

В.Г. Хоперія

РОЛЬ BRAF-МУТАЦІЇ У ВИЗНАЧЕННІ ПРОГНОЗУ ПАПІЛЯРНОГО РАКУ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

*Український науково-практичний центр ендокринної хірургії,
трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України, Київ*

ВСТУП

Raf-кіназа є компонентом RAS→RAF→MEK→ERK/MAP-кіназного сигнального шляху, який відіграє ключову роль у регуляції росту клітин, їх поділу та проліферації [1, 2]. Серед інших форм Raf-кіназ В-тип, або BRAF, є найсильнішим активатором низхідного сигнального шляху MAP-кінази. Активація цього шляху призводить до утворення пухлини. Мутації BRAF виявлено у різних формах раку людини, найчастіше у меланомах [3]. Найтипівішою BRAF-мутацією є її T1799A трансверсія у 15-му екзоні гена, яка призводить до V600E амінокислотної заміни у білку та подальшої активації кінази [3]. Нещодавні дослідження показали, що BRAF-мутація виявляється у папілярних раках щитоподібної залози (ПРЩЗ) із частотою від 29% до 83% [4-19]. T1799A BRAF-мутації визначаються лише за ПР, а також за анапластичного раку ЩЗ, що розвивається із ПР, і не визначаються у нормальній тканині залози, доброякісних пухлинах, фолікулярному (ФР) або медулярному (МР) раках ЩЗ.

ПРЩЗ – найбільш розповсюджена форма раку ЩЗ, частота якого складає понад 80% злоякісних пухлин органа [20, 21]. Зазвичай ПР розглядається як злоякісна пухлина зі сприятливим прогнозом, проте розвиток місцевої інвазії за межі капсули залози та/або віддалених метастазів обумовлює слабку відповідь на радіоїодтерапію з подальшою прогресією та підвищенням рівня смертності [22-27]. Отже, прогностична оцінка ПР має велике значення для виявлення пацієнтів із високим ризиком рецидиву з метою застосування більш агресивної терапії та моніторингу. Прогнозування за ПР традиційно ґрунтувалося на наявності або відсутності певних клінічних і патогістологічних чинників, таких як вік пацієнта, стать, розмір пухлини та її гістологічний підтип, екстраорганне та метастатичне розповсюдження [22-27]. Проте ці критерії часто не дають впевненості щодо пухлинної

прогресії та рецидиву. Крім цього, патогістологічні ознаки зазвичай не виявляються у передопераційний період і, відповідно, не можуть допомогти у прийнятті рішення щодо оптимального обсягу первинного хірургічного втручання.

З огляду на важливу роль мутації BRAF у туморогенезі ПРЩЗ було висловлено припущення про її можливе прогностичне значення. Згідно з даними Namba H. et al. [9], існує взаємозв'язок між мутацією BRAF і розвитком віддалених метастазів за ПР. За результатами Nikiforova M.N. et al. [10], BRAF-мутації асоціюються з ознаками екстраорганної інвазії. Описано зв'язок мутації BRAF із метастазуванням до лімфатичних вузлів [18]. Натомість в інших дослідженнях зв'язку між мутацією BRAF і патогістологічними чинниками високого ризику не виявлено [16, 19]. Не проводилися дослідження з використанням багатомірного аналізу, а також не оцінювалася ймовірність зв'язку BRAF-мутації із рецидивом ПР та агресивністю пухлини. Тому для встановлення зв'язку BRAF-мутації з клініко-морфологічними характеристиками, рецидивами ПРЩЗ і для визначення прогностичної ролі цього генетичного чинника ми провели багатоцентрове обстеження пацієнтів із ПРЩЗ, використовуючи множинний аналіз.

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ

Дослідження проводили на базі Українського науково-практичного центру ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України (УНПЦХТЕОТ) і медичних факультетів Університету Джона Хопкінса, Йельського університету, шпиталю Болонського університету: 32, 147, 17 і 29 випадків відповідно. Всього до дослідження увійшли 219 випадків ПРЩЗ, серед яких гістологічно було виділено такі варіанти ПР: класичний (125), фолікулярний (77), висококлітинний (16) і колоноклітинний (1). Усім пацієнтам було проведено тиреоїдектомію, лікування радіоактивним йодом

