

Прогностические критерии клинического течения и диагностика медуллярного рака щитовидной железы

Газизова Д.О., Бельцевич Д.Г., Тюльпаков А.Н., Солдатова Т.В., Ильин А.В.

ФГБУ “Эндокринологический научный центр” (директор – акад. РАН и РАМН Дедов И.И.)
Министерства здравоохранения России, Москва

Газизова Д.О. – аспирант ФГБУ ЭНЦ, Бельцевич Д.Г. – доктор мед. наук, гл. науч. сотр. отд. хирургии ФГБУ ЭНЦ, Тюльпаков А.Н. – доктор мед. наук, зав. отделением наследственных эндокринопатий ФГБУ ЭНЦ, Солдатова Т.В. – канд. мед. наук, зав. отделением ультразвуковой диагностики ФГБУ ЭНЦ, Ильин А.В. – зав. отделением клинической биохимии ФГБУ ЭНЦ.

Проведено ретроспективно-проспективное клиническое аналитическое исследование 137 пациентов с медуллярным раком щитовидной железы (МРЦЖ). Выявлена крайне низкая 35%-ная чувствительность тонкоигольной аспирационной биопсии и высокая чувствительность исследования уровня базального кальцитонина в диагностике МРЦЖ. Представлены результаты изучения спектра герминальных и спорадических мутаций генов *RET* и *RAS* на российской популяции, доказано влияние вида мутации на агрессивность течения МРЦЖ.

Ключевые слова: медуллярный рак щитовидной железы, синдром множественных эндокринных неоплазий 2 типа, кальцитонин, раковоэмбриональный антиген, *RET*-протоонкоген, тонкоигольная аспирационная биопсия.

Diagnosis of medullary thyroid cancer and prognostic factors of disease aggressiveness

Gazizova D.O., Beltsevich D.G., Tiulpakov A.N., Soldatova T.V., Ilyin A.V.

Federal Endocrinological Research Center, Moscow

In the study were enrolled 137 patients with medullary thyroid cancer (MTC). Low 35%-sensitivity of FNAC and high accuracy of basal calcitonin in MTC diagnostics were found. Mutation analysis of the *RET* protooncogene in familial and sporadic MTC, *RAS*-gene in sporadic MTC were done. The correlation between type of the mutation and disease aggressiveness was found.

Key words: medullary thyroid cancer, multiple endocrine neoplasia syndrome type 2, calcitonin, CEA, *RET*-proto-oncogene, fine-needle aspiration cytology.

Медуллярный рак щитовидной железы (МРЦЖ) – наиболее агрессивное злокачественное новообразование среди дифференцированных карцином щитовидной железы.

Несмотря на широкое внедрение в клиническую практику высокоинформативных лабораторных и инструментальных методов обследования, МРЦЖ, как и десять лет назад, диагностируется на 3-й и 4-й стадиях заболевания более чем в 50% случаев [1], в то время как именно распространенность опухолевого процесса на момент диагности-

ки является главным прогностическим фактором (при наличии регионарных и отдаленных метастазов 10-летний уровень выживаемости составляет 70 и 40% соответственно) [2]. С целью более ранней диагностики МРЦЖ активно обсуждается необходимость внедрения в алгоритм обследования пациентов с узловым зобом гормонального анализа крови на кальцитонин [3]. По результатам ряда работ, исследование кальцитонина при выявлении узлового зоба позволяет диагностировать МРЦЖ на ранней стадии, что



Бельцевич Дмитрий Германович – 117036 Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11. E-mail: beltsevich@rambler.ru

существенно улучшает результаты оперативного лечения и общую выживаемость [4]. Однако большинством эндокринологических сообществ данная тактика пока обсуждается, и общепринятым стандартом является исследование кальцитонина у всех пациентов с узловым зобом, направляемых на оперативное лечение [5].

Выраженная гетерогенность клинического течения – от бессимптомных форм, не приводящих к ограничению продолжительности жизни, до крайне агрессивных, приводящих к инвалидизации, с низкой 5-летней выживаемостью, – требует анализа различных факторов при выборе тактики ведения пациентов с МРЦЖ. Проведение обширных вмешательств далеко не всегда оправдано – зачастую снижая качество, редко удается увеличить продолжительность жизни [6].

В основе наследуемой формы МРЦЖ, наблюдаемой в 20–25% случаев, лежит мутация гена *RET*, вид которой во многом определяет агрессивность течения заболевания. Разработанная в 2009 г. Американской тиреоидологической ассоциацией (АТА) классификация мутаций гена *RET* требует постоянного обновления по мере выявления новых мутаций и уточнения особенностей течения ассоциированных заболеваний при известных мутациях [5].

Поиск эффективной системной терапии МРЦЖ у неоперабельных больных дал существенный толчок в исследовании соматических мутаций при спорадическом МРЦЖ. Если пять лет назад общепринятым стандартом генетического обследования пациентов с МРЦЖ являлось исключение только наследственной природы заболевания, то в настоящее время при спорадическом МРЦЖ данное обследование дополняется поиском соматических мутаций гена *RET*. Частота обнаружения последних варьирует от 25 до 71% случаев [7]. Активно изучается роль мутаций суперсемейства гена *RAS* [8].

