

DOI: <https://doi.org/10.17816/onco115251>

Молекулярно-генетические особенности анапластической карциномы щитовидной железы

А.К. Мусонова¹, В.Д. Назаров¹, Д.В. Сидоренко¹, А.А. Мусаелян^{1,2}, Е.А. Алексеева¹,
Д.А. Кузовенкова¹, Е.С. Козорезова³, С.Л. Воробьев³, С.В. Орлов^{1,2}, А.В. Мазинг¹,
С.В. Лапин¹, В.Л. Эмануэль¹

¹ Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Российская Федерация;

² Научно-исследовательский институт медицинской приматологии, Сочи, Российская Федерация;

³ Национальный центр клинической морфологической диагностики, Санкт-Петербург, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Обоснование. Анапластическая карцинома щитовидной железы (АКЩЖ) представляет собой наиболее агрессивный тип рака щитовидной железы, на долю которого приходится 1–2% случаев всех злокачественных опухолей. Основной стратегией лечения остаётся системная терапия, в частности новые подходы, такие как таргетная терапия и иммунотерапия, которые назначаются при выявлении определённых молекулярно-генетических aberrаций.

Цель. Изучить молекулярно-генетический профиль образцов анапластической карциномы щитовидной железы.

Материалы и методы. Исследование включало 37 пациентов с установленным диагнозом АКЩЖ. Выявляли мутации в гене *BRAF* (V600E), а также в генах *NRAS* и *KRAS* с помощью аллель-специфической полимеразной цепной реакции (ПЦР). В исследуемых образцах определяли наличие микросателлитной нестабильности (MSI) с помощью фрагментного анализа в соответствии с рекомендациями ESMO. Мутации в промотерном регионе гена *TERT* выявляли с использованием секвенирования по Сэнгеру. Всем пациентам определяли транслокации гена *NTRK1*, *EML4-ALK*, *PAX8/PPAR γ* и *RET/PTC* с помощью метода ПЦР в режиме реального времени.

Результаты. По результатам исследования частота встречаемости мутации V600E в гене *BRAF* составила 32,4% (12/37). Общая распространённость aberrаций в генах семейства *RAS* при АКЩЖ составила 13,5% ($n=5$). Распространённость точечных мутаций в промотерном регионе гена *TERT* в исследуемых образцах АКЩЖ составила 24,3% ($n=9$). MSI обнаружена в 2,7% случаев (1/37) АКЩЖ. Транслокаций гена *NTRK1*, *EML4-ALK*, *PAX8/PPAR γ* и *RET/PTC* в исследуемых образцах анапластической карциномы щитовидной железы не найдено.

Заключение. Дальнейшее исследование основных молекулярно-генетических мишеней позволит персонализировать тактику ведения пациентов с АКЩЖ.

Ключевые слова: анапластическая карцинома щитовидной железы; *BRAF*; *NRAS*; *KRAS*; *TERT*; *NTRK1*; *EML4-ALK*; *PAX8/PPAR γ* ; *RET/PTC*; микросателлитная нестабильность (MSI).

Как цитировать:

Мусонова А.К., Назаров В.Д., Сидоренко Д.В., Мусаелян А.А., Алексеева Е.А., Кузовенкова Д.А., Козорезова Е.С., Воробьев С.Л., Орлов С.В., Мазинг А.В., Лапин С.В., Эмануэль В.Л. Молекулярно-генетические особенности анапластической карциномы щитовидной железы // Российский онкологический журнал. 2022. Т. 27, № 2. С. 59–70. DOI: <https://doi.org/10.17816/onco115251>

DOI: <https://doi.org/10.17816/onco115251>

Molecular genetics features of anaplastic thyroid carcinoma

Anastasia K. Musonova¹, Vladimir D. Nazarov¹, Daria V. Sidorenko¹, Aram A. Musaelyan^{1,2}, Ekaterina A. Alekseeva¹, Daria A. Kuzovenkova¹, Evgeniya S. Kozorezova³, Sergey L. Vorobev³, Sergey V. Orlov^{1,2}, Aleksandra V. Mazing¹, Sergej V. Lapin¹, Vladimir L. Emanuel¹

¹ Academician I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russian Federation;

² Research Institute of Medical Primatology, Sochi, Russian Federation;

³ National Center for Clinical Morphological Diagnostics, Saint Petersburg, Russian Federation

ABSTRACT

INTRODUCTION: Anaplastic thyroid carcinoma (ATC) is the most aggressive type of thyroid cancer accounting for 1–2% of all malignancies. Systemic therapy remains the main treatment strategy. Targeted therapy and immunotherapy are prescribed when certain molecular genetic aberrations are detected.

THE AIM: To investigate the molecular genetic profile of samples of anaplastic thyroid carcinoma.

MATERIALS AND METHODS: The study included 37 patients with ATC. Mutation V600E *BRAF*, mutations in the gene *NRAS* and *KRAS* were detected by allele-specific polymerase chain reaction (AS-PCR). Microsatellite instability (MSI) was determined by fragment analysis in according to ESMO recommendations. Mutations in the promoter region of the *TERT* gene were used by Sanger sequencing. *NTRK1*, *EML4-ALK*, *PAX8/PPAR γ* и *RET/PTC* translocations were determined in all patients with ATC by real-time polymerase chain reaction (PCR).

RESULTS: According to the results of the study, the frequency of the V600E mutation in the *BRAF* gene was 32.4% (12/37). The frequency of aberrations in the *NRAS*, *KRAS* genes in anaplastic thyroid carcinoma was 13.5% ($n=5$). The prevalence of point mutations in the promoter gene *TERT* in food samples of ATC was 24.3% ($n=9$). MSI was found in 2.7% (1/37) of cases of anaplastic thyroid carcinoma. *NTRK1*, *EML4-ALK*, *PAX8/PPAR γ* and *RET/PTC* translocations were not detected in cases with anaplastic thyroid carcinoma.