і спостереження протягом 14 років. В усіх випадках гістологічне дослідження проведено згідно з рекомендаціями щодо морфологічного дослідження пухлин ЩЗ. Патогістологічний діагноз випадків ПР встановлено на забарвлених гематоксилін-еозином препаратах відповідно до класифікації BOOЗ пухлин ЩЗ (2004). Анапластичний і низько диференційований РЩЗ із дослідження виключено. Рецидив ПР підтверджували у випадках позитивного сканування з радіойодом, підвищеного сироваткового рівня тиреоглобуліну та/або наявності локальної пухлини ПР, діагностованої під час цитологічного або гістологічного дослідження. Результати визначення BRAF-мутації у частині випадків ПР наведено у наших попередніх працях [5, 11-14]. Усім пацієнтам із ПР виконано тотальну або майже тотальну тиреоїдектомію. Клінічний інтервал спостереження для пацієнтів із рецидивом хвороби визначався періодом часу від первинного хірургічного втручання до виявлення рецидиву. Для пацієнтів без рецидиву інтервал спостереження визначався періодом від первинного хірургічного втручання до отримання останніх результатів клінічних досліджень.

Виділення ДНК із пухлин ЩЗ. Мікродисекцію та виділення ДНК проведено зі свіжозаморожених або парафінових препаратів пухлин ПР згідно з методом [28]. Після 8-годинної обробки ксилолом за кімнатної температури парафінові зрізи залишали в розчині 1% додецилсульфату натрію (SDS) і 0,5 мг/мл протеїнінази К за температури 48°C протягом 48 год. Виділення ДНК проводили за стандартною методикою із застосуванням фенол-хлороформової екстракції та етанолової преципітації.

Виявлення BRAF-мутації. Зважаючи на високу частоту виявлення трансверсії T1799A мутації BRAF у ПРЩЗ, ми проаналізували дану мутацію в різних типах ПР. Виявлення мутації BRAF T1799A проведено за допомогою прямого секвенсування геномної ДНК і колориметричного методу з використанням набору Mutector (TrimGen, США) [11, 13].

Статистичний аналіз. Категоріальні дані узагальнено з використанням частот і відсотків. Проведено аналіз розподілу усіх безперервних змінних, крім віку на момент встановлення діагнозу. Ці дані було узагальнено з медіанами та інтерквартильними діапазонами. Групи порівняння категоріальних змінних розподілено з використанням критерію χ^2 -квадрат і точного тесту

Фішера. Непараметричний статистичний аналіз використовували для порівняння безперервних змінних. Порівняння двох груп оцінено з рангового сумарного тесту, порівняння трьох груп – за допомогою тесту Крускала-Уолліса. За допомогою багатовимірної аналізу логістичної регресії проаналізовано незалежну асоціацію мутації BRAF з екстраорганою інвазією, регіонарними метастазами, стадією злоякісного процесу [26] і рецидиву пухлини, з поправкою на різні встановлені клініко-прогностичні чинники. Для аналізу впливу мутації BRAF на розвиток рецидиву пухлини було проаналізовано результати лікування I-131 шляхом граничного результативного аналізу виживання з використанням рангово-логістичного критерію. Для оцінки ризику рецидиву пухлини, пов'язаного з мутацією BRAF, проведено пропорційний випадково-регресійний аналіз рецидиву пухлини [30]. Ми також порівняли вихідні демографічні дані з клінічними характеристиками залучених до дослідження медичних закладів. Стать, вік на момент встановлення діагнозу, наявність мутації BRAF, багатофокусність росту пухлини, стадія, розмір пухлини та подальший інтервал ("follow-up") не відрізнялися. Різницю виявлено для гістологічного типу пухлини, метастазів до лімфатичних вузлів, екстраорганою інвазії, рецидиву пухлини та дози I-131. Довірчі інтервали (ДІ) обчислено за стандартними методиками. Аналіз проводили з використанням SAS версії 9.0 і 9,12 програмного забезпечення (SAS Institute, США).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

У попередніх дослідженнях у хворих на ПРЩЗ було виявлено високу частоту (46%) BRAF-мутації, яка не різнилася вірогідно серед пацієнтів 4 різних медичних закладів (табл. 1; точний критерій Фішера, $p=0,47$).

У даному дослідженні загальна частота BRAF-мутації виявилася дещо нижчою порівняно з даними літератури, що пояснюється значною кількістю випадків фолікулярного варіанта ПР, які включено до дослідження.

За результатами аналізу встановлено зв'язок між BRAF-мутацією та екстраорганою інвазією, метастазуванням до лімфатичних вузлів, стадією пухлинного процесу (табл. 2). Загально визнано, що ці ознаки пов'язано з високим ризиком рецидиву РЩЗ. Не було визначено кореляції між BRAF-мутацією та віком і статтю пацієнта або багатофокусністю росту пухлини.