Согласно рекомендациям АТА, впервые исследование кальцитонина и раково-эмбрионального антигена (РЭА) проводится через три месяца после оперативного лечения, так как к этому времени их уровни достигают своего минимума [9]. Однако по данным

ряда работ, исследование вышеописанных онкомаркеров, в особенности кальцитонина, информативно уже через 72 ч после операции [10].

Необходимость индивидуализированного подхода, все возрастающая роль генетических мутаций в разработке новых методов лечения рака щитовидной железы определяют актуальность представленного исследования.

Материал и методы

В ФГБУ ЭНЦ проведено ретроспективно-проспективное аналитическое клиническое исследование 137 пациентов с МРЦЖ. Пациенты обследованы и оперированы в период с 1982 по 2013 г. Из них 73 пациентам первичное либо повторное оперативное вмешательство было проведено в хирургическом отделении ФГБУ ЭНЦ (руководитель – проф., д.м.н. Кузнецов Н.С.) с 1990 по 2013 г., 61 пациенту – в других лечебных учреждениях РФ.

Среднее время наблюдения составило $7,6 \pm 7,4$ лет, от 4 мес до 32 лет [Me 5 лет]. Недоступными для наблюдения оказались 23 пациента. Умерли на момент окончания исследования всего 5 пациентов.

Биохимические и гормональные исследования выполнялись в лаборатории гормонального анализа (руководитель – профессор Гончаров Н.П.) и клинической биохимии (руководитель – Ильин А.В.) ФГБУ ЭНЦ. Исследование уровня кальцитонина и РЭА проводилось методом иммунохемилюминесценции. Верхний норматив для уровня кальцитонина, предложенный фирмой-производителем, составил 18,9 нг/л для мужчин и 5,5 нг/л для женщин. Верхний норматив РЭА, предложенный фирмой-производителем для общей популяции, – 5 нг/мл. Исследование уровня Ca 19-9 в сыворотке крови выполнялось методом иммуноферментного анализа на диагностическом наборе CanAgCa 19-9. Референсные значения, предложенные фирмой-производителем, – 0–29 Ед/мл.

Молекулярно-генетическое исследование проводилось в лаборатории отделения наследственных эндокринопатий ФГБУ ЭНЦ (руководитель – д.м.н. Тюльпаков А.Н.). На первом этапе исключалось наличие гер-

минальных мутаций гена *RET*. При наличии фенотипических признаков синдрома множественных эндокринных неоплазий (МЭН) 2В типа в первую очередь проводилось исключение мутаций в 16-м экзоне, при отсутствии последних – последовательно в 15, 13–14, 10–11-м экзонах гена *RET*. У пациентов без фенотипических признаков синдрома МЭН 2В исключалось наличие мутаций последовательно в 10–11, 13–15, 16-м экзонах гена *RET*. После исключения наследственного генеза заболевания вторым этапом проводилось исследование спорадических мутаций из образцов тканей МРЦЖ в виде парафиновых блоков. Идентификацию выявленных изменений нуклеотидной последовательности проводили с помощью базы данных dbSNP и геномного браузера Ensembl (www.ensembl.org), патогенетически значимых мутаций – с помощью базы данных HGMD (<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>).

УЗИ проводилось в отделении функциональной диагностики ФГБУ ЭНЦ (руководитель – к.м.н. Солдатов Т.В.). УЗИ щитовидной железы проводилось на аппаратах экспертного класса Aloka альфа 10, ToshibaAplioXG 790 с использованием линейного датчика с частотой 6,5–10 МГц.

Всем оперированным в ФГБУ ЭНЦ больным выполнено плановое гистологическое исследование в лаборатории патоморфологического анализа ЭНЦ (руководитель – профессор, д.м.н. Абросимов А.Ю., позднее – Молчков Р.В.). Диагноз формулировался в соответствии с классификацией TNMUICC в 7-й редакции [11].

Статистический анализ данных выполнялся с использованием пакета программ Statistica 9.1 (StatSoft, Inc., США) в соответствии с рекомендациями [12]. Описательная статистика количественных признаков представлена средними и среднеквадратическими отклонениями (в формате $M \pm s$; в случае нормальных распределений) либо медианами и квартилями (в формате $Me [Q_1; Q_3]$). Описательная статистика качественных признаков представлена абсолютными и относительными частотами. При анализе соответствия распределений количественных признаков нормальному закону применялся критерий Шапиро–Уилка. Для сравнения не-

связанных групп по количественным и порядковым признакам применялся непараметрический дисперсионный анализ по Краскелу–Уоллису, множественные *posthoc*-сравнения групп по Сигэл и Кастеллан, тест Манна–Уитни. Сравнение несвязанных групп по качественным признакам проводилось с использованием теста χ^2 и точного критерия Фишера. При проверке гипотез нулевая гипотеза отклонялась при достигнутом уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

Результаты работы основаны на данных анамнеза и обследования 137 пациентов с МРЦЖ, из них 38 мужчин (28%) и 101 женщина (72%). В группе генетически детерминированного МРЦЖ ($n = 54$) было 19 мужчин (35%) и 35 женщин (65%), в группе спорадического МРЦЖ ($n = 83$) – 19 мужчин (23%) и 64 женщины (77%). Средний возраст диагностики МРЦЖ в группе спорадического МРЦЖ составил $49,1 \pm 12,7$ лет [$Me 50$] ($n = 75$); в группе генетически детерминированного МРЦЖ – $30,3 \pm 13,6$ лет [$Me 27,5$] ($n = 48$). Определены статистически достоверные различия по возрасту между группами ($p < 0,001$), что подтверждает более раннюю манифестацию генетически детерминированных форм МРЦЖ.

