутанно етанолово склерозиране
ПК	Папиларен карцином
РЙЛ	Радиойодлечение
ТАБ	Тънкоиглена аспирационна биопсия
УЗ	Ултразвук
ФА	Фоликуларен аденом
ФВПК	Фоликуларен вариант на папиларен карцином
ФК	Фоликуларен карцином
ААСЕ	Американска асоциация на клиничните ендокринолози
АТА	Американска тиреоидна асоциация
СК19	Cytokeratin-19 (Цитокератин-19)
ЕТА	Европейска тиреоидна асоциация
FDG-PET	Флуородезоксиглюкоза- Позитронно-емисионна томография
FN-1	Fibrinectin-1 (Фибронектин-1)
Gal-3	Galectin-3 (Галектин-3)
HBME₁	Hector Battifora mesothelial antigen 1 (Повърхностно-клетъчен мезотелен антиген 1)
Tg	Тиреоглобулин
TG-Ab	Тиреоглобулинови антитела
TPO-Ab	Тиреопероксидазни антитела
TSH	Тиреостимулиращ хормон

I. ВЪВЕДЕНИЕ

Нодозната струма е най-често диагностицираното тиреоидно заболяване. Честотата на палпаторно установените щитовидни възли варира между 3% и 7%. В последните две десетилетия широкото използване на ултразвука (УЗ) доведе до драматично повишаване на тази честота, достигайки от 20% до 76% от общата популация. Голяма част от тези възли са т.нар. „инциденталомии“, открити случайно при образно изследване по друг повод. Като следствие не само ендокринолози, но и всички специалисти, използващи образна диагностика, днес се сблъскват с епидемия от щитовидни възли, чиито клинични, социални и икономически измерения са неясни.

Нодозната гуша е едно хетерогенно заболяване в клиничен, физиологичен и хистологичен аспект: възлите могат да бъдат единични или множествени, съпроводени с хипер- или хипофункция, доброкачествени или злокачествени. Основни задачи на клинициста при откриване на възлеста струма са изключването на малигненост и на хипертиреоидизъм, дължащ се на тиреоидна автономия.

Тиреоидният карцином се открива само в 5% от щитовидните възли, поради което Европейската и Американската тиреоидна асоциация (ЕТА и АТА) не препоръчват използването на УЗ като скринингов метод при здрави лица, без известна тиреоидна патология. От друга страна, болшинството пациенти с тиреоидни възли са асимптомни и липсата на симптоми не изключва малигненост.

Все повече нарастват научните публикации и изследвания на потенциала на УЗ изследване за разграничаването на доброкачествените от злокачествените нодули въз основа на определени УЗ белези. Не съществува обаче консенсус по отношение вида, броя и начините на комбиниране на рисковите УЗ характеристики за определяне на “степен на подозрителност” на даден възел. Тиреоидната еластография е ново приложение на УЗ, даващо информация за еластичността и твърдостта на тъканта и предоставящо допълнителни критерии за оценка на риска.

Тънкоиглената аспирационна биопсия (ТАБ) на тиреоидните възли с последващо цитоморфологично изследване е най-точният предоперативен диагностичен метод за диференцирането на злокачествените от доброкачествените тиреоидни възли. Рутинното провеждане на ТАБ промени лечението на възлестата гуша, като позволи да се избегнат ненужните операции на доброкачествени лезии и по този начин намали разходите за лечение.

Някои ограничения на цитологичното изследване, касаещи 15% до 30% от тиреоидните възли, са повод за търсене на нови молекулни маркери, които са абнормно експресирани в злокачествените тиреоидни тумори и не се откриват в доброкачествените лезии. Галектин-3 е бета-галактозид свързващ полипептид, който се експресира в малигнените фоликуларни клетки. Той е регулаторен компонент на клетъчния цикъл – инхибира апоптозата и стимулира клетъчната пролиферация. Като адхезионна молекула той играе роля в различните етапи на туморната прогресия и метастазирание. Повърхностно-клетъчният мезотелен антиген, разпознаван от моноклоналното тяло НВМЕ₁, е маркер на мезотелните клетки. Нормалните фоликуларни клетки на щитовидната жлеза са НВМЕ₁-негативни. Няколко проучвания посочиха НВМЕ₁ като молекулен маркер, разпознаващ малигнените тиреоидни тумори от фоликуларен произход, както в хистологични, така и в цитологични материали. Цитокератин-19 е нискомолекулярен цитокератин, протеин на клетъчния скелет, който е силно и дифузно експесиран при папиларния карцином. Фибронектин-1 е екстрацелуларен матриксен протеин, продуциран нормално от фибробластите. Продукцията му от тиреоидните фоликуларни клетки се асоциира с малигнената им трансформация. Експресията на тези и други молекули може да се докаже със стандартна имунохистохимия и това да реши много от дилемите както на цитологичното изследване, така и на хистологичната диагностика. Имунохистохимичното изследване на някои маркери като тиреоидния транскрипционен фактор 1 (ТТФ₁), тиреоглобулин и др. може да разкрие и произхода на тумора – първичен тиреоиден или вторичен метастатичен.

Липсата на еднопосочни резултати в досегашните проучвания на УЗ, еластографски, цитоморфологични и имунохистохимични характеристики в диференциалната диагноза на тиреоидните възли, както и липсата на такива проучвания в България, обуславят актуалността на проблема. Съществена научна и практическа стойност би имала и възможността за по-точна селекция на тиреоидните лезии, изискващи оперативно лечение, въз основа на комбинирането на тези нови методи на изследване. Това би довело до допълнително намаляване на броя на ненужните операции, икономии на средства и намалена морбидност.

II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Цел:

Да се проучи прогностичното значение на някои ехографски, еластографски, цитоморфологични и имунохистохимични характеристики на тиреоидните възли за определяне на техния малигнен риск с цел оптимизиране на критериите за подбор на пациентите, подходящи за оперативно лечение.

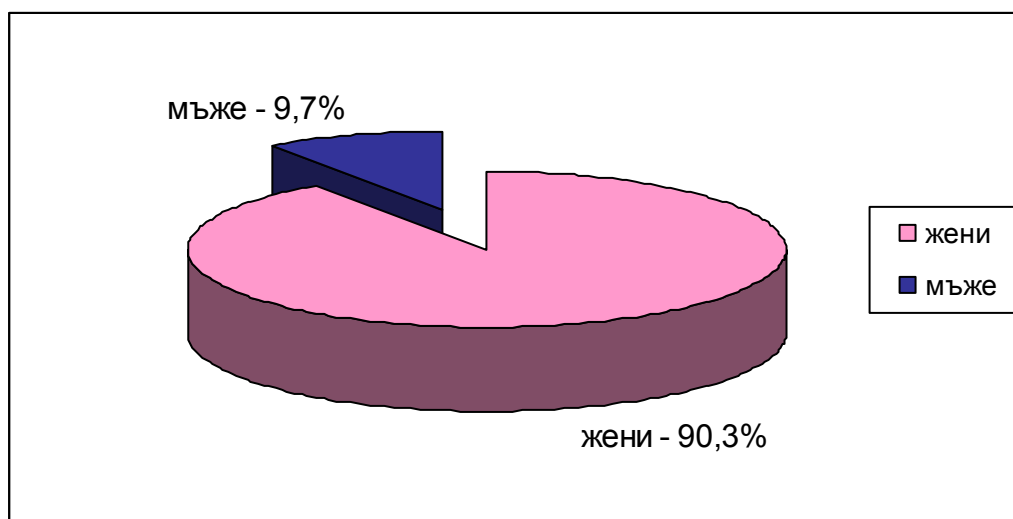
За постигането на тази цел си поставихме следните **задачи**:

- 1.** Да се определи честотата на тиреоидния карцином сред щитовидните възли и да се анализира диагностичната стойност на ТАБ с цитологично изследване чрез сравнение с окончателния хистологичен резултат, приет за златен стандарт.
- 2.** Да се отдиференцират рисковите за малигнитет ехографски характеристики на тиреоидните възли и да се определи тяхната специфичност, чувствителност, положителна и отрицателна предсказваща стойност чрез сравнение с крайния хистологичен резултат, както и да се определи комбинацията от ехографски белези, носеща най-висок риск.
- 3.** Да се определят различните типове щитовидни възли според тяхната еластичност и да се оцени диагностичната стойност на УЗ еластография за откриване на тиреоидния карцином.
- 4.** Да се потърси зависимост между стойността на TSH и цитологичната категория, както и между стойността на TSH и крайната хистологична диагноза.
- 5.** Да се оцени нивото на клетъчна експресия на четири молекулни маркера (Galectin-3, Cytokeratin-19, Fibronectin-1, HBME₁) при имунохистохимично изследване на оперативно отстранени бенигнени и малигнени тиреоидни възли.
- 6.** Да се изработи диагностично-лечебен алгоритъм за поведение при възлеста гуша.

III. ПАЦИЕНТИ И МЕТОДИ НА ИЗСЛЕДВАНЕ

1. Пациенти

В настоящото проучване са включени 1483 пациента с възлестраума, последователно хоспитализирани в Клиниката по ендокринология, към МБАЛ „Света Марина”, Варна. Проучването е проспективно и е проведено в рамките на шестгодишен период (от януари 2006г. до декември 2011г.). След подписване на информирано съгласие, всички пациенти са оценени по клинични и лабораторни показатели, с ултразвуково и доплерографско изследване с отчитане на рисковите за малигнитет характеристики и при всички е проведена тънкоиглена биопсия (ТАБ) с последващо цитологично изследване. Разпределението по пол е с превес на женския пол – 1339 пациента (90,3%) спрямо мъжкия пол – 144 пациента (9,7%), илюстрирано на фигура 1.



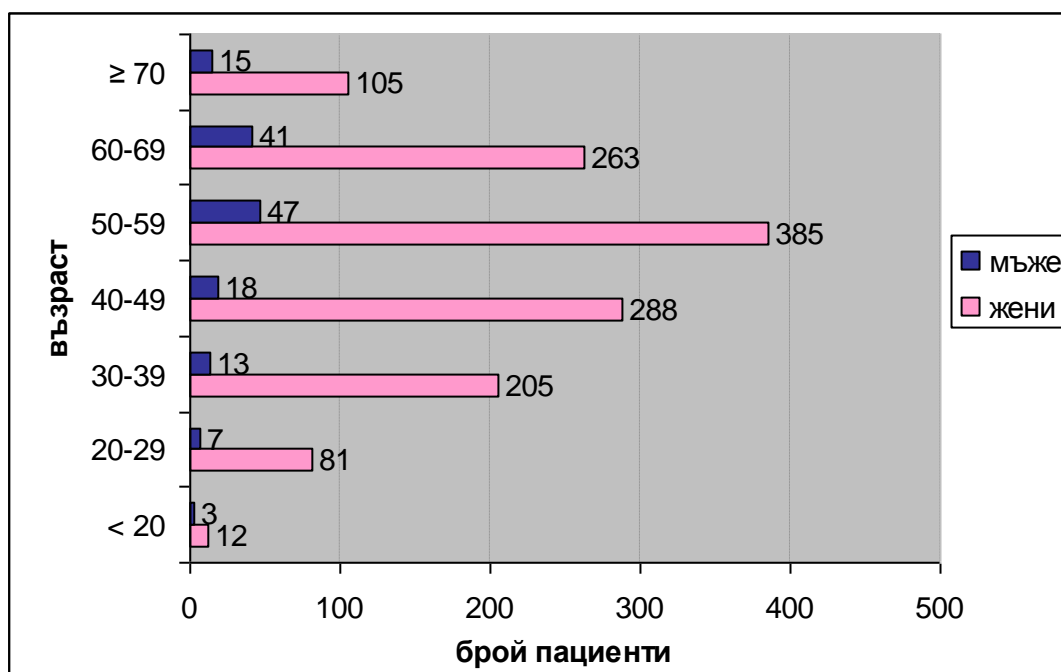
Фигура 1. Разпределение на пациентите по пол.

Обхванатите пациенти са на възраст от 15 до 93 години, средна възраст $51,1 \pm 13,8$ години. Разпределението по възрастови декади, отделно при жените и мъжете, е представено на фигура 2.

На 549 от обхванатите пациенти е препоръчано хирургично лечение. При проследяването на пациентите данни за проведена операция и хистологично изследване са получени за 390 пациента.

Имунохистохимичен анализ е проведен на 63 от оперативно отстранените тиреоидни възли. С УЗ еластография са изследвани 51

солидни възли при 37 пациента (30 жени и 7 мъже), на средна възраст $52,0 \pm 13,6$ години.



Фигура 2. Разпределение на жените и мъжете по възрастови категории.

2. Рутинни клиничко-лабораторни изследвания

- **Анамнеза и клиничен преглед**

Осъществени са традиционно с акцент върху наличието на хипер- или хипотиреоидна симптоматика, дисфония, диспнея или дисфагия, шийна болка, консистенция и темп на нарастване на тиреоидния възел, наличие на шийна лимфаденомегалия, фамилност за доброкачествени или злокачествени тиреоидни заболявания, предходна радиация в областта на главата, шията, както и в други области на тялото.

- **Лабораторни изследвания**

При всички 1483 пациента е изследван тиреостимулиращ хормон (TSH), а по преценка свободен тироксин (FT_4 - в 1155 случая) и свободен трийодтиронин (FT_3 - в 716 случая). При 1091 от всички 1483 пациента с възлеста гуша сме изследвали тиреопероксидазни антитела (TPO-Ab), а в 135 случая - тиреоглобулинови антитела (TG-Ab). Всички изброени показатели са изследвани по хемилуминисцентна имуноензимна методика, с китове на Siemens Healthcare Diagnostics, на автоматичен имунохимичен анализатор ADVIA

Centaur XP and Immulite 2000 със следните референтни стойности: TSH (0,4-4,0 mU/l); FT₄ (10,3-24,0 pmol/l); FT₃ (2,8-6,5 pmol/l), ТРО-Ab (10-100 U/ml); TG-Ab (20-40 U/ml).

Изследване на серумен калцитонин не е правено рутинно, а при наличие на фамилни, клинични или цитологични подозрения за медуларен карцином, общо в 29 случая. Използвана е хемилуминисцентна имуноензимна методика и кит на Siemens Healthcare Diagnostics с референтни стойности за жени (2,0-5,0 pg/ml) и за мъже (2,0-8,4 pg/ml).

При четири пациента с ехографски суспектна шийна лимфаденопатия е изследван тиреоглобулин в смив от иглата след ТАБ на лимфен възел. След провеждането на ТАБ, остатъчният материал от иглата е отмит в 1 ml стерилен физиологичен разтвор. Определеното ниво на тиреоглобулин в смива е сравнено със серумното му ниво, определено преди биопсията с оглед да се избегне фалшиво покачване на стойността в серума. Серумният тиреоглобулин и тиреоглобулинът в смив са измервани на автоматичен имуноанализатор Immulite 2000 при аналитична сензитивност 0,2 ng/ml.

3. Ехографско и доплерографско изследване на щитовидната жлеза

УЗ изследване на щитовидната жлеза е проведено с апарати Aloka Prosound Alpha 7 (5-13 MHz линеен трансдюсер, eFlow и цветен доплер) и Fukuda UF-750XT (7.5-9 MHz линеен трансдюсер, цветен доплер) с измерване на размерите на двата лоба и истмуса на жлезата, изчисление на тиреоидния обем, прецизно изследване на тиреоидните възли. Последното включва отчитане на размера и броя на възлите, форма на възела, отношение на предно-задния размер към трансверзалния, измерени в напречен срез, структура на нодула (солидна, смесена, кистична), ехогенност (хиперехогенна, изоехогенна, хипоехогенна или анехогенна), граници на възела (ясни или неравни), наличие на хало и характеристиките му (нежно, грубо, прекъснато или липсващо), наличие на калцификати (микрокалцификати, макрокалцификати, груби макрокалцификати и периферни - тип „яйчена черупка”), акустично засенчване зад възела, дорзално акустично усилване. При всеки щитовиден възел е отчитан типа на доплеров кръвоток – тип I (липсващ или оскъден кръвоток пери- и интранодулерно), тип II (предимно перинодулерно кръвоснабдяване) и тип III (предимно интранодулерен кръвоток,

считан за рисков за малигненост белег). С В-mode УЗ и цветен доплер са оценявани и шийните лимфни възли (ЛВ) – размери и отношение надлъжен и напречен диаметър (L/T), запазен или липсващ хиперехогенен хилус, структура и хомогенност на кортекса, наличие на кистични зони, микрокалцификати или груби калцификати в ЛВ, mass-ефект върху околните структури, тип кръснабдяване на лимфния възел. Въз основа на тези УЗ характеристики лимфаденомегалията е регистрирана като лимфаденомегалия от суспектен или несуспектен вид.

4. Ултразвукова еластография на тиреоидни възли

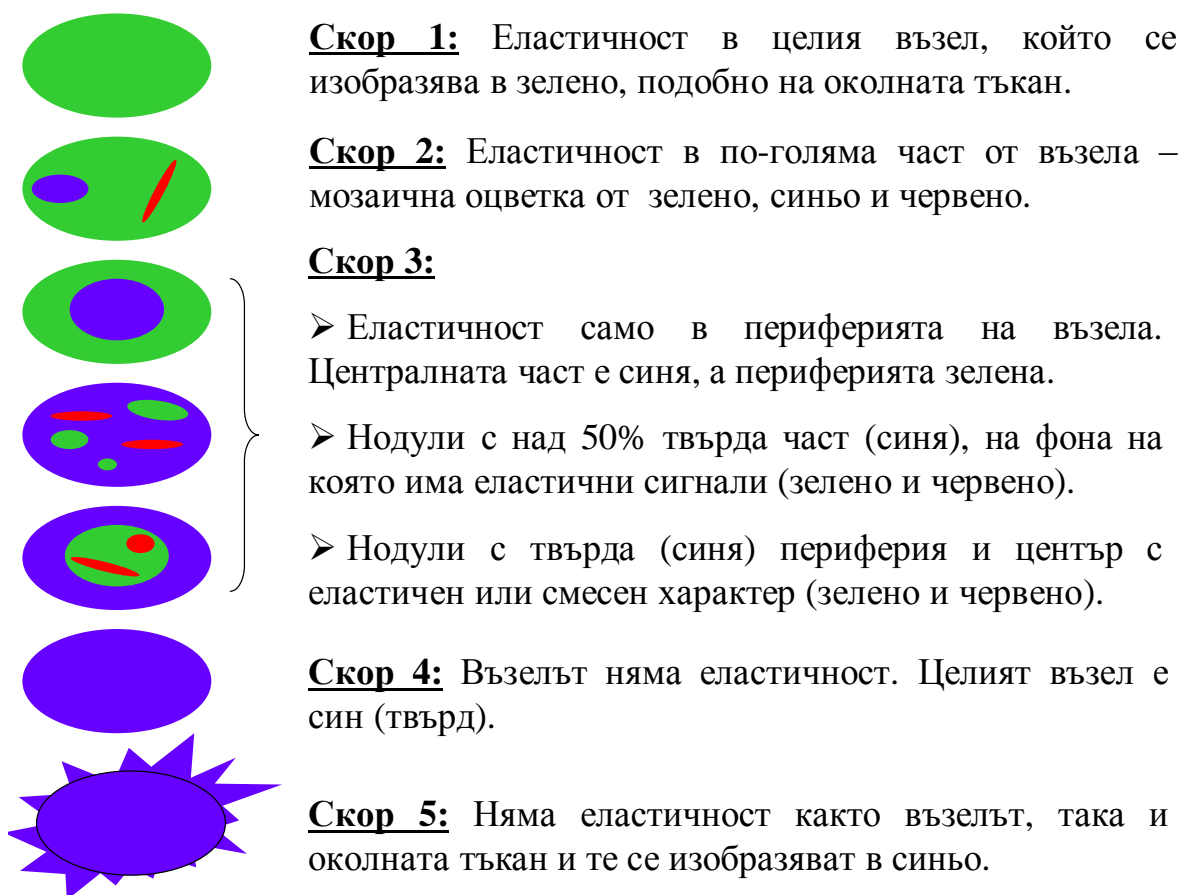
Еластографското изследване е извършено с еластографски модул за външна компресия към ултразвуков апарат Aloka Prosound Alpha 7 с цветна карта на еластичност на тъканите и real-time acquisition. Включени са проспективно 51 солидни възела при 37 пациента. Всички 51 възела са изследвани с конвенционална В-mode ехография, цветен доплер, еластография и тънкоиглена биопсия с цитоморфологично изследване. 24 пациента са насочени за оперативно лечение и наличните при тях 37 нодула са верифицирани хистологично.

Поради малкия брой пациенти, включени в еластографското изследване, за окончателна диагноза се прие хистологичния резултат при оперираните пациенти и цитологичния резултат при неоперираните. Целта е да се оцени диагностичната стойност на УЗ еластография в диференциалната диагноза на тиреоидния карцином при използване на хистологичния/цитологичния резултат за референтен стандарт.

Изпозвана е модифицирана 5 скорова система, основана на тази на Ueno и Itoh и представена на фигура 3.