Таблиця 1

Кількість випадків і розповсюдженість BRAF-мутації

Медичний науковий заклад	Кількість випадків ПР	Кількість BRAF-позитивних випадків	Розповсюдженість BRAF-мутації (%)
Університет Джона Хопкінса	141	64	45
Йельський університет	17	8	47
Шпиталь Болонського університету	32	19	59
УНПЦХТЕОТ	29	16	55
Всього	219	107	49

Таблиця 2

Порівняльна характеристика клініко-морфологічних ознак залежно від наявності BRAF-мутації у пацієнтів із ПРЦЗ

Показник	BRAF +	BRAF –
Загальна кількість	107	112
Вік на момент встановлення діагнозу, роки	43 (35-56)	45 (38-55)
Стать, чол.	29 (27%)	29 (26%)
Розмір пухлини, см	2,0 (1,4-3,0)	2,4 (1,5-3,5)*
Багатофокусність	45 (42%)	42 (38%)
Екстраорганна інвазія	44 (41%)	18 (16%)*
Метастази у л/в	58 (54%)	24 (21%)*
Стадія пухлини		
I	44 (42%)	39 (35%)
II	30 (29%)	57 (51%)
III	29 (28%)	15 (13%)*
IV	2 (2%)	1 (1%)
III/IV	31 (30%)	16 (14%)*
Рецидиви	23 (25%)	9 (9%)*
Кількість курсів I-131		
0	19 (22%)	26 (28%)
1	68 (77%)	67 (71%)
2	1 (1%)	1 (1%)
Період спостереження, міс.	16,5 (5-30)	14,0 (2-28)

Примітка: * – вірогідна залежність.

Рецидив пухлини значно частіше виявляли у пацієнтів із BRAF-позитивними ПР: 25% випадків проти 9% ($p=0,004$). Більшість рецидивів виявлено у латеральних колекторах, паратрахеальній ділянці, ложі залози; 5 пацієнтів мали метастази у медіастинальних лімфовузлах, легенях і кістках. Не було також значної різниці у співвідношенні BRAF-позитивних і BRAF-негативних осіб серед пацієнтів, які отримали поопераційний курс лікування радіоактивним йодом (табл. 2). Заслуговує на увагу той факт, що розміри пухлин у BRAF-позитивних пацієнтів були меншими, ніж у негативній групі (табл. 2), що свідчить про можливий зв'язок BRAF-мутації з

появою агресивності пухлини на відносно ранніх стадіях канцерогенезу.

За результатами порівняння, частота BRAF-мутації, екстраорганної інвазії, метастазів у лімфатичних вузлах, стадій пухлинного процесу та рецидивів відрізнялася для різних підтипів ПРЦЗ. Усі ці особливості є найбільш характерними для висококлітинного варіанта, менше – для класичного і найменше – для фолікулярного варіанта ПРЦЗ (табл. 3).

Встановлено зв'язок між BRAF-мутацією та чинниками негативного прогнозу (екстраорганна інвазія, метастази у лімфатичних вузлах, рецидив), помітніший для висококлітинного та кла-

Таблиця 3

Залежність клініко-патологічних характеристик від наявності BRAF-мутації у різних гістологічних підтипах ПРЩЗ

Характеристика	Класичний ПР	Фолікулярний варіант ПР	Висококлетинний варіант ПР
Загальна кількість	125	77	16
Мутації BRAF	81 (65%)*	11 (14%)*	14 (88%)*
Вік на момент встановлення діагнозу, роки	44 (38-56)	44 (35-52)	64 (39-73)
Стать, чол.	35 (28%)	17 (22%)	5 (31%)
Розмір пухлини, см	2,0 (1,5-2,7)*	2,8 (1,5-3,5)*	2,3 (1,9-3,5)*
Багатофокусність	55 (44%)	25 (32%)	7 (44%)
Екстраорганна інвазія	47 (38%)*	5 (6%)*	9 (56%)*
Метастази у л/в	65 (52%)*	7 (9%)*	9 (56%)*
Стадія пухлини			
I	48 (39%)	31 (40%)	4 (25%)
II	43 (35%)	39 (51%)	4 (25%)
III	30 (24%)	6 (8%)	8 (50%)
IV	2 (2%)	1 (1%)	0 (0%)
III/IV	32 (26%)*	7 (9%)*	8 (50%)*
Рецидиви	21 (21%)*	5 (7%)*	5 (31%)*
Кількість курсів I-131			
0	25 (26%)	16 (24%)	3 (20%)
1	71 (72%)	52 (76%)	12 (80%)
2	2 (2%)	0 (0%)	0 (0%)
Період спостереження, міс.	16,5 (5-30)	13,0 (2-27)	20,5 (8-34)

Примітка: * – залежність вірогідна.

сичного варіантів порівняно з нечастим фолікулярним варіантом ПРЩЗ (табл. 4).