Согласно классификации UICC в 7-й редакции, МРЦЖ был диагностирован у 41 из 105 (39%) пациентов на 1-й стадии, у 10 из 105 (9%) – на 2-й стадии, у 25 из 105 (24%) и 29 из 105 (28%) – на 3-й и 4-й стадиях соответственно. Таким образом, в 52% случаев МРЦЖ был диагностирован при наличии регионарных или отдаленных метастазов, что практически исключает возможность достижения полной ремиссии заболевания.

Роль онкомаркеров в диагностике МРЦЖ

Из 137 пациентов исследование уровня кальцитонина до проведения оперативного лечения проведено в 44% случаев ($n = 60$), РЭА – в 18% ($n = 24$). Уровень кальцитонина превышал нормативные значения с учетом пола у 58 из 60 пациентов, за исключением двух пациентов с микрокарциномой МРЦЖ размером менее 5 мм. РЭА был повышен

только у 15 из 24 (63%) пациентов на момент диагностики МРЩЖ.

За период с августа 2010 г. по октябрь 2013 г. проведено исследование базального кальцитонина 372 пациентам, поступившим с целью проведения оперативного лечения. В эту группу вошли пациенты со следующими предварительными диагнозами по результатам цитологического исследования: фолликулярная опухоль ($n = 191$), папиллярный рак ($n = 139$), узловой коллоидный зоб с компрессионным синдромом ($n = 42$). Повышенный уровень базального кальцитонина был выявлен у 3 из 372 пациентов. Повышение кальцитонина более 100 нг/л в ходе пробы с глюконатом кальция было выявлено у двоих из них, при этом оба пациента имели цитологическое заключение “фолликулярная аденома”. Всем троим пациентам была выполнена тиреоидэктомия, МРЩЖ по результатам гистологического исследования подтвержден у 2 из 3 пациентов, оба из которых имели положительный стимуляционный тест. Специфичность исследования уровня базального кальцитонина в данной выборке составила 99,7%.

Таким образом, кальцитонин является наиболее чувствительным и специфичным маркером МРЩЖ.

МРЩЖ менее 1 см

Проведен анализ данных группы пациентов с размером МРЩЖ менее 1 см по результатам гистологического исследования ($n = 16$). Повышение кальцитонина выше нормативных значений было выявлено у 14 из 16 пациентов, за исключением двух случаев.

Регионарные метастазы в лимфоузлы VI уровня были выявлены у двоих пациентов с генетически детерминированным МРЩЖ при наличии субклинического гипотиреоза и двух очагов размером 5 мм в первом случае и множественных очагов размером 2–3 мм во втором. Регионарные метастазы в лимфоузлы II–V уровней были выявлены в одном случае спорадического МРЩЖ размером 6 мм. У двоих из трех пациентов с регионарными метастазами не удалось добиться ремиссии заболевания.

Таким образом, микрокарциномы МРЩЖ характеризуются высоким уровнем регио-

нарного метастазирования (19%). Проведение центральной лимфаденэктомии (ЦЛАЭ) показано всем пациентам с МРЩЖ, вне зависимости от размеров первичной опухоли.

Стимуляционный тест с глюконатом кальция

Проведен анализ результатов стимуляционного теста с глюконатом кальция у 37 пациентов с первично выявленным либо рецидивирующим МРЩЖ. В ходе пробы наблюдался рост кальцитонина в 2,7–33 раза по сравнению с базальным. Пик кальцитонина в 76% случаев ($n = 28$) приходился на 2-ю минуту теста, в 24% ($n = 9$) – на 5-ю минуту.

Учитывая, что у 100% пациентов с МРЩЖ пик кальцитонина в ходе стимуляционной пробы пришелся на 2-ю и 5-ю минуты теста, исследование уровня кальцитонина на 10-й минуте проводить нецелесообразно. Модификация пробы позволит снизить как временные, так и экономические затраты. Наличие ≥ 3 -кратного повышения кальцитонина в ходе стимуляционного теста позволяет провести дифференциальную диагностику МРЩЖ и других нейроэндокринных опухолей, сопровождающихся секрецией кальцитонина.

Информативность ТАБ в диагностике МРЩЖ

С целью установления чувствительности тонкоигольной аспирационной биопсии (ТАБ) в диагностике МРЩЖ проанализированы результаты цитологических заключений ТАБ ($n = 141$), выполненных 107 пациентам в различных лечебных учреждениях РФ с 1983 по 2013 г. Всем исследуемым пациентам диагноз МРЩЖ был в дальнейшем подтвержден либо установлен по результатам гистологического исследования. Полученные результаты были адаптированы в соответствии с цитологической классификацией Бетесда от 2009 г. Диагноз МРЩЖ на основании цитологического исследования был заподозрен/установлен у 35% пациентов ($n = 49$). В остальных случаях результаты ТАБ распределились следующим образом:

- злокачественный либо подозрительный в отношении других видов рака материал – 15% ($n = 21$);

- фолликулярная опухоль – 15% ($n = 21$);
- неинформативный материал – 8% ($n = 12$);
- доброкачественный материал – 27% ($n = 38$).