CONCLUSION: The further study of the main specific molecular targets in cancer cells will allow to personalize the tactics of patients with anaplastic thyroid carcinoma.

Keywords: anaplastic thyroid carcinoma; *BRAF*; *NRAS*; *KRAS*; *TERT*; *NTRK1*; *EML4-ALK*; *PAX8/PPAR γ* ; *RET/PTC*; microsatellite instability (MSI).

To cite this article:

Musonova AK, Nazarov VD, Sidorenko DV, Musaelyan AA, Alekseeva EA, Kuzovenkova DA, Kozorezova ES, Vorobev SL, Orlov SV, Mazing AV, Lapin SV, Emanuel VL. Molecular genetics features of anaplastic thyroid carcinoma. *Russian Journal of Oncology*. 2022;27(2):59–70.

DOI: <https://doi.org/10.17816/onco115251>

Received: 09.12.2022

Accepted: 16.01.2023

Published online: 16.02.2023

ВВЕДЕНИЕ

Анапластическая карцинома щитовидной железы (АКЩЖ) представляет собой наиболее агрессивный вариант рака щитовидной железы, на долю которого приходится 1–2% случаев всех злокачественных опухолей [1]. В настоящее время стандарт лечения данного заболевания включает химиотерапию, лучевую терапию и хирургическое лечение. Однако в связи с низкой эффективностью лечения показатели общей выживаемости крайне низки; согласно анализу базы данных SEER, с 1986 по 2015 год средняя общая выживаемость составляет 3,16 мес. Ежегодная заболеваемость АКЩЖ варьируется от 0,9 до 9,8% среди всех случаев рака щитовидной железы [2, 3]. В последнее время наметился значительный прогресс в лечении АКЩЖ, связанный с активным развитием и внедрением системной терапии, в частности таргетной терапии и иммунотерапии, основанных на выявлении определённых молекулярно-генетических aberrаций.

Канцерогенез АКЩЖ рассматривается с точки зрения двух теорий: а) возникновение мутаций *de novo* без признаков ранее существовавших неоплазий из фолликулярного эпителия и б) эволюционной теории. Нередко ответить на вопрос, относится ли опухоль к первой или второй группе, не представляется возможным.

Вместе с тем предпочтительной теорией канцерогенеза АКЩЖ является эволюционная теория, согласно которой данный тип — результат этапной трансформации предсуществующих неоплазий: фолликулярная аденома, высокодифференцированная карцинома (высокодифференцированный рак щитовидной железы, ВРЩЖ), папиллярный или фолликулярный подтипы. Исследование генетических особенностей ВРЩЖ и АКЩЖ демонстрирует заметные различия: АКЩЖ характеризуется большим количеством мутаций, чем ВРЩЖ [4]. Эти данные свидетельствуют о постепенном накоплении aberrаций и отражают переход более дифференцированной опухоли в менее дифференцированную или недифференцированную карциному. Динамика молекулярно-генетической картины опухоли подтверждает возможность анапластической трансформации и является отражением эволюционной теории. Таким образом, генетические события можно подразделить на «ранние» и «поздние» [5].

Мутации в генах семейства *RAS* и *BRAF* определяют как «ранние» или ключевые события [5–7]. Это подтверждается частым обнаружением таких генетических изменений в ВРЩЖ и последующей детекцией их в анапластических аналогах, подтверждая связь между ними.

К наиболее частым «поздним» изменениям, связанным непосредственно с дедифференцировкой, а, вероятно, иногда и прогрессией ВРЩЖ, относятся соматические мутации в гене *TP53*, изменения в промотерном регионе *TERT* и нарушение регуляции пути PI3K/PTEN/AKT [8, 9].

В ходе геномного профилирования образцов АКЩЖ в исследовании 2018 года были предложены

4 молекулярных подтипа рака. Тип 1 включает в себя опухоли с мутациями гена *BRAF* (V600E) и генетическим ландшафтом, характерным для папиллярного рака щитовидной железы. Тип 2 характеризуется мутацией семейства *RAS*, чаще *NRAS*, которые, вероятно, возникли из фолликулярных неоплазий (фолликулярная аденома). Тип 3 представлен опухолями с высокой мутационной нагрузкой, отражающейся в следующих генетических изменениях: микросателлитной нестабильности (microsatellite instability, MSI), часто встречаемых мутациях гена *PTEN* и амплификации хромосом 4q12 или 9p24.1. Наконец, тип 4 — смешанные опухоли, которые содержат преимущественно мутации в генах, регулирующих клеточный цикл (*CDKN2A* и *CDKN2B*), и не обладают чётко определённым дифференцированным предшественником. Эти опухоли не развиваются из ранее существовавшей карциномы, а формируются *de novo* [4]. Вместе с тем существенный недостаток данной систематики — отсутствие оценки роли транслокаций в молекулярно-генетической структуре АКЩЖ.

Мутация *BRAF* V600E является наиболее распространённым «ранним» событием в многоступенчатой модели канцерогенеза АКЩЖ. *BRAF*-ассоциируемая АКЩЖ коррелирует с определённым дифференцированным предшественником — папиллярным раком щитовидной железы — и характеризуется тенденцией к метастазированию в регионарные лимфатические узлы [8, 10]. В настоящее время выявление мутации *BRAF* V600E терапевтически значимо; в 2018 году Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food and Drug Administration, FDA) одобрило применение первой комбинации для лечения *BRAF* + АКЩЖ — дабрафениб + траметиниб.

Другим вероятным «ранним» событием АКЩЖ являются мутации в генах семейства *RAS* (*KRAS*, *HRAS*, *NRAS*). Данные aberrации связаны с фолликулярным гистотипом рака щитовидной железы, включая фолликулярную аденому, высокодифференцированную фолликулярную карциному и фолликулярный тип папиллярной карциномы щитовидной железы [11].