Як було показано раніше, вік пацієнта на момент встановлення діагнозу, стать, розмір пухлини, багатофокусність росту та гістологічний підтип ПР пов'язано з несприятливими клінічними наслідками для пацієнтів із ПРЩЗ. З метою визначення незалежної кореляції між наявністю мутації BRAF і кожного з цих трьох патологічних чинників високого ризику (екстраорганною інвазією, метастазами у л/в, прогресивною стадією хвороби) та рецидивом пухлини

було застосовано множинний аналіз із поправкою на ці чинники.

Для оцінки рецидиву пухлини враховано додаткову поправку на терапію радіоактивним йодом, адже результати цієї терапії можуть впливати на клінічні наслідки. Множинний аналіз показав значне збільшення різниці між цими трьома патологічними особливостями високого ризику рецидиву пухлини для BRAF-позитивних випадків із поправкою на вік пацієнта, стать, розмір пухлини та багатофокусність росту.

Навіть за додаткової поправки на екстраор-

Таблиця 4

Вірогідність зв'язку BRAF-мутації та клініко-патологічних характеристик серед трьох підтипів ПР (p)

Ознака	Висококлетинний проти фолікулярного	Класичний проти висококлетинного	Класичний проти фолікулярного
Мутація BRAF	<0,001	0,09	<0,001
Екстраорганна інвазія	<0,001	0,06	<0,001
Метастази у л/в	<0,001	0,80	<0,001
Стадія пухлини III/IV	<0,001	0,07	0,003
Рецидив пухлини	0,02	0,34	0,02

ганну інвазію та стадію пухлини III/IV зв'язок мутації BRAF із метастазами у л/в залишався вірогідним, що дає можливість припустити, що мутація BRAF є незалежним чинником, який визначає прогноз і, можливо, впливає на процес метастазування до лімфатичних вузлів.

За результатами аналізу виживання Каплана-Маєра визначено значно більшу ймовірність рецидиву пухлини серед пацієнтів із BRAF-позитивними ПР, ніж у пацієнтів без мутації. За результатами пропорційного випадково-регресійного аналізу з урахуванням віку на момент встановлення діагнозу, статі, розміру пухлини, багатофокусності росту та загальної дози I-131, коефіцієнт ризику для рецидивів пухлини, пов'язаних із BRAF-мутацією, склав 3,2. З урахуванням екстраорганної інвазії, метастазів у лімфатичних вузлах і стадії раку даний коефіцієнт становив 2,4, що мало більшу статистичну значущість. Дані результати свідчать про прогностичне значення BRAF-мутації у визначенні несприятливого перебігу ПР.

Рецидиви РЩЗ частіше визначалися у пацієнтів на ранній стадії захворювання і були більш агресивними у випадках BRAF-позитивних пухлин. Ми оцінили частоту рецидиву РЩЗ у підгрупі пацієнтів із I та II клініко-патологічною стадією. Рецидиви РЩЗ частіше виявлялися серед BRAF-позитивних пацієнтів зі стадією I/II порівняно з BRAF-негативними: 14/64 (22%) проти 4/83 (5%) відповідно ($p=0,002$). За результатами аналізу ймовірності рецидиву для цих пацієнтів з урахуванням віку, статі, багатофокусності росту, розміру пухлини, накопичення I-131, метастазів у лімфатичних вузлах, екстраорганної інвазії та підтипу ПР виявлено її значну залежність від наявності BRAF-мутації (коефіцієнт імовірності – 11,6; 95% контурний інтервал – 2,2-62,6; $p=0,004$).

Подальший розширений аналіз частоти рецидиву РЩЗ проведено у підгрупах пацієнтів з Університету Джона Хопкінса, де було доступно більше інформації. Було всебічно оцінено дані 20 пацієнтів із рецидивами ПРЩЗ. У BRAF-позитивних пацієнтів порівняно з негативними випадками рецидиви були більш численними та вимагали застосування агресивнішої тактики лікування (хірургічного та променевого).

На додаток до радіойодтерапії 9 із 13 (69%) пацієнтів із BRAF-позитивними ПРЩЗ потребували щонайменше одного додаткового хірургічного втручання та/або зовнішньої променевої

терапії, тоді як лише 1 із 7 (14%) хворих із рецидивами без мутації потребував додаткового хірургічного втручання без променевої терапії ($p=0,057$). Крім цього, у 7 із 13 (54%) випадків рецидивів BRAF-позитивної групи проти жодного з 7 (0%) BRAF-негативної групи виявлено зменшення накопичення I-131 у ділянках рецидиву пухлини ($p=0,057$). Пацієнти з йод-негативними ПРЩЗ потребували застосування повторних хірургічних втручань і зовнішнього опромінення. Серед осіб із рецидивами BRAF-негативних ПРЩЗ 6 лікували лише повторною терапією радіойодом, і для одного пацієнта провели додаткове хірургічне втручання з наступним сеансом радіойодтерапії.