При цитологическом заключении “злокачественный либо подозрительный в отношении других видов рака материал” ($n = 21$) пациентам в большинстве случаев был проведен адекватный объем оперативного лечения. В эту группу вошли 3 случая с первичным диагнозом “папиллярный рак”, что противоречит мнению о том, что исключение МРЦЖ целесообразно только при результатах, свидетельствующих о наличии фолликулярной опухоли. В одном из этих случаев гистологически подтверждена редко встречающаяся папиллярная форма МРЦЖ.

При предварительном диагнозе “фолликулярная опухоль” более чем в половине случаев был выполнен неадекватный объем оперативного вмешательства.

Наиболее всегостораживают результаты ТАБ, свидетельствующие о доброкачественном процессе, полученные в 25% случаев (“коллоидный зоб” ($n = 37$), “хронический аутоиммунный тиреоидит” ($n = 1$)). В нашей выборке это привело к несвоевременному оперативному лечению у 12 пациентов, что значительно ухудшило их прогноз.

С целью установления специфичности ТАБ в диагностике МРЦЖ были проанализированы результаты цитологических исследований 530 пациентов, обратившихся в ФГБУ ЭНЦ с января по декабрь 2012 г. с предварительным диагнозом “узловой нетоксический зоб”. Заключение “МРЦЖ” либо подозрение на С-клеточную опухоль было высказано у 17 из 530 (3,2%) пациентов. С целью подтверждения диагноза до оперативного лечения в этой группе всем пациентам было проведено исследование базального и стимулированного кальцитонина. Уровень кальцитонина, превышающий нормативные значения, и положительный стимуляционный тест были выявлены у 14 из 17 пациентов. У всех пациентов с уровнем кальцитонина, превышающим нормативные значения ($n = 14$), по результатам гистологического исследования был подтвержден МРЦЖ. В остальных случаях ($n = 3$) диагностировано наличие

фолликулярной аденомы. Таким образом, специфичность ТАБ в диагностике МРЦЖ составила 99,4%.

Выявленная крайне низкая чувствительность ТАБ, безусловно, является основной причиной несвоевременной диагностики МРЦЖ. Низкая чувствительность метода может быть связана с отсутствием внедрения иммуноцитохимического исследования на кальцитонин, ошибками в диагностике нетипичных форм МРЦЖ и сложностью выбора узлов для ТАБ при многоузловом зобе.

МРЦЖ в рамках синдромов МЭН 2 типа

Молекулярно-генетический анализ гена *RET* был проведен 102 из 137 пациентов с МРЦЖ. Синдром МЭН 2 типа был выявлен на основании генетического исследования у 48 пациентов, у 6 диагноз установлен на основании клинической картины. Таким образом, наследственный вариант МРЦЖ был выявлен в 39% случаев ($n = 54$).

Анализ частоты тех или иных мутаций был проведен по количеству семей с одной мутацией. Всего в исследование вошли 35 семей, при этом было выявлено 14 видов различных мутаций. Среди пациентов с МЭН 2А наиболее частой мутацией являлась замена *C634R* (11/27, 41%), далее по уменьшению частоты встречаемости *C634Y* (3/27, 11%), *C634S* (2/35, 7%), *L790F* (2/35, 7%) и другие мутации, описанные в одиночных семьях. Во всех случаях синдрома МЭН 2В была выявлена замена *M918T* ($n = 8$).

Выявленные мутации были разделены по агрессивности согласно классификации Американской тиреоидологической ассоциации на четыре группы (А–D). В ходе исследования впервые в мире были диагностированы: одна не классифицированная по агрессивности мутация *K603Q* и три ранее не описанные – *Y826S*, *del632-636 ins6*, *Y791F+I852M*. Данные мутации были отнесены в ту или иную группу на основании анализа кодируемого данной мутацией домена молекулы *RET* белка и агрессивности МРЦЖ у носителей, *Y826S* – в группу агрессивности “А”, *K603Q* – в группу “В”, *del632-636 ins6* и *Y791F+I852M* – в группу “С”.

Мутации по группам распределились следующим образом (от наименее к наиболее агрессивным):

– группа низкой агрессивности “А” (5/35, 14%): E768D, L790F, Y791F, Y826S;

– группа умеренной агрессивности “В” (4/35, 11%): K603Q, C609F, C611W, C620R;

– группа высокой агрессивности “С” (18/35, 52%): C634R, C634W, C634Y, C634S, del632-636 ins6, Y791F+I852M;

– группа крайне высокой агрессивности “D” (8/35, 23%): M918T.

Средний возраст манифестации МРЦЖ в группе пациентов с наименьшей агрессивностью мутаций составил $45 \pm 13,1$ лет ($n = 6$), умеренной агрессивностью – $41 \pm 9,1$ лет ($n = 5$), высокой агрессивностью – $25 \pm 11,2$ лет ($n = 25$), с крайне агрессивными мутациями – $18 \pm 4,1$ лет ($n = 7$). При анализе по Краскелу–Уоллису существенные различия по возрасту доказаны между группами “А” и “С” ($p = 0,049$), “А” и “D” ($p = 0,002$), “В” и “D” ($p = 0,007$).