Основната модификация касае възлите, отчитани като такива със скор 3. Тук са включени:

- 1) Нодули с твърда централна част и еластичност по периферията, отговарящи на скор 3 в оригиналната скорова система на Ueno и Itoh.
- 2) Нодули с над 50% твърда част (синя оцветка), на фона на която има еластични сигнали (зелено и червено).
- 3) Нодули с твърда периферия и център с еластичен или смесен характер.



Фигура 3. Скорова система, според която са отчитани изследваните от нас възли (модифицирана от тази на Ueno и Itoh).

5. Тънкоиглена биопсия на тиреоидни възли и цитоморфологично изследване

Тънкоиглените биопсии са проведени под УЗ контрол с 20 и 22 G игли и 20 ml спринцовки. Изготвените натривки върху предметни стъкла са фиксирани и оцветени по метода на Giemsa. Според цитологичния резултат възлите бяха разпределени в следните 5 категории:

- **Недиагностичен материал** – лоша фиксация или недостатъчност на клетъчния материал след проведени 2 убождания на възела. За достатъчност се прие наличието на минимум 6 групи от 10 добре съхранени тиреоидни епителни клетки.
- **Доброкачествен (бенигнен) материал** – нодозна струма, тиреоидни кисти, лимфоцитарен тиреоидит, грануломатозен тиреоидит.

- **Недетерминирани лезии** – цитологични материали с фоликуларна подредба, включващи фоликуларни неоплазми и Хъртъл-клетъчни неоплазми.
- **Суспектен цитологичен материал** - цитология, предполагаща малигненост, без да са изпълнени всички критерии за дефинитивна диагноза.
- **Малигнен цитологичен материал** - малигнени цитологични характеристики за първичен тиреоиден или метастичен карцином.

6. Хистологично и имунохистохимично изследване

Окончателната хистологична диагноза е поставена въз основа на рутинно изготвените препарати, оцветени с хематоксилин и еозин. Имунохистохимичният анализ е проведен върху 63 фиксирани в неутрален формалин и включени в парафин оперативно отстранени тиреоидни възли, включващи 37 карцинома (13 класически папиларни карцинома, 2 “tall cell” вариант, 3 метастази от папиларен карцином в лимфни възли, 6 случая на фоликуларен вариант на папиларен карцином, 4 анапластични, 5 фоликуларни карцинома и 4 Хъртъл-клетъчни карцинома), както и 26 бенигнени лезии (11 фоликуларни аденома, 4 Хъртъл-клетъчни аденома и 11 случая на нодозна струма и околната нормална тиреоидна тъкан). Последната използвахме като контрола предвид нормалния вид на тиреоцитите и липсата на злокачествено заболяване при тези пациенти. Допълнително негативна и позитивна контрола за всяко анти тяло е предоставена и от фирмата производител.

Имунохистохимичен протокол:

Изготвени са 4µm хистологични срези върху специални силанизирани стъкла с адхезив. След депарафинизация и дехидратация, пробите са обработени с хидроген пероксидазен блоккер за намаляване на неспецифичното фоново оцветяване, дължащо се на ендогенната пероксидаза. Т. нар. разкриване (възстановяване) на антигена се постигна чрез загряване на 97°C водна баня за 20 минути. Последва инкубиране с първичното анти тяло (съотв. срещу Galectin-3 в разреждане 1:50; Fibronectin-1; Cytokeratin-19 и HBME₁, производител Lab Vision) за откриване на търсения антиген. Следваща стъпка е използването на визуализираща система (HRP Polymer + DAB Plus Chromogen), която включва

ензимно-маркирано второ анти тяло, насочено срещу първото, съответен ензимен субстрат и хромоген. Наличието на ензимна реакция се потвърждава от цветното визуализиране с хромогена и това маркира мястото и интензитета на реакцията антиген-анти тяло. След всеки етап срезите са промивани четирикратно с буферен разтвор. За техническото осъществяване на методиката е използвана затворена система – Autostainer Lab Vision 360, следващ конкретно зададения компютърен протокол за всяко от анти телата.

Имунореактивността (оцветяването) за Galectin-3, Fibronectin-1, Cytokeratin-19 и HBME₁ е оценена от патолог, използвайки следната полуколичествена скала:

- (-) няма реактивност или само единични клетки (<10%) със слаба ядрена позитивност
- (+) фокална реактивност със слаба ядрена и/или цитоплазмена позитивност в 10 до 30% от неопластичните клетки
- (++) умерена реактивност, 30-60% от клетките са с цитоплазмена и/или ядрена позитивност
- (+++)
дифузна и силна експресия в цитоплазмата или цитоплазмата и ядрото в повече от 60% от неопластичните клетки.

7. Статистически методи

Статистическият анализ е осъществен чрез програмен продукт MS Excel 2007 и статистическа програма Graph Pad Prism 4.03 за Windows и включва следните методи:

- Дескриптивен анализ за определяне на статистически величини: средна стойност, стандартно отклонение, минимална и максимална стойност.
- За проверка на нормалността на разпределението с оглед подбор на параметричен или непараметричен анализ е използван тестът на Kolmogorov-Smirnov.
- Тестът на Mann-Whitney е използван за сравняване на средни величини от независими извадки, когато разпределението е неизвестно или се различава от нормалното.
- При тестването на хипотезите за влиянието на даден фактор е използван екзактният тест на Фишер (Fisher's exact test) и χ^2 тест на Pearson.
- При всички проведени анализи се приема допустимо ниво на значимост $p < 0.05$ при доверителен интервал 95%.
- Графичното и таблично изобразяване на статистическите данни е осъществено с помощта на Microsoft Office 2007.

V. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

1. Резултати от проведените ТАБ и разпределение на пациентите по цитологични категории. Сравнение на цитологичния и окончателния хистологичен резултат при оперираните пациенти и определяне диагностичната стойност на ТАБ.

Резултатите от цитологичното изследване на всички 1483 биопсирани пациенти са разпределени в една от петте цитологични категории и са представени в таблица 1.

Таблица 1. Анализ на проведените ТАБ по цитологични категории, насочените за оперативно лечение и честота на тиреоидния карцином във всяка категория след хистологичното проследяване.

Цитологична категория	Брой пациенти	Насочени за операция	Възможно проследени	Малигнени след проследяване	Честота на тиреоидния карцином в цитокатегорията
	(%)				
Категория 1 Недиагностични	154 (10,38%)	37	28	2	7,14%
Категория 2 Бенигнени	1000 (67,43%)	219	152	6	3,95%
Категория 3 Недетерминирани	210 (14,16%)	174	120	19	15,83%
Категория 4 Суспектни	67 (4,52%)	67	50	17	34,0%
Категория 5 Малигнени	52 (3,51%)	52	40	39	97,5%

154 случая (10,38%) са неадекватни проби поради недостатъчен материал след двукратно проведено убождане на възела. 37 от тези случаи са насочени за оперативно лечение, основно поради ехографски позодрителен вид на възлите или желание на пациента. Възможно проследени след хирургичното лечение са 28 пациента, при двама от които хистологичното изследване установи тиреоиден карцином. Честотата на малигнените възли сред проследените оперирани болни с предварително недиагностична ТАБ възлиза на

7,14%. Този процент, макар и незначително, надвишава честотата на хистологично потвърдената злокачественост сред всички тиреоидни възли, която в нашето проучване е 5,6%. Възможното обяснение се крие във факта, че недиагностичните случаи са насочвани за хирургично лечение при ехографска суспекция, което повишава дела на злокачествените възли сред тях. Повечето големи проучвания върху диагностичната стойност на ТАБ цитират честота на недиагностичните проби, варираща от 10 до 15% от всички биопсии, като установената от нас честота 10,38% се вписва в тези граници. По-малки размери на нодула и доминираща кистична компонента могат да са причини за недостатъчен клетъчен материал. В нашата извадка 26,6% от недиагностичните проби са получени от възли с размер ≤ 1 см, 4,6% са от изцяло кистични, а 35,7% от кистично-солидни нодули. При сравняване на дела на недиагностичните случаи сред възлите с размер ≤ 1 см (18,98%) и тези > 1 см (8,92%) се установи статистически значима разлика ($p=0,0001$). Следователно при микровъзлите е по-вероятно да получим недиагностичен материал, което поставя на дискусия диагностичната стойност и нуждата от ТАБ при тях, особено при липса на ехографско подозрение. Разликата в честотата на недиагностичните проби при възли с доминираща кистична компонента (9,79%) и при солидни такива (10,82%) не достига статистическа значимост ($p=0,5476$).

В категория 2 – доброкачествени лезии попадат 1000 от биопсираните пациенти (67,43%). 219 от тях са насочени за оперативно лечение поради следните причини: размери над 3 см и/или симптоми на компресия и/или желание на пациента. Възможно проследени следоперативно са 152 случая, като хистологичното изследване потвърди бенигнения характер на оперираните възли при 146 от тях, а при 6 се установи тиреоиден карцином. Честотата на малигнените възли сред проследените оперирани болни с предварително бенигнен цитологичен резултат възлиза на 3,95%. Трябва да се отбележи, че 3 от тези 6 фалшиво-отрицателни случая са инциденталомии, с размери по-малки от 7 мм, открити при хистологичното изследване.

В третата цитологична категория на недетерминирани възли попадат 210 случая (14,16%). 36 от тях са клинично и ехографски проследени, без да са насочени за хирургично лечение, поради следните причини: категоричен отказ на пациента, хормонални и сцинтиграфски данни за токсичен аденом или токсична многовъзлеста гуша, напреднала възраст, висок оперативен риск. На

останалите 174 пациента с недетерминирани възли е препоръчано оперативно лечение, от тях 120 са проследени. След хистологичното им изследване малигнени се оказаха 19 от проследените (15,83%).

67 от всички биопсирани възли (4,52%) бяха суспектни за малигненост (четвърта цитологична категория), като всички са изпратени за хирургично отстраняване, а 50 са проследени. При 17 от следоперативно проследените се потвърди злокачественост. Честотата на малигнени възли сред проследените оперирани болни с предварително суспектна цитология възлиза на 34,0%.

В категория 5 – малигнен цитологичен материал – попадат 52 от биопсираните възли (3,51%), като хирургично лечение е препоръчано на всички пациенти. Възможно проследените са 40, като при 39 от тях хистологичното изследване верифицира злокачествения им характер. Честотата на тиреоидния карцином сред възли с пета цитологична категория възлиза на 97,5%.

Постоперативното хистологичното изследване потвърди наличието на карцином общо в 83 случая. Честотата на тиреоидния рак сред всички биопсирани възли възлиза на 5,6%. Най-чест е папиларният рак (45 случая), следван от фоликуларен вариант на папиларен карцином (15 случая), фоликуларен карцином (5 случая), медуларен карцином (6 случая), Хъртъл-клетъчен карцином (3 случая), анапластичен (4 случая), лимфом (1 случай). Отчетен е 1 случай на преход от папиларен в анапластичен рак, 1 случай на съчетание на медуларен и фоликуларен карцином и 2 случая на метастази в щитовидната жлеза (от бъбречен карцином и карцином на ларингса).

Диагностична стойност на ТАБ и цитологичното изследване

Диагностичната стойност на ТАБ е изчислена въз основа на хистологично потвърдените случаи, които предоперативно са попаднали в цитологични категории 2, 4 и 5, т.е. ясно доброкачествени, суспектни и ясно злокачествени. Цитокатегории 1 (недиагностични) и 3 (недетерминирани) са основните ограничения на ТАБ и не са включени в изчислението на диагностичната стойност на този метод. Те не могат да определят даден случай като истински или фалшиво положителен, респ. отрицателен. Фалшиво-негативните случаи в нашата извадка са 6 (3,95%), т.е. цитологичното изследване ги е определило като доброкачествени, но хистологичното са злокачествени. 50% от тях са инциденталомии с размери по-малки от 7 мм. Фалшиво-положителните случаи (цитологично малигнени,

хистологично бенигнени) са 2,5%, ако се вземе предвид само цитокатегория 5. Ако фалшиво-положителните случаи се калкулират сумарно от цитокатегории 4 и 5, то делът им нараства до 37,7%, основно за сметка на суспектните възли. Това се дължи на „несигурността на 4-та цитологична категория”, както и на т.нар. „онкологична бдителност” на клиницистите и патолозите, която не позволява суспектни нодули да се лекуват консервативно и съответно повечето от тях се оперирани.

Въпреки че делът на суспектните възли сред всички биопсирани нодули е малък (4,52%), включването им при изчислението на диагностичната стойност на ТАБ повлиява съществено резултатите, като повишава чувствителността от 86,66% до 90,32, а понижава специфичността от 99,32% до 81,11% – таблица 2.

Таблица 2. Диагностична стойност на ТАБ.

Показател	Изчисление въз основа на хистологично потвърдените случаи, които предоперативно са попаднали във 2-ра и 5-та цитокатегория	Изчисление въз основа на хистологично потвърдените случаи, които предоперативно са попаднали във 2-ра, 4-та и 5-та категория
Чувствителност	86,66%	90,32%
Специфичност	99,32%	81,11%
Положителна предсказваща стойност	97,50%	62,22%
Отрицателна предсказваща стойност	96,05%	96,05%
Диагностична точност (акуратност)	96,35%	83,47%
Честота на фалшиво-положителните случаи	2,50%	37,77%
Честота на фалшиво-отрицателните случаи	3,95%	3,95%

2. Значение на някои клинични рискови фактори – пол, възраст, фамилна обремененост, предходна радиация

Сред жените най-рискови както за цитологична суспекция (категории 4 и 5), така и за хистологично потвърждение на злокачествено тиреоидно заболяване, се явява възрастовата група под 20 години, следвана от напредналата възраст ≥ 70 г. – таблица 3.

Таблица 3. Разпределение на тънкоиглените биопсии, дела на рисковите цитологични категории (4 и 5, съотв. суспектни и малигнени) и дела на хистологично доказаните карциноми по възрастови декади сред жените.

Възраст	ТАБ (брой)	Категория 4 Суспектни (брой)	Категория 5 Малигнени (брой)	Дял на рисковите категории (4+5) сред всички ТАБ	Проследени след операция пациенти (брой)	Дял на хистологично доказаните карциноми сред оперираните
< 20	12	2	3	41,66%	7	71,43%
20-29	81	2	6	9,88%	29	24,14%
30-39	205	12	3	7,32%	68	16,18%
40-49	288	10	6	5,56%	77	14,29%
50-59	385	21	5	6,75%	114	15,79%
60-69	263	6	5	4,18%	38	5,26%
≥ 70	105	4	8	11,43%	16	31,25%
Общо	1339	57	36	6,95%	349	16,91%

Таблица 4. Разпределение на тънкоиглените биопсии, дела на рисковите цитологични категории (4 и 5, съотв. суспектни и малигнени) и дела на хистологично доказаните карциноми по възрастови декади сред мъжете.

Възраст	ТАБ (брой)	Категория 4 Суспектни (брой)	Категория 5 Малигнени (брой)	Дял на рисковите категории (4+5) сред всички ТАБ	Проследени след операция пациенти (брой)	Дял на хистологично доказаните карциноми сред оперираните
< 20	3	0	2	66,66%	2	100%
20-29	7	1	0	14,29%	3	33,33%
30-39	13	2	3	38,46%	9	55,55%
40-49	18	3	2	27,78%	6	33,33%
50-59	47	3	2	10,64%	12	58,33%
60-69	41	0	5	12,2%	7	85,71%
≥ 70	15	1	2	20,0%	2	100%
Общо	144	10	16	18,06%	41	60,98%

При мъжете най-висок цитологичен риск (категории 4 и 5) носи младата възраст под 20 години, като в останалите възрастови групи този риск се задържа висок – между 10,64% и 38,46%. Делът на хистологично доказаните карциноми сред оперираните мъже е най-висок и достига 100% при възраст под 20 и над 70 години, като в останалите възрастови групи той се задържа висок между 33,33% и 58,33% - таблица 4.

Сред мъжете процентът на рисковите цитологични категории (4 и 5) от всички биопсии е 18,06%, почти трикратно по-висок от този при жените - 6,95%. Делът на хистологично верифицираните карциноми сред оперираните възли при мъжете е 60,98%, а при жените е 16,62%. Тези данни потвърждават, че мъжкият пол е рисков за развитие на тиреоиден карцином.

От всички 1483 пациента, фамилна анамнеза за тиреоидно заболяване се установява в 267 от тях, т.е. 18%. Сравнявайки фамилната обремененост с щитовидни заболявания сред пациентите с хистологично доказани бенигнни (20,2%) и малигнни възли (20,5%), не се установи статистически значима разлика ($p=1.000$). Възможно обяснение за липсата на сигнификантна разлика е фактът, че някои от доброкачествените тиреоидни заболявания, напр. тиреоидита на Хашимото, също се характеризират с наследствено предразположение.

При 36 от всички биопсирани пациенти се установи предходна радиация под формата на лъчелечение по повод друго онкологично заболяване. В нашето проучване е отчитана всяка лъчетерапия, а не само тази в областта на шията и главата. При хистологично доказаните тиреоидни карциноми предходна радиация се установи в 8,43% от тях, докато при хистологично доброкачествените лезии – само в 1,95%, разлика със статистическа значимост ($p=0,0088$). Нашите резултати показват, че предходната радиация е рисков клиничен белег, независимо от локализацията на лъчевото натоварване.

3. Зависимост между серумното ниво на TSH и малигнения потенциал на тиреоидните възли

Средните нива на TSH в различните цитологични категории тиреоидни възли са представени в таблица 5. При сравнение на средните нива на TSH при цитологично бенигнените ($1,703\pm 2,569$) и малигнените възли ($3,045\pm 2,781$) се установи статистически значима разлика ($p<0,0001$, Mann-Whitney test). С нарастването на TSH, дори в

рамките на референтните граници, се увеличава вероятността за получаване на малигнен цитологичен резултат след ТАБ на възела. Тази зависимост бе потвърдена и при оперираните пациенти, сравнявайки TSH нивата при хистологично доброкачествените ($1,613 \pm 2,053$) и злокачествени възли ($3,387 \pm 5,058$), $p < 0,0001$ – представено на фигура 4А.

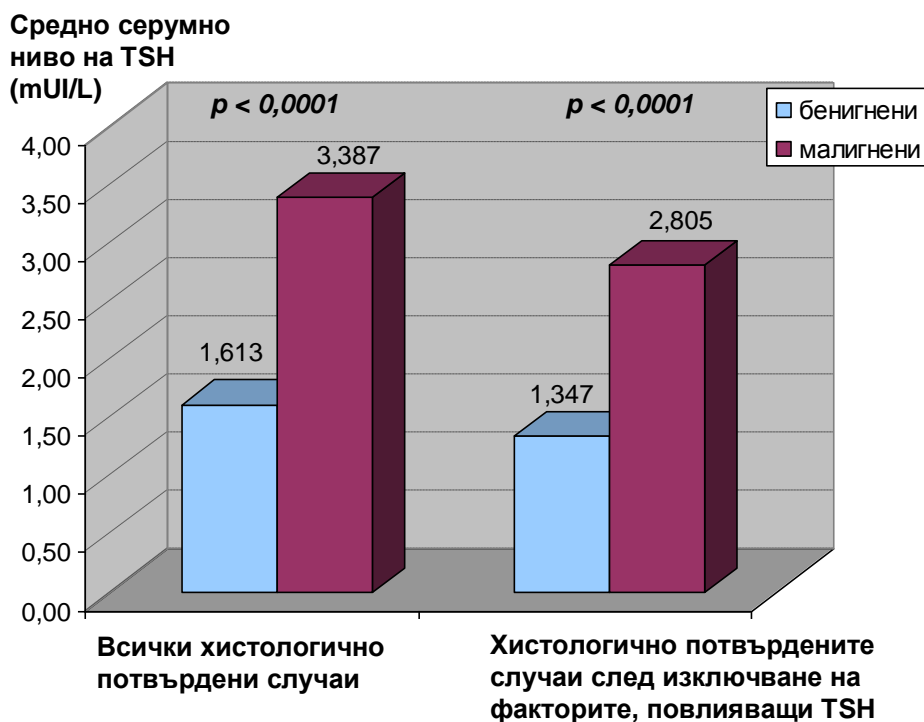
Таблица 5. Средно серумно ниво на TSH при пациентите с различни цитологични категории след ТАБ на възлите.

Цитологична категория	Брой пациенти	Средно TSH (mUI/L) \pm SD
Категория 1 Недиагностични	154	1,802 \pm 1,893
Категория 2 Бенигнени	1000	1,703 \pm 2,569
Категория 3 Недетерминирани	210	2,393 \pm 4,119
Категория 4 Суспектни	67	2,326 \pm 2,317
Категория 5 Малигнени	52	3,045 \pm 2,781

Тъй като нивото на TSH се повлиява от много фактори, ние проверихме връзката между TSH и хистологичния резултат след изключване на всички случаи с тиреоидит на Хашимото (ехографски вид, позитивни антитела, хистологични данни за лимфоцитарен тиреоидит), токсични възли (TSH $< 0,1$ mUI/L при нормални или повишени FT₄ и FT₃ и сцинтиграфски хиперфиксиращи възли), както и всички пациенти, приемащи левотироксин или тиреостатици. Средното ниво на серумния TSH при оставащите хистологично бенигнени възли остава значимо по-ниско от това при хистологично малигнените нодули (1,37 срещу 2,805, $p < 0,0001$), илюстрирано на фигура 4Б.