Отже, використання нових інформативних прогностичних маркерів, до яких на підставі наведених даних можна віднести BRAF-мутацію, що її можна виявляти навіть на аспіратах ТАПБ вузла ЩЗ, дає можливість поліпшити стратифікацію ризику, прогнозування рецидиву пухлини у пацієнтів із ПРЩЗ, а також приймати обґрунтовані рішення про первинну та довгострокову терапію.

T1799A трансверсія BRAF є найвідомішим генетичним ушкодженням за РЩЗ і виявляється лише у ПР та анапластичних РЩЗ папілярного походження [4-19]. Було висловлено гіпотезу про те, що присутність даної онтогенетичної мутації може бути пов'язано з поведінкою ПР і, можливо, з клінічними наслідками. За результатами нашого дослідження виявлено зв'язок BRAF T1799A мутації з декількома чинниками високого ризику та рецидивом пухлини. Найчастіше BRAF-мутації виявляються у тих підтипах ПР (висококлітинний і класичний), для яких часто характерні наявність екстраорганної інвазії, метастази у лімфатичні вузли та розповсюдженість пухлинного процесу [33]. Ці дані підтримують ідею про те, що BRAF-мутація може відігравати важливу роль у формуванні, прогресії та агресивності відомих класичних підтипів ПР високого ризику. За даними логістичної регресії виявлено незалежний зв'язок BRAF-мутації з рецидивом пухлини. Рецидив захворювання у пацієнтів із BRAF-мутаціями асоціювався з втраченою чутливістю до йоду, обмежуючи таким чином застосування даного методу лікування. Фактично, пацієнти із BRAF-позитивним ПР потребували більш агресивного хірургічного лікування та застосування променевої терапії у випадках рецидивів. Цей факт підтверджує не-

щодавні результати дослідження зв'язку BRAF-мутації з "мовчанням" генів у ПРЩЗ до апікального носія йоду SLC5A8 (34) та ключового ферменту обміну йоду – тиреоїдної пероксидази [35]. Отже, BRAF-мутація є генетичним індикатором гіршого прогнозу для ПР. Ці клінічні дані подібні до результатів дослідження на трансгенних мишах, де було продемонстровано роль BRAF-мутації в ініціації формування та промоції агресивності ПР [36].

Немає єдиної думки щодо наявності зв'язку BRAF-мутації з характерними ознаками високого ризику ПР. В окремих дослідженнях проаналізовано зв'язок BRAF-мутації з характерними особливостями ПР лише всередині підгрупи ПР [16, 19] із відносно малими обсягами вибірки [9, 10]. За результатами множинного аналізу у нашому дослідженні підтверджено зв'язок BRAF-мутації із підтипами ПР високого ризику, а також її роль у формуванні та прогресії ПР [37].

ВИСНОВКИ

1. Підтверджено зв'язок наявності BRAF-мутації з підтипами ПР високого ризику, а також її роль у формуванні та прогресії ПР.
2. Виявлено зв'язок BRAF-мутації з рецидивами ПР, навіть у пацієнтів із початковою стадією хвороби, але з високою агресивністю пухлини.
3. BRAF-мутацію можна розглядати як маркер несприятливого прогнозу ПР.
4. Визначення BRAF-мутації на аспіратах пункцій вузлів ЩЗ дозволить проводити стратифікацію ризику ПР на передопераційному етапі.
5. Характеристика BRAF-мутації може сприяти оптимізації як первинного лікування, так і довгострокового спостереження пацієнтів із рецидивом ПР.