При анализе стадии заболевания и времени удвоения онкомаркеров в зависимости от вида мутации наблюдалась тенденция увеличения распространенности заболевания с ростом агрессивности мутации. Все пациенты с временем удвоения онкомаркеров менее 6 мес ($n = 4$) имели мутации высокой и крайне высокой агрессивности.

Спорадический МРЦЖ

Диагноз спорадического МРЦЖ был установлен в 61% случаев ($n = 83$). Молекулярно-генетическое обследование с целью исключения герминальных мутаций было проведено у 67% пациентов данной группы ($n = 56$), остальным диагноз установлен клинически (пациенты, прооперированные в ЭНЦ до 2000 г.).

Исследование соматических мутаций генов *RET*, *H-*, *N-*, *K-RAS* после исключения наследуемой формы МРЦЖ было проведено 35 пациентам. Мутации гена *RET* выявлены у 46% ($n = 16$) пациентов, из них в 75% случаев ($n = 12$) обнаружена миссенс-мутация M918T, в остальных случаях изменения локализовались в 634-м ($n = 3$) и 620-м ($n = 1$) кодонах. Мутации генов *H-*, *N-*, *K-RAS* выявлены в 9% случаев ($n = 3$), а именно в гене

Выявленные соматические мутации генов *RET*, *H-*, *N-*, *K-RAS*

Мутации гена <i>RET</i> (16 (46%))	
локализация мутации	частота выявления, n (%)
918-й кодон	12 (75%)
634-й кодон	2 (20%)
620-й кодон	1 (5%)
Мутации генов <i>H-</i> , <i>N-</i> , <i>K-RAS</i> (3/9%)	
<i>K-RAS</i> (G12R)	
<i>H-RAS</i> (Q62R, Q61K)	

K-RAS – G12R, в гене *H-RAS* – Q61R, Q61K (таблица).

В зависимости от наличия и вида соматической мутации пациенты ($n = 35$) были разделены на 4 группы:

– 1-я группа: пациенты с соматической мутацией M918T (12/35, 34%);

– 2-я группа: пациенты с другими соматическими мутациями гена *RET* (4/35, 11%);

– 3-я группа: пациенты с соматическими мутациями гена *RAS* (3/35, 9%);

– 4-я группа: пациенты с отсутствием соматических мутаций (ни *RET*, ни *RAS*) (16/35, 46%).

Проведен анализ стадии заболевания, вероятности достижения ремиссии в зависимости от наличия и вида спорадической мутации. Частота случаев с отдаленными и регионарными метастазами была наибольшей при наличии мутации M918T гена *RET*. В группах с мутациями *RAS*-гена и без каких-либо мутаций МРЦЖ в большинстве случаев не выходил за пределы щитовидной железы. Методом χ^2 доказана связь между вероятностью достижения ремиссии и видом спорадической мутации ($p = 0,005$).

Выводы

Частота встречаемости МРЦЖ среди мужчин и женщин, по результатам большинства работ, не отличается в группе больных с генетически детерминированным заболеванием, тогда как спорадический МРЦЖ встречается у женщин в 2–3 раза чаще [13]. В исследуемой нами выборке соотношение мужчин и женщин в группе спорадического МРЦЖ составило 1 : 3,4, в группе пациентов с синдромом МЭН 2 типа – 1 : 1,9.

Выявленные медианы возраста диагностики – 50 лет для спорадического и 27,5 лет для генетически детерминированного МРЦЖ – совпадают с ожидаемыми значениями [14].

На момент диагностики у 52% пациентов были обнаружены регионарные либо отдаленные метастазы МРЦЖ, что совпадает с данными аналогичных работ при условии отсутствия внедрения исследования кальцитонина всем пациентам с узловым зобом [4]. Полной ремиссии заболевания при 4-й стадии МРЦЖ не удалось достичь ни у одного пациента, а при 3-й стадии – только в 33% случаев, что объясняет низкую общую частоту достижения ремиссии заболевания, равную 46%. По данным R. Elisei и соавт., при внедрении исследования кальцитонина всем пациентам с узловым зобом частота 3-й и 4-й стадий МРЦЖ составила 31,8%, при этом ремиссия была достигнута в 59% случаев [4].

Целесообразность оценки при МРЦЖ достижения именно биохимической ремиссии заболевания связана с тем, что данная группа пациентов требует минимального наблюдения, риск десятилетнего рецидива заболевания при этом составляет менее 3% [15]. При отсутствии таковой требуется постоянное наблюдение, проведение дорогостоящих лабораторных и визуализирующих методов обследования.

При анализе уровня кальцитонина и РЭА у пациентов с впервые выявленным МРЦЖ было обнаружено, что при размерах опухоли более 5 мм кальцитонин превышает нормативные значения у 100% пациентов, тогда как РЭА – только у 67% при размерах карциномы более 1 см. Аналогичные результаты получены и в других исследованиях [16].

Исследование базального кальцитонина в группе из 372 больных, поступивших с целью проведения оперативного лечения по поводу папиллярного рака щитовидной железы, фолликулярной опухоли, узлового коллоидного зоба с компрессионным синдромом, позволило выявить МРЦЖ у двоих пациентов. При этом специфичность исследования базального кальцитонина составила 99,7%, что сопоставимо с результатами аналогичных работ [3].

