

В.Г. Хоперія

РОЛЬ ВИЯВЛЕННЯ МУТАЦІЇ BRAF V600E ПІД ЧАС ПРОВЕДЕННЯ ТАПБ ВУЗЛІВ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

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

ВСТУП

Папілярний рак (ПР) щитоподібної залози (ЩЗ) є найпоширенішою формою злоякісних пухлин залози і складає понад 80% усіх випадків раку органа [1, 2]. Більшість пацієнтів із ПР ефективно піддаються стандартній схемі лікування (тиреоїдектомія та радіоїодтерапія), але у 20% хворих розвиваються рецидиви хвороби [3-8]. Обсяг первинної операції у лікуванні ПР значною мірою впливає на поопераційний прогноз. Наприклад, тиреоїдектомія, на відміну від лобектомії, сприяє зменшенню ризику пролонгації/рецидиву хвороби та смерті. З іншого боку, з тиреоїдектомією пов'язано підвищений ризик хірургічних ускладнень. Загальноновизнано, що дисекція шиї з видаленням макроскопічно видимих метастазів зменшує ризик рецидиву ПР, проте профілактична центральна дисекція супроводжується більшим ризиком ускладнень, тому необхідність її проведення залишається дискусійною. Ці протиріччя значною мірою обумовлено неточністю в оцінці ризику агресивності раку щитоподібної залози (РЩЗ) на підставі клінічних даних у передопераційний період.

Наразі тонкогальмова аспіраційна пункційна біопсія (ТАПБ) вважається найбільш ефективним методом для морфологічної діагностики вузлових утворень ЩЗ. У більшості установ ТАПБ успішно застосовується як метод скринінгу вузлів ЩЗ, що вимагають хірургічного втручання [9]. Традиційно результати ТАПБ поділяють на чотири категорії: неінформативні, доброякісні, сумнівні та злоякісні. Ефективність даного методу для діагностики доброякісних і злоякісних випадків є досить високою. У сумнівних випадках ТАПБ діагноз раку за даними остаточного патогістологічного дослідження виставляється у 10-60% випадків [10]. Водночас можливості ТАПБ в оцінці агресивності ПРЩЗ (екстраорганна інвазія, метастази у лімфовузлах, стадія пухлини, агресивний гістологічний підтип) часто є обмеженими.

Передопераційне ультразвукове дослідження (УЗД) лімфатичних вузлів шиї рекомендовано для всіх пацієнтів зі злоякісними цитологічними висновками ТАПБ. Підозрілі лімфатичні вузли виявляються у 20-31% таких випадків, що обумовлює зміну обсягу хірургічного втручання у 20% пацієнтів. У передопераційний період визначаються лише 50% лімфатичних вузлів, решта виявляються у ході операції [11]. Очевидно, що існує необхідність у додаткових методах стратифікації ризику, таких як виявлення молекулярних характеристик, пов'язаних із більшою агресивністю пухлини.

Мутацію BRAF поширено серед злоякісних пухлин людини, надто у меланомах і РЩЗ, де її частота складає 66-83% у [12]. Raf-кіназа є компонентом RAS→RAF→MEK→ERK/MAP-кіназного сигнального шляху, що відіграє ключову роль у регуляції росту клітин, їх поділу та проліферації [13-14]. Онкогенні мутації BRAF часто виявляються у ПРЩЗ (близько 45%) і в деяких анапластичних РЩЗ [15-30]. У наших попередніх дослідженнях встановлено залежність між наявністю мутації BRAF, клініко-морфологічними ознаками агресивності ПР, що включають екстраорганну інвазію, метастази у лімфатичних вузлах, гістологічний підтип, і несприятливим прогнозом захворювання [21]. За даними нещодавніх досліджень запропоновано виявлення мутації BRAF у передопераційний період на цитологічних препаратах ТАПБ як новий метод для визначення груп пацієнтів високого ризику із ПР. Метою даного дослідження було встановлення можливості застосування рутинно забарвлених цитологічних препаратів ТАПБ для виділення ДНК та оцінки BRAF V600E мутації. Також у даній роботі оцінено ефективність цього методу у цитологічній діагностиці сумнівних ТАПБ і можливість ідентифікації пацієнтів із високим ризиком розвитку метастазів у групі з цитологічно діагностованим ПРЩЗ.