Експериментални проучвания показват, че пролиферацията на тиреоидните клетки е зависима от TSH и че високо-диференцираните тиреоидни карциноми запазват отговора си към TSH. Нашите резултати сочат директна връзка между TSH и риска от карцином при пациентите с възлеста гуша, тъй като зависимостта между TSH нивото и малигнения риск се запазва и след изключване на

автономните възли (сцинтиграфски и хормонално доказани), както и на случаите с автоимунен тиреоидит, който би могъл да е причина за по-високо TSH в групата на малигнените възли. Това предполага наличието и на други неизяснени начини на влияние на TSH върху туморната прогресия или обратното, влияние на туморната прогресия върху щитовидната функция и хормоналния баланс.



Фигура 4. А. Серумно ниво на TSH при всички хистологично потвърдени доброкачествени и злокачествени възли. **Б.** Серумно ниво на TSH при хистологично доброкачествени и злокачествени възли след изключване на случаите с тиреоидит на Хашимото, токсична възлеста гуша, прием на левотироксин и тиреостатици.

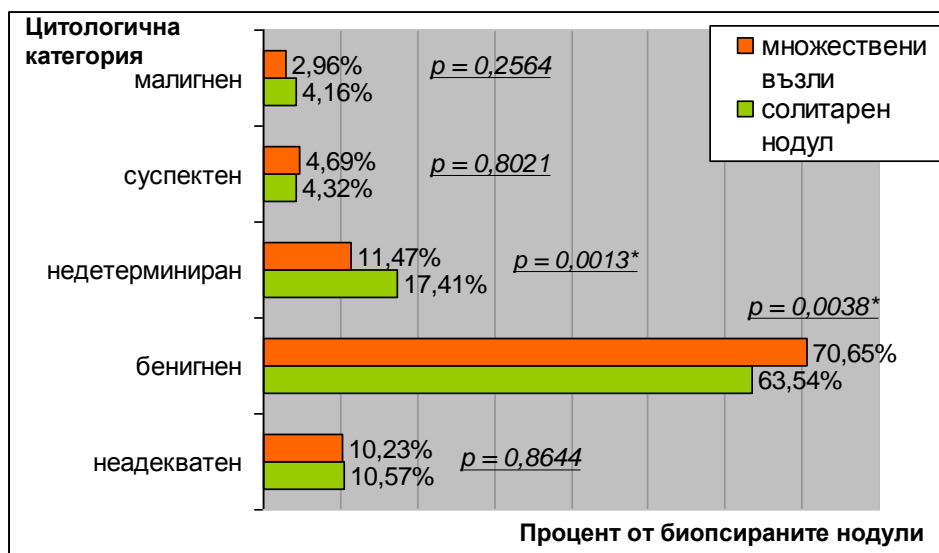
4. Резултати и анализ на УЗ характеристики на тиреоидните възли

4.1. Брой на възлите

От всички 1483 биопсирани нодула, в 672 случая (45,3%) се касае за единични възли, а в 811 (54,7%) за множествени, доказани при УЗ изследване. При пациентите с многовъзлеста струма в 672 случая е проведена ТАБ на доминантния нодул (този с най-големи размери), а в 139 случая на недоминантен възел.

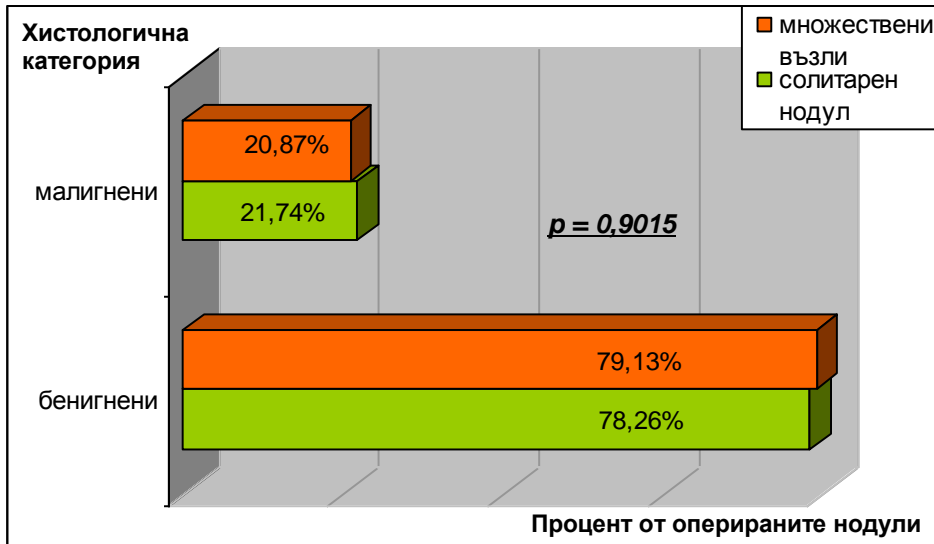
Анализът на честотата на различните цитологични категории при солитарните и множествените възли показва, че не съществува статистически значима разлика между единични възли и многовъзлеста струма по отношение вероятността за получаване на малигнен (4,16% срещу 2,96%, $p=0,2564$) или суспектен цитологичен резултат (4,32% срещу 4,69%, $p=0,8021$) – фигура 5. Неадекватните проби също са еднакво застъпени при солитарните (10,57%) и множествените нодули (10,23%), $p=0,8644$. В нашето проучване солитарни възли се регистрираха по-често в категорията на недетерминирани лезии (17,41% от солитарните възли и 11,47% от полинодозните са трета цитологична категория при статистически значима разлика, $p=0,0013$). Обяснението може би се крие в това, че фоликуларните аденоми, които са най-честата находка в тази категория, са по-често единични моноклонални тумори, с еднородна структура.

Бенигнен цитологичен резултат се установи по-често сред множествените възли (70,65%), отколкото в единичните (63,54%), $p=0,0038$. Това съответства на наблюденията, че хиперпластните и колоидните нодули често са множествени и имат поликлонален произход.

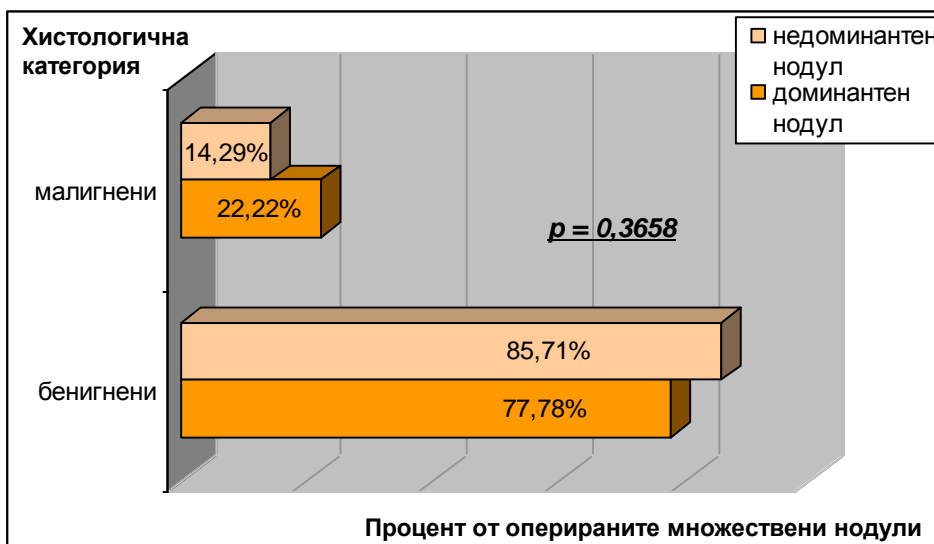


Фигура 5. Честота на различните цитологични категории при солитарни възли и многовъзлеста гуша.

При анализ на оперираните и проследени възли разпространението на хистологично доказаня карцином сред солитарните възли (21,74%) бе сходно с това при многовъзлеста гуша (20,87%) – фигура 6.



Фигура 6. Честота на окончателния хистологичен резултат – бенигнен или малигнен, при оперативно отстранените солитарни и множествени възли.



Фигура 7. Честота на окончателния хистологичен резултат – бенигнен или малигнен, при оперативно отстранените доминантни и недоминантни възли при многовъзлеста гуша.

Не се установи статистически значима разлика ($p=0,9015$) в честотата на карцинома сред единичните и множествените възли при хистологичното изследване, прието за златен стандарт – фигура 6. При вътрегрупов анализ на случаите с многовъзлеста струма установихме, че тиреоидният карцином се среща по-често сред доминантните възли (22,22%) в сравнение с недоминантните (14,29%), но тази разлика не достига статистическа значимост ($p=0,3658$) - фигура 7. Два са изводите с клинично значение от представените резултати: 1) Схващането, че солитарните възли са с по-висок малигнен риск е остаряло; 2) При наличието на множествени възли, карциномът може да се крие и в недоминантния нодул, което налага подбор на възлите за биопсия на база ехографски белези за малигненост, а не въз основа на размера им.

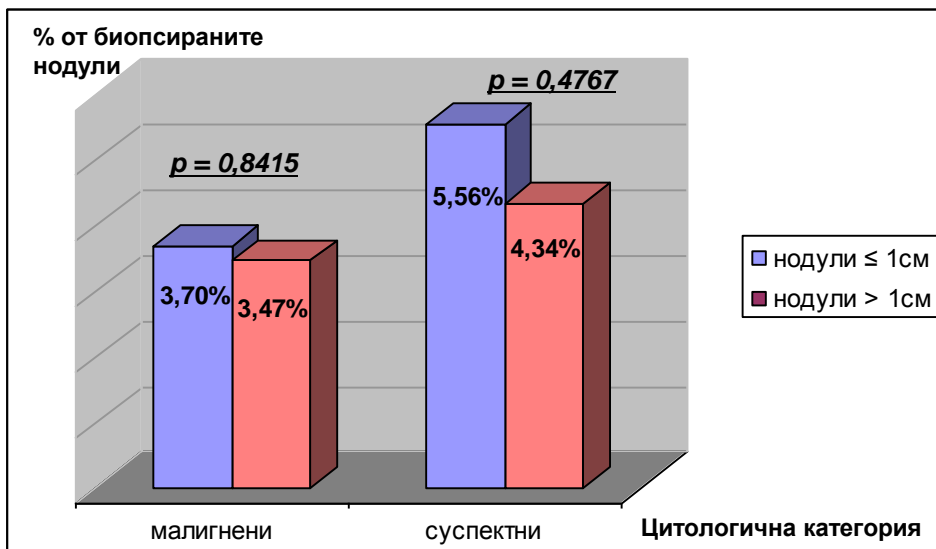
4.2. Размер на възлите

При изчисляване на обема на възлите е използвана формулата за елипсоид:

$$V = \pi/6 \times \text{дължината} \times \text{ширината} \times \text{дебелината}$$

Средната стойност на обема на изследваните възли е 3,472 ml и варира от 0,02 ml до 172,5 ml. Най-големият размер на възлите варира от 0,4 cm до 10,1 cm, средна стойност $1,92 \pm 0,97$ cm.

Сред всички биопсирани възли 216 са с най-голям размер ≤ 1 cm, 8 от които (3,7%) с малигнен, а 12 (5,56%) със суспектен цитологичен резултат. 1267 са нодулите с най-голям размер > 1 cm, сред които 44 (3,47%) в пета цитологична категория, а 55 (4,34%) в четвърта категория – фигура 8. Честотите на малигнената и суспектна цитология сред под- и надсантиметровите възли не достига статистически значима разлика (съотв. $p=0,8415$ и $p=0,4767$), което отговаря на общоприетото в последните години схващане, че размерът на възлите не корелира с малигнения им потенциал.



Фигура 8. Връзка между размер на възела и цитологична категория.

4.3. Форма на възлите

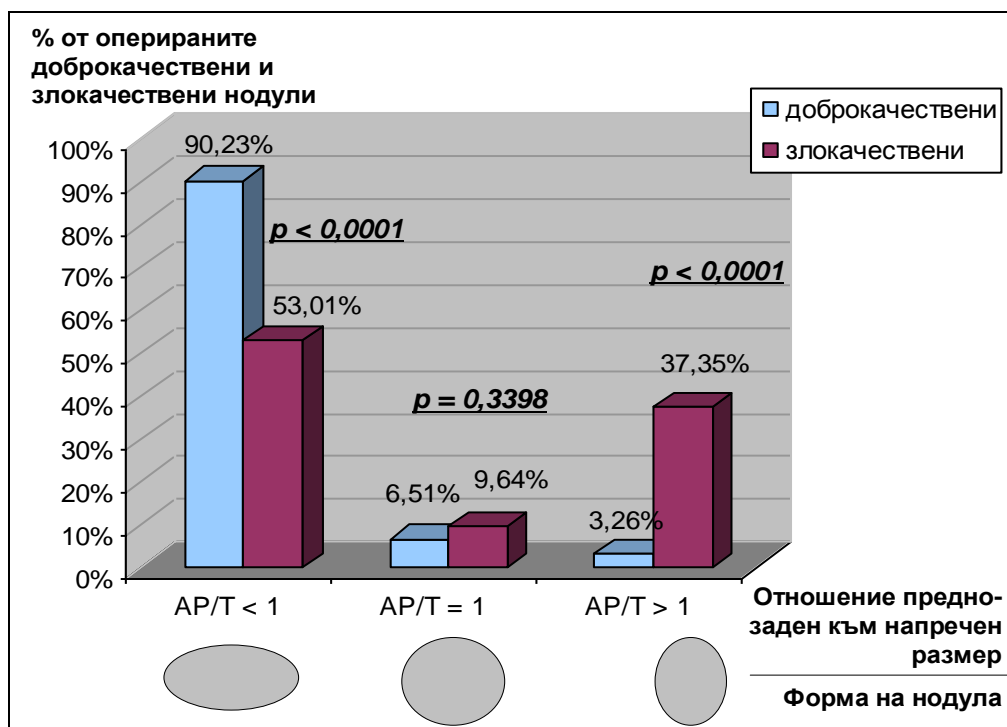
За целите на настоящото проучване разделихме възлите в три категории според тяхната форма и съотношение на предно-задния (AP) към напречния (T) диаметър при измерване в трансверзален план:

- 1) овални, приплеснати в предно-задна посока, с $AP/T < 1$
- 2) кръгли, с равни предно-заден и напречен диаметър, с $AP/T = 1$
- 3) по-високи отколкото широки („taller-than-wide”, приплеснати странично), с $AP/T > 1$

При корелация между формата на възела и окончателния хистологичен резултат получихме следните резултати, представени и на фигура 9:

- 1) Овална форма с $AP/T < 1$ имат 277 от хистологично доброкачествените възли (90,23%) и 44 от злокачествените възли (53,01%) - разлика, достигаща статистически значимост ($p < 0,0001$).
- 2) Кръгла форма с $AP/T = 1$ имат 20 от бенигнените (6,51%) и 8 от малигнените нодули (9,64%), без статистически значима разлика ($p = 0,3398$).

3) По-високи отколкото широки или приплеснати странично, с $AP/T > 1$ са 10 от доброкачествените възли (3,26%) и 31 от злокачествените (37,35%), разлика със статистическа значимост ($p < 0,0001$).

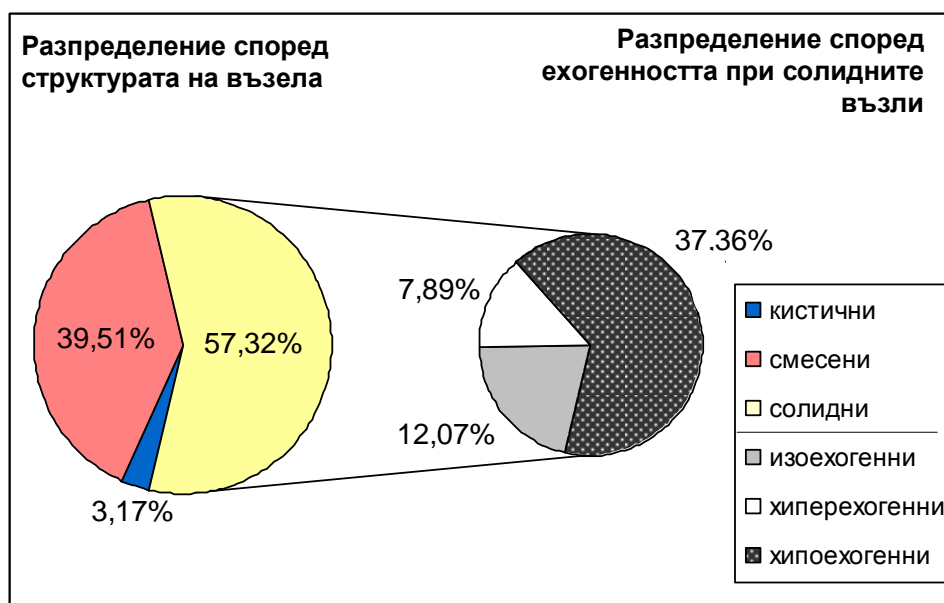


Фигура 9. Връзка между формата на възела и окончателния хистологичен резултат сред оперираните възли.

За първи път връзката между форма на лезията и малигнен потенциал е документирана при карцинома на млечната жлеза. Установено е, че нарастването на повечето доброкачествени възли става в обичайната форма за тъканите и органите, в които се развиват. Това означава, че в щитовидната жлеза бенигнените нодули би следвало да растат латерално, приплеснати в предно-задна посока. Обратно, злокачествените лезии растат перпендикулярно на нормалната планиметрия на органа. Според нашите резултати овалната форма с предно-задна приплеснатост и $AP/T < 1$ се свързва с доброкачествения характер на възлите. Кръглата форма с $AP/T = 1$ не може да потвърди или изключи малигненост и би следвало да заостри вниманието на клинициста. Формата „taller-than-wide“ с $AP/T > 1$ се асоциира с малигненост.

4.4. Структура и ехогенност на възлите

Според структурата разделихме изследваните възли на изцяло кистични – 47 нодула (3,17%), смесени или солидно-кистични – 586 нодула (39,51%) и солидни - 850 възела (57,32%). Според ехогенността на възела, сравнена с околния тиреоиден паренхим, солидните възли са 3 подвида: солидни изоехогенни 179 възела, солидни хиперехогенни - 117 и солидни хипоехогенни – 554. Разпределението на тиреоидните възли според тяхната структура и ехогенност е илюстрирано на фигура 10.



Фигура 10. Разпределение на възлите според ехоструктурата и ехогенността.

При корелация на структурата и ехогенността на възлите с хистологичния резултат, приет за златен стандарт, получихме следните резултати – таблица 6.

- Изцяло кистичните възли се възприемат като носещи минимален онкологичен риск. 47 от изследваните от нас нодули бяха изцяло кистични (анехогенни), като след ТАБ 7 от тях са недиагностични, 39 – бенигнени и 1 - недетерминирана лезия. При голям размер на кистата и категоричен бенигнен цитологичен материал в 9 случая е приложена перкутанна склеротерапия с 95% етанол, която доведе до средно 75% намаление в изходния среден обем на лезиите. В други 8 случая пациентите с тиреоидни кисти бяха

оперирани, като всички са хистологично доброкачествени. Кистичните лезии представляват 2,61% от хистологично бенигнените тиреоидни нодули и 0% от малигнените, но поради малкия брой оперирани кисти разликата в полза на техния доброкачествен характер е несигнификантна ($p=0,2113$)

Таблица 6. Връзка между ехоструктура и ехогенност на възлите и хистологичен резултат.

Ехоструктура на възлите	Хистологично доброкачествени	Хистологично злокачествени	p (Fisher's test)
Кистична	8 (2,61%)	0 (0%)	0,2113 NS
Смесена	147 (47,88%)	14 (16,87%)	<0,0001
Солидна изоехогенна	46 (14,98%)	3 (3,62%)	0,0045
Солидна хиперехогенна	16 (5,21%)	5 (6,02%)	0,7849 NS
Солидна хипоехогенна	90 (29,32%)	61 (73,49%)	<0,0001
Общо	307 (100%)	83 (100%)	

- Тиреоидните възли със смесена структура също се считат за доброкачествени. Кистичната компонента в тях е резултат на дегенерация или кръвоизлив. В нашето проучване смесени са 47,88% от бенигнените и 16,87% от малигнените при хистологичното изследване възли, разлика със статистическа значимост ($p<0,0001$).
- Солидна изоехогенна структура наблюдавахме при 14,98% от хистологично доброкачествените и в 3,62% от злокачествените възли, статистически значима разлика ($p=0,0045$) в полза на бенигнения характер на изоехогенните нодули.
- Ние не установихме разлика в честотата на солидната хиперехогенна структура сред бенигнените и малигнени възли (5,21% срещу 6,02%, $p=0,7849$). Това означава, че при хиперехогенните лезии не може да се изключи злокачественост и те трябва да се подлагат на цитологично изследване. Хиперехогенните лезии често се срещат на фона на тиреоидита на Хашимото, като при тях се прави диференциална диагноза между

псевдовъзли и истински възли, които могат да крият както папиларен карцином, така и лимфом или Хъртъл-клетъчен тумор. Всички 5 наши случая на хистологично малигнени възли с хиперехогенна структура бяха с положителни анти-ТПО антитела, ехографски променен околен паренхим както при тиреоидит на Хашимото и хистологично доказана лимфоцитна инфилтрация.