Частота метастазирования в регионарные лимфоузлы при размерах МРЦЖ менее 1 см, по данным различных исследований, варьирует от 4,7 до 30,9% [17, 18, 19], на нашей выборке она составила 19%. При этом регионарные метастазы в центральную зону были выявлены у двоих пациентов. Регионарные метастазы в боковой треугольник шеи были выявлены в одном случае спорадического МРЦЖ размером 6 мм. Полученные данные подтверждают необходимость проведения ЦЛАЭ всем пациентам с МРЦЖ, вне зависимости от визуализации лимфаденопатии при УЗИ. В настоящее время при папиллярных и фолликулярных формах рака щитовидной железы существует тенденция выполнять ЦЛАЭ только при дооперационно определяемых метастазах в центральной зоне, данная тактика не может быть перенесена на МРЦЖ.

Одним из аргументов противников исследования кальцитонина всем пациентам с узловым зобом является неоднозначное клиническое значение медуллярных микрокарцином [20]. Высокая частота метастазирования в регионарные лимфоузлы при образованиях менее 1 см является веским аргументом “за” внедрение данного протокола.

При анализе результатов стимуляционной пробы с глюконатом кальция выявлено, что пик кальцитонина в 76% случаев приходится на 2-ю минуту теста, в 24% – на 5-ю минуту, и соответственно ни у одного пациента пик кальцитонина не приходился на 10-ю минуту. Таким образом, кажется целесообразным модифицировать существующий протокол пробы, ограничив количество измерений тремя точками – до введения 10%-ного раствора глюконата кальция, а также через 2 и 5 мин после окончания введения. В результате удастся снизить как временные, так и экономические затраты на проведение стимуляционной пробы.

По результатам анализа 141 цитологического заключения ТАБ, выполненной пациентам с гистологически подтвержденным в дальнейшем диагнозом МРЦЖ, выявлена чрезвычайно низкая чувствительность данного метода в диагностике МРЦЖ, равная 35%. Чувствительность ТАБ в диагностике злокачественности процесса составила 65%.

Данные литературы об информативности ТАБ при МРЦЖ значительно разнятся. Так, по результатам исследования, проведенного в РОНЦ РАМН, специфический цитологический диагноз МРЦЖ был установлен у 86% больных [21]. Аналогичные данные, свидетельствующие о 99%-ной чувствительности ТАБ при определении злокачественности процесса и 89%-ной чувствительности в диагностике МРЦЖ, были получены К. Рарарараскева и соавт. [22]. Однако в других европейских исследованиях была выявлена гораздо меньшая чувствительность ТАБ (30–50%) [4, 23]. Такая низкая чувствительность метода может быть связана с отсутствием повсеместного использования иммуноцитохимического исследования на кальцитонин, ошибками в диагностике нетипичных форм МРЦЖ и сложностью выбора узлов для ТАБ при многоузловом зобе. В нашей выборке это привело к несвоевременному проведению оперативного лечения у 32% пациентов с цитологическим заключением “коллоидный зоб”, что значительно ухудшило их прогноз.

Существует распространенное мнение о том, что исключение МРЦЖ целесообразно только при результатах ТАБ, свидетельствующих о наличии фолликулярной опухоли, однако у троих пациентов из нашей выборки было получено цитологическое заключение “папиллярный рак”. В одном из случаев была гистологически подтверждена редко встречающаяся папиллярная форма МРЦЖ. Подобные наблюдения свидетельствуют о том, что исследование кальцитонина целесообразно проводить всем пациентам, направляемым на оперативное лечение, вне зависимости от результатов цитологического исследования.

При анализе влияния результатов ТАБ на адекватность объема оперативного лечения выявлено, что в группе пациентов с предварительным диагнозом “фолликулярная опухоль” более чем в 50% случаев был выполнен неадекватный объем оперативного лечения. Однако даже в группе с установленным диагнозом МРЦЖ по результатам цитологического исследования в 22% случаев была выполнена нерадикальная операция. Таким образом, правильный своевременный диагноз не является гарантией проведения

адекватного объема оперативного лечения. Полученные результаты свидетельствуют о низкой информированности врачей о МРЦЖ, отсутствии следования существующим европейским и российским рекомендациям по лечению пациентов с данной патологией.

По результатам анализа 530 цитологических заключений ТАБ пациентов с различной узловой патологией щитовидной железы, специфичность метода в диагностике МРЦЖ составила 99,4%, что совпадает с результатами аналогичных работ [4, 21].

При клинико-генетическом обследовании 137 пациентов с МРЦЖ синдром МЭН 2 типа был диагностирован в 39% случаев, что превышает ожидаемую частоту, равную, по данным большинства исследований, 20–25% [14, 24]. Выявленные различия, наиболее вероятно, обусловлены тем, что часть пациентов с генетически детерминированным МРЦЖ первоначально были направлены в ЭНЦ по поводу феохромоцитомы, что привело к увеличению частоты синдрома МЭН 2 типа в исследуемой выборке.

При анализе спектра герминальных мутаций выявлено, что наиболее частой мутацией в исследуемой популяции являлась миссенс-мутация С634R (31,4%), второй по частоте встречаемости – М918Т (22,8%). Полученные данные совпадают с результатами общеевропейского исследования EUROMEN, а также многоцентрового исследования, проведенного в Германии [25]. Наиболее частой мутацией в итальянской популяции, по результатам работы С. Romei и соавт., является замена V804M [26].