ЛІТЕРАТУРА

1. Mercer K.E., Pritchard C.A. Raf proteins and cancer: B-Raf is identified as a mutational target // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2003. – Vol. 1653. – P. 25-40.
2. Hilger R.A., Scheulen M.E., Strumberg D. The Ras-Raf-MEK-ERK pathway in the treatment of cancer // *Onkologie.* – 2002. – Vol. 25. – P. 511-518.
3. Davies H., Bignell G.R., Cox C., Stephens P., Edkins S., Clegg S., Teague J., Woffendin H., Garnett M.J., Bottomley W., Davis N., Dicks E., Ewing R., Floyd Y., Gray K., Hall S., Hawes R., Hughes J., Kosmidou V., Menzies A., Mould C., Parker A., Stevens C., Watt S., Hooper S., Wilson R., Jayatilake H., Gusterson B.A., Cooper C., Shipley J., Hargrave D., Pritchard-Jones K., Maitland N., Chenevix-Trench G., Riggins G.J., Bigner D.D., Palmieri G., Cossu A., Flanagan A., Nicholson A., Ho J.W., Leung S.Y., Yuen S.T., Weber B.L., Seigler H.F., Darrow T.L., Paterson H., Marais R., Marshall C.J., Wooster R., Stratton M.R., Futreal P.A. Mutations of the BRAF gene in human cancer // *Nature.* – 2002. – Vol. 417. – P. 949-954.
4. Kimura E.T., Nikiforova M.N., Zhu Z., Knauf J.A., Nikiforov Y.E., Fagin J.A. High prevalence of BRAF mutations in thyroid cancer: genetic evidence for constitutive activation of the RET/PTC-RAS-BRAF signaling pathway in papillary thyroid carcinoma // *Cancer. Res.* – 2003. – Vol. 63. – P. 1454-1457.
5. Cohen Y., Xing M., Mambo E., Guo Z., Wu G., Trink B., Beller U., Westra W.H., Ladenson P.W., Sidransky D. BRAF mutation in papillary thyroid carcinoma // *J. Natl. Cancer. Inst.* – 2003. – Vol. 95. – P. 625-627.
6. Soares P., Trovisco V., Rocha A.S., Lima J., Castro P., Preto A., Maximo V., Botelho T., Seruca R., Sobrinho-Simoes M. BRAF mutations and RET/PTC rearrangements are alternative events in the etiopathogenesis of PTC // *Oncogene.* – 2003. – Vol. 22. – P. 4578-4580.
7. Xu X., Quiros R.M., Gattuso P., Ain K.B., Prinz R.A. High prevalence of BRAF gene mutation in papillary thyroid carcinomas and thyroid tumor cell lines // *Cancer Res.* – 2003. – Vol. 63. – P. 4561-4567.
8. Fukushima T., Suzuki S., Mashiko M., Ohtake T., Endo Y., Takebayashi Y., Sekikawa K., Hagiwara K., Takenoshita S. BRAF mutations in papillary carcinomas of the thyroid // *Oncogene.* – 2003. – Vol. 22. – P. 6455-6457.
9. Namba H., Nakashima M., Hayashi T., Hayashida N., Maeda S., Rogounovitch T.I., Ohtsuru A., Saenko V.A., Kanematsu T., Yamashita S. Clinical Implication of hot spot BRAF mutation, V599E, in papillary thyroid cancers // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2003. – V.88. – P.4393-4397.
10. Nikiforova M.N., Kimura E.T., Gandhi M., Biddinger P.W., Knauf J.A., Basolo F., Zhu Z., Giannini R., Salvatore G., Fusco A., Santoro M., Fagin J.A., Nikiforov Y.E. BRAF mutations in thyroid tumors are restricted to papillary carcinomas and anaplastic or poorly differentiated carcinomas arising from papillary carcinomas // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2003. – Vol. 88. – P. 5399-5404.
11. Cohen Y., Rosenbaum E., Clark D.P., Zeiger M.A., Umbricht C.B., Tufano R.P., Sidransky D., Westra W.H. Mutational analysis of BRAF in fine needle aspiration biopsies of the thyroid: a potential application for the preoperative assessment of thyroid nodules // *Clin. Cancer. Res.* – 2004. – Vol. 10. – P. 2761-2765.
12. Xing M., Vasko V., Tallini G., Larin A., Wu G., Udelsman R., Ringel M.D., Ladenson P.W., Sidransky D.