- Солидна хипоехогенна структура имат 29,32% от доброкачествените и 73,49% от злокачествените при хистологичното изследване възли. Разликата в честотата на този рисков ехографски белег е статистически значима ($p < 0,0001$) в полза на тиреоидния малигнитет. Тази разлика се запазва и при корелацията на солидната хипоехогенна структура с цитологичните категории, като 33,7% от цитологично бенигнените нодули, 47,76% от суспектните и 80,77% от малигнените са хипоехогенни, т.е. съществува прогресия в разпространението на този белег с нарастването на номера на цитоморфологичната категория.

4.5. Граници, контур и хало на тиреоидния възел

При отчитането на УЗ феномен „хало“ или „белег на ореола“ около възела, тиреоидните нодули бяха разделени в 4 категории – такива с нежно и непрекъснато хало, с грубо и неравномерно, с прекъснато на места хало, и с липсващо такова (Таблица 7).

Установи се статистически значима разлика, сочеща връзка между наличието на нежно и непрекъснато хало и бенигнения характер на възлите, както при цитологичното (55,8% срещу 1,92%; $p < 0.0001$), така и при хистологичното изследване (57,98% срещу 12,05%; $p < 0.0001$). Обратно, липсата на хало се асоциира със статистическа достоверност с малигнения характер на възлите при цитологичното (86,54% срещу 40,8%; $p < 0.0001$) и хистологичното изследване (71,08% срещу 33,23%; $p < 0.0001$). Грубото и неравномерно хало, както и прекъснатото хало се срещат по-често при злокачествените възли, но разликата в сравнение с доброкачествените не достига статистическа значимост нито при цитологичното ($p = 0.0630$; $p = 0.0808$), нито при хистологичното изследване ($p = 0.2459$; $p = 0,0611$). Това вероятно се дължи на трудната и субективна интерпретация на характеристиките на самото хало.

Счита се, че нежното 1-2 милиметрово и непрекъснато хало е белег за бенигненост. Въпреки това, както е видно и от нашите резул-

Таблица 7. Граници и хало на тиреоидните възли при различните цитологични и хистологични категории.

УЗ белег	Цитокатегория 1 Недиагностични 154 случая	Цитокатегория 2 Бенигни 1000 случая	Цитокатегория 3 Недетерминирани 210 случая	Цитокатегория 4 Суспектни 67 случая	Цитокатегория 5 Малигни 52 случая	p (Fisher's test) при сравнение м/у категории 2 и 5	Хистол. доброкачествени 307 случая	Хистол. злокачествени 83 случая	p (Fisher's test) при сравнение м/у двете хистокатегории
Граници на възела:									
- ясни и равни	124 (80,52%)	855 (85,5%)	182 (86,67%)	36 (53,73%)	3 (5,77%)	<0.0001	271 (88,27%)	15 (18,07%)	<0.0001
- неравни	30 (19,48%)	145 (14,5%)	28 (13,33%)	31 (46,27%)	49 (94,23%)	<0.0001	36 (11,73%)	68 (81,93%)	<0.0001
Хало:									
- нежно, непрекъснато	62 (40,26%)	558 (55,8%)	133 (63,33%)	17 (25,37%)	1 (1,92%)	<0.0001	178 (57,98%)	10 (12,05%)	<0.0001
- грубо, неравномерно	5 (3,25%)	16 (1,6%)	21 (10,0%)	6 (8,95%)	3 (5,77%)	=0.0630	21 (6,84%)	9 (10,85%)	=0.2459
- прекъснато	2 (1,3%)	18 (1,8%)	6 (2,86%)	3 (4,48%)	3 (5,77%)	=0.0808	6 (1,95%)	5 (6,02%)	=0.0611
- липсващо	85 (55,19%)	408 (40,8%)	50 (23,81%)	41 (61,2%)	45 (86,54%)	<0.0001	102 (33,23%)	59 (71,08%)	<0.0001

тати халото липсва в над 40% от цитологично доброкачествените възли. При фоликуларните неоплазми се регистрира най-висок процент (10%) на задебеленото и по-грубо хало, независимо че то не корелира статистически значимо с наличието на малигненост. Това може да бъде обяснено с факта, че както фоликуларните аденоми, така и фоликуларните карциноми имат фибозна капсула. Инвазията в капсулата при карциномите би могла да се визуализира с B-mode като прекъсвания на халото, както и с еластография като намалена еластичност в тази област. Друг проблем на белега на ореола е, че по литературни данни 10% до 24% от папиларните карциноми също имат хало – непрекъснато или прекъснато. Всичко това подчертава проблемността на халото като УЗ белег.

Независимо от наличието или липсата на хало, границите на възлите в нашето проучване бяха отчитани като ясни и равно очертани или като неясни и неравни (Таблица 7). Тиреодни възли, при които повече от 50% от контура им е неясно отделен от околния паренхим или се наблюдават микролобулирания, приехме за нодули с неясни и неравни граници. УЗ изследване установи при хистологично малигнените възли по-често отколкото при бенигнените неравни очертания на нодула (81,93% vs. 11,73%) със статистическа значимост (Fisher's exact test – $p < 0,0001$). Статистически значима разлика се установи за същия УЗ белег при сравнение между цитологичните категории на малигнените и бенигнените възли (84,23% срещу 14,5%; $p = 0,0001$). Според нашите резултати единственият недостатък на тази УЗ характеристика е, че малките субсантиметрови бенигнени възли често са без хало (67,8%) и изглеждат неясно очертани (17,5%), поради което за тях трябва да се търси съчетание с друг УЗ белег, подсказващ малигненост.

4.6. Наличие на калцификати

Микрокалцификати установихме общо в 164 нодула. 131 от изследваните от нас възли съдържаха само микрокалцификати, а други 33 имаха микро- и макрокалцификати. Честотата на микрокалцификатите нараства прогресивно в петте цитологични категории, съответно 6,49% сред неадекватните цитологични резултати, 7,1% сред цитологично бенигнените, 8,57% сред недетерминираниите, 19,4% сред суспектните и 36,54% сред цитологично малигнените възли (таблица 8). Същата прогресия наблюдавахме по отношение едновременното наличие на микро- и

макрокалцификати. Тази прогресия съответства на нарастването на онкологичния риск в хода на цитоморфологичните категории. Тя доказва още, че нодули, имащи микро- и макрокалцификати, трябва да се третират като такива с микрокалцификати, т.е. рискови. Сред оперираните и хистологично верифицирани възли разпространението на микрокалцификатите е 30,12% сред малигнените срещу 5,54% сред бенигнените ($p < 0.0001$), а едновременно микро- и макрокалцификати имат 18,07% от злокачествените срещу 1,3% от доброкачествените възли, разлика със статистическа значимост ($p < 0.0001$).

Честотата на **макрокалцификатите** бе най-висока сред бенигнените (8,1%) и недетерминирани (10%) възли и най-ниска в пета цитологична категория (1,92%). Разликата в разпространението на макрокалцификатите между хистологично бенигнените (11,08%) и малигнени възли (3,61%) също потвърждава техния доброкачествен характер, но при гранична статистическа достоверност ($p = 0,0547$).

За разлика от тях, **грубите макрокалцификати** се асоциират с повишен малигнен риск с най-висока честота в четвърта и пета цитологична категория. Отчетохме статистически значима разлика в честотата на грубите макрокалцификати сред хистологично малигнените (3,61%) и бенигнени нодули (0%) с $p = 0,0094$. Грубите макрокалцификати се срещат в различни по природа нодули, които са претърпели некроза и/или хеморагия, но те са и най-често срещаният тип калцификати при медуларния карцином. От общо 6-те хистологично потвърдени в проучването ни медуларни карциноми, в 3 случая предшестващото УЗ изследване установи груби макрокалцификати, а при други 2 случая – наличие на микро- и макрокалцификати. Поради това ние считаме, че при наличието на груби макрокалцификати в даден възел е уместно изследване на серумен калцитонин.

Периферните калцификати **тип „яйчена черупка”** най-често се установяват при дългогодишна нодозна струма, но понякога могат да се срещнат и в малигнени възли. Въпреки малкия брой възли с този вид калцификати, ние ги разделихме на два подтипа – „прекъсната” и „непрекъсната яйчена черупка”. Наблюдава се тенденция за асоциация на непрекъснатите капсулни калцификати с бенигнен цитологичен и хистологичен резултат, без да се достига статистическа значимост. Обратно, прекъсванията в периферните калцификати се срещат по-често при малигнените възли.

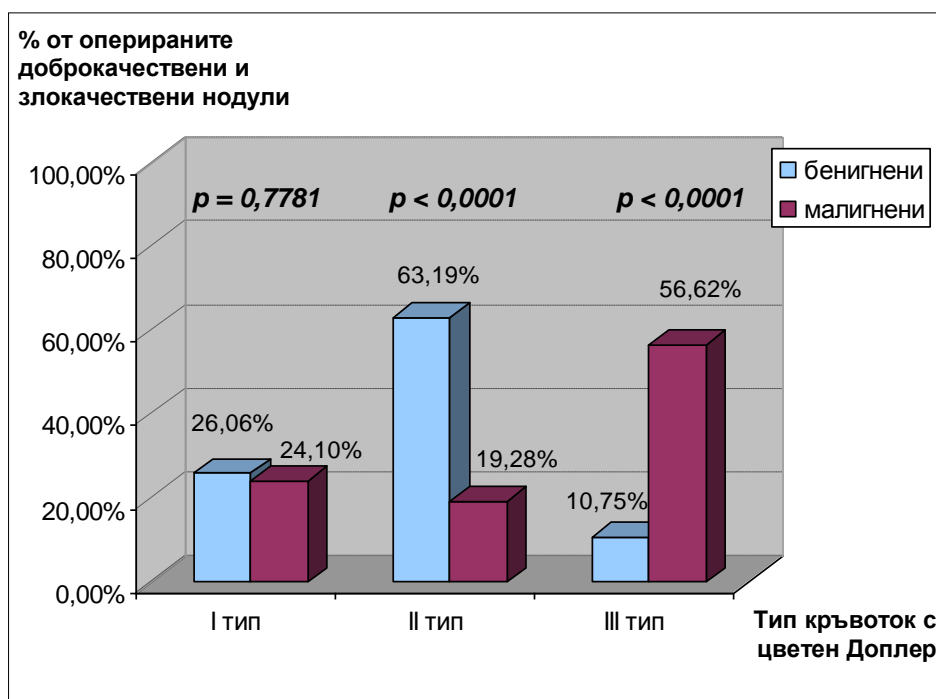
Таблица 8. Различни типове калцификати при различните цитологични и хистологични категории възли.

Вид калцификати	Цитокатегория 1 Недиагностични 154 случая	Цитокатегория 2 Бенигни 1000 случая	Цитокатегория 3 Недетерминирани 210 случая	Цитокатегория 4 Суспектни 67 случая	Цитокатегория 5 Малигнени 52 случая	p (Fisher's test) при сравнение м/у категории 2 и 5	Хистол. доброкачествени 307 случая	Хистол. злокачествени 83 случая	p (Fisher's test) при сравнение м/у двете хистокатегории
Микро	10 (6,49%)	71 (7,1%)	18 (8,57%)	13 (19,4%)	19 (36,54%)	<0.0001	17 (5,54%)	25 (30,12%)	<0.0001
Микро + Макро	0 (0%)	13 (1,3%)	3 (1,43%)	4 (5,97%)	13 (25%)	<0.0001	4 (1,3%)	15 (18,07%)	<0.0001
Макро	7 (4,55%)	81 (8,1%)	21 (10%)	3 (4,48%)	1 (1,92%)	0.1766	34 (11,08%)	3 (3,61%)	0.0547
Груби макро-калцификати	0 (0%)	0 (0%)	1 (0,48%)	2 (2,98%)	2 (3,85%)	0.0024	0 (0%)	3 (3,61%)	0.0094
«Яйчена черупка» от непрекъснат тип	2 (1,3%)	19 (1,9%)	4 (1,9%)	0 (0%)	0 (0%)	0.6193	11 (3,58%)	0 (0%)	0.1303
«Яйчена черупка» от прекъснат тип	0 (0%)	1 (0,1%)	1 (0,48%)	1 (1,49%)	2 (3,85%)	0.0070	1 (0,33%)	1 (1,20%)	0.3808

4.7. Тип кръвоток, оценен с цветен Доплер

Нашите резултати, касаещи типа на кръвоснабдяване, показаха че тип I доплеров кръвоток (липсващ пери- и интранодулерно) е почти еднакво представен при хистологично потвърдените бенигнени (26,06%) и малигнени възли (24,10%), без да има сигнификантна разлика помежду им ($p=0,7781$). Това означава, че I тип кръвоток не може нито да потвърди, нито да изключи малигненост. II тип доплеров кръвоток (предимно перинодулерен) доминираше сред бенигнените възли 63,19% срещу 19,28% при хистологично малигнените, разлика със статистическа значимост ($p<0,0001$). Клиничното значение на перинодулерния кръвоток е, че той се свързва с доброкачествената природа на тиреоидните възли, но не трябва да се подценява факта, че близо 20% от карциномите се представят сонографски също с перинодулерно кръвоснабдяване.

Най-висока предиктивна стойност за малигнения характер на възлите има III тип кръвоток (предимно интранодулерен), 5 пъти по-често срещан сред злокачествените (56,62%) в сравнение с доброкачествените нодули (10,75%) в нашето проучване. Съпоставка на предоперативното кръвоснабдяване на хистологично потвърдените доброкачествени и злокачествени нодули е представена на фигура 11.



Фигура 11. Съпоставка на предоперативното кръвоснабдяване, изследвано с цветен доплер, на хистологично потвърдените доброкачествени и злокачествени нодули.

Изследването с цветен, а още по-добре с мощностен доплер е добър индикатор за кръвоснабдяването на щитовидните възли и може лесно да бъде приложено в ежедневната практика. Установената от нас разлика в доплеровата характеристика между злокачествени и доброкачествени възли има клинично приложение при пациентите с многовъзлеста гуша. При наличие на голям брой нодули на биопсия подлежат солидните възли с интранодулерно кръвоснабдяване (III тип). По този начин може да се избегне биопсично изследване на всички регистрирани с УЗ възли.

Доплеровото изследване може да се използва и при смесените и предимно кистичните възли за разграничаване на солидната им компонента, в която по правило се регистрира кръвоток, от аваскуларните септи и отлаганията на фибрин. При провеждане на ТАБ на такива възли иглата трябва да се насочва към участъка с видим кръвоток с цел добиване на достатъчен по клетъчност материал.

4.8. Лимфаденомегалия

Общо в 84 случая от изследваните 1483 пациента се регистрира съпътстваща шийна лимфаденомегалия. За увеличени шийни лимфни възли (ЛВ) се приеха такива, чийто надлъжен диаметър (дълга ос) е $> 8\text{mm}$ и/или трансверзална (къса) ос е $> 5\text{mm}$.

В 53 случая увеличените лимфни възли имаха запазена елипсовидна форма с отношение на надлъжния (лонгитудинален, L) към напречния (трансверзален, T) диаметър $L/T \geq 2$, запазен хиперехогенен хилус и хомогенна структура на кортекса. Поради липсата на УЗ критерии, подсказващи малигненост, те бяха регистрирани като случаи с несуспектна лимфаденомегалия.

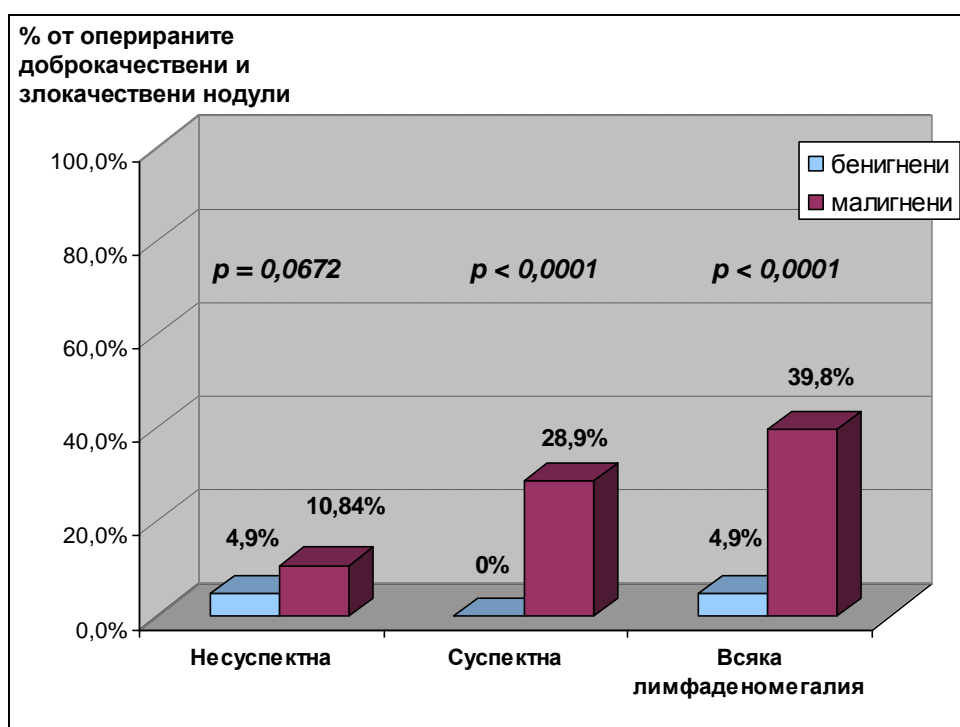
В 31 случая увеличените по размери ЛВ имаха един или повече от следните ехографски белези, носещи риск за злокачественост:

- Окръглена форма с отношение надлъжен към напречен диаметър по-малко от 2 ($L/T < 2$)
- Заличен хилус
- Ангажиране на кортекса с изразена хипоехогенност и/или ексцентрично му задебеляване
- Наличие на кистични участъци в ЛВ
- Наличие на микрокалцификати в ЛВ
- Притискане на околните структури (mass effect)

- Патологично кръвоснабдяване на ЛВ при доплеровото изследване – наличие на субкапсулни съдове, които не изхождат от хилусните или лонгитудиналните съдове, аберантни съдове, големи зони на липсваща перфузия.

Тези случаи означихме като суспектна лимфаденопатия.

При пациентите с хистологично доказани доброкачествени тиреоидни възли честотата на несуспектната шийна лимфаденомегалия е 4,9%, а при хистологично малигнените тиреоидни нодули същата е 10,84%. Набелязаната тенденция за висока честота на неподозрителните увеличени лимфни възли при малигнените случаи не достига статистическа значимост ($p=0,0672$). Наличие на суспектна лимфаденопатия регистрирахме в 28,9% от хистологично доказаните тиреоидни карциноми и в 0% от потвърдените като бенигнени тиреоидни възли, разлика със статистическа значимост ($p<0,0001$). Статистически значима разлика между хистологично доброкачествените и злокачествените лезии ($p<0,0001$) се достига и ако се отчита всяка лимфаденомегалия, независимо от това дали има или няма ехографски критерии за тяхната малигненост – фигура 12.



Фигура 12. Честота на шийната лимфаденомегалия – несуспектна, суспектна и общо при хистологично бенигнени и малигнени нодули.

Това има практическо значение, тъй като обстойното УЗ изследване на ЛВ изисква високотехнологичен ехограф и повече време. Използването на УЗ критерий като наличие на увеличен размер на шийните лимфни възли (> 8 мм) е по-малко специфичен от отчитането на тяхната суспекция за малигненост, но е достатъчен да заостри вниманието на клинициста за последващо ехографско, доплерографско, еластографско и цитологично уточняване.

В нашето проучване ТАБ на ЛВ е извършена при 8 от пациентите с несуспектна лимфаденопатия, като при всички цитологията е интерпретирана като реактивно променени ЛВ. В 12 от случаите със суспектна лимфаденомегалия се проведе ТАБ, като цитологичното изследване при всички потвърди метастатичния им характер. В 4 от тези случаи изследвахме тиреоглобулин в смив от иглата. След провеждането на ТАБ, остатъчният материал от иглата е отмит в 1 ml стерилен физиологичен разтвор. Определеното ниво на тиреоглобулин в смива при три от случаите многократно надвишаваше серумното му ниво и по този начин потвърди лимфна метастаза от тиреоиден карцином. В един от случаите тиреоглобулинът в смив бе отрицателен при малигнен цитологичен резултат от ЛВ и 3-та цитологична категория от тиреоидния нодул, което изключи метастаза от тиреоиден карцином и съответно предотврати извършването на тиреоидектомия. Последващото диагностично търсене при този пациент установи първичното огнище в белия дроб. Изследването на нивата на тиреоглобулин в смив след ТАБ на суспектен шиен ЛВ и сравняването им със серумните концентрации е съвременен метод за потвърждаването или изключването на наличието на лимфни метастази от тиреоиден карцином. Резултатите от това изследване са решаващи за последващата терапия при тези пациенти, налагаща лимфна дисекция и радиойодлечение.