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ

Ретроспективно досліджено 134 цитологічні препарати пацієнтів, яким на базі Українського науково-практичного центру ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України виконано ТАПБ вузлів ЩЗ. Усі цитологічні препарати ТАПБ забарвлювали за методом Май-Грюнвальда-Гімзи (МГГ). Цитологічні висновки розподілено на дві категорії: сумнівні (30 випадків) і злоякісні (104 випадки). Усім пацієнтам виконано тиреоїдектомію і, за необхідності, центральну та/або латеральну дисекцію лімфатичних вузлів шиї. Гістологічний діагноз встановлено подвійним сліпим методом двома патологоанатомами (В.Г. Хоперія і В.В. Васько) згідно з гістологічною класифікацією пухлин ВООЗ 2004. Серед випадків із сумнівними цитологічними висновками ТАПБ після остаточного патогістологічного дослідження виявлено 5 фолікулярних аденом (ФА), 5 аденом із клітин Гюртля (АКГ), 10 фолікулярних раків (ФР) і 10 фолікулярних варіантів ПР (ФВПР). В усіх випадках зі злоякісними висновками ТАПБ після остаточного гістологічного дослідження встановлено діагноз РЩЗ: 11 випадків ФВПР і 93 випадки класичного ПР. Виділення ДНК проведено з рутинно забарвлених цитологічних препаратів ТАПБ за допомогою комплексу для екстракції ДНК (Zymo Research, Ірвін, Каліфорнія, США) відповідно до процедури виробника. Після додавання буферу та протеїнази К матеріал інкубували за температури 55°C протягом 4 год. і за температури 98°C протягом 10 хвилин. Виділення ДНК проводили за стандартною методикою із застосуванням комплексу для чистки та екстракції ДНК (Zymo Research, Ірвін, Каліфорнія, США) відповідно до процедури виробника. Виявлення мутації BRAF V600E проведено за допомогою прямого секвестування геномної ДНК і колориметричного методу з використанням набору PCR Master Mix (SABiosciences, Фредерік, Меріленд, США). Статистичний ана-

ліз проведено за допомогою SPSS програмного забезпечення, де вірогідними вважали результати із $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Оцінка кількості клітинного матеріалу для молекулярного тестування. З метою оцінки можливого застосування виявлення мутацій BRAF як доповнення до стандартного цитологічного аналізу ТАПБ досліджено ДНК на рутинно забарвлених цитологічних препаратах ТАПБ. Попередньо на цитологічних препаратах виявляли ділянки з високою щільністю клітин, що становлять інтерес для виділення ДНК. Кількість ДНК, що її оцінювали перед молекулярним тестуванням, коливалась від 1 мкг до 5 мкг. Якість ДНК оцінювали під час ПЛР-ампліфікації гена BRAF. На всіх цитологічних препаратах ТАПБ виявлено достатню якість ДНК, що дозволило застосувати менше від 35 циклів ампліфікації.

Виявлення мутації BRAF в сумнівних випадках ТАПБ. З метою оцінки ефективності застосування виявлення мутації BRAF у цитологічній діагностиці сумнівних випадків ТАПБ вивчено цитологічні препарати ТАПБ 30 хворих із сумнівними висновками. За цитологічними критеріями сумнівні результати ТАПБ було розподілено на дві підгрупи: фолікулярна пухлина (20 випадків) і підозра на рак (10 випадків). Частоту мутації BRAF залежно від патогістологічного діагнозу наведено у табл. 1. У групі сумнівних ТАПБ BRAF-мутацію виявлено у 2/30 (6%) випадках (1 фолікулярний варіант ПР і 1 класичний варіант ПР). Обидва BRAF позитивні випадки було діагностовано як сумнівні за даними стандартного цитологічного аналізу. У жодному з цитологічних препаратів фолікулярної аденоми мутації BRAF не виявлено.