Наиболее распространёнными «поздними» событиями являются соматические мутации в промотерном регионе гена *TERT*, а именно C228T и C250T. Они являются маркёром неблагоприятного прогноза независимо от гистологического варианта. Данные указывают на устойчивую связь между *TERT*-мутациями и развитием более агрессивного течения опухоли щитовидной железы [12, 13]. В случаях, когда данные aberrации ко-мутируют с *BRAF* (V600E), мутациями в генах семейства *RAS* или транслокациями *NTRK1*, у пациентов наблюдается наиболее неблагоприятный прогноз и более низкие показатели общей выживаемости [8, 14].

Причинами злокачественной трансформации могут быть и ряд других транслокаций, таких как *RET/PTC*, *NTRK1*, *PAX8-PPRG*, *ALK*. Некоторые aberrации являются

потенциальными терапевтическими мишенями для назначения таргетной терапии: в частности, *NTRK*-позитивные опухоли характеризуются чувствительностью к ингибиторам *TRK*, таким как ларотректиниб [14]. В то же время был описан случай *ALK*-положительной АКЩЖ, который продемонстрировал отличный ответ на терапию специфическим ингибитором *ALK* — кризотинибом [15].

Другая особенность молекулярно-генетического профиля АКЩЖ — редкий феномен MSI, маркера дефекта системы репарации ДНК MMR (mismatch repair system), что приводит к накоплению ошибок в микросателлитах, отражая нестабильность генома опухоли. MSI не коррелирует с каким-либо конкретным фенотипом АКЩЖ. Согласно данным исследований, MSI также не обладает высокой прогностической значимостью с точки зрения показателя выживаемости [8]. Однако обнаружение MSI — фактор, предсказывающий высокую чувствительность опухоли к иммунной терапии за счёт формирования неопитопов, которые отвечают за иммунный ответ [16, 17].

Таким образом, АКЩЖ, как правило, является результатом анапластической трансформации предсуществующих неоплазий из фолликулярного эпителия, а её молекулярно-генетический профиль сложен и разнообразен. Понимание особенностей профиля имеет клиническое значение, так как мутации не только определяют агрессивность и прогноз опухоли, но и служат предиктором таргетной терапии или иммунотерапии. В настоящее время продолжаются исследования, направленные на изучение особенностей молекулярно-генетической структуры АКЩЖ, что позволяет воссоздать наиболее полную картину возможных генетических событий.

Целью нашей работы являлось исследование молекулярно-генетического профиля образцов анапластической карциномы щитовидной железы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Образцы пациентов. Исследование включало 37 пациентов с установленным диагнозом «анапластическая карцинома щитовидной железы». Материал был собран в Национальном центре клинической морфологической диагностики (Санкт-Петербург), молекулярно-генетические исследования выполнены в лаборатории диагностики аутоиммунных заболеваний при Первом Санкт-Петербургском государственном медицинском университете им. академика И.П. Павлова. Тридцать семь фиксированных формалином, залитых в парафин образцов с опухолевым материалом получены в результате хирургического лечения опухоли. Клинико-морфологические данные больных, включённых в исследование, представлены в табл. 1.

Экстракция ДНК. Экстракцию ДНК осуществляли из фиксированного формалином и залитого в парафин операционного материала колоночным методом. Далее определяли концентрацию выделенной ДНК и оценивали

наличие контаминации в элюате с помощью соотношения A260/A280 с использованием спектрофотометра BioDrop UV/VIS (SERVA, Германия). Образцы ДНК хранили при температуре -20°C .

Экстракция РНК. Для выделения РНК из операционного материала использовали колоночный метод. Следующим этапом осуществляли синтез комплементарной ДНК (кДНК) на РНК-матрице с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с обратной транскрипцией с применением набора «Реверта-L» (ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия). Амплификацию проводили посредством ДНК-амплификатора T100 Thermal Cycler (Bio-Rad, США).

BRAF (V600E). Точечные мутации *BRAF* (V600E) определяли методом ПЦР-РВ (полимеразная цепная реакция в реальном времени). В состав реакционной смеси входили вода, праймеры, готовый мастер-микс iTaq Universal SYBR Green Supermix (Bio-Rad, США) и ДНК в концентрации 2,5 мг на 1 мкл. В исследовании использовали

Таблица 1. Клинико-морфологические данные пациентов, включённых в исследование

Table 1. Clinical and morphological data of patients included in the study

Характеристика	Абс. число/%
Пол:	
мужской	9/24,0
женский	28/76,0
Возраст:	
<60 лет	10/27,0
60 лет и старше	27/73,0
Локализация опухоли:	
правая доля	7/19,0
левая доля	8/21,6
обе доли	3/8,1
перешеек	1/2,7
неизвестно	18/48,6
Размеры опухоли:	
<5 см	11/29,7
>5 см	12/32,4
неизвестно	14/37,9
Гистологический тип предсуществующего ВРЩЖ:	
папиллярная карцинома	12/35,1
фолликулярная карцинома	9/24,0
гюртлеклеточная карцинома	2/5,4
неизвестно	16/43,2
Поражение лимфатических узлов:	
вовлечение лимфатических узлов	8/21,6
отсутствие поражения лимфатических узлов	3/8,1
неизвестно	26/70,1

Примечание: ВРЩЖ — высокодифференцированный рак щитовидной железы.

Note: ВРЩЖ — well-differentiated thyroid cancer.

праймеры как для мутантного, так и для «дикого» аллеля гена *BRAF* [18]. Амплификацию и анализ результатов осуществляли на анализаторе LightCycler 96 (ROCHE, Швейцария/Германия).