- BRAF T1796A transversion mutation in various thyroid neoplasms // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2004. – Vol. 89. – P. 1365-1368.
13. *Xing M., Tufano R.P., Tufano A.P., Basaria S., Ewertz M., Rosenbaum E., Byrne P.J., Wang J., Sidransky D., Ladenson P.W.* Detection of BRAF mutation on fine needle aspiration biopsy specimens: a new diagnostic tool for papillary thyroid cancer // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2004. – Vol. 89. – P. 2867-2872.
 14. *Xing M., Cohen Y., Mambo E., Tallini G., Udelsman R., Ladenson P.W., Sidransky D.* Early occurrence of RASSF1A hypermethylation and its mutual exclusion with BRAF mutation in thyroid tumorigenesis // *Cancer Res.* – 2004. – Vol. 64. – P. 1664-1668.
 15. *Trovisco V., Vieira de Castro I., Soares P., Maximo V., Silva P., Magalhaes J., Abrosimov A., Guiu X.M., Sobrinho-Simoes M.* BRAF mutations are associated with some histological types of papillary thyroid carcinoma // *J. Pathol.* – 2004. – Vol. 202. – P. 247-251.
 16. *Puxeddu E., Moretti S., Elisei R., Romei C., Pascucci R., Martinelli M., Marino C., Avenia N., Rossi E.D., Fadda G., Cavaliere A., Ribacchi R., Falorni A., Pontecorvi A., Pacini F., Pinchera A., Santeusano F.* BRAF(V599E) mutation is the leading genetic event in adult sporadic papillary thyroid carcinomas // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2004. – Vol. 89. – P. 2414-2420/
 17. *Begum S., Rosenbaum E., Henrique R., Cohen Y., Sidransky D., Westra W.H.* BRAF mutations in anaplastic thyroid carcinoma: implications for tumor origin, diagnosis and treatment // *Mod. Pathol.* – 2004. – Vol. 17. – P. 1359-1363.
 18. *Kim K.H., Kang D.W., Kim S.H., Seong I.O., Kang D.Y.* Mutations of the BRAF gene in papillary thyroid carcinoma in a Korean population // *Yonsei Med. J.* – 2004. – Vol. 45. – P. 818-821.
 19. *Fugazzola L., Mannavola D., Cirello V., Vannucchi G., Muzza M., Vicentini L., Beck-Peccoz P.* BRAF mutations in an Italian cohort of thyroid cancers // *Clin. Endocrinol. (Oxf).* – 2004. – Vol. 61. – P. 239-243.
 20. *Hundahl S.A., Fleming I.D., Fremgen A.M., Menck H.R.* A National Cancer Data Base report on 53,856 cases of thyroid carcinoma treated in the U.S., 1985-1995 // *Cancer.* – 1998. – Vol. 83. – P. 2638-2648.
 21. *Paterson I.C., Greenlee R., Adams Jones D.* Thyroid cancer in Wales 1985-1996: a cancer registry-based study // *Clin. Oncol. (R Coll Radiol).* – 1999. – Vol. 11. – P. 245-251.
 22. *Hay I.D., Bergstralh E.J., Goellner J.R., Ebersold J.R., Grant C.S.* Predicting outcome in papillary thyroid carcinoma: development of a reliable prognostic scoring system in a cohort of 1779 patients surgically treated at one institution during 1940 through 1989 // *Surgery.* – 1993. – Vol. 114. – P. 1050-1057.
 23. *Mazzaferri E.L., Jhiang S.M.* Long-term impact of initial surgical and medical therapy on papillary and follicular thyroid cancer // *Am. J. Med.* – 1994. – Vol. 97. – P. 418-428.
 24. *Fonseca E., Soares P., Rossi S., Sobrinho-Simoes M.* Prognostic factors in thyroid carcinomas // *Verh. Dtsch. Ges. Pathol.* – 1997. – Vol. 81. – P. 82-96.
 25. *Gilliland F.D., Hunt W.C., Morris D.M., Key C.R.* Prognostic factors for thyroid carcinoma. A population-based study of 15,698 cases from the Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) program 1973-1991 // *Cancer.* – 1997. – Vol. 79. – P. 564-573.
 26. *Sherman S.I., Brierley J.D., Sperling M., Ain K.B., Bigos S.T., Cooper D.S., Haugen B.R., Ho M., Klein I., Ladenson P.W., Robbins J., Ross D.S., Specker B., Taylor T., Maxon H.R.* 3rd Prospective multicenter study of thyroid carcinoma treatment: initial analysis of staging and outcome. National Thyroid Cancer Treatment Cooperative Study Registry Group // *Cancer.* – 1998. – Vol. 83. – P. 1012-1021.
 27. *LiVolsi V.A., Fadda G., Baloch Z.W.* Prognostic factors in well-differentiated thyroid cancer // *Rays.* – 2000. – Vol. 25. – P. 163-175.
 28. *Xing M., Usadel H., Cohen Y., Tokumaru Y., Guo Z., Westra W.B., Tong B.C., Tallini G., Udelsman R., Califano J.A., Ladenson P.W., Sidransky D.* Methylation of the thyroid-stimulating hormone receptor gene in epithelial thyroid tumors: a marker of malignancy and a cause of gene silencing // *Cancer Res.* – 2003. – Vol. 63. – P. 2316-2321.
 29. *Kaplan E.L., Meier P.* Nonparametric estimation from incomplete observations // *J. Am. Stat. Assoc.* – 1958. – Vol. 53. – P. 457-481.
 30. *Cox D.R.* Regression models and life tables (with discussion) // *J. R. Stat. Soc. B.* – 1972. – Vol. 34. – P. 187-220.
 31. *Hay I.D., Grant C.S., Bergstralh E.J., Thompson G.B., van Heerden J.A., Goellner J.R.* Unilateral total lobectomy: is it sufficient surgical treatment for patients with AMES low-risk papillary thyroid carcinoma? // *Surgery.* – 1998. – Vol. 124. – P. 958-964.
 32. *Salvatore G., Giannini R., Faviana P., Caleo A., Migliaccio I., Fagin J.A., Nikiforov Y.E., Troncone G., Palombini L., Basolo F., Santoro M.* Analysis of BRAF point mutation and RET/PTC rearrangement refines the fine-needle aspiration diagnosis of papillary thyroid carcinoma // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2004. – Vol. 9. – P. 5175-5180.
 33. *Xing M.* BRAF mutation in thyroid cancer // *Endocr. Relat. Cancer.* – 2005. – Vol. 12. – P. 245-262.
 34. *Porra V., Ferraro-Peyret C., Durand C., Selmi-Ruby S., Giroud H., Berger-Dutrieux N., Decausin M., Peix J.L., Bournaud C., Orgiazzi J., Borson-Chazot F., Dante R., Rousset B.* Silencing of the tumor suppressor gene SLC5A8 is associated

