

## Оригинальные работы

**Определение BRAF-мутации в папиллярных микрокарциномах щитовидной железы — дополнительный маркер стратификации риска****Семенов Д.Ю.<sup>1,2</sup>, Борискова М.Е.<sup>1,2</sup>, Зарайский М.И.<sup>1</sup>,  
Фарафонова У.В.<sup>1</sup>, Быков М.А.<sup>1,2</sup>**<sup>1</sup> ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова», Санкт-Петербург<sup>2</sup> ФГБУ «Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова», Санкт-Петербург

**Актуальность.** Микрокарциномы щитовидной железы (МКЩЖ) являются гетерогенной группой опухолей, объединенных лишь размером узлового образования, биологический же потенциал опухоли до сих пор остается неясен. Также существуют нерешенные проблемы и в хирургическом лечении этого вида опухолей.

**Цель.** Определение возможности использования мутации BRAF V600E в качестве дополнительного маркера в стратификации риска МКЩЖ.

**Материал и методы.** В исследование были включены 44 пациента, оперированных на базе кафедры общей хирургии СПбГМУ им. академика И.П. Павлова. На ретроспективном материале всем 44 пациентам определен BRAF-статус опухоли и сопоставлен с такими характеристиками опухоли как мультицентричность, наличие регионарных метастазов, инвазия капсулы органа и/или опухоли и рецидив заболевания.

**Результаты.** Распространенность BRAF-мутации среди всех МКЩЖ составила 68,2%. При исследовании зависимости клинико-морфологических характеристик с BRAF-статусом опухоли получены следующие характеристики: в 87,5% случаев мультицентричные опухоли были BRAF-положительными, 73,3% опухолей с распространением на боковую клетчатку шеи имели BRAF-положительный статус. Важно отметить, что все опухоли с рецидивами при наблюдении в срок до 60 мес были BRAF-положительными. При применении многомерного регрессионного анализа зависимости совместно всех перечисленных критериев с наличием мутации выявлена статистически значимая корреляция.

**Выводы.** Таким образом, оценка этих факторов возможна лишь при выполнении тиреоидэктомии с центральной лимфодиссекцией.

**Ключевые слова:** микрокарцинома щитовидной железы, BRAF-мутация, тиреоидэктомия.

**BRAF mutation in papillary thyroid microcarcinoma — additional marker of risk stratification****Semyonov D. U.<sup>1,2</sup>, Boriskova M. E.<sup>1,2</sup>, Zaraisky M. I.<sup>1</sup>,  
Farafonova U. V.<sup>1</sup>, Bikov M. A.<sup>1,2</sup>**<sup>1</sup> First Pavlov State Medical University of St. Peterburg, Russian Federation<sup>2</sup> Federal Almazov Medical Research Centre, Saint-Petersburg, Russian Federation

**Background.** Papillary thyroid microcarcinoma (PTMC) is heterogeneous group of tumor less than 1 cm in the diameter. The volume of surgical treatment stay unstable because unclear biological potential of PTMC.

**Aim.** The aim of our study was to assess the utility of BRAF gene mutation as preoperative additional marker of risk stratification.

**Materials and methods.** We include 44 patient who were operated in general surgery department Pavlov State Medical University from 2001 to 2013. In all 44 cases BRAF gene mutation was detected and compared with clinic-

**Семенов Дмитрий Юрьевич** — доктор мед. наук, профессор, заведующий кафедрой общей хирургии ПСПбГМУ им. И.П. Павлова, глава сектора эндокринной хирургии ФГБУ «ФМИЦ им. В.А. Алмазова», Санкт-Петербург, Российская Федерация. **Борискова Марина Евгеньевна** — канд. мед. наук, ассистент кафедры общей хирургии ПСПбГМУ им. И.П. Павлова, старший научный сотрудник сектора эндокринной хирургии ФГБУ «ФМИЦ им. В.А. Алмазова», Санкт-Петербург, Российская Федерация. **Зарайский Михаил Игоревич** — доктор мед. наук, профессор кафедры клинической и лабораторной диагностики с курсом молекулярной генетики ПСПбГМУ им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Российская Федерация. **Фарафонова Ульяна Валентиновна** — аспирант кафедры общей хирургии ПСПбГМУ им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Российская Федерация. **Быков Михаил Андрианович** — врач-хирург клиники общей хирургии ПСПбГМУ им. И.П. Павлова; младший научный сотрудник сектора эндокринной хирургии ФГБУ «ФМИЦ им. В.А. Алмазова», Санкт-Петербург, Российская Федерация.