4.9. Приложение на ултразвуковите характеристики на щитовидните възли поотделно и в различни съчетания за предсказване на злокачественост

Диагностичната стойност на разгледаните ехографски белези, срещащи се статистически значимо по-често при малигнените отколкото при доброкачествените възли е представена в таблица 9. Чувствителността на всеки един от тези белези, използван самостоятелно, е сравнително ниска, от 28,92% до 81,93%. Тя е най-висока за неравните очертания на тиреоидния нодул (81,93%),

следвана от солидната хипоехогенна структура (73,49%). Проблемът при тези две УЗ характеристики е ниската им специфичност. Всъщност голяма част от доброкачествените възли, особено помалките, изглеждат хипоехогенни, без хало, а някои и с размити граници. Затова евентуална селекция на тиреоидните възли за оперативно отстраняване само въз основа на един от тези два критерия (с най-висока чувствителност), би довела до операция и на над 30% от доброкачествените нодули.

Най-висока специфичност имат наличието на суспектна лимфаденомегалия, придружаваща тиреоидния възел (100%), по-голям предно-заднен от трансверзален диаметър на възела (т.нар. форма „taller than wide” - 96,74%) и присъствието на микрокалцификати в нодула (93,16%). Тези УЗ белези обичайно отсъстват при доброкачествените възли, но невинаги са налични при злокачествените, като последното определя по-ниската им чувствителност. От таблица 9 е видно още, че диагностичната точност (акуратност) на УЗ белези, предполагащи малигненост, използвани поотделно варира от 71,28% до 86,92%.

Анализирахме различни комбинации от тези УЗ характеристики с цел да установим дали и до каква степен нараства диагностичната им стойност. Общата тенденция при комбинациите е нарастваща специфичност (от 94,14% до 100%) за сметка на намаляваща чувствителност (от 13,25% до 65,06%).

При анализа на комбинациите от два УЗ критерия най-висока чувствителност достига съчетанието на солидна хипоехогенна структура и неравни очертания на възела – 65,06%. Същата комбинация достига най-висока отрицателна предсказваща стойност (90,88%) и диагностична точност (87,95%). Най-висока специфичност и положителна предсказваща стойност получава съчетанието от наличието на микрокалцификати и по-голям предно-заднен от трансверзален диаметър на възела („taller than wide”) – 100%. Това означава, че ако се използват двойни комбинации, възел, който не е хипоехогенен и не е с неравни граници, най-вероятно е бенигнен, а възел с микрокалцификати и форма „taller than wide”- най-вероятно е злокачествен.

При комбинирането на три УЗ характеристики на тиреоидния нодул специфичността нараства допълнително (от 98,05% до 100%), а чувствителността намалява (от 13,25% до 39,76%).

Таблица 9. Диагностична стойност на УЗ белези, използвани самостоятелно в разграничаването на малигнените от бенигнените тиреоидни възли.

Ехографски белег	Хистологично бенигнени	Хистологично малигнени	p (Fisher's test) при сравнение м/у двете хистокатегории	Чувствителност	Специфичност	Положителна предсказваща стойност	Отрицателна предсказваща стойност	Диагностична точност (акуратност)
	307 случая	83 случая						
Солидна хипоехогенна структура	90/307 29,32 %	61/83 73,49 %	< 0,0001	73,49%	70,68%	40,4%	90,79%	71,28%
Неравни Очертания	36/307 11,73%	68/83 81,93%	< 0,0001	81,93%	88,27%	65,38%	94,76%	86,92%
Микро-калцификати	21/307 6,84%	40/83 48,19%	< 0,0001	48,19%	93,16%	65,57%	86,93%	83,59%
„Taller-than-wide” AP/T > 1	10/307 3,26%	31/83 37,35%	< 0,0001	37,35%	96,74%	75,61%	85,1%	84,1%
III тип доплеров кръвоток (интранодулерен)	33/307 10,75%	47/83 56,62%	< 0,0001	56,63%	89,25%	58,75%	88,39%	82,31%
Наличие на лимфаденомегалия	15/307 4,9%	33/83 39,8%	< 0,0001	39,76%	95,11%	68,75%	85,38%	83,33%
Наличие на суспектна лимфаденомегалия	0/307 0%	24/83 28,9%	< 0,0001	28,92%	100%	100%	83,88%	84,87%

Таблица 10. Диагностична стойност на броя УЗ белези, подсказващи малигненост, в разграничаването на злокачествените от доброкачествените тиреоидни възли.

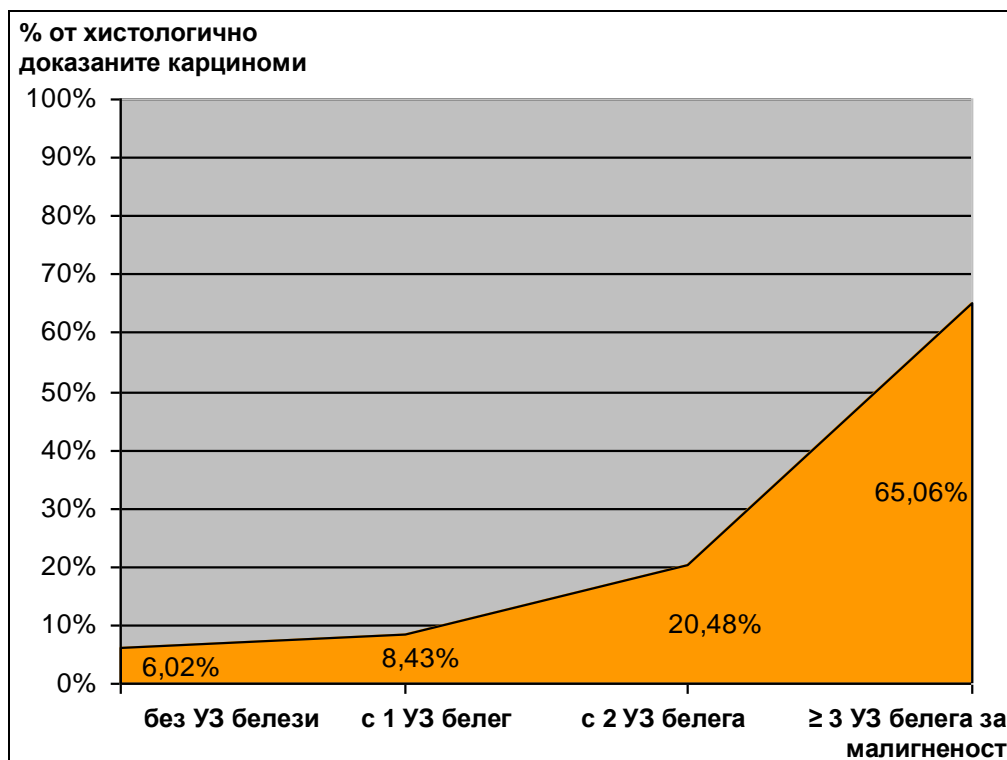
Брой УЗ белези, подсказващи малигненост	Хистол. бенигнени 307 случая	Хистол. малигнени 83 случая	p (Fisher's test) при сравнение м/у двете хистокатегории	Чувствителност	Специфичност	Положителна предсказваща стойност	Отрицателна предсказваща стойност	Диагностична точност (акуратност)
0	167/307 54,4%	5/83 6,02%	< 0,0001	6,02%	45,60%	2,91%	64,22%	37,18%
1	101/307 32,9%	7/83 8,43%	< 0,0001	8,43%	67,10%	6,48%	73,05%	54,62%
2	31/307 10,1%	17/83 20,48%	0,0144	20,48%	89,90%	35,42%	80,70%	75,13%
3	5/307 1,63%	19/83 22,89%	< 0,0001	22,89%	98,37%	79,17%	82,51%	82,31%
4	3/307 0,98%	26/83 31,33%	< 0,0001	31,33%	99,02%	89,66%	84,21%	84,62%
5	0/307 0%	9/83 10,84%	< 0,0001	10,84%	100%	100%	80,58%	81,03%
≥ 3	8/307 2,61%	54/83 65,06%	< 0,0001	65,06%	97,39%	87,1%	91,16%	90,51%

Най-висока чувствителност (39,76%) достига тройната комбинация от солидна хипоехогенна структура, неравни очертания и микрокалцификати, както и комбинацията от солидна хипоехогенна структура, неравни граници и интранодулерно кръвоснабдяване. Диагностичната точност на тройните съчетания варира от 81,54% до 86,15%, като е най-висока за едновременното наличие на солидна хипоехогенна структура, неравни граници и микрокалцификати.

Поради незадоволителната чувствителност на тройните комбинации, ние изследвахме дали тя се променя при отчитане само на броя независимо от вида на наличните УЗ белези за малигненост при всеки нодул. Отчитани са само характеристиките на тиреоидния възел (без ЛВ) – солидна хипоехогенна структура, неравни граници, микрокалцификати, по-голям предно-заден от трансверзален размер и III тип интранодулерен кръвоток. Така всеки възел има от нула до максимално пет УЗ белега, предсказващи малигненост. Резултатите са представени в таблица 10.

Наличието само на един УЗ белег не е достатъчно за разграничаването на злокачествените от доброкачествените тиреоидни възли, тъй като чувствителността е само 8,43% и тя не се различава съществено от тази при липсата на УЗ белези за злокачественост (6,02%). Нещо повече, само един УЗ критерий се среща по-често при доброкачествените възли (32,9%) в сравнение със злокачествените (8,43%). Това основно се дължи на солидната хипоехогенна структура, с която често се представят и бенигнените нодули. Присъствието на два УЗ критерия за злокачественост удвоява вероятността за получаване на малигнен хистологичен резултат, като разликата в честотата при бенигнени (10,1%) и малигнени възли (20,48%) достига статистическа значимост ($p=0,0144$).

Наличието на 3 или повече УЗ критерия се среща значимо по-често при злокачествените възли и има най-висока чувствителност (65,06%) при добра специфичност (97,39%), а диагностичната точност (90,51%) е по-висока от тази на вече разгледаната комбинация от солидна хипоехогенна структура, неравни граници и микрокалцификати (86,15%). Поради това ние считаме, че за ежедневната клинична практика е по-удачно отчитането на броя на УЗ белези, подсказващи малигненост и наличието на 3 или повече такива предполага с над 65% вероятност злокачествен характер на тиреоидния възел – фигура 13. Този процент може да бъде допълнително повишен и да осигури по-голяма сигурност при добавяне на еластографското и цитологичното изследване.



Фигура 13. Разпределение на хистологично доказаните случаи на тиреоиден карцином според броя на УЗ белези, предсказващи малигненост.

5. Резултати от УЗ еластография на щитовидни възли

С УЗ еластография в реално време са изследвани 51 солидни възела при 37 пациента (30 жени и 7 мъже). Всички 51 възела са изследвани с конвенционална В-mode ехография, цветен доплер, еластография и тънкоиглена биопсия с цитоморфологично изследване. 24 пациента са насочени за оперативно лечение и наличните при тях 37 нодула са верифицирани хистологично.

Поради малкия брой пациенти, включени в еластографското изследване, за окончателна диагноза, спрямо която се определи диагностичната стойност на метода, се прие хистологичния резултат при оперираните пациенти и цитологичния резултат при неоперираните. Основание за това дава и вече установената висока чувствителност на ТАБ – 90,32%. Процентът на малигнените възли е 27,5% и е по-висок от обичайния сред пациентите с възлеста гуша, защото част от изследваните пациенти са предварително селектирани за оперативно лечение, поради suspectен или малигнен цитологичен резултат. Използвана е модифицирана 5 скорова система, а разпреде-

лението на доброкачествените и злокачествените възли според еластографския им скор (от 1 до 5) е представено в таблица 11.

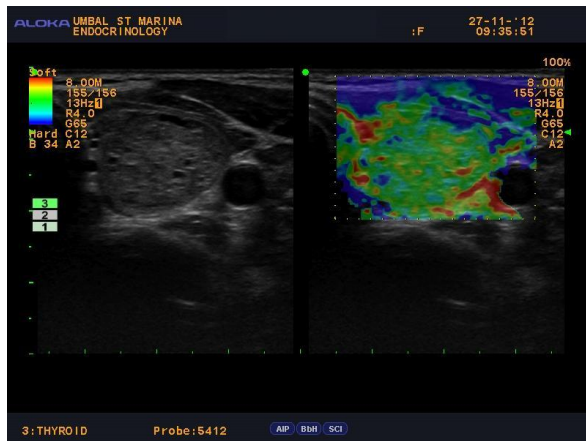
Таблица 11. Разпределение на бенигнените и малигнени възли според еластографския им скор.

Тиреоидни възли	Еластографски скор				
	1	2	3	4	5
Доброкачествени - 37 нодула <ul style="list-style-type: none"> • Хистологично потвърдени - 26 • Цитологично потвърдени – 11 	15/37 40,54%	13/37 35,14%	7/37 18,92%	2/37 5,40%	0/37 0%
Злокачествени - 14 нодула <ul style="list-style-type: none"> • Хистологично потвърдени - 11 • Цитологично потвърдени - 3 	0/14 0%	1/14 7,14%	4/14 28,57%	5/14 35,72%	4/14 28,57%
Общо - 51 нодула					

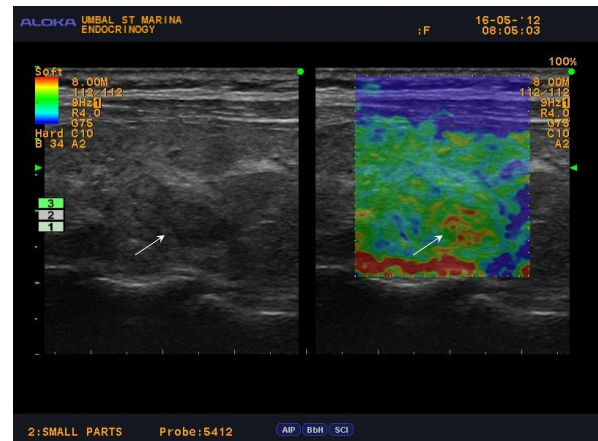
С изцяло еластична структура (скор 1) се представят 40,54% от доброкачествените възли и 0% от малигнените такива, разлика със статистическа значимост ($p=0,0045$). На фигура 14 е представен ехографския образ в В-mode и еластография на тиреоиден възел при 26 годишна жена. Еластографският скор е оценен като 1. Пациентката е биопсирана и цитологичния резултат е нодозна струма.

Фигура 15 и фигура 16 представят друг случай на възлести промени при 65 годишна пациентка с тиреоидит на Хашимото. При еластографското изследване лезиите са оцветени изцяло в зелено и са оценени като такива с висока еластичност (скор 1). Цитологичният анализ на материала от ТАБ показва лимфоцитарен тиреоидит и пациентката е оставена под клинично и УЗ наблюдение, като е избегната оперативна интервенция. Наблюдавахме шест подобни еластични лезии (скор 1 и 2) на фона на тиреоидит при други 4 пациента със серологично и цитологично и/или хистологично потвърден лимфоцитарен тиреоидит. Въз основа на нашите резултати считаме, че лимфоцитарните инфилтрати при възли и псевдовъзли на

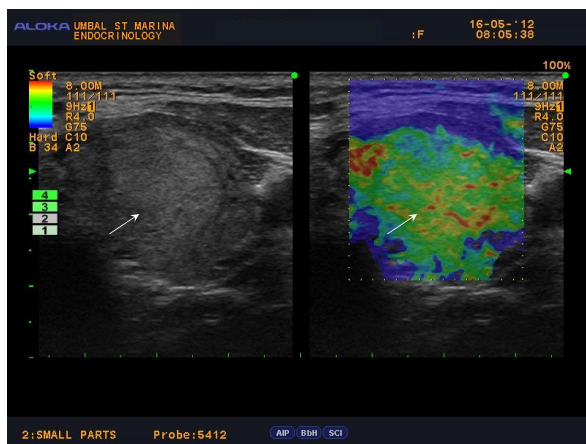
фона на аутоимунен тиреоидит се изобразяват като еластични с нисък еластографски скор, а формираните се фиброзни септи се изобразяват с ниска еластичност (в синьо).



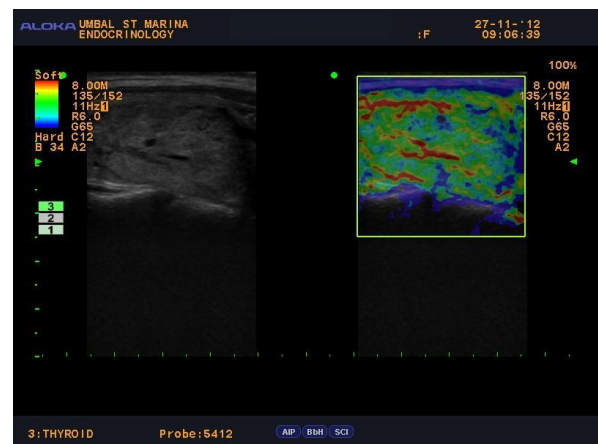
Фигура 14. B-mode и еластографски образ на тиреоиден възел със скор 1.



Фигура 15. B-mode и еластографски образ на лезия с висока еластичност и скор 1 на фона на аутоимунен тиреоидит.



Фигура 16. B-mode и еластографски образ на лезия с висока еластичност и скор 1 на фона на аутоимунен тиреоидит.

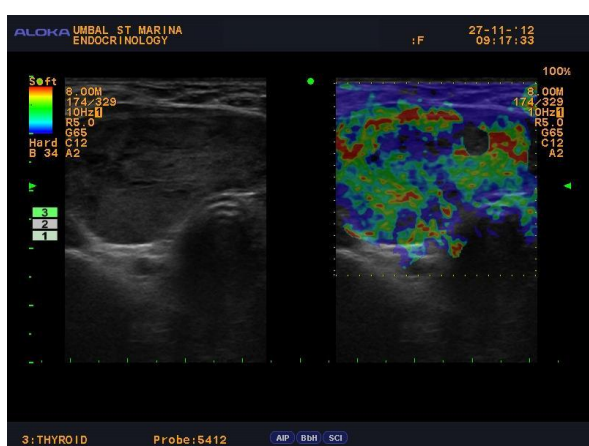


Фигура 17. B-mode и еластография на тиреоиден възел със скор 2, който след хирургично отстраняване е верифициран хистологично като доброкачествен.

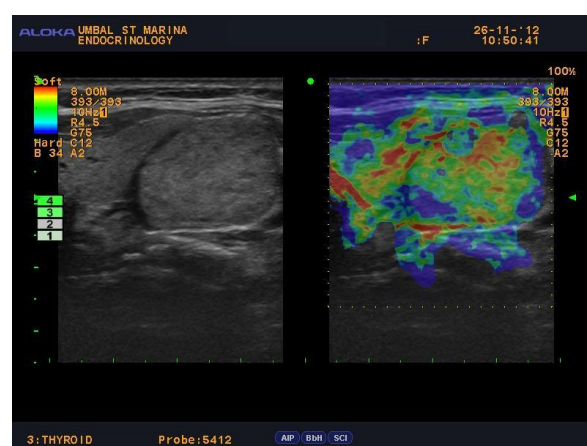
Еластичност в по-голяма част от възела (скор 2) показват 35,14% от бенигнените и 7,14% от злокачествените нодули, като тази разлика е гранична по значимост ($p=0,0768$). Фигура 17 представя доминантен хипоехогенен нодул при 44 годишна пациентка с еластографски скор 2. Възелът е хистологично потвърден като

бенигнен (нодозна струма) след хирургично лечение по желание на пациентката. Ако обединим първите два еластографски типа (скор 1 и скор 2), по подобие на проучването на Rago от 2010г., то тогава 75,68% от изследваните от нас доброкачествени възли са с висока еластичност срещу само 7,14% от злокачествените.

С междинна структура (смес от еластични и нееластични зони, представени като скор 3) се представят 18,92% от бенигнените и 28,57% от малигнените възли. Не съществува статистически значима разлика в честотата на скор 3 сред доброкачествените и злокачествените случаи ($p=0,4672$), поради което той е ниско информативен. Повечето изследователи, занимаващи се с еластография, считат, че интермедиерният скор е характерен за възлите с еластична периферия и твърда сърцевина. Това отчитане съответства на оригиналната скала на Ueno и Itoh, която обаче е създадена за лезии на млечната жлеза. Fukunari предлага друга четири-степенна скала, която включва възли с еластична сърцевина, но твърда периферия. Фигура 18 представя случай на 55 годишна жена с единичен хипоехогенен капсулиран възел, който при еластографското изследване се представя с твърда (синя) периферия (скор 3), а цитологично е фоликуларна неоплазма (цитокатегория 3). След оперативното му отстраняване хистологично се доказва минимално инвазивен фоликуларен карцином (МИК). Предоперативното цитологично изследване не може да диагностицира този тип карциноми, а много често те са предизвикателство и за хистологичния анализ.