Мутации в генах семейства *RAS*. С помощью метода ПЦР-РВ с последующим анализом кривых плавления определяли точечные мутации в генах семейства *RAS*, включая во втором, третьем экзонах *NRAS* и во втором, третьем экзонах *KRAS*. Для ПЦР использовали реактивы из набора LightCycler 480 High Resolution Melting Master (Roche Diagnostics GmbH, Германия). Амплификацию и анализ результатов осуществляли с использованием анализатора LightCycler 96 (ROCHE, Швейцария/Германия).

Полученные результаты подтверждали методом ПЦР-РВ с использованием реактивов коммерческого набора Colorectal Cancer Mutation Detection Panel for Real-Time PCR (EntroGen, США). Амплификацию и анализ результатов также осуществляли на анализаторе LightCycler 96 (ROCHE, Швейцария/Германия).

Мутации в промотерном регионе гена *TERT*. Идентификацию точечных мутаций в промотерном регионе гена *TERT* проводили с помощью ПЦР и методики секвенирования по Сэнгеру. Амплификацию выполняли посредством ДНК-амплификатора T100 Thermal Cycler (Bio-Rad, США). Реакционная смесь в конечном объеме 19,2 мкл содержала воду, FailSafe PCR 2x PreMixes, праймеры, ДНК-полимеразу DreamTaq (Thermo Fisher Scientific, США) и 1 мкл ДНК. Условия ПЦР подбирались самостоятельно. Для визуализации результатов амплификации и определения наличия ПЦР-продукта использовали метод горизонтального электрофореза в 1,5% агарозном геле. Секвенирование ДНК проводили с помощью набора реактивов ABI PRISM BigDye Terminator v. 3.1. (Thermo Fisher Scientific, США). Далее продукт был очищен и идентифицирован с помощью капиллярного электрофореза с использованием генетического анализатора ABI PRISM 3500 (Applied Biosystems, США). Полученные данные проанализированы посредством программного обеспечения Mutation Surveyor (SoftGenetics, США).

Микросателлитная нестабильность. MSI в исследуемых образцах определяли с помощью фрагментного анализа с использованием панели праймеров к мононуклеотидным маркерам (NR21, NR24, NR27, BAT25 и BAT26) в соответствии с рекомендациями ESMO [19]. Для увеличения чувствительности реакции мононуклеотидные маркеры были разделены на 2 реакции: BAT (BAT-25, BAT-26) и NR (NR-21, NR-24, NR-27). ПЦР выполняли с использованием реактивов набора Encyclo Plus PCR kit («Евроген», Россия). Продукт, полученный в ходе ПЦР, был разделён и идентифицирован с помощью капиллярного электрофореза с использованием генетического анализатора ABI PRISM 3500 (Applied Biosystems, США). Для анализа полученных данных использовали программное обеспечение GeneMarker (SoftGenetics, США).

Определение транслокаций *PAX8/PPAR γ* и *RET/PTC*.

Транслокации *RET/PTC* и *PAX8/PPAR γ* определяли методом ПЦР-РВ. ПЦР выполняли с использованием реактивов коммерческого набора Thyroid Cancer Fusion Gene Detection Kit (EntroGen, США). Реакционная смесь была представлена водой, MgAc, Mix One-Step PCR Reaction, праймер-миксом и РНК. Амплификацию и анализ результатов осуществляли с использованием анализатора LightCycler 96 (ROCHE, Швейцария/Германия).

Определение транслокаций генов *NTRK* и *ALK*.

Для обнаружения в исследуемых образцах транслокаций *NTRK1* (TPM3-NTRK1) и EML4-ALK выделенную из фиксированного формалином и залитого парафином материала мРНК первостепенно подвергли ПЦР с обратной транскрипцией, в результате которой получили комплементарную ДНК (кДНК). Далее был применён метод ПЦР-РВ с использованием анализатора LightCycler 96 (ROCHE, Швейцария/Германия). В состав реакционной смеси входила вода, Master Mix (Thermo Fisher Scientific, Литва), праймеры и кДНК.

Статистический анализ. Статистическую обработку данных осуществляли с помощью программы GraphPad Prism v. 8.2.1 (GraphPad Software Inc., США). Для сравнения групп по качественным признакам применяли точный критерий Фишера. Считалось, что $p < 0,05$ указывает на статистически значимое различие.

РЕЗУЛЬТАТЫ

***BRAF* V600E.** Распространённость аберрации *BRAF* V600E при АКЩЖ составила 32,4% ($n=12$). Из них *BRAF* V600E-положительные опухоли морфологически характеризовались участками сохранившейся папиллярной карциномы (18,90%, $n=7$, $p=0,0016$), глубокой инвазией в мягкие ткани паратиреоидной области (83,30%, $n=10$, $p=0,0211$), участками некроза (25,0%, $n=3$, $p=0,0005$), сосудистой инвазией (33,30%, $n=4$, $p=0,3885$). Отмечены также вторичные изменения в виде гиалиноза, кистозной трансформации, кровоизлияний, отложения гемосидерина и холестерина гранулам (16,47%, $n=2$, $p=1,0000$), метастатическое поражение лимфатических узлов (50,0%, $n=6$, $p=0,0046$) и выраженный тиреоидит, как фибринозный, так и лимфоцитарный (Хашимото) (25,0%, $n=3$, $p=0,4125$).

Гены семейства *RAS*. Общая распространённость аберраций в генах семейства *RAS* при АКЩЖ составила 13,5% ($n=5$). Среди пяти случаев у четырёх пациентов были обнаружены замены Q61 в 3-м экзоне гена *NRAS*, а у одного — замена G12 во 2-м экзоне гена *KRAS*. Морфологически опухоли характеризовались участками сохранившейся фолликулярной карциномы (40,0%, $n=2$, $p=0,1906$), участками крупноочагового некроза (100,0%, $n=5$, $p < 0,0001$), глубокой инвазией в мягкие ткани паратиреоидной области (60,0%, $n=3$, $p=0,7515$), сосудистой инвазией (60,0%, $n=3$, $p=0,1307$). Отмечены

также вторичные изменения в виде гиалиноза, кистозной трансформации, кровоизлияний, отложения гемосидерина и холестериновых гранулём (40,0%, $n=2$, $p=0,0326$), выраженный очаговой лимфоцитарный тиреоидит (Хашимото) (40,0%, $n=2$, $p=0,0685$) и диффузный зоб (40,0%, $n=2$, $p=0,1255$).