Виявлення мутації BRAF у випадках зі злоякісними висновками ТАПБ. На цитологічних препаратах ТАПБ 104 пацієнтів із ПР виявляли мутацію BRAF та аналізували її зв'язок із кліні-

Таблиця 1

Результати виявлення мутації BRAF у сумнівних випадках ТАПБ

Гістологія	Фолікулярна неоплазія (n=20)		Підозра на рак (n=10)	
	BRAF (+)	BRAF (-)	BRAF (+)	BRAF (-)
ФА (10)	0	9	0	1
ФР (5)	0	4	0	1
ФВПР (10)	0	7	1	2
ПР (5)	0	0	1	4

ко-морфологічними характеристиками пухлин. Мутацію BRAF виявлено у 43 (45%) із 93 випадків із класичним ПР і в чотирьох (36,3%) з 11 випадків фолікулярного варіанта ПР, що загалом склало 45,2%. Результати аналізу зв'язку між наявністю мутації BRAF, віком і статтю пацієнтів наведено у табл. 2. Згідно з результатами однофакторного аналізу не було виявлено вірогідної кореляції між наявністю мутації BRAF V600E і віком або статтю пацієнта. Частота мутації BRAF істотно не відрізнялася серед пацієнтів віком на момент операції до 45 років і хворих віком 45 років і більше. Наявність мутації BRAF V600E було пов'язано з такими клініко-морфологічними параметрами, як розмір пухлини, багатофокусний ріст, екстраорганна інвазія та наявність метастазів у лімфовузлах. Частоту мутації BRAF V600E залежно від розміру пухлини наведено у табл. 3. Виявлено більшу частоту мутації BRAF V600E у пухлинах розміром 3 см і більше порівняно з пухлинами невеликих розмірів, але різниця не була статистично значущою.

Результати, що демонструють зв'язок між мутацією BRAF V600E і чинниками несприятли-

вого прогнозу пухлин ЩЗ, наведено у табл. 4. Багатофокусний ріст частіше виявлявся у BRAF-позитивних, ніж у BRAF-негативних ПР, проте ця різниця не була вірогідною. Встановлено зв'язок між наявністю BRAF-мутації на цитологічних препаратах ТАПБ і чинниками негативного прогнозу (ознаки екстраорганної інвазії та метастази у лімфатичних вузлах), виявленими після патогістологічного дослідження операційного матеріалу тканини залози.

Результатами молекулярних досліджень продемонстровано зв'язок між мутацією BRAF і РЩЗ. Експериментальні дослідження, у тому числі моделі на трансгенних мишах, показали здатність мутації BRAF сприяти агресивності та прогресуванню ПРЩЗ. За результатами кількісного багатовимірного аналізу, наявність мутації BRAF є незалежним чинником ризику пролонгації/рецидиву ПРЩЗ. У даному дослідженні оцінено можливість доповнення цитологічного аналізу аспіратів ТАПБ вузлів ЩЗ використанням рутинно забарвлених препаратів для генетичного тестування. Наші результати показали, що ДНК може бути успішно ізольована зі звичайно забарвлених цитологічних препаратів

Таблиця 2

Результати оцінки впливу віку та статі пацієнтів із папілярним раком щитоподібної залози на частоту мутації BRAF

	BRAF (+) (n=47)	BRAF (-) (n=57)	p
Вік на момент діагнозу, роки	42,4±13,3	40,3±17,3	0,49
Стать (м/ж)	8/39	13/44	0,62

Таблиця 3

Зв'язок між наявністю мутації BRAF і розміром пухлини

Розмір пухлини	BRAF (+)		Всього
1 см і менше	4	36,6%	11
2-2,9 см	15	38,4%	39
3-3,9 см	15	53,5%	28
4 см і більше	13	54,1%	24

Таблиця 4

Зв'язок між наявністю мутації BRAF і чинниками несприятливого прогнозу папілярного раку щитоподібної залози

Чинник	BRAF (+) (n=47)	BRAF (-) (n=57)	p
Багатофокусний ріст	21 (44,6%)	16 (28,1%)	0,1
Екстраорганна інвазія	35 (74,4%)	24 (42,1%)	0,001
Метастази у лімфатичних вузлах	37 (78,7%)	28 (49,1%)	0,002

ТАПБ. Якість ДНК, виділеної із забарвлених препаратів, була належною для генетичного аналізу. Кількість виділеної ДНК була більшою порівняно із зазначеною у результатах тих досліджень, де нуклеїнові кислоти виділяли з матеріалу, що залишився у голці після ТАПБ. Наші результати дозволяють припустити, що цитологічне дослідження забарвлених препаратів може бути корисним для вибору ділянки з достатньою клітинністю для подальшого виділення ДНК. За даними попередніх досліджень припускали, що ідентифікація мутації BRAF в аспіратах ТАПБ вузлів ЩЗ може сприяти диференційній діагностиці доброякісних і злоякісних пухлин у випадках обмеженої ефективності стандартного цитологічного аналізу. Ми розглянули статус мутації BRAF у серії цитологічних препаратів, які після стандартного цитологічного дослідження класифіковано як сумнівні. Наші результати показали, що виявлення мутації BRAF мало обмежену діагностичну цінність у випадках із сумнівними цитологічними висновками ТАПБ. У пацієнтів зі злоякісними цитологічними висновками мутацію BRAF було виявлено у 45% випадків.