- with BRAF mutations in classical papillary thyroid carcinomas // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2005. – Vol. 90. – P. 3028-3035.
35. *Giordano T.J., Kuick R., Thomas D.G., Misek D.E., Vinco M., Sanders D., Zhu Z., Ciampi R., Roh M., Shedden K., Gauger P., Doherty G., Thompson N.W., Hanash S., Koenig R.J., Nikiforov Y.E.* Molecular classification of papillary thyroid carcinoma: distinct BRAF, RAS, and RET/PTC mutation-specific gene expression profiles discovered by DNA microarray analysis // *Oncogene.* – 2005. – Vol. 24(44). – P. 6646-6636.
 36. *Knauf J.A., Ma X., Smith E.P., Zhang L., Mitsutake N., Liao X.H., Refetoff S., Nikiforov Y.E., Fagin J.A.* Targeted expression of BRAFV600E in thyroid cells of transgenic mice results in papillary thyroid cancers that undergo dedifferentiation // *Cancer. Res.* – 2005. – Vol. 65. – P. 4238-4245.
 37. *Trovisco V., Soares P., Preto A., de Castro I.V., Lima J., Castro P., Maximo V., Botelho T., Moreira S., Meireles A.M., Magalhaes J., Abrosimov A., Cameselle-Teijeiro J., Sobrinho-Simoes M.* Type and prevalence of BRAF mutations are closely associated with papillary thyroid carcinoma histotype and patients' age but not with tumour aggressiveness // *Virchows Arch.* – 2005. – Vol. 446. – P. 589-595.

РЕЗЮМЕ

Роль BRAF-мутации в определении прогноза папиллярного рака щитовидной железы В.Г. Хоперия

Целью настоящего многоцентрового исследования было изучение прогностического значения BRAF-мутации у пациентов с папиллярным раком (ПР) щитовидной железы (ЩЖ). Результатами множественного анализа подтверждена связь BRAF-мутации с подтипами ПР высокого риска, а также ее роль

в формировании и прогрессии ПР. Также мы продемонстрировали связь BRAF-мутации с рецидивами ПР, даже у пациентов с начальной стадией болезни, но с высокой агрессивностью опухоли. Сделан вывод, что наличие BRAF-мутации является маркером неблагоприятного прогноза при ПРЩЖ. Определение BRAF-мутации на аспиратах пункций узлов ЩЖ позволит проводить стратификацию риска ПР на предоперационном этапе. Характеристика BRAF-мутации может способствовать оптимизации как первичного лечения, так и долгосрочного наблюдения пациентов с рецидивом ПР.

Ключевые слова: BRAF-мутация, рак щитовидной железы, прогноз, молекулярные маркеры.

SUMMARY

The value of BRAF mutation in determining the prognosis of papillary thyroid cancer V. Khoperia

The purpose of this multicenter study was to investigate the prognostic significance of BRAF mutations in patients with papillary thyroid carcinoma (PTC). According to the results of multiple analysis of our research, supplemented by various amounts of sample, mixed risk factors, different compositions of PTC subtypes confirmed BRAF mutation with high-risk subtypes of PTC and its role in the formation and progression of PTC. We also demonstrated the relationship of BRAF mutation recurrent PTC, even in patients at an early stage but with high tumor aggressiveness. Thus, BRAF mutation is a new prognostic marker, which complements the existing traditional prognostic factors of PTC used. Determination of BRAF mutations in thyroid aspirate needle units will conduct risk stratification of PTC in the pre-operative stage. Characteristics of BRAF mutations may contribute to both primary treatment and long-term monitoring of recurrent disease in patients with PTC.

Key words: BRAF mutation, thyroid cancer, prognosis, molecular marker.

Дата надходження до редакції 05.04.2011 р.