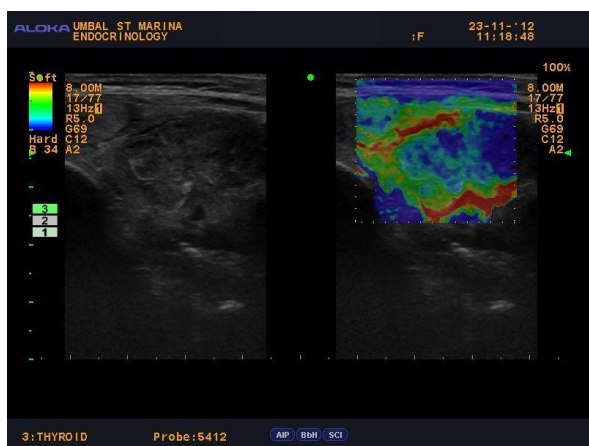
Фигура 18. В-mode и еластографски образ на тиреоиден нодул със скор 3, хистологично верифициран като минимално инвазивен фоликуларен карцином.



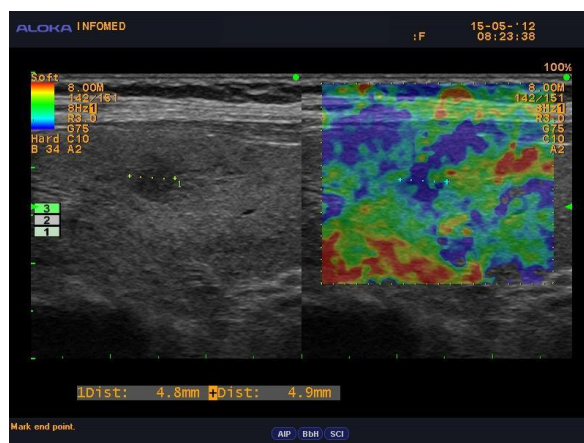
Фигура 19. В-mode и еластографски образ на тиреоиден нодул със скор 3, хистологично верифициран като фоликуларен аденом.

Твърдата периферия, изобразяваща се еластографски, би могла да отговаря на капсулната инвазия при фоликуларните тумори. Ако това се докаже в голяма серия фоликуларни тумори, значението на тиреоидната еластография би нарастнало многократно, тъй като е неинвазивен метод, а фоликуларните лезии са нерешен проблем в тиреоидната патология. Не трябва да се подценява и възможността дългогодишни фоликуларни аденоми с по-груба и дебела капсула да имат същия еластографски образ въпреки бенигнения си характер. На фигура 19 е представен случай на 57 годишна жена с изоехогенен нодул с хипоехогенно хало, с еластографски скор 3, който хистологично е фоликуларен аденом.

Липсваща еластичност (скор 4) показват 5,40% от бенигнените и 35,72% от малигнените нодули, т.е. статистически значима разлика ($p=0,0125$). На фигура 20 е представен случай на медуларен карцином с еластографски скор 4.



Фигура 20. В-mode и еластографски скор 4 при медуларен карцином.



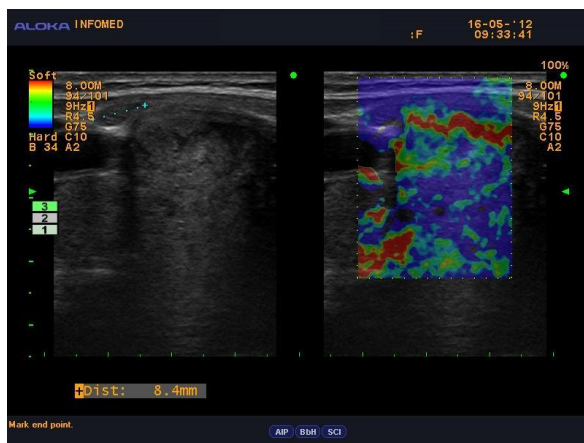
Фигура 21. В-mode и еластография на микропапиларен карцином на фона на тиреоидит на Хашимото.

Фигура 21 показва УЗ и еластографски образ със скор 4 на хипоехогенен микровъзел с размер 4 мм на фона на автоимунен тиреоидит. Последващата ТАБ показва малигнен цитологичен резултат, а след оперативното лечение хистологично се потвърди микропапиларен карцином. Предимството на еластографията в случаите на хипоехогенни зони на фона на тиреоидит е, че ако те са лимфоцитарни инфилтрати се изобразяват в зелено, а ако са възли с малигнен характер – в синьо. Тези зони обичайно са с малки субсантиметрови размери и според препоръките не подлежат на ТАБ.

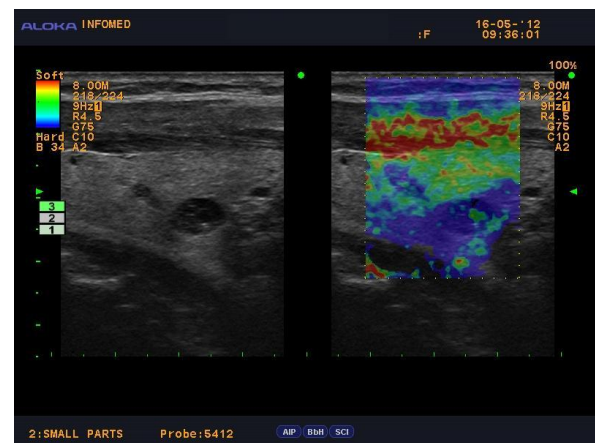
Ако се изобразяват като твърди и нееластични, то тогава еластографията би могла да разшири индикациите за биопсично изследване на микронодули и да способства за своевременното хирургично лечение на малигнените от тях.

Синя оцветка, разпростираща се както във възела, така и в околната тъкан (скор 5) не се наблюдава при доброкачествените възли (0%) и се регистрира при 28,57% от злокачествените. Разликата в разпространението на скор 5 сред бенигнени и малигнени възли е статистически значима ($p=0,0040$).

На фигура 22 е представен случай на доминантен тиреоиден нодул при 71 годишна пациентка със скор 5 и лимфен възел, изобразяващ се като нееластичен (в синьо). При същата пациентка в контралатералния лоб се визуализира недоминантен възел със скор 5, показан на фигура 23. Хистологичното изследване доказва мултифокален папиларен карцином с лимфни метастази.



Фигура 22. Доминантен хипоехогенен възел с неравни контури, по-голям предно-заден от напречен размер, микрокалцификати и еластографски скор 5. Вентрално - прилежащ ЛВ с ниска еластичност. Хистологично - мултифокален ПК с лимфни метастази.



Фигура 23. Недоминантен хипоехогенен възел с микрокалцификати и еластографски скор 5 – хистологично папиларен карцином.

Ако се обединят скор 4 и скор 5 в общ скор с ниска еластичност, то 64,29% от малигнените възли се характеризират с нееластична структура срещу само 5,40% от доброкачествените възли при сигнификантна разлика ($p<0,0001$).

Основно ограничение на метода се явява интермедиерният скор 3, който е нискоинформативен за определяне на характера на възела и следва да се комбинира с УЗ и цитологични данни при интерпретацията му. При анализа на нашите резултати за скорове 1, 2, 4 и 5, т.е. вискоеластични и нискоеластични скорове, чувствителността на еластографското изследване достига 90%, а специфичността е 93,33% (таблица 12). Чувствителността на метода е по-висока от тази на УЗ белези за малигненост, взети както поотделно, така и в комбинация. Положителната предсказваща стойност възлиза на 81,82%. Отрицателната предсказваща стойност достига 96,55%, а диагностичната точност (акуратност) – 92,5% и те са по-високи от тези на всяка комбинация от ехографски белези за малигненост. Това означава, че възел, изглеждащ еластичен, с висока вероятност е бенигнен, т.е. ниските скорове (1 и 2) са надежден критерий за изключване на злокачествена природа на възела. Дали това ще доведе до включването на еластографията в диагностичния алгоритъм при възлеста гуша, както и до ограничаване на индикациите за ТАБ ще покажат бъдещи по-големи мултицентрови проучвания.

Таблица 12. *Диагностична стойност на B-mode УЗ изследване, еластография и ТАБ, използвани самостоятелно и в съчетание.*

	Чувствителност (%)	Специфичност (%)	Положителна предиктивна стойност (%)	Отрицателна предиктивна стойност (%)	Диагностична точност (акуратност) (%)
УЗ в B-mode (≥ 3 белега за малигненост)	65,06	97,39	87,10	91,16	90,51
Еластография	90,00	93,33	81,82	96,55	92,50
ТАБ	90,32	81,11	62,22	96,05	83,47
УЗ (≥ 3 белега) + Еластография	90,00	96,67	90,00	96,67	95,00
УЗ (≥ 3 белега) + ТАБ	70,97	98,89	95,65	90,82	91,74
УЗ (≥ 3 белега) + Еластография + ТАБ	90,00	100,00	100,00	96,77	97,50

При съчетание на еластографията и В-mode УЗ изследване специфичността нараства до 96,67%, а диагностичната точност - до 95% (таблица 12). Същата комбинация достига чувствителността на ТАБ (90%), която се счита за най-точния преоперативен метод. Това е още един аргумент в полза на по-широкото навлизане на еластографията в клиничната практика и вероятното намаляване броя на провежданите биопсии. Нашите данни сочат, че преоперативното съчетаване на трите метода на изследване – конвенционален УЗ, еластография и ТАБ постига чувствителност 90%, специфичност 100% и диагностична точност 97,5% в разграничаването на малигнените от бенигнените възли и позволява на клинициста най-точен подбор на пациентите, нуждаещи се от оперативно лечение (таблица 12).

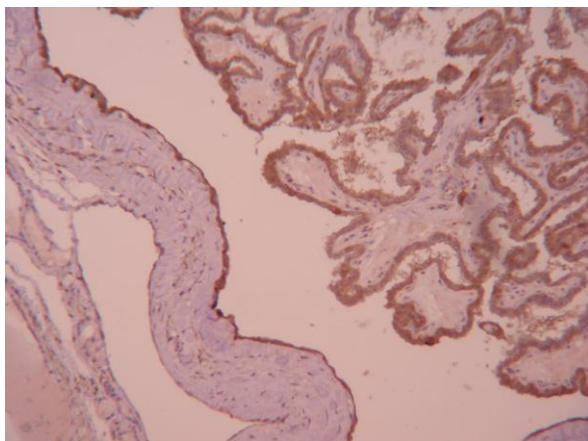
6. Резултати от имунохистохимичното (ИХХ) изследване на тиреоидните възли

Таблица 13. Резултати от ИХХ изследване на Galectin-3 (Gal-3), Fibronectin-1 (FN-1), Cytokeratin-19 (СК-19) и НВМЕ₁ при всяка една от хистологичните категории (в сиво са маркирани малигнените).

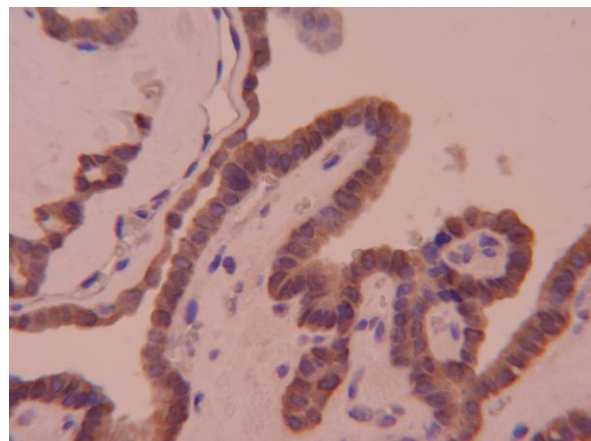
Хистологична диагноза	Брой случаи	Gal-3	FN-1	СК-19	НВМЕ ₁
Папиларен Са	13	13/13 (100%)	9/13 (69,2%)	13/13 (100%)	12/13 (92,3%)
Meta от папиларен Са в ЛВ	3	3/3 (100%)	1/3 (33,3%)	3/3 (100%)	3/3 (100%)
Фоликуларен вариант на папиларен Са	6	5/6 (83,3%)	2/6 (33,3%)	5/6 (83,3%)	3/6 (50%)
Tall cell вариант	2	2/2 (100%)	2/2 (100%)	2/2 (100%)	2/2 (100%)
Фоликуларен Са	5	4/5 (80%)	1/5 (20%)	3/5 (60%)	2/5 (40%)
Hürthle cell Са	4	4/4 (100%)	4/4 (100%)	3/4 (75%)	1/4 (25%)
Анапластичен Са	4	4/4 (100%)	2/4 (50%)	4/4 (100%)	3/4 (75%)
Фоликуларен аденом	11	2/11 (18,2%)	1/11 (9,1%)	1/11 (9,1%)	0/11 (0%)
Hürthle cell аденом	4	3/4 (75%)	0/4 (0%)	2/4 (50%)	1/4 (25%)
Нодозна струма	11	3/11 (27,3%)	1/11 (9,1%)	3/11 (27,3%)	1/11 (9,1%)
Нормална тиреоидна тъкан	11	0/11 (0%)	0/11 (0%)	0/11 (0%)	0/11 (0%)

ИХХ анализ на експресията на 4 молекулни маркера - Galectin-3, Fibronectin-1, Cytokeratin-19 и HBME₁ е проведен върху 63 от оперативно отстранените тиреоидни възли – 37 карцинома и 26 бенигнени лезии. Резултатите са обобщени в таблица 13.

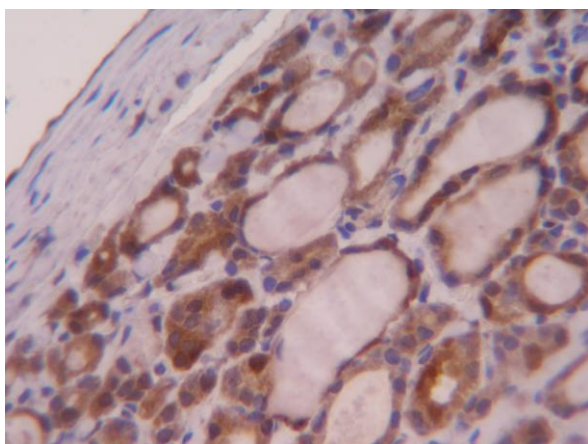
Galectin-3 показва силна и дифузна експресия (+++) във всички малигнени възли, с изключение на 1 случай на фоликуларен вариант на папиларен карцином и 1 случай на фоликуларен карцином (таблица 13). Експресията на този молекулен маркер бе както в цитоплазмата, така и в ядрото на фоликуларните клетки (фигури 24, 25, 26). Имунохистохимичното изследване визуализира много добре капсулната и съдовата инвазия (фигура 27), които не бяха така отчетливи на рутинното оцветяване с хематоксилин.



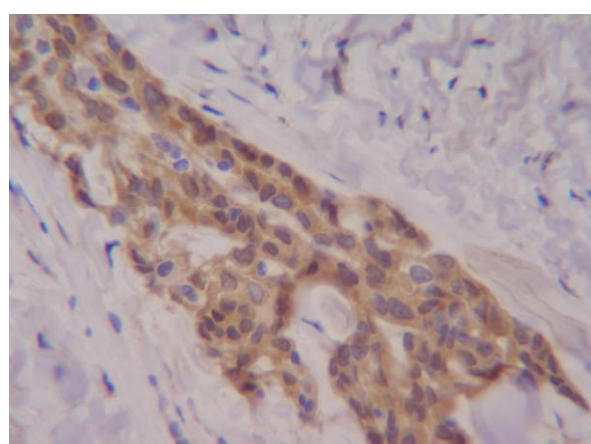
Фигура 24. Папиларен карцином, имунопозитивен (+++) за Galectin-3.



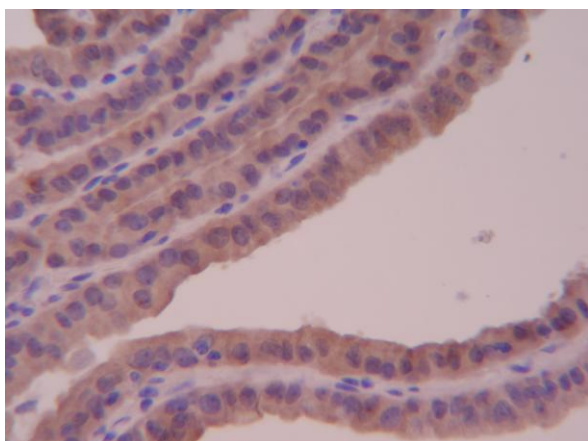
Фигура 25. Цитоплазмена и ядрена експресия на Galectin-3 при папиларен карцином.



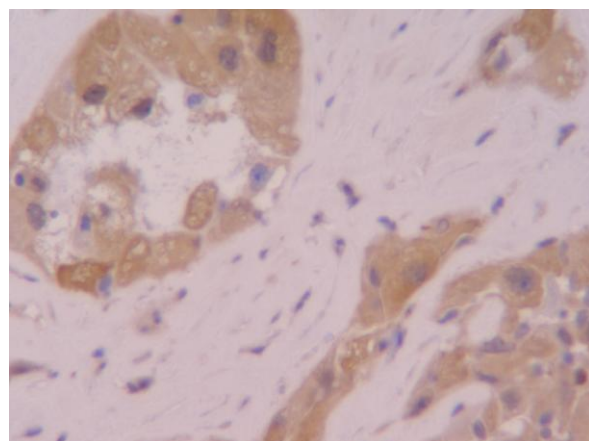
Фигура 26. Фоликуларен карцином, имунопозитивност (+++) за Galectin-3.



Фигура 27. Капсулна инвазия – имунохистохимия с Galectin-3.



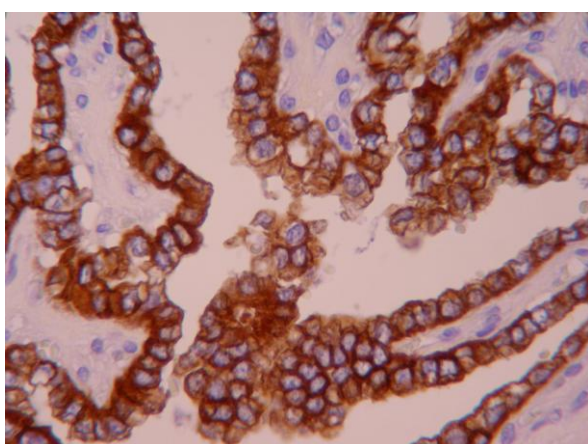
Фигура 28. “Tall cell” вариант на папиларен карцином - (+++) експресия на Galectin-3.



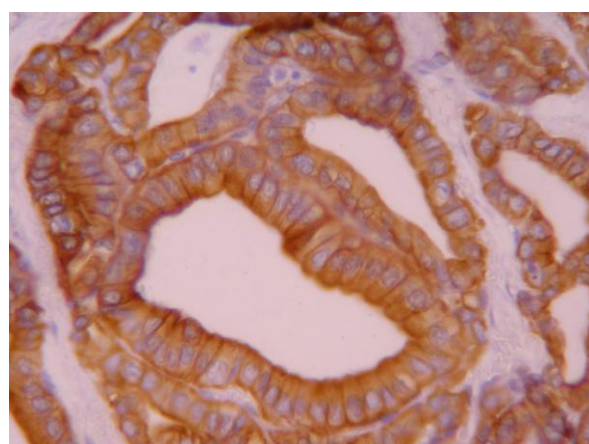
Фигура 29. Анапластичен карцином – имунопозитивност за Gal-3.

Метастазите от папиларен карцином в лимфни възли, както и първичните тумори с по-лоша прогноза (Tall cell вариант, Хъртъл-клетъчен карцином и анапластичен карцином) бяха 100% позитивни за Galectin-3 (фигури 28 и 29).

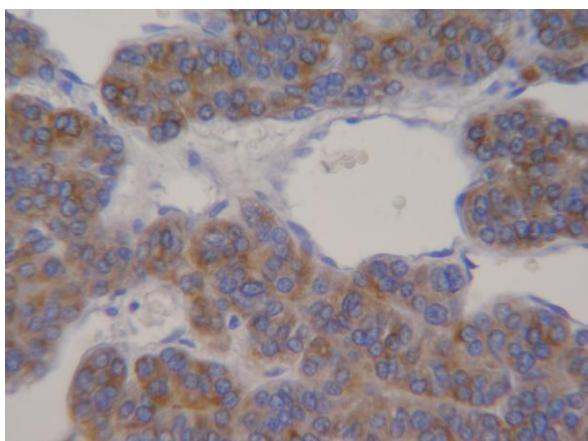
Имунохистохимичното изследване за Cytokeratin-19 бе положително при 33 от 37 малигнени възли, като експресията беше дифузна и силно изразена с цитоплазмена локализация. Фигура 30 представя класически вариант, а фигура 31 - фоликуларен вариант на папиларен карцином (ФВПК) със силно изразена (+++) експресия на Cytokeratin-19 в цитоплазмата на клетките. Имунопозитивен фоликуларен карцином и имунонегативен фоликуларен аденом са показани съответно на фигура 32 и фигура 33.