Ці результати порівнянні з раніше опублікованими даними про поширеність BRAF у ПРЩЗ. Частота мутації BRAF у випадках фолікулярного варіанта ПР була більшою порівняно з попередніми даними. Слід зазначити, що лише 10 із 21 гістологічно підтверджених випадків ФВПР було діагностовано як злоякісні за результатами цитологічного дослідження. У майже 50% випадків ФВПР не було виявлено характерних для ПР ядерних ознак, аби встановити діагноз раку, і тому ці випадки класифікували як сумнівні або підозрілі на рак за даними цитологічного дослідження. Частота мутацій BRAF у ФВПР, які були класифіковані як сумнівні за даними цитологічного дослідження, була низькою (1 із 10 випадків), що відповідає раніше опублікованим даним. Ці результати показали, що ФВПР із BRAF-мутацією мають більш виражені ядерні морфологічні особливості ПР порівняно з ФВПР без мутації BRAF.

Патологічні характеристики несприятливого прогнозу за ПРЩЗ, що підвищують ризик пролонгації/рецидиву хвороби та смерті (ознаки екстраорганної інвазії, метастази у лімфатичних вузлах, стадія пухлини, агресивний гістологічний підтип), як правило, погано або зовсім не визначаються перед операцією. Численні дослідження ПРЩЗ у пацієнтів різних етнічних і

географічних груп продемонстрували асоціацію мутації BRAF з агресивним перебігом захворювання. Результати даного дослідження показують, що на підставі виявлення мутації BRAF на цитологічних препаратах ТАПБ ПР, тобто на передопераційному етапі, дозволяє передбачити наявність чинників несприятливого прогнозу (ознаки екстраорганної інвазії, метастази у лімфатичних вузлах).

Загальновизнано, що обсяг первинної операції з приводу ПР значною мірою впливає на рецидив захворювання. Оцінка ризику агресивності РЩЗ на підставі клінічних даних і тестування перед операцією може допомогти у виборі відповідної хірургічної тактики. Можливості УЗД у передопераційній оцінці агресивності хвороби за ПР часто обмежено, надто щодо виявлення метастазів у лімфатичних вузлах центрального відділу шиї. Отже, новий параметр, а саме мутація BRAF, для передопераційної оцінки ризику може виявитися надзвичайно цінним у виборі оптимальної тактики лікування за ПРЩЗ.

ВИСНОВКИ

1. Доведено, що забарвлені цитологічні препарати ТАПБ вузлів ЩЗ можна використовувати для виділення ДНК та оцінки наявності мутації BRAF V600E.
2. Виявлення даної мутації має обмежене значення для діагностики злоякісного процесу у випадках із сумнівними цитологічними висновками ТАПБ.
3. Виявлення мутації BRAF V600E у випадках злоякісних ТАПБ може бути корисним для передопераційного визначення пухлин із високим ризиком екстраорганної інвазії та метастазів у лімфовузлах.

ЛІТЕРАТУРА

1. *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.
2. *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.
3. *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 thro-

- ugh 1989 // Surgery. – 1993. – Vol. 114. – P. 1050-1057.
4. *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.
5. *Fonseca E., Soares P., Rossi S., Sobrinho-Simoes M.* Prognostic factors in thyroid carcinomas // *Verh. Dtsch. Ges. Pathol.* – 1997. – Vol. 81. – P. 82-96.
6. *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.
7. *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.
8. *LiVolsi V.A., Fadda G., Baloch Z.W.* Prognostic factors in well-differentiated thyroid cancer // *Rays.* – 2000. – Vol. 25. – P. 163-175.
9. *Heim. M. et al.* La cytoponction a l'aiguille fine des nodules thyroïdiens. Valeur diagnostique et place dans la strategie therapeutique // *Rev. F. Endocrinol. Clin.* – 1984. – Vol. 25, № 1. – P. 37-42.
10. *Gharib H.* Fine-needle aspiration biopsy of thyroid nodules: advantages, limitations, and effect // *Mayo Clin. Proc.* – 1994. – Vol. 69, № 1. – P. 44-49.
11. *AACE/AAES* medical/surgical guidelines for clinical practice: management of thyroid carcinoma. American Association of Clinical Endocrinologists. American College of Endocrinology // *Endocr. Pract.* – 2001. – Vol. 7, № 3. – P. 202-220.
12. *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.
13. *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.
14. *Hilger R.A., Scheulen M.E., Strumberg D.* The Ras-Raf-MEK-ERK pathway in the treatment of cancer // *Oncology.* – 2002. – Vol. 25. – P. 511-518.
15. *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.
16. *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.
17. *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.
18. *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.
19. *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.
20. *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. – Vol. 88. – P. 4393-4397.
21. *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.
22. *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.
23. *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.
24. *Xing M., Tufano R.P., Tufaro 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.
25. *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.