Для корреспонденции: Фарафонова Ульяна Валентиновна — Medici@yandex.ru

morphological features (multifocality, invasive growth, lymph node metastasis, recurrence) retrospectively.

**Results.** In our study the frequency of BRAF gene mutation was 68.2%. On multivariate regression analysis the presence of bilateral tumoural foci, lymph node metastasis and the presence of capsular invasion were significantly related to BRAF positive gene status.

**Conclusions.** Thus, appropriate volume for the BRAF positive PTMC is thyroidectomy with central compartment lymph node dissection.

**Key words:** papillary thyroid microcarcinoma, BRAF gene mutation, thyroidectomy.

## Введение

Микрокарциномы щитовидной железы (МКЩЖ) представляют собой гетерогенную группу опухолей, объединенную лишь размером выявляемого узлового образования. По определению ВОЗ, микрокарциномой щитовидной железы принято называть случайно выявленные опухоли щитовидной железы 1 см в диаметре и менее [1]. Распространение ультразвукового исследования с тонкоигольной аспирационной биопсией подозрительных узловых образований щитовидной железы привело к значительному увеличению частоты выявления МКЩЖ. Однако данные о злокачественном потенциале данной опухоли остаются противоречивыми.

При проведении метаанализа работ, посвященных аутопсийным исследованиям, было показано наличие МКЩЖ примерно у одной трети взрослого населения [2, 3]. Данные исследования привели к появлению работ, описывающих натуральное течение МКЩЖ без оперативного лечения. В 2003 г. Y. Ito и соавт. [4] опубликовали статью, в которой было описано наблюдение течения 162 МКЩЖ. В 70% случаев при наблюдении размер узлового образования не изменился от первоначально выявленного. В 10,2% случаев размер узлового образования увеличился более чем на 10 мм, и метастазы в боковую клетчатку шеи были выявлены у 1,2% наблюдавшихся. Однако в том же исследовании приводятся данные о частоте микрометастазов в центральные лимфоузлы шеи, достигающей уровня 50,5%. Также в исследованиях D. Giordano и соавт. (2010) частота рецидивов при наблюдении в среднем 43 мес после операций по поводу МКЩЖ достигает 10% [5]. В качестве факторов риска рассматриваются такие как мультицентричность, инвазия в капсулу щитовидной железы и сосудистую стенку.

В настоящее время в рекомендациях по ведению пациентов с высокодифференцированным раком щитовидной железы Американской тиреологической ассоциации (2009) в случае микрокарциномы у пациентов низкого риска в возрасте до 45 лет рекомендуется операция в объеме экстрафасциальной гемитиреоидэктомии [6]. Данный объем оперативного вмешательства не позволит в ряде случаев достоверно стадировать опухолевый процесс, а именно выявить мультицентричность, регионарные лимфогенные ме-

тастазы. Таким образом, рекомендованный стандартами объем операции в ряде случаев будет неадекватным и приведет к персистенции опухоли.

Таким образом, необходим дополнительный дооперационный маркер МКЩЖ высокого риска. В последнее время появился ряд работ, посвященных исследованию значения выявления мутации гена BRAF в стратификации риска рака щитовидной железы [7, 8, 9]. L.A. Niemeier и соавт. в статье 2012 г. определили значение наличия BRAF-мутации как предиктора более высокого риска рецидива, экстра-тиреоидной инвазии и более агрессивного варианта течения микрокарциномы [10]. Однако в работе X. Zheng и соавт. [11] статистически значимого отличия в частоте рецидивов и более агрессивного течения BRAF-положительных микрокарцином в сравнении с BRAF-негативными не выявлено.

Противоречивость получаемых данных показывает необходимость продолжения исследования данного генетического события в МКЩЖ и его влияния на морфологические и клинические характеристики опухоли. Актуальным представляется исследование возможности использования определения BRAF-мутации в дооперационной стратификации риска и определении объема оперативного лечения.

## Цель

Целью нашего исследования явилось изучение возможности использования определения мутации гена BRAF в качестве дополнительного дооперационного маркера стратификации риска МКЩЖ.

## Материал и методы

В исследование вошли 44 человека, оперированных на базе кафедры общей хирургии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова в период с 2001 по 2013 г. Все пациенты добровольно подписали информированное согласие на участие в исследовании. Протокол одобрен этическим комитетом при Первом Санкт-Петербургском государственном медицинском университете им. акад. И.П. Павлова (решение от 16.11.2012).