Мутаций в 2-м экзоне гена *NRAS* и 3-м экзоне гена *KRAS* в исследуемых образцах АКЩЖ не обнаружено.

Ген *TERT*. Распространённость точечных мутаций в промотерном регионе гена *TERT* в исследуемых образцах АКЩЖ составила 24,3% ($n=9$). Из них спектр верифицированных мутаций был представлен C228T (66,7%, $n=6$), C227T (11,1%, $n=1$), C225T (11,1%, $n=1$), C228T + C243T (11,1%, $n=1$). Два образца АКЩЖ характеризовались сосуществованием C228T и C227T с абберациями в 3-м экзоне гена *NRAS*. Три *BRAF* V600E-положительных образца были ко-мутированы с точечной мутацией C228T + C243T (11,1%, $n=1$) и C228T (22,2%, $n=2$).

Микросателлитная нестабильность. Распространённость микросателлитной нестабильности при АКЩЖ составила 2,7% ($n=1$). MSI была обнаружена у женщины 78 лет с опухолью щитовидной железы размерами 7,5×6×4,5 см, с некрозами, периневральным ростом, глубокой инвазией в прилежащие фиброно-жировую и мышечную ткани на фоне предсуществующей папиллярной карциномы с метастазами в лимфатических узлах. MSI-позитивный случай не характеризовался наличием опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов, при этом MSI-положительный образец опухоли характеризовался ко-экспрессией с абберацией *BRAF* V600E.

Транслокаций *NTRK1*, *EML4-ALK*, *PAX8/PPAR γ* и *RET/PTC* в исследуемых образцах АКЩЖ не обнаружено.

Распределение аббераций в результате генотипирования опухолевых образцов АКЩЖ представлено в табл. 2.

Таблица 2. Распределение аббераций в образцах анапластической карциномы щитовидной железы

Table 2. Distribution of genetic aberrations in cases of anaplastic thyroid carcinoma

Абберация	Абс. число/%
<i>BRAF</i> V600E	12/32,4
Гены семейства <i>RAS</i> :	5/13,5
<i>KRAS</i> G12	1/2,7
<i>NRAS</i> Q61	4/10,8
Ген <i>TERT</i> :	9/24,0
C228T	6/16,2
C227T	1/2,7
C225T	1/2,7
C228T + C243T	1/2,7
Микросателлитная нестабильность	1/2,7

ОБСУЖДЕНИЕ

Анапластическая карцинома щитовидной железы, как правило, является результатом прогрессии предсуществующей неоплазии щитовидной железы. В настоящее время данные о молекулярно-генетическом профиле опухоли и понимание важнейших молекулярных механизмов, лежащих в основе канцерогенеза, позволяют рассматривать новые перспективные мишени для терапии и разрабатывать новые стратегии лечения. В основе персонализации лечения пациентов с АКЩЖ лежат таргетная терапия и иммунотерапия. Генотипирование опухоли служит основополагающим моментом для назначения системного лечения, оценки его перспективности для конкретного больного и оценки прогноза течения самого заболевания.

Нестабильность генома играет основополагающую роль в канцерогенезе АКЩЖ, включая многочисленные соматические мутации, транслокации, а также, хотя и редкий, феномен MSI.

Молекулярно-генетическими событиями, лежащими в основе канцерогенеза АКЩЖ, являются абберации нисходящего многокомпонентного каскада *RAS*-*MAPK* — соматические мутации в генах семейства *RAS* и *BRAF*. В ходе исследования, как и ожидалось, *BRAF* и *RAS* ни в одном случае АКЩЖ не встречались одновременно. Данные события являются «ключевыми» согласно эволюционной теории развития и взаимоисключающими друг друга [5–7].

Распространённость мутации *BRAF* V600E при АКЩЖ составила 32,4%. Сообщаемая частота встречаемости данной абберации в исследованиях N. Pozdeyev с соавт. [4], I. Landa с соавт. [6], M. Rashid с соавт. [20], I. Sugitani с соавт. [21] варьирует от 11 до 45%. Высокая распространённость мутации *BRAF* V600E и обнаружение участков сохранившейся папиллярной карциномы в 58,3% образцов ($n=7$) подтверждают концепцию происхождения АКЩЖ в результате прогрессирующей дедифференцировки *BRAF*-позитивного ВРЩЖ [22, 10].

В ходе данного исследования образцы АКЩЖ морфологически не характеризовались наличием опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов. Однако, согласно данным V. Gunda с соавт. [23], микроокружение данного гистотипа рака щитовидной железы демонстрирует не только выраженную инфильтрацию Т-клетками и M_2 -поляризованными макрофагами, ассоциированными с опухолью, но и низкий уровень НК-клеток по сравнению с другими подтипами рака щитовидной железы. В частности, *BRAF*-ассоциируемые формы рака щитовидной железы, согласно T.E. Angell и соавт. [24], E. Brauner с соавт. [25] демонстрируют повышенную экспрессию PD-L1 злокачественными клетками. Агрессивность клинической картины АКЩЖ свидетельствует о том, что, несмотря на выраженный объём опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов, противоопухолевый иммунитет неэффективен. Это объясняется высоким уровнем экспрессии PD-L1

и истощением пула Т-клеток. Тройная терапия, включающая ингибиторы *BRAF* и *MEK* в сочетании с иммунотерапией, является многообещающим направлением в лечении АКЩЖ [20, 25, 26].