Помимо этого, были диагностированы одна не классифицированная по агрессивности мутация K603Q и три ранее не описанные в мире – Y826S, del632-636 ins6, комбинированная мутация Y791F + I852M.

Наибольший интерес представляет делеция 632-636 ins6, так как при синдромах МЭН 2 типа в мире не описано аналогичных мутаций с заменой нескольких кодонов, что требует проведения дополнительных исследований, уточняющих влияние данной мутации на активность тирозинкиназы; а также комбинированная мутация Y791F + I852M, агрессивность которой требует уточнения.

При разделении пациентов на 4 группы в зависимости от агрессивности герминальной мутации было продемонстрировано, что с ростом агрессивности мутации снижается возраст первичной диагностики заболевания, но возрастает процент распространенных форм МРЦЖ, что подтверждает целесообразность учета агрессивности мутации при выборе лечебной тактики.

Частота обнаружения соматических мутаций гена *RET* при обследовании 35 пациентов со спорадическим МРЦЖ составила 46%, из них в 75% случаев диагностирована миссенс-мутация М918Т. По данным литературы, соматические мутации гена *RET* определяются в 25–71% случаев, с наибольшей частотой – М918Т [8, 27]. При наличии последней МРЦЖ имеет более агрессивное течение по сравнению с пациентами без мутаций гена *RET* [28]. В других исследованиях вышеуказанной зависимости выявлено не было [29].

Мутации генов *H-, N-, K-RAS* были выявлены у 9% пациентов. Полученная частота значительно меньше величины, полученной в греческом [30] и португальском [31] исследованиях (40,9 и 68% соответственно), однако совпадает с результатами других работ [8, 32]. В ряде исследований была продемонстрирована протективная роль данных мутаций при МРЦЖ [8, 30].

При разделении пациентов на группы по наличию и виду соматических мутаций генов *RET* и *RAS* можно выделить следующие тенденции:

- регионарные и отдаленные метастазы чаще наблюдались при наличии мутации М918Т, что привело к наименьшей частоте достижения ремиссии в данной группе;

- при наличии мутаций гена *RAS* и отсутствии каких-либо мутаций распространенность заболевания была сопоставимой, что наиболее вероятно связано с малым размером выборки.

В данных группах ремиссия была достигнута в 67% и 75% случаев соответственно. Промежуточные результаты по распространенности и частоте ремиссии были получены в группе пациентов с мутациями гена *RET* в 634-м и 620-м кодонах. Таким образом, полученные данные подтверждают наличие за-

висимости между видом соматических мутаций и агрессивностью МРЦЖ. Очевидно, что наиболее агрессивная тактика ведения требуется в группе пациентов с мутациями в 918-м кодоне. Учитывая тот факт, что эффективность мультикиназных ингибиторов выше у пациентов с наличием *RET*-мутаций [33], исследование соматических мутаций целесообразно проводить всем пациентам при принятии решения о назначении вышеуказанной терапии. Отсутствуют данные о сравнительной эффективности мультикиназных ингибиторов при наличии и отсутствии мутаций *RAS*-гена.

Не вызывает сомнений доминирующая роль мутаций гена *RET* в патогенезе МРЦЖ. Активация кодируемого им рецептора тирозинкиназы, в том числе, вызывает активацию и *RAS*-пути. Полученные данные о более благоприятном течении МРЦЖ при наличии мутаций гена *RAS* имеют клиническое значение, так как подтверждают гипотезу о возможной эффективности лечения МРЦЖ путем ингибирования сигнального пути *RAS*.

Список литературы

1. Cohen MS, Moley JF. Surgical treatment of medullary thyroid carcinoma. *J Internal Med.* 2003;253(6):616-626.
2. Modigliani E, Cohen R, Campos JM et al. Prognostic factors for survival and for biochemical cure in medullary thyroid carcinoma: results in 899 patients. The GETC Study Group. *Groupe d'etude des tumeurs a` calcitonine. Clin Endocrinol.* 1998;48:265-273.
3. Hahn JR, Lee MS, Min YK et al. Routine measurement of serum calcitonin is useful for early detection of medullary thyroid carcinoma in patients with nodular thyroid diseases. *Thyroid.* 2001;11:73-80.
4. Elisei R, Bottici V, Luchetti F et al. Impact of routine measurement of serum calcitonin on the diagnosis and outcome of medullary thyroid cancer: experience in 10,864 patients with nodular thyroid disorders. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89:163-168.
5. Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR et al. Management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid.* 2009;19(11):1-48.
6. Kebebew E, Kikuchi S, Duh QY, Clark OH. Long-term results of reoperation and localizing studies in patients with persistent or recurrent medullary thyroid cancer. *Arch Surg.* 2000;135:895-901.
7. Agrawal N, Jiao Y, Sausen M et al. Exomic sequencing of medullary thyroid cancer reveals dominant and mutually exclusive oncogenic mutations in *RET* and *RAS*. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(2):364-369.