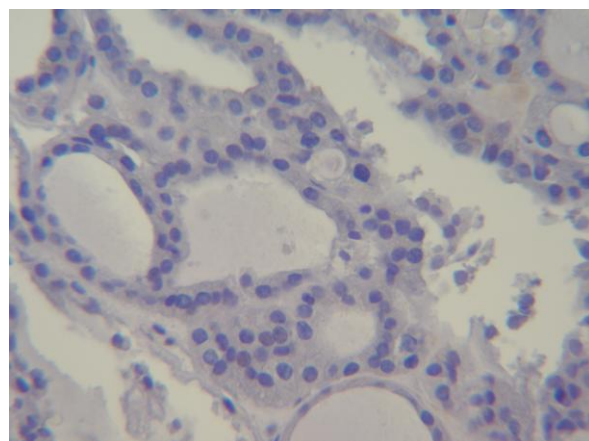
Фигура 30. Класически ПК със силна (+++) цитоплазмена експресия на СК-19.



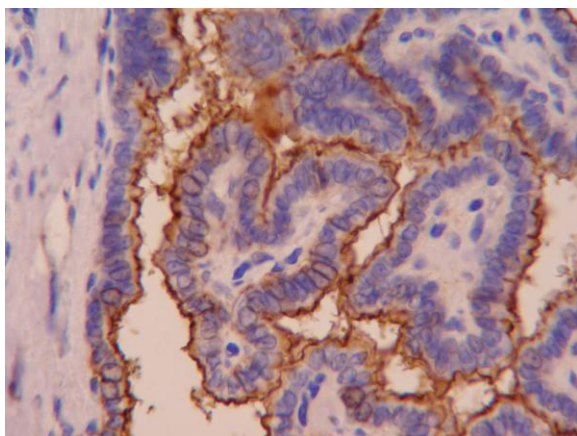
Фигура 31. ФВПК със силно изразена (+++) цитоплазмена експресия на СК-19.



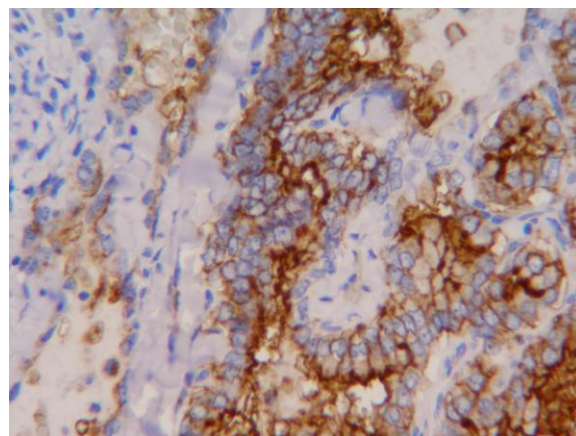
Фигура 32. Фоликуларен карцином (++) имунопозитивност за СК-19.



Фигура 33. Фоликуларен аденом – имунонегативен (-) за СК-19.

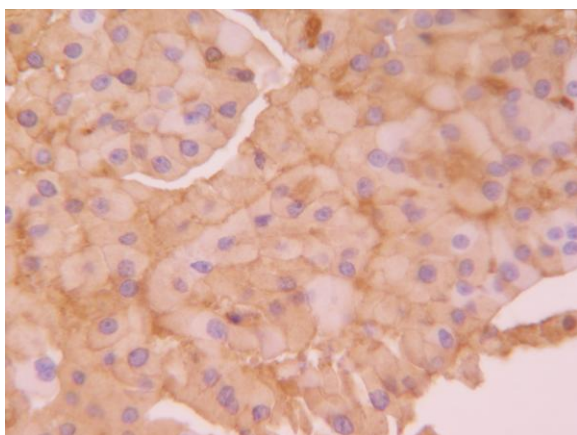


Фигура 34. HBME₁ при ПК – типична мембранозна (апикална) локализация.

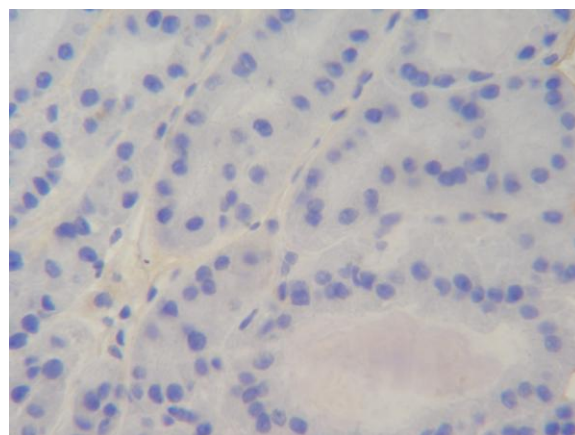


Фигура 35. Метастаза от ПК в лимфен възел – имунопозитивна за HBME₁.

HBME₁ с типична си мембранозна локализация беше положителен в 26 от 37 карцинома. Папиларният карцином (класически и „tall cell” вариант), както и лимфните метастази показаха по-изразена експресия, достигаща 92-100% от случаите (фигура 34 и 35). При фоликуларния карцином и фоликуларния вариант на папиларния карцином имунопозитивността достигна 40%-50%, а при Хъртъл-клетъчния карцином едва 25%. Експресията на Fibronectin-1 беше положителна в 21 от 37 малигнени лезии, по-изразена при папиларните и Хъртъл-клетъчните карциноми. На фигура 36 е представен Хъртъл-клетъчен карцином с положителна експресия на Fibronectin-1.

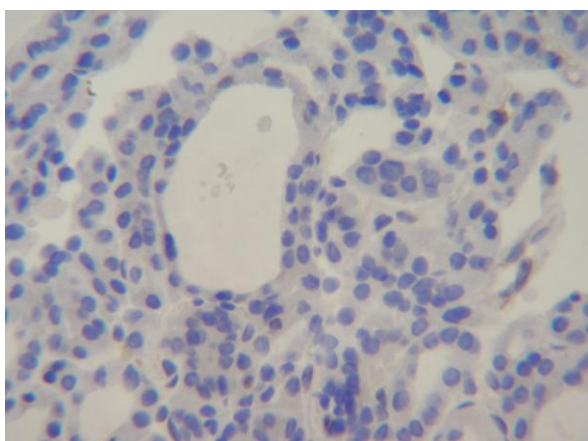


Фигура 36. Хъртъл-клетъчен карцином с положителна експресия на *Fibronectin-1*.

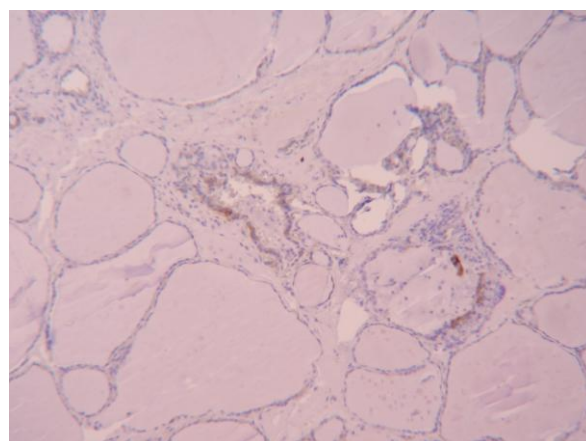


Фигура 37. Хъртъл-клетъчен аденом – имунонегативен (-) за *Fibronectin-1*.

Нормалната тиреоидна тъкан, обкръжаваща хиперпластните бенигнени възли, бе имунонегативна за четирите молекулни маркера. Болшинството доброкачествени лезии (фоликуларни аденоми, Хъртъл-клетъчни аденоми и нодозна гуша) също бяха негативни за четирите маркера. Фигура 38 илюстрира фоликуларен аденом, имунонегативен за *Galectin-3*. Видна е разликата с фоликуларния карцином, представен на фигура 26. Онкоцитарен (Хъртъл-клетъчен) аденом с негативна експресия на *Fibronectin-1* е представен на фигура 37 в контрапункт на силната експресия при Хъртъл-клетъчния карцином от фигура 36.



Фигура 38. Фоликуларен аденом, имунонегативен за *Galectin-3*.



Фигура 39. Нодозна струма с фокално (+) оцветяване за *Cytokeratin-19* в зоните на хронично възпаление.

Регистрираните в таблица 13 като позитивни за даден маркер бенигнени лезии показаха слабо изразено фокално (+) оцветяване, предимно за Cytokeratin-19 и Galectin-3, ограничено само в участъците на кистична дегенерация и хронично възпаление. При някои това слабо оцветяване отговаряше на мястото на предходно проведена ТАБ. Фигура 39 представя доброкачествена нодозна гуша със слабо изразено фокално (+) позитивиране на Cytokeratin-19 в зони на хронично възпаление и огнищна лимфоцитарна инфилтрация.

Статистическият анализ на всеки от молекулярните маркери (таблица 14), използван за разграничаване между малигнени и бенигнени възли показва, че Galectin-3 е най-чувствителен (94,6%), следван от Cytokeratin-19 (89,2%). Fibronectin-1 и HBME₁ се оказаха по-малко чувствителни (съотв. 56,8% и 70,3%), но с по-голяма специфичност (92,3% за всеки от тях).

Сравнявайки имунопозитивността при фоликуларните неоплазми (фоликуларен карцином срещу аденом) постигнахме 80% чувствителност за Galectin-3 и 100% специфичност за HBME₁. За ДД на онкоцитарните лезии (Хъртъл-клетъчен карцином срещу аденом) Fibronectin-1 (100% чувствителност) се оказа по-подходящ от Galectin-3 и Cytokeratin-19.

Таблица 14. Чувствителност, специфичност, положителна и отрицателна предиктивна стойност на всеки един от молекулните маркери.

Единичен маркер, използван за разграничаване на малигнени от бенигнени лезии	Чувствителност (%)	Специфичност (%)	Положителна предиктивна стойност (%)	Отрицателна предиктивна стойност (%)	Диагностична точност (%)
Galectin-3	94,6	69,2	81,4	90,0	84,1
Fibronectin-1	56,8	92,3	91,3	60,0	71,4
Cytokeratin-19	89,2	76,9	84,6	83,3	84,1
HBME₁	70,3	92,3	92,9	68,6	79,4

Таблица 15 представя различни комбинации от изследваните от нас молекулни маркери. Коекспресията на 2 или повече маркера се среща в почти всички карциноми (33 от 37), достигайки 89,2% чувствителност и 80,8% специфичност в разграничаването на малигненост. Изследването на повече от 3 маркера не повишава значително диагностичната стойност, променяйки чувствителността на 75,7% и специфичността на 92,3%.

Таблица 15. Коекспресия на 2 или повече маркера с представяне на различни комбинации и тяхната чувствителност и специфичност.

Коекспресия	Карциноми (n=37)	Бенигнени лезии (n=26)	Чувстви- телност (%)	Специ- фичност (%)
Gal-3 (+) и FN (+)	21/37	2/26	56,8%	92,3%
Gal-3 (+) и СК ₁₉ (+)	31/37	3/26	83,8%	88,5%
Gal-3 (+) и НВМЕ ₁ (+)	26/37	2/26	70,3%	92,3%
FN (+) и СК ₁₉ (+)	20/37	1/26	54,1%	96,2%
FN (+) и НВМЕ ₁ (+)	17/37	0/26	45,9%	100%
СК ₁₉ (+) и НВМЕ ₁ (+)	25/37	2/26	67,6%	92,3%
≥ 2 молекулни маркера	33/37	5/26	89,2%	80,8%
≥ 3 молекулни маркера	28/37	2/26	75,7%	92,3%

Таблица 16. Липса на експресия на 2 или повече маркера в различни комбинации и тяхната чувствителност и специфичност.

Липса на експресия	Карциноми (n=37)	Бенигнени лезии (n=26)	Чувстви- телност (%)	Специ- фичност (%)
Gal-3 (-) и FN (-)	2/37	18/26	69,2%	94,6%
Gal-3 (-) и СК ₁₉ (-)	0/37	15/26	57,7%	100%
Gal-3 (-) и НВМЕ ₁ (-)	2/37	18/26	69,2%	94,6%
FN (-) и СК ₁₉ (-)	3/37	19/26	73,1%	91,9%
FN (-) и НВМЕ ₁ (-)	7/37	22/26	84,6%	81,1%
СК ₁₉ (-) и НВМЕ ₁ (-)	3/37	19/26	73,1%	91,9%
Липса на ≥ 2 маркера	9/37	24/26	92,3%	75,7%
Липса на ≥ 3 маркера	4/37	21/26	80,8%	89,2%

Липсата на експресия на 2 и повече маркера е характерна за бенигнените лезии (24 от 26 доброкачествени възли), с 92,3% чувствителност и 75,7% специфичност в потвърждаването на доброкачествения характер на възлите (таблица 16).

Папиларният тиреоиден карцином е най-честият малигнен тумор на щитовидната жлеза и съответно представлява доминиращият карцином и в нашата имунохистохимична извадка. В класическия си вариант той рядко представлява цитологична и хистологична дилема поради добре изразените си ядрени характеристики – матово-стъкловидни ядра, ядрени бразди и включвания, както и групирането на клетките в папиларни структури или клетъчни пластове, наличието на псамомни телца. Предимствата на имунохистохимичното изследване са при някои кистични тиреоидни лезии, които могат да крият окултен папиларен карцином, при слабо диференцираните варианти и лимфните метастази. Положителната експресия на Galectin-3, Cytokeratin-19 и НВМЕ₁ ни помогна да докажем казуистичен случай на микропапиларен карцином в стената на киста на ductus thyroglossus.

Имунохистохимията визуализира много отчетливо и интратиреоидни микроогнища на папиларен карцином, разграничавайки ги например от доброкачествени хиперпластни промени с папилизация. Много често наличието на микрокарциноми, особено по-малки от 5 mm, както и мултифокалността на тумора стават ясни след имунохистохимичен анализ. В два от изследваните от нас папиларни карциноми (един класически и един фоликуларен вариант) хистологичното изследване бе диагностицирало единично огнище и бе пропуснало микрофокуси, съотв. от 2 и 3 mm, които се подчертаха с експресията на Galectin-3 и Cytokeratin-19.

И четирите изследвани от нас маркера показаха силно изразена имунопозитивност при папиларния рак, като за Galectin-3 и Cytokeratin-19 тя беше 100%, за НВМЕ₁ 92,3%, а за Fibronectin 69,2%. Нашите резултати очертават имунохистохимичната комбинация от Galectin-3 + Cytokeratin-19 ± НВМЕ₁ като най-подходяща за откриването на папиларен карцином.

Фоликуларният вариант на папиларния карцином (ФВПК) е вторият по честота след класическия вариант на папиларния рак. Той съчетава фоликуларна подредба на клетките с ядрените характеристики на папиларния карцином. Резултатите ни показаха, че най-чувствителни маркери при ФВПК са Galectin-3 (83,3%) и Cytokeratin-19 (83,3%).

Т.нар. фоликуларни лезии представляват не само цитологичен, но и хистологичен проблем. Те съставляват 20-30% от щитовидните възли и включват следните хистологични категории: фоликуларен аденом, фоликуларен аденом с клетъчна атипия, фоликуларен карцином, минимално инвазивен фоликуларен карцином. Разграничаването например на фоликуларния аденом от минимално инвазивния карцином изисква хистологично верифициране на капсулната и/или съдовата инвазия. Това изключва възможността за предоперативно разграничаване на двата вида лезии на цитоморфологично ниво. Дори хистологичната интерпретация на капсулната и съдова инвазия варира между различните патолози. В тези случаи много полезни се явяват молекулните маркери, които се експресират различно в бенигнените и малигнените възли. В нашето проучване Galectin-3 маркира ясно капсулната инвазия в 4 от 5 случая на фоликуларен карцином (два минимално инвазивни и два инвазивни ФК), подпомагайки по този начин диагнозата и последващото терапевтично поведение. Предоперативното изследване на молекулни маркери е най-често прилагано, но и най-дискутирано точно в тази категория на фоликуларните лезии с цел да се стратифицират според малигнения им потенциал. От една страна, трябва да се избягва свръхдиагностиката на злокачествени тумори и негативния психологичен ефект върху пациента. От друга страна, на пациентите с потенциално агресивен тумор, би трябвало да се гарантира ефективно лечение в началните стадии на заболяването. Помощни изследвания, като имунохистохимичното, могат да улеснят патолога и да подобрят стандартното морфологично изследване както на хирургични материали, така и цитологични, добити чрез ТАБ на възлите.

Нашите резултати показаха, че за разграничаването на фоликуларните неоплазми (фоликуларен карцином срещу аденом) най-чувствителният маркер е Galectin-3 (80%), следван от Cytokeratin-19 (60%), а най-специфичният - HBME₁ (100%). HBME₁ – реактивността в хистологични материали от суспектни аденоми или доминантни хиперпластни възли налага търсенето на други белези за малигненост, като капсулна или съдова инвазия. Подходяща комбинация от молекулни маркери при фоликуларните лезии е Galectin-3 + HBME₁ ± Cytokeratin-19.

Изразеността на атипията и полиморфизма при онкоцитарните тумори често не корелира с биологичното им поведение. На цитологично ниво не е възможно и разграничаването на Хъртъл-

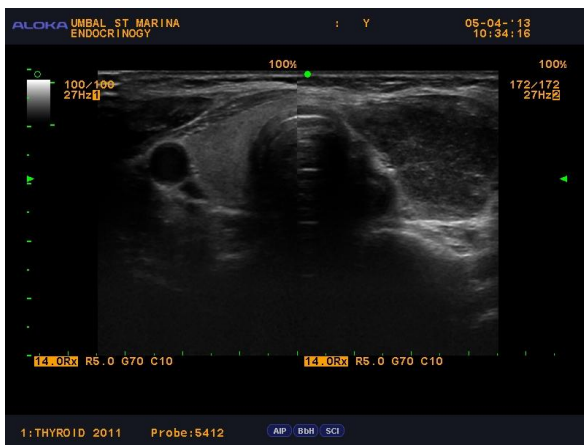
клетъчните неоплазми – аденом или карцином, изисква се хистологично потвърждение на капсулна и/или съдова инвазия. В диференциалната диагноза на Хъртъл-клетъчните неоплазми влизат както малигнени заболявания – напр. ФВПК с онкоцитарни промени, медуларен карцином, така и бенигнени заболявания като тиреоидита на Хашимото с оксифилна метаплазия. Нашето проучване показва, че ФВПК е най-често позитивен за Galectin-3 и Cytokeratin-19, докато за разграничаването на Хъртъл-клетъчен карцином срещу аденом Fibronectin-1 (100% чувствителност) се оказва по-подходящ от тези маркери.

В нашето проучване нормалната тиреоидна тъкан и по-голяма част от бенигнените лезии (фоликуларни аденоми, Хъртъл-клетъчни аденоми и нодозна гуша) са имунонегативни за четирите маркера. Изключенията показаха слабо изразено фокално (+) оцветяване, предимно за Cytokeratin-19 и Galectin-3, ограничено само в участъците на кистична дегенерация, хронично възпаление, лимфоцитарна инфилтрация. Известно е, че СК19 се експресира фокално в някои фоликуларни епителни клетки при тиреоидит на Хашимото и дегенеративни участъци на хиперпластни възли, което показва реактивната природа на СК19-позитивността. Въпреки това дифузната експресия, която е характерна за папиларния рак, има диагностична стойност. Подобни данни за слаба фокална експресия в реактивно променени тиреоцити, обградени от лимфоцитни инфилтрати, има и за Galectin-3. Според някои автори позитивирането му в някои фоликуларни аденоми с клетъчна атипия, при които все още липсва инвазивност показва, че Galectin-3 е екстремно чувствителен и ранен маркер за малигнена трансформация на клетката. Необходими са допълнителни проучвания за проверката на тази хипотеза.

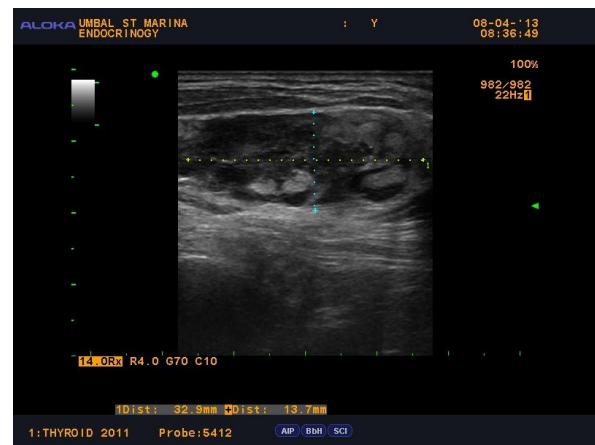
Изглежда нереалистично един единствен маркер да разреши дилемите на тиреоидната патология. Всеки един от маркерите, различно експресиран в бенигнените и малигнени лезии, представя крайния резултат от поредица молекулярни събития в клетката. По-подходящо е използването на комбинация от маркери, като имунохистохимичният панел от Galectin-3, Cytokeratin-19 и НВМЕ₁ може да допринесе за диференциалната диагноза между злокачествени и доброкачествени тиреоидни възли, включително тези с фоликуларна структура. При Хъртъл-клетъчните неоплазми към този панел трябва да се добави и Fibronectin-1. Този панел от имунохистохимични маркери може да се използва и предоперативно,

в анализа на материала от ТАБ на тиреоидни възли с оглед ранно откриване на тиреоидния рак, както и при трудни в диференциално-диагностично отношение случаи.