Распространённость мутаций в генах семейства *RAS* (*KRAS*, *NRAS*) в ходе данного исследования составила 13,5%. Спектр замен в подавляющем большинстве случаев был представлен мутациями в 61-м кодоне гена *NRAS* и в 12-м кодоне гена *KRAS*. Мутаций во 2-м экзоне гена *NRAS* и 3-м экзоне гена *KRAS* в исследуемых образцах АКЩЖ не обнаружено. Сообщаемая частота встречаемости данной аберрации в исследованиях I. Landa [6], B. Xu [8], N. Ravi с соавт. [27] варьирует от 19 до 44% [5, 28]. В результате молекулярного профилирования 34 случаев АКЩЖ, описанных в работе M. Rashid с соавт. [20], мутации в генах семейства *RAS* были обнаружены в 11,8% случаев, что близко к показателям, полученным в нашем исследовании. Наиболее часто описываемыми заменами являются мутации в 61-м кодоне гена *NRAS* — Q61K, Q61L, Q61R и Q61H. Описание сохранившихся участков фолликулярной неоплазии в образцах АКЩЖ для *RAS*-положительных опухолей соответствует парадигме эволюционной теории канцерогенеза опухоли [8, 10].

Прогностическая значимость аберрации в генах семейства *RAS* на сегодняшний день остаётся открытым вопросом. W.A. Lai с соавт. [29] изучили корреляцию между *RAS*-ассоциируемой АКЩЖ и показателями общей выживаемости. Исследование продемонстрировало, что данное молекулярное событие связано с более низкой выживаемостью пациентов.

Морфологическая картина *BRAF*- и *RAS*-положительных опухолей различалась. Гистологическая архитектура *BRAF*-ассоциированных случаев в подавляющем большинстве случаев характеризовалась глубокой инвазией в мягкие ткани паратиреоидной области и метастатическим поражением лимфатических узлов, в то время как сосудистая инвазия и инвазия в капсулу встречались гораздо реже. В случае *RAS*-положительных образцов чаще описывались участки сохранившейся фолликулярной неоплазии, крупноочаговые некрозы, а также опухолевая сосудистая инвазия. По некоторым данным, *BRAF*-ассоциированные опухоли щитовидной железы морфологически считаются инвазивной формой рака, склонной к лимфогенной диссеминации, в то же время *RAS*-ассоциированные варианты характеризуются выраженной сосудистой инвазией и отдалённым метастазированием [23]. Однако достаточных данных о наличии отдалённых метастазов у пациентов, включённых в наше исследование, мы не имели.

Распространённость соматической мутации в промоторном регионе гена *TERT* при АКЩЖ составила 24%. Однако суммарная распространённость данных замен гораздо ниже сообщаемой в других исследованиях. Точечные мутации гена *TERT* являются наиболее часто встречающимися молекулярными событиями. Сообщаемая

частота верификации аберраций достигает 73% [22]. Замены C228T и C250T являются наиболее распространёнными (37,7 и 4,1% соответственно) [30].

Возможными причинами существенной разницы между полученными и ожидаемыми данными могут быть неоднородность опухоли, низкая копияность образцов и разная чувствительность методов детекции в исследованиях. В данном исследовании методом выбора оценки нуклеотидной последовательности промоторного региона гена *TERT* было секвенирование по Сэнгеру. Существенным недостатком данного метода является аналитическая чувствительность, которая составляет 20,0% относительной концентрации мутаций в гене *TERT* [31]. Таким образом, в дальнейшем для повышения чувствительности исследования предполагается использовать методику детекции ПЦР-РВ.

Мутации в гене *TERT* считаются фактором неблагоприятного прогноза, ассоциируясь с прогрессией заболевания и меньшей общей выживаемостью. В то же время обнаружение сочетания мутаций *BRAF* V600E или мутаций в генах семейства *RAS* с аберрациями в промоторном регионе гена *TERT* коррелирует с ещё более агрессивным поведением опухоли по сравнению с мутациями в генах семейства *RAS* изолированно [32].

Анапластическая карцинома щитовидной железы характеризуется феноменом MSI. Распространённость микросателлитной нестабильности в нашем исследовании составила 2,7%. MSI-позитивный случай не характеризовался наличием опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов.

Сообщаемая частота встречаемости MSI-положительных опухолей щитовидной железы достигает 15% [4, 33–35]. Молекулярный профиль АКЩЖ включает небольшую долю опухолей, которые демонстрируют приобретённые мутации в генах системы репарации ДНК. Данные различных исследований о взаимосвязи MSI-ассоциированных АКЩЖ и клинического исхода пациентов противоречат друг другу, что, возможно, отражает различия в выборках.

Другой темой дискуссий остаётся роль MSI в процессах инициации и дедифференцировки рака щитовидной железы. Однозначно ответить на вопрос, относится ли MSI к «ранним» или «поздним» молекулярным событиям, пока невозможно, так как она обнаруживается не только на этапах низкодифференцированного рака щитовидной железы или АКЩЖ, но в образцах высокодифференцированных гистотипов — фолликулярного рака щитовидной железы и папиллярного рака щитовидной железы [12].

Установлено, что пациенты, характеризующиеся MSI-положительным статусом, обладали более благоприятным прогнозом и продемонстрировали значительно более высокую инфильтрацию иммунными клетками и экспрессию PD-1 и PD-L1, что может служить точкой приложения иммунотерапии. Таким образом, реальная распространённость статуса MSI при АКЩЖ ещё нуждается в чётком определении с особым упором

на экспрессию белка PD-L1. Молекулярное профилирование опухоли имеет значение в диагностике АКЩЖ не только по прогностическим причинам, но и по терапевтическим.