26. 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.
27. 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/
28. 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.
29. 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.
30. 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.

РЕЗЮМЕ

Роль выявления мутации V600E при проведении ТАПБ узлов щитовидной железы В.Г. Хоперия

Мутация BRAF является специфической для папиллярного рака (ПР) щитовидной железы (ЩЖ) и коррелирует с инвазивностью. Определение BRAF-мутации при проведении тонкоигольной аспирационной пункционной биопсии (ТАПБ) может повысить точность цитологического диагноза у пациентов с узловым зобом. Целью настоящего исследования была оценка возможности определения BRAF-мутации на стандартно окрашенных цитологических препаратах ТАПБ. Материалом для исследования послужили 134 цитологических препарата ТАПБ узлов ЩЖ, окрашенных по методу Май-Грюнвальда-Гимза. Из них по результатам цитологического анализа подозрительные и злокачественные составили 30 и 104 случаев соответственно. После проведения патогистологического исследования доброкачественные опухоли составили 10, а злокачественные – 124 случая. В случаях с подозрительными цитологичес-

кими выводами ТАПБ BRAF-мутация была обнаружена у 2/30 (6%) пациентов (2 ПРЩЖ). В случаях злокачественных ТАПБ BRAF-мутацию обнаружили у 47/104 (45,2%) больных. Определена значительная корреляция мутации BRAF в цитологических препаратах ТАПБ опухолей с признаками экстраорганной инвазии и метастазами в лимфатических узлах. Таким образом, стандартно окрашенные цитологические препараты ТАПБ узлов ЩЖ можно использовать для выделения ДНК и оценки мутации BRAF. Определение данной мутации имеет ограниченное значение в диагностике злокачественности в случаях подозрительных ТАПБ. В случаях злокачественных ТАПБ выявление мутации BRAF может быть полезным дополнением для определения опухолей с высоким риском экстраорганной инвазии и метастазов в предоперационный период.

Ключевые слова: папиллярный рак, BRAF-мутация, тонкоигольная аспирационная пункционная биопсия.

SUMMARY

Role of detection BRAFV600E mutation on fine needle biopsies (FNAB) of thyroid nodules V. Hoperia

The BRAF mutation is specific for thyroid papillary cancer (PTC) and correlates with PTCs invasiveness. Detection of BRAF mutation on fine needle biopsies (FNAB) can improve accuracy of cytological diagnosis in patients with thyroid nodules.

This study investigated whether detection of BRAF mutation can be performed on routinely stained FNABs. One hundred thirty four FNABs samples stained by May-Grunwald/Geimsa technique were classified as suspicious (30 cases) or malignant FNABs (104 cases). Post-operative diagnoses were 10 benign and 124 malignant tumors. In suspicious FNABs, BRAF mutation was found in 2/30 (6%) of cases (2 PTC). In malignant FNABs, BRAF mutation was detected in 47/104 (45.2%) There was a significant association of BRAF mutation in preoperative FNAB specimens with the presence of extra-thyroidal extension and lymph node metastases. Stained FNAB specimens can be used for DNA extraction and assessment of BRAF mutation. Detection of BRAF mutation has a limited value in diagnosis of malignancy in cases of suspicious FNABs. In malignant FNABs, detection of BRAF mutation could be a useful adjunct for preoperative identification of tumors with a high risk of extra-thyroidal extension and metastases.

Key words: papillary carcinoma, BRAF mutation, fine needle biopsies.

Дата надходження до редакції 13.04.2011 р.