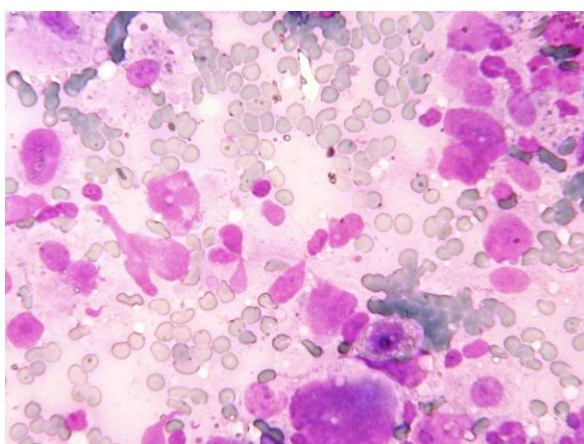
Представяме клиничен случай на 74 годишна жена с известен неходжкинов лимфом и съпътстваща лошо отграничена хипоехогенна формация 4,5/2,4 см в левия лоб на щитовидната жлеза, с микро- и груби калцификати, интранодулерен кръвоток и наличие на суспектни шийни лимфни възли (фигура 40, 41).



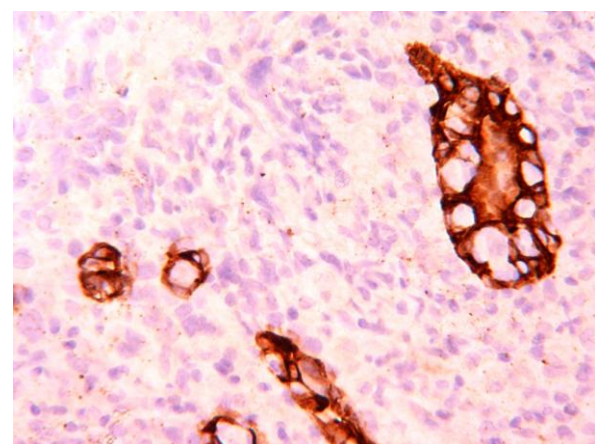
Фигура 40. Хипоехогенна формация 4,5/2,4 см в левия лоб, с неравни контури, микро- и груби калцификати.



Фигура 41. Патологичен шийен лимфен възел при същата пациентка.



Фигура 42. Цитология след ТАБ на формацията – бизарни и многоядрени туморни клетки.



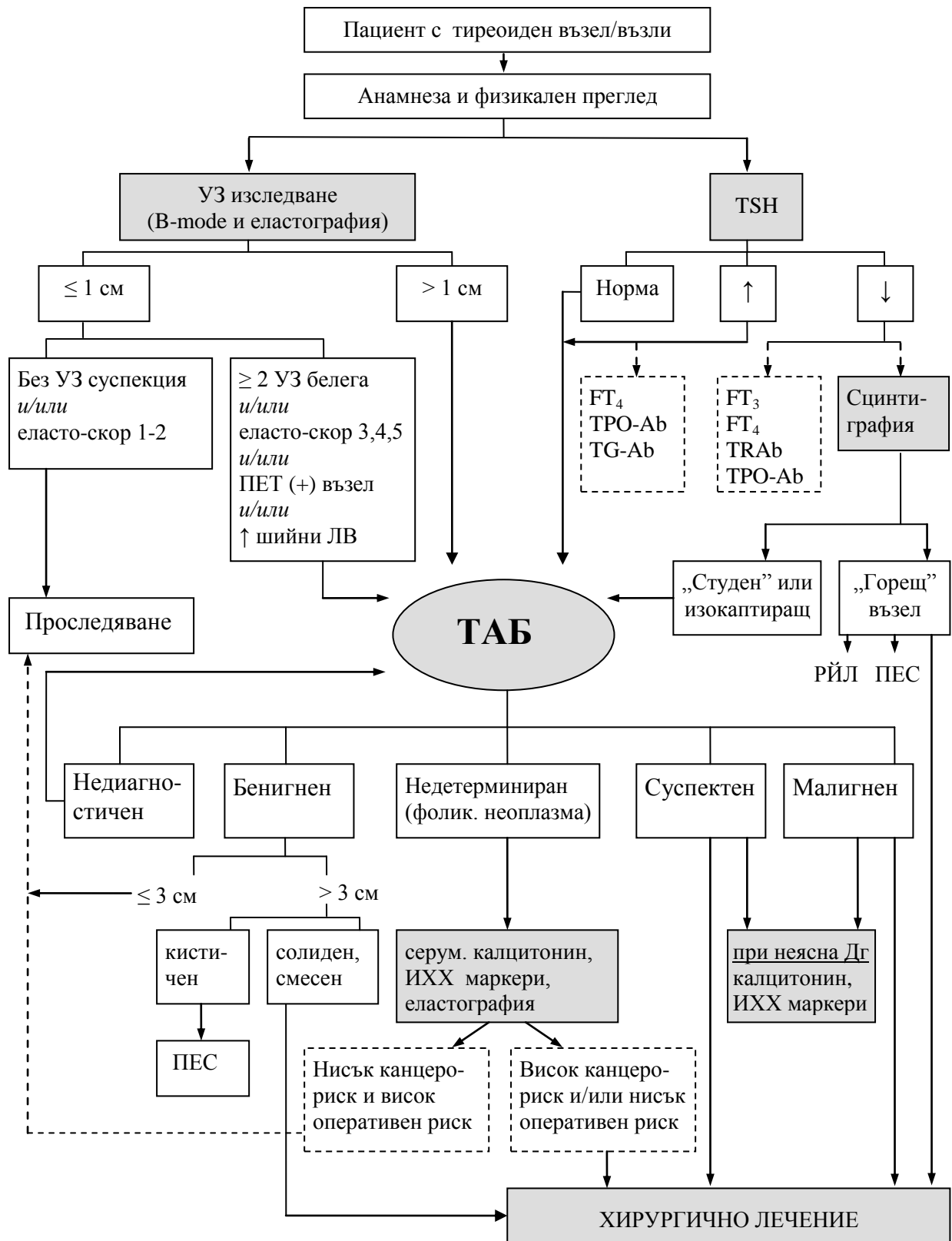
Фигура 43. ИХХ на цитоблокче - (+++) експресия на Pan-cytokeratin AE1/AE3.

Проведената ТАБ с цитологично изследване на щитовидната лезия показва бизарни и гигантски туморни клетки на фон от лимфоцити и хистиоцити (фигура 42). Екипът от ендокринолози, хематолози и патолози бе затруднен в диференциалната диагноза между дребно-клетъчен лимфом, анапластичен лимфом и анапластичен тиреоиден карцином, както и в избора на лечение (химиотерапевтично или оперативно). Материалът от ТАБ на тиреоидната лезия бе използван за изготвяне на цитоблокче след обработка с 10% неутрален формалин, възходяща редица от етанол, ксилол и включване в парафин. Изготвените срези от цитоблокчето бяха изследвани имуноцитохимично с Pancytokeratin AE1/AE3 – смес от две различни моноклонални антитела срещу високомолекулярни цитокератини (СК 10, 14, 15 и 16), както и срещу нискомолекулярния СК 19 (фигура 43). Положителната експресия на Pancytokeratin AE1/AE3 доказва епителния произход на тумора в щитовидната жлеза и потвърди диагнозата анапластичен тиреоиден карцином, след което пациентката бе насочена за оперативно лечение – тиреоидектомия и шийна лимфна дисекция.

7. Диагностично-лечебен алгоритъм при възлеста струма

Клиничните насоки на различни експертни институции като АТА (2006г. и ревизия от 2009г.) и ААСЕ/АМА/ЕТА (2010г.) включват и възможни алгоритми за поведение при пациенти с възлеста гуша. Приложението на тези алгоритми в ежедневната практика на различните клинични центрове зависи от наличните специалисти с необходимия опит, от достъпа до утвърдени и нови диагностични методи, рисковете, както и разходите за процедурите, спецификата на региона.

Въз основа на проучения от нас клиничен материал и анализа на резултатите, създадохме диагностично-лечебен алгоритъм при възлеста струма, представен на фигура 44. Предложеният алгоритъм включва както утвърдените от повечето препоръки на експертни институции УЗ изследване, серумен TSH и ТАБ, така и някои нови диагностични методи като УЗ еластография и имунохистохимичното (ИХХ) изследване на молекулни маркери като Galectin-3, Cytokeratin-19, HBME₁ и Fibronectin-1, които могат да бъдат приложени при трудни в диагностично отношение случаи. Предложеният алгоритъм включва като лечебни възможности оперативното лечение, радио-йодлечението (РЙЛ) и перкутанното етанолово склерозиране (ПЕС).



Фигура 44. Диагностично-лечебен алгоритъм при пациенти с възлеста струма.

V. ИЗВОДИ

1. Честотата на тиреоидния рак сред пациентите с нодозна гуша възлиза на 5,6%.
2. Честотата на доказаня хистологично тиреоиден карцином нараства прогресивно от 3,95% сред определените като цитологично бенигнени възли, 15,83% при недерминираниите, 34% от цитологично суспектните до 97,5% от определените като малигнени при ТАБ нодули.
3. Тънкоиглената биопсия с цитологично изследване е най-чувствителният самостоятелно използван предоперативен метод за откриване на първичен или метастичен рак в щитовидната жлеза. Чувствителността на ТАБ е 90,32%, специфичността 81,11, а диагностичната точност 83,47%.
4. Мъжкият пол, младата (<20 години) и напредналата възраст (>70 години), предходното лъчелечение по повод на друго заболяване са клинични рискови фактори, свързани с по-висока честота на тиреоидния карцином.
5. Средното ниво на серумния TSH при хистологично потвърдените злокачествени възли е значимо по-високо от това при бенигнените нодули след изключване на всички фактори, повлияващи TSH нивата.
6. Броят и размерът на възлите не корелира с малигнения им потенциал, тъй като не съществува статистически значима разлика в разпространението на тиреоидния карцином сред единичните и множествените възли, между доминантния и недоминантен нодул при МВГ, както и между под- и надсантиметровите възли.
7. Предиктори на малигнения характер на тиреоидните възли са някои УЗ белези като солидната хипоехогенна структура, неравни граници на възела, липсващо хало, наличие на микрокалцификати, по-голям предно-заден от напречен размер и интранодулерният кръвоток, както и наличието на суспектна шийна лимфаденомегалия, поради сигнификантно по-високата им честота при злокачествените възли.
8. Най-висока предсказваща стойност има тройната комбинация от солидна хипоехогенна структура, неравни очертания и микрокалцификати. За клиничната практика е по-удачно отчитането на броя на УЗ белези, подсказващи малигненост. Наличието на два от тези УЗ белези удвоява вероятността за

малигненост, а присъствието на три или повече УЗ критерия предполага с над 65% вероятност злокачествен характер на тиреоидния възел.

9. Предиктивната стойност на УЗ изследване може да бъде повишена при запазване на неинвазивния му характер чрез тиреоидната еластография, представляваща ново приложение на УЗ за изследване на еластичността на възлите.
10. При използване на 5-скорова система, скоровете с висока еластичност (скор 1 и 2) се свързват с бенигни характер на възлите, а скоровете с ниска еластичност (скор 4 и 5) с малигнената им природа.
11. Комбинирането на двата неинвазивни метода - В-mode УЗ изследване и еластография достига чувствителността на биопсихното изследване. Предоперативното съчетаване на трите метода на изследване – конвенционален УЗ, еластография и ТАБ постига чувствителност 90% и специфичност 100% и позволява на клинициста най-точен подбор на пациентите, нуждаещи се от хирургично лечение.
12. Имунохистохимичното изследване на молекулни маркери може да подобри диагностиката и своевременното лечение на някои малигнени тиреоидни лезии и лимфни метастази, които представляват диагностична трудност при хистологичното изследване.
13. Имунохистохимията (ИХХ) е особено полезна за установяването на тиреоидни микрокарциноми, за диагностика на мултифокални малигнени лезии, както и за визуализацията на съдова и капсулна инвазия, разграничаваща фоликуларния аденом от минимално инвазивния фоликуларен карцином.
14. По-подходящо е използването на съчетание от маркери, като ИХХ панел от Galectin-3, Cytokeratin-19 и HBME₁ може да допринесе за диференциалната диагноза между злокачествени и доброкачествени тиреоидни възли, включително тези с фоликуларна структура. При Хъртъл-клетъчните неоплазми към този панел трябва да се добави и Fibronectin-1.
15. Освен че подпомага хистологичната диагностика, методът може да бъде приложен и върху цитологичен материал след изготвяне на цитоблокче. Подходящи за изследване са богати на клетъчност материали от категориите на недетерминирани и суспектните лезии, както и малигнени с неуточнен произход.

VI. ПРИНОСИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

- 1.** Проведено е най-мощното до момента в България проучване на диагностичната стойност на ТАБ с цитологично изследване на голяма група от 1483 пациенти с възлеста струма, позволяващо статистическа достоверност на резултатите.
- 2.** Извършен е разширен анализ на прогностичната стойност на различни ултразвукови характеристики на тиреоидните възли, както и на различни съчетания от УЗ белези, предсказващи малигненост.
- 3.** Проучването е сред първите, изследващи връзката между серумното ниво на TSH и честотата на тиреоидния карцином сред пациентите с тиреоидни възли. За първи път тази зависимост е проверена след изключване на всички известни нозологични и фармакологични фактори, повлияващи TSH нивата.
- 4.** За първи път у нас е извършено изследване на еластичността на тиреоидните възли чрез метода на ултразвукова еластография. Освен че установява предиктивната стойност на метода, настоящата работа предлага включването на еластографията в алгоритъма за изследване при възлеста струма.
- 5.** За първи път у нас е изследвана имунохистохимичната експресия при тиреоидни възли на молекулни маркери, ангажирани в различни биологични процеси като клетъчна трансформация, пролиферация, резистентност към апоптозата и свързани с туморната прогресия.
- 6.** Анализирани са коекспресията на два или повече маркера и са предложени комбинации от молекулни маркери с най-висока диагностична стойност при диференцирането на различните варианти на папиларния карцином и неговите метастази в лимфни възли, на фоликуларните и Хъртъл-клетъчните лезии.
- 7.** Предложен е алгоритъм за поведение при възлеста струма, включващ проучването на нови диагностични методи с цел оптимизиране на критериите за подбор на пациентите, които биха имали полза от хирургично лечение.

VII. ПУБЛИКАЦИИ И НАУЧНИ СЪОБЩЕНИЯ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

Публикации в български и чужди списания

1. Сидерова М, Христозов К. Имуноцитохимични маркери – нова диагностична възможност в уточняването на тиреоидните възли. *Ендокринология*, 2008, том XIII, №.1: 37-47 (обзор)
2. Сидерова М, Христозов К, Красналиев И, Софтова Е. Корелация между ехографски белези за малигненост и цитоморфологични категории при тънкоиглена аспирационна биопсия на тиреоидни възли. *Ендокринология*, 2013, том XVIII, №2: 60-70 (оригинална статия)
3. Siderova M, Hristozov K, Krasnaliev I, Softova E, Boeva E. Application of immunohistochemical markers in the differential diagnosis of thyroid tumors. *Acta Endocrinologica*, 2013, Vol. IX, №.1: 41-52 (original paper)

Участия в национални и международни конгреси

1. Siderova M, Hristozov K, Krasnaliev I. Management of thyroid nodules in north-eastern Bulgaria: cytohistological correlation. 32nd annual meeting of ETA, 1-5 sept 2007, Leipzig, Germany; poster 131, отпечатано в *Hormone Research*, 2007, 68 (suppl 3): 72
2. Siderova M, Hristozov K, Krasnaliev I, Softova E. Immunohistochemical expression of Galectin-3, Fibronectin-1, Cytokeratin-19 and HBME₁ in benign and malignant thyroid nodules. 33rd annual meeting of ETA, 20-24 sept 2008, Chalkidiki, Greece; poster 75, отпечатано в *Hormones* 2008, V 7 (Suppl. 1): 74
3. Siderova M, Hristozov K, Krasnaliev I, Softova E, Boeva E. Early detection of thyroid cancer. 19th Annual assembly of IMAB, 7-10 May 2009, Golden Sands, Bulgaria
4. Siderova M, Hristozov K. Screening for thyroid abnormalities in adult population of Varna region, Bulgaria. 34th Annual meeting of ETA, 5-9 Sept 2009, Lisbon, Portugal; poster 276, отпечатано в *Acta Medica Portuguesa* 2009, N 4, V 22: 155-156
5. Siderova M, Hristozov K, Krasnaliev I, Softova E. Correlation between sonographic features predictive of malignancy and FNAB cytology results of thyroid nodules. 14th International thyroid congress, 11-16 Sep 2010, Paris; poster 379

6. Hristozov K, Siderova M, Krasnaliev I, Nenkov R, Radev R, Softova E. Is there a difference in tumor size and number of foci in Hashimoto's associated thyroid cancer? 36th annual meeting of ETA, 08-12 sept 2012, Pisa, Italy; poster 144, отпечатано в European Thyroid Journal 2012, 1 (suppl.1): 145
7. Сидерова М, Христозов К. Ултразвуков скрининг за тиреоидна патология сред неселектирана патология във Варненска област. XII Конгрес по ултразвук в медицината, 28-30 Май 2009, Боровец
8. Сидерова М, Христозов К, Красналиев И, Софтова Е, Боева Е. Имунохистохимични маркери при доброкачествени и злокачествени тиреоидни възли – първи резултати. IX Национален Конгрес по Ендокринология, 15-17 Април 2010, Пловдив
9. Сидерова М, Христозов К, Красналиев И, Софтова Е. Корелация между ехографски белези за малигненост и цитоморфологични категории при ТАБ на тиреоидни възли. IX Национален Конгрес по Ендокринология, 15-17 Април 2010, Пловдив
10. Христозов К, Райков Н, Сидерова М, Бочева Я, Красналиев И. Сравнение на нивата на тиреоглобулин в серум и пунктат от лимфен възел при суспектна лимфаденомегалия – клинични случаи. IX Национален Конгрес по Ендокринология, 15-17 Април 2010, Пловдив
11. Христозов К, Сидерова М, Красналиев И, Бочев П, Чаушев Б, Бочева Я. Перкутанно етанолово склерозиране на токсични и нетоксични тиреоидни възли. XIV Национален Симпозиум по Ендокринология „Ендокринни заболявания и стареене”, 9-11 юни 2011, Пловдив
12. Сидерова М, Христозов К, Красналиев И, Ненков Р, Радев Р, Софтова Е. Морфологични особености на тиреоидния карцином на фона на тиреоидит на Хашимото. 15-ти Национален симпозиум по ендокринология, 19-21 Април 2012, Пловдив
13. Сидерова М. Възможности на еластографията при оценка на тиреоидни възли. „Мерк Сероно Академия – кардиометаболитна грижа в ендокринологията”, 18-20 Май 2012, к-кс „Слънчев ден”, Варна

Участия в научни проекти

Фонд „Медицинска наука” към Медицински Университет „Проф. Д-р П. Стоянов”, Варна 2009 (проект №13). Имунохистохимични маркери – нова диагностична възможност в уточняването на тиреоидните възли. Обща сума по проекта 3500 лв.

БЛАГОДАРНОСТИ

В заключение изказвам най-искрената си и сърдечна благодарност на:

- *научния ми ръководител доц. К. Христозов за пълната подкрепа по време на разработването на дисертационния труд, както и за професионалното ми изграждане като лекар и ендокринолог;*
- *колегите ми от Клиниката по ендокринология, които бяха неизменна част от практическата работа с проследяваните пациенти, както и за приятелското им отношение и подкрепа;*
- *колегите от Катедрата по обща и клинична патология и лично на д-р И. Красналиев, доц. Е. Софтова, д-р К. Калчев и лаб. Е. Боева за професионализма и положените усилия при имунохистохимичното изследване, както и при цитодиагностиката на тиреоидните възли;*
- *проф. Р. Радев и доц. Р. Ненков от Клиниката по гръдна хирургия за високия професионализъм при оперативното лечение на болните с тиреоидни тумори;*
- *д-р Бочева от Централна клинична лаборатория, както и на екипа на Клиниката по нуклеарна медицина за съвместната ни работа;*
- *Не на последно място благодаря на семейството и родителите ми за разбирането, безкрайното търпение и обичта, с която ме обграждат.*

Варна
2013г.

д-р М. Сидерова