В ходе данного исследования транслокаций *NTRK1*, *EML4-ALK*, *PAX8/PPAR γ* и *RET/PTC* в образцах АКЩЖ обнаружено не было. Результаты аналогичны данным геномного профилирования 33 пациентов с АКЩЖ, опубликованных в исследовании 2016 года I. Landa с соавт. [6].

Данные аберрации действительно считаются относительно редким событием для АКЩЖ. Их распространённость составляет 3–5% [14, 8]. Наиболее часто встречаемой аберрацией при АКЩЖ является *RET/PTC*, тогда как *NTRK* и *ALK* обнаруживаются гораздо реже. Данные о распространённости транслокаций в молекулярном профиле рака щитовидной железы в исследованиях существенно варьируют, что может быть объяснено этническими и географическими особенностями, разной чувствительностью методов детекции, а также, возможно, гетерогенностью опухоли [36]. Однако, несмотря на низкую частоту встречаемости транслокаций, *NTRK1*, *EML4-ALK*, *PAX8/PPAR γ* и *RET/PTC* и факторы, которые могут повлиять на оценку, перестройки, остаются терапевтически значимыми мишенями, которые могут быть верифицированы и должны быть включены в перечень исследуемых аберраций.

Тем не менее в ходе исследования 43% случаев АКЩЖ ($n=16$) не характеризовались ни одной из исследованных аберрацией. Возможными причинами могут быть неоднородность опухоли, низкая копияность образцов и чувствительность методов детекции. С другой стороны, канцерогенез АКЩЖ может быть связан с более редкими и менее изученными мутациями в других сигнальных путях. G. Garcia-Rostan с соавт. [37] описывают аберрации в гене *CTNNB1*, кодирующем β -катенин, которые встречаются более чем в 60% случаев АКЩЖ. Точечные мутации в 3-м экзоне гена *CTNNB1* приводят к конститутивной активации внутриклеточного Wnt-сигнального пути. В более редких случаях профиль АКЩЖ связан с нарушением регуляции PI3K/Akt-сигнального пути, выступающего в качестве «позднего» молекулярного события в канцерогенезе АКЩЖ. Описывают активирующие мутации генов *PIK3CA* и *AKT1*, распространённость событий в которых составляет 15 и 18% соответственно, и аберрации негативного регулятора PI3K/Akt-сигнального пути гена *PTEN*, приводящие к потере его функции в 17% случаев [29].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование особенностей молекулярно-генетического профиля анапластической карциномы щитовидной железы нуждается в дальнейшем изучении. Выявление

молекулярных паттернов позволит персонализировать тактику ведения пациентов с анапластической карциномой щитовидной железы, улучшить прогноз и показатели выживаемости пациентов.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Исследование выполнено и опубликовано за счёт финансирования по месту работы авторов.

Конфликт интересов. Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). Наибольший вклад распределён следующим образом: А.К. Мусонова — разработка дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных, статистический анализ, написание текста статьи, выполнение исследования молекулярно-генетических особенностей анапластической карциномы щитовидной железы; В.Д. Назаров, Д.В. Сидоренко, А.А. Мусаелян, Е.А. Алексеева, Д.А. Кузовенкова — разработка дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных, написание текста статьи; Е.С. Козорезова, С.Л. Воробьев, С.В. Орлов, А.В. Мазинг, С.В. Лапин — разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, научное редактирование статьи; В.Л. Эмануэль — анализ полученных данных, научное редактирование статьи.

ADDITIONAL INFORMATION

Financing source. The study was carried out and published at the expense of funding at the place of work of the authors.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contribution. All authors confirm the compliance of their authorship, according to international ICMJE criteria (all authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published. A.K. Musonova — developing the research design, reviewed relevant literature, analysis of the obtained data, statistical analysis, article writing, performing a molecular genetics features of anaplastic thyroid carcinoma; V.D. Nazarov, D.V. Sidorenko, A.A. Musaelyan, E.A. Alekseeva, D.A. Kuzovenkova — developing the research design, reviewed relevant literature, analysis of the obtained data, article writing; E.S. Kozorezova, S.L. Vorobev, S.V. Orlov, A.V. Mazing, S.V. Lapin — developing the research design, analysis of the obtained data, scientific editing of the article; V.L. Emanuel — analysis of the obtained data, scientific editing of the article.