В исследуемую группу вошли пациенты с папиллярным раком и размерами первичной опухоли 1 см и менее в диаметре. Все пациенты были оперированы.

**Таблица 1.** Распределение больных в зависимости от объема выполненной операции

| Объем оперативного вмешательства                       | Число пациентов, чел. |
|--|-----------------------|
| Гемитиреоидэктомия                                     | 6                     |
| Тиреоидэктомия   | 23                    |
| Тиреоидэктомия с центральной лимфодиссекцией           | 9                     |
| Тиреоидэктомия с центральной и боковой лимфодиссекцией | 6                     |

**Таблица 2.** Распределение пациентов по анализируемым признакам

| Признак  | Число пациентов, чел. |
|--|-----------------------|
| Мультицентричность   | 8                     |
| Инвазия капсулы:<br>опухолевой<br>органной                 | 12<br>8               |
| Метастазы:<br>в центральные лимфоузлы<br>боковые лимфоузлы | 9<br>6                |
| Рецидив  | 6                     |

Объем операции определялся, основываясь на размере первичного узла, цитологическом заключении, данных интраоперационных исследований в соответствии с рекомендациями согласительной комиссии [12]. Тиреоидэктомия была выполнена 38 больным, из них 8 пациентам выполнялась тиреоидэктомия с центральной лимфодиссекцией, а 6 больным этот объем был дополнен боковой шейной лимфодиссекцией. В 6 случаях объем операции был ограничен гемитиреоидэктомией (табл. 1).

Определение BRAF-статуса опухоли проводилось в материале, полученном при тонкоигольной пункционной биопсии. Использовалась стандартная методика Мультиплекс-ПЦР плюс обратная гибридизация с высокоспецифичными олигонуклеотидными зондами на нейлоновых стрипах (Vienna Lab BRAF StripAssay). Исключена возможность преференциальной амплификации диких генотипов BRAF из-за включения в реакционную смесь блокирующих пептид-олигонуклеотидов. Благодаря этому результат будет позитивным даже при наличии в образце всего 1% клеток, несущих мутацию.

### Результаты и их обсуждение

Сравнительному анализу были подвергнуты следующие характеристики первичной опухоли: инвазия капсулы опухоли и органной капсулы щитовидной железы, наличие метастазов центральной и боковой клетчатки шеи, мультицентричность опухоли и рецидив заболевания (табл. 2).

Мультифокальный рост опухоли выявлен у 8 (18,2%) пациентов, то есть выполнение оперативного вмешательства в объеме гемитиреоидэктомии практически в 20% случаев не позволило бы выполнить радикальную операцию и привело бы к закономерному рецидиву опухоли. У 8 пациентов из 44 выявлена инвазия капсулы щитовидной железы, что привело к стадированию процесса как Т3.

Случаев отдаленного гематогенного метастазирования в нашем исследовании не было. Метастазы в регионарные лимфатические узлы были выявлены в 34,1% случаев (15 пациентов), из них метастазы в центральную клетчатку (VI группа) – у 9 пациентов, что позволило стадировать процесс как N1a. Метастазы в боковую клетчатку шеи (I, II, III, IV, V группы) диагностированы у 6 пациентов, что было стадировано как N1b.

Рецидив опухоли при наблюдении в срок до 60 мес выявлен у 6 пациентов, из них в 2 случаях наблюдался местный рецидив, а в 4 случаях – метастазы в регионарные лимфоузлы. Следует отметить, что в 2 случаях из шести объем первоначального оперативного вмешательства был ограничен гемитиреоидэктомией.

При анализе выявленных клинико-морфологических характеристик и их связи с BRAF-мутацией были получены следующие данные. Частота выявления мутации гена BRAF во всех случаях МКЩЖ составила 68,2% (в 30 из 44 образцов). Следует отметить, что частота встречаемости BRAF-мутации в нашей выборке МКЩЖ сопоставима с таковой в общем пуле папиллярного рака щитовидной железы, что опровергает имеющиеся данные о более высокой частоте встречаемости мутации среди микрокарцином щитовидной железы [13].

При определении зависимости наличия фактора инвазии в капсулу и наличия BRAF-мутации из 8 случаев стадии Т3 семь пациентов имели BRAF-положительный статус.

Из 6 пациентов с диагностированными метастазами в боковую клетчатку шеи у четырех выявлена мутация гена BRAF.