8. Ciampi R, Mian C, Fugazzola L et al. Evidence of a low prevalence of RAS mutations in a large medullary thyroid cancer series. *Thyroid*. 2013;23(1):50-57.
9. Stepanas AV, Samaan NA, Hill CS, Hickey RC. Medullary thyroid carcinoma: importance of serial serum calcitonin measurement. *Cancer*. 1979;43:825-837.
10. Fugazzola L, Pinchera A, Luchetti F et al. Disappearance rate of serum calcitonin after total thyroidectomy for medullary thyroid carcinoma. *Int J Biol Markers*. 1994;9:21-24.
11. Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind Ch. TNM Classification of malignant Tumors, 7th ed. Wiley-Blackwell Oxford. 2009.
12. Реброва ОЮ. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: МедиаСфера, 2002. 312 с.
13. Hundahl SA, Fleming ID, Fremgen AM, Menck HR. A National Cancer Data Base report on 53,856 cases of thyroid carcinoma treated in the U.S., 1985-1995. *Cancer*. 1998;83:2638-2648.
14. Pelizzo MR, Boschin IM, Bernante P et al. Natural history, diagnosis, treatment and outcome of medullary thyroid cancer: 37 years experience on 157 patients. *Eur J Surg Oncol*. 2007;33:493-497.
15. Franc S, Niccoli-Sire P, Cohen R et al. Complete surgical lymph node resection does not prevent authentic recurrences of medullary thyroid carcinoma. *Clin Endocrinol*. 2001;55:403-409.
16. Chambon G, Aloviseti C, Idoux-Louche C et al. The use of preoperative routine measurement of basal serum thyrocalcitonin in candidates for thyroidectomy due to nodular thyroid disorders: Results from 2733 consecutive patients. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(1):75-81.
17. Beressi N, Campos JM, Beressi JP. Sporadic medullary microcarcinoma of the thyroid: a retrospective analysis of eighty cases. *Thyroid*. 1998;8:1039-1044.
18. Hamy A, Pessaux P, Mirallié E. Central neck dissection in the management of sporadic medullary thyroid microcarcinoma. *Eur J Surg Oncol*. 2005;31:774-777.
19. Kaserer K, Scheuba C, Neuhold N. Sporadic versus familial medullary thyroid microcarcinoma: a histopathologic study of 50 consecutive patients. *Am J Surg Pathol*. 2001;25:1245-1251.
20. Ahmed SR, Ball DW. Incidentally discovered medullary thyroid cancer: diagnostic strategies and treatment. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96:1237-1245.
21. Кондратьева ТТ. Возможности цитологического метода в диагностике нетипичных вариантов рака щитовидной железы. Рак щитовидной железы. ESO RED SQUARE SEMINAR. М.: 2004:2931.
22. Papaparaskeva K, Nagel H, Droese M. Cytologic diagnosis of medullary carcinoma of the thyroid gland. *Diagn Cytopathol*. 2000;22:351-358.
23. Paszko Z, Sromek M, Czetwertynska M et al. The occurrence and the type of germline mutations in the RET gene in patients with medullary thyroid carcinoma and their unaffected kindreds from Central Poland. *Cancer Invest*. 2007;25:742-749.
24. Baloch ZW, LiVolsi VA. Prognostic factors in well-differentiated follicular-derived carcinoma and medullary thyroid carcinoma. *Thyroid*. 2001;11:637-645.
25. Frank-Raue K, Hoppner W, Frilling A et al. Mutations of the ret protooncogene in German multiple endocrine neoplasia families: relation between genotype and phenotype. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;81(5):1780-1783.
26. Romei C, Mariotti S, Fugazzola L et al. ItaMEN network, MEN 2: results from the ItaMEN network analysis on the prevalence of different genotypes and phenotypes. *Eur J Endocrinol*. 2010;163(2):301-308.
27. Schilling T, Burck J, Sinn H-P et al. Prognostic value of codon 918 (ATG3ACG) RET proto-oncogene mutations in sporadic medullary thyroid carcinoma. *Int J Cancer (Pred. Oncol.)*. 2001;95:62-66.
28. Elisei R, Barbara Cosci B, Romei C et al. Prognostic significance of somatic RET oncogene mutations in sporadic medullary thyroid cancer: A 10-year follow-up study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93:682-687.
29. Marsh DJ, Learoyd DL, Andrew SD et al. Somatic mutations in the RET protooncogene in sporadic medullary thyroid carcinoma. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1996;44:249-257.
30. Goutas N, Vlachodimitropoulos D, Bouka M et al. BRAF and K-RAS mutation in a Greek papillary and medullary thyroid carcinoma cohort. *Anticancer Res*. 2008;28:305-308.
31. Moura MM, Cavaco BM, Pinto AE et al. Correlation of RET somatic mutations with clinicopathological features in sporadic medullary thyroid carcinomas. *Br J Cancer*. 2009;100(11):1777-1783.
32. Dockhorn-Dworniczak B, Caspari S, Schroder S et al. Demonstration of activated oncogenes of the ras family in human thyroid tumors using the polymerase chain reaction. *Verh Dtsch Gas Pathol*. 1990;74:415-418.
33. Wells SA, Robinson BG, Gagel RF et al. Vandetanib in patients with locally advanced or metastatic medullary thyroid cancer: a randomized, double-blind phase III trial (ZETA). *J Clin Oncol*. 2012;30:134-141.