Conflict of interests. All authors confirmed absence conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pereira M., Williams V.L., Hallanger Johnson J., Valderrabano P. Thyroid cancer incidence trends in the United States: association with changes in professional guideline recommendations // *Thyroid*. 2020. Vol. 30, N 8. P. 1132–1140. doi: 10.1089/thy.2019.0415
2. Lin B., Ma H., Ma M., et al. The incidence and survival analysis for anaplastic thyroid cancer: a SEER database analysis // *Am J Transl Res*. 2019. Vol. 11, N 9. P. 5888–5896.
3. Maniakas A., Dadu R., Busaidy N.L., et al. Evaluation of overall survival in patients with anaplastic thyroid carcinoma, 2000–2019 // *JAMA Oncol*. 2020. Vol. 6, N 9. P. 1397–1404. doi: 10.1001/jamaoncol.2020.3362
4. Pozdeyev N., Gay L.M., Sokol E.S., et al. Genetic analysis of 779 advanced differentiated and anaplastic thyroid cancers // *Clin Cancer Res*. 2018. Vol. 24, N 13. P. 3059–3068. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-0373
5. Volante M., Lam A.K., Papotti M., et al. Molecular pathology of poorly differentiated and anaplastic thyroid cancer: what do pathologists need to know? // *Endocr Pathol*. 2021. Vol. 32, N 1. P. 63–76. doi: 10.1007/s12022-021-09665-2
6. Landa I., Ibrahimasic T., Boucai L., et al. Genomic and transcriptomic hallmarks of poorly differentiated and anaplastic thyroid cancers // *J Clin Invest*. 2016. Vol. 126, N 3. P. 1052–1066. doi: 10.1172/JCI85271
7. Quiros R.M., Ding H.G., Gattuso P., et al. Evidence that one subset of anaplastic thyroid carcinomas are derived from papillary carcinomas due to BRAF and p53 mutations // *Cancer*. 2005. Vol. 103, N 11. P. 2261–2268. doi: 10.1002/cncr.21073
8. Xu B., Fuchs T., Dogan S., et al. Dissecting anaplastic thyroid carcinoma: a comprehensive clinical, histologic, immunophenotypic, and molecular study of 360 cases // *Thyroid*. 2020. Vol. 30, N 10. P. 1505–1517. doi: 10.1089/thy.2020.0086
9. Kebebew E., Greenspan F.S., Clark O.H., et al. Anaplastic thyroid carcinoma. Treatment outcome and prognostic factors // *Cancer*. 2005. Vol. 103, N 7. P. 1330–1335. doi: 10.1002/cncr.20936
10. Yoo S.K., Lee S., Kim S.J., et al. Comprehensive analysis of the transcriptional and mutational landscape of follicular and papillary thyroid cancers // *PLoS Genet*. 2016. Vol. 12, N 8. P. e1006239. doi: 10.1371/journal.pgen.1006239
11. Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic characterization of papillary thyroid carcinoma. *Cell*. Vol. 159, N 3. P. 676–690. doi: 10.1016/j.cell.2014.09.050
12. Mitmaker E., Alvarado C., Bégin L.R., Trifiro M. Microsatellite instability in benign and malignant thyroid neoplasms // *J Surg Res*. 2008. Vol. 150, N 1. P. 40–48. doi: 10.1016/j.jss.2007.12.760
13. Ragazzi M., Torricelli F., Donati B., et al. Coexisting well-differentiated and anaplastic thyroid carcinoma in the same primary resection specimen: immunophenotypic and genetic comparison of the two components in a consecutive series of 13 cases and a review of the literature // *Virchows Arch*. 2021. Vol. 478, N 2. P. 265–281. doi: 10.1007/s00428-020-02891-9
14. Pekova B., Sykorova V., Mastnikova K., et al. *NTRK* fusion genes in thyroid carcinomas: clinicopathological characteristics and their impacts on prognosis // *Cancers (Basel)*. 2021. Vol. 13, N 8. P. 1932. doi: 10.3390/cancers13081932
15. Godbert Y., Henriques de Figueiredo B., Bonichon F., et al. Remarkable response to crizotinib in woman with anaplastic lymphoma kinase-rearranged anaplastic thyroid carcinoma // *J Clin Oncol*. 2015. Vol. 33, N 20. P. e84–e87. doi: 10.1200/JCO.2013.49.6596
16. Dudley J.C., Lin M.T., Le D.T., Eshleman J.R. Microsatellite Instability as a Biomarker for PD-1 blockade // *Clin Cancer Res*. 2016. Vol. 22, N 4. P. 813–820. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-1678
17. Le D.T., Uram J.N., Wang H., et al. PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency // *N Engl J Med*. 2015. Vol. 372, N 26. P. 2509–2520. doi: 10.1056/NEJMoa1500596
18. Jarry A., Masson D., Cassagnau E., et al. Real-time allele-specific amplification for sensitive detection of the BRAF mutation V600E // *Mol Cell Probes*. 2004. Vol. 18, N 5. P. 349–352. doi: 10.1016/j.mcp.2004.05.004
19. Luchini C., Bibeau F., Ligtenberg M.J.L., et al. ESMO recommendations on microsatellite instability testing for immunotherapy in cancer, and its relationship with PD-1/PD-L1 expression and tumour mutational burden: a systematic review-based approach // *Ann Oncol*. 2019. Vol. 30, N 8. P. 1232–1243. doi: 10.1093/annonc/mdz116
20. Rashid M., Agarwal A., Pradhan R., et al. Genetic alterations in anaplastic thyroid carcinoma // *Indian J Endocrinol Metab*. 2019. Vol. 23, N 4. P. 480–485. doi: 10.4103/ijem.IJEM_321_19
21. Sugitani I., Miyauchi A., Sugino K., et al. Prognostic factors and treatment outcomes for anaplastic thyroid carcinoma: ATC research consortium of Japan cohort study of 677 patients // *World J Surg*. 2012. Vol. 36, N 6. P. 1247–1254. doi: 10.1007/s00268-012-1437-z
22. Prete A., Borges de Souza P., Censi S., et al. Update on fundamental mechanisms of thyroid cancer // *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020. Vol. 11. P. 102. doi: 10.3389/fendo.2020.00102
23. Gunda V., Gigliotti B., Ndishabandi D., et al. Combinations of BRAF inhibitor and anti-PD-1/PD-L1 antibody improve survival and tumour immunity in an immunocompetent model of orthotopic murine anaplastic thyroid cancer // *Br J Cancer*. 2018. Vol. 119, N 10. P. 1223–1232. doi: 10.1038/s41416-018-0296-2
24. Angell T.E., Lechner M.G., Jang J.K., et al. BRAF V600E in papillary thyroid carcinoma is associated with increased programmed death ligand 1 expression and suppressive immune cell infiltration // *Thyroid*. 2014. Vol. 24, N 9. P. 1385–1393. doi: 10.1089/thy.2014.0134
25. Brauner E., Gunda V., Vanden Borre P., et al. Combining BRAF inhibitor and anti PD-L1 antibody dramatically improves tumor regression and anti tumor immunity in an immunocompetent murine model of anaplastic thyroid cancer // *Oncotarget*. 2016. Vol. 7, N 13. P. 17194–17211. doi: 10.18632/oncotarget.7839
26. Jang E.K., Song D.E., Sim S.Y., et al. NRAS codon 61 mutation is associated with distant metastasis in patients