При анализе такого критерия как мультицентричность в 87,5% случаев первичная микрокарцинома была BRAF-положительной (в 7 случаях из 8) (табл. 3).

Полученные результаты подтверждают данные о том, что МКЩЖ являются гетерогенной группой опухолей, объединенной лишь размером узлового образования, и не отражают биологической активности опухоли.

В нашем исследовании из 6 случаев рецидива опухолевого роста 6 опухолей имели BRAF-положительный статус. Также следует отметить, что в 2 (33%) случаях рецидив папиллярного рака после операции

**Таблица 3.** Зависимость клинико-морфологических характеристик от BRAF-статуса опухоли

| Признак               | Число пациентов, чел. | BRAF-положительные | BRAF-отрицательные |
|-----------------------|-----------------------|--------------------|--------------------|
| Мультицентричность    | 8                     | 7                  | 1                  |
| Инвазия капсулы:      |                       |                    |                    |
| опухолевой            | 12                    | 11                 | 1                  |
| органной              | 8                     | 7                  | 1                  |
| Метастазы:            |                       |                    |                    |
| центральные лимфоузлы | 9                     | 7                  | 2                  |
| боковые лимфоузлы     | 6                     | 4                  | 2                  |
| Рецидив               | 6                     | 6                  | 0                  |
| T1aN0M0               | 13                    | 3                  | 10                 |

**Таблица 4.** Определение корреляции многомерным анализом (IBM SPSS 21)

| Признак                                   | OR (95% CI)      | <i>p</i> |
|---|------------------|----------|
| Мультицентричность                        | 1,3 (0,89–15,13) | 0,04     |
| Инвазия капсулы опухоли/щитовидной железы | 0,96 (0,44–2,15) | 0,012    |
| Метастазы в регионарные лимфоузлы         | 1,84 (1,44–3,45) | 0,023    |
| Рецидив заболевания                       | 1,78 (0,68–2,51) | 0,01     |

*Примечание.*  $p < 0,05$ , OR – отношение шансов, CI – доверительный интервал.

по поводу МКЩЖ был на фоне первичной операции в объеме гемитиреоидэктомии. В обоих случаях первичная опухоль имела BRAF-положительный статус. Таким образом, возможно говорить о неадекватном первичном объеме операции при BRAF-положительной микрокарциноме.

При проведении анализа влияния пола и возраста на наличие BRAF-мутации статистически значимого влияния не определено, что подтверждается авторами, занимавшимися изучением генетики МКЩЖ [8, 10].

При изучении корреляции изолированно каждого из перечисленных критериев (наличие метастазов в регионарные лимфоузлы (центральные, боковые), мультицентричность опухолевого узла, прорастание органной капсулы и рецидив заболевания) с наличием BRAF-мутации (одномерный анализ) статистически значимой зависимости не выявлено. Однако при применении многомерного регрессионного анализа зависимости совместно всех перечисленных критериев (наличие метастазов в регионарные лимфоузлы (центральные, боковые), мультицентричность опухолевого узла, прорастание капсулы и рецидив заболевания) с наличием мутации выявлена статистически значимая корреляция (табл. 4).

Таким образом, говорить о большей вероятности какого-либо одного из исследуемых признаков агрессивности при наличии BRAF-мутации не представляется возможным. Это диктует необходимость при BRAF-положительной МКЩЖ ожидать каждый из анализируемых признаков с равной долей вероятности (мультицентричность, прорастание капсулы, наличие регионарных метастазов и рецидива).

Оценка этих факторов возможна лишь при выполнении определенного объема оперативного вмешательства. Соответственно, учитывая высокую вероятность мультицентричного роста опухоли, необходимо выполнять оперативное вмешательство в объеме экстирпации щитовидной железы. В то же время с равной долей вероятности мы можем ожидать у этой категории пациентов наличие регионарных лимфогенных метастазов, что диктует необходимость выполнения по крайней мере биопсии лимфоузлов VI группы, по результатам которой должно быть принято решение о центральной лимфодиссекции. Таким образом, пациентам с папиллярной микрокарциномой, имеющим BRAF-положительный статус опухоли, необходимо выполнять оперативное вмешательство в объеме тиреоидэктомии с центральной лимфодиссекцией.

### Выводы

1. Микрокарциномы щитовидной железы являются гетерогенной группой опухолей, объединенных размерами узлов образования, что не отражает их биологический потенциал.
2. Определение мутации гена BRAF позволит на дооперационном этапе стратифицировать риск и выбрать адекватный объем оперативного лечения.
3. Оптимальным объемом оперативного лечения для BRAF-положительных микрокарцином является тиреоидэктомия с центральной лимфодиссекцией.

### Информация о финансировании и конфликте интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциальных и явных конфликтов (двойственности) интересов, связанных с публикацией настоящей рукописи.

## Список литературы

1. *De Lellis RA, Lloyd RV, Heitz PU, Eng C.* World Health Organization Classification of Tumors. Pathology and genetics of tumors of endocrine organs. Lyon: IARC Press; 2004. pp. 54-55.
2. *Baloch ZW, LiVolsi VA.* Microcarcinoma of the thyroid. *Advances in Anatomic Pathology.* 2006;13(2):69-75. doi: 10.1097/01.pap.0000213006.10362.17
3. *Pazaitou-Panayiotou K, Capezzone M, Pacini F.* Clinical features and therapeutic implication of papillary thyroid microcarcinoma. *Thyroid.* 2007;17(11):1085-1092. doi: 10.1089/thy.2007.0005
4. *Ito Y, Uruno T, Nakano K, Takamura Y, Miya A, Kobayashi K, et al.* An observation trial without surgical treatment in patients with papillary microcarcinoma of the thyroid. *Thyroid.* 2003;13(4):381-387. doi: 10.1089/105072503321669875
5. *Giordano D, Gradoni P, Oretti G, Molina E, Ferri T.* Treatment and prognostic factors of papillary thyroid microcarcinoma. *Clinical Otolaryngology.* 2010;35(2):118-124. doi: 10.1111/j.1749-4486.2010.02085.x
6. *Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR, Kloos RT, Lee SL, Mandel SJ, et al.* Revised American Thyroid Association management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid.* 2009;19(11):1167-1214. doi: 10.1089/thy.2009.0110
7. *Ланцов Д.С.* Морфология и пролиферативная активность микрокарциномы щитовидной железы: Дисс. ... канд.мед. наук. — Обнинск; 2007. [Lantsov DS. Morfologiya i proliferativnaya aktivnost' mikrokarctsinomy shchitovidnoy zhelezy [Dissertation]. Obninsk; 2007.]
8. *Xing M.* BRAF Mutation in papillary thyroid microcarcinoma: The promise of better risk management. *Annals of Surgical Oncology.* 2009;16(4):801-803. doi: 10.1245/s10434-008-0298-z
9. *Virk RK, Van Dyke AL, Finkelstein A, Prasad A, Gibson J, Hui P, et al.* BRAFV600E mutation in papillary thyroid microcarcinoma: a genotype—phenotype correlation. *Modern Pathology.* 2012;26(1):62-70. doi: 10.1038/modpathol.2012.152
10. *Niemeier LA, Kuffner Akatsu H, Song C, Carty SE, Hodak SP, Yip L, et al.* A combined molecular-pathologic score improves risk stratification of thyroid papillary microcarcinoma. *Cancer.* 2012;118(8):2069-2077. doi: 10.1002/cncr.26425
11. *Zheng X, Wei S, Han Y, Li Y, Yu Y, Yun X, et al.* Papillary microcarcinoma of the thyroid: Clinical characteristics and BRAFV600E mutational status of 977 cases. *Annals of Surgical Oncology.* 2013;20(7):2266-2273. doi: 10.1245/s10434-012-2851-z
12. Диагностика и лечение дифференцированного рака щитовидной железы. Национальные клинические рекомендации, принятые на IX Российском онкологическом конгрессе и IV Всероссийском тиреологическом конгрессе. // Эндокринная хирургия. — 2008. — №1. — С. 3-5. [Diagnostika i lechenie differentsirovannogo raka shchitovidnoy zhelezy. Natsional'nye klinicheskie rekomendatsii, prinyaty na XI Rossiyskom onkologicheskom kongresse i IV Vserossiyskom tireoidologicheskom kongresse. *Endocrine Surgery.* 2008;(1):3-5.] doi: 10.14341/2306-3513-2008-1-3-5
13. *Zhou Y-L, Zhang W, Gao E-L, Dai X-X, Yang H, Zhang X-H, et al.* Preoperative BRAF mutation is predictive of occult contralateral carcinoma in patients with unilateral papillary thyroid microcarcinoma. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention.* 2012;13(4):1267-1272. doi: 10.7314/apjcp.2012.13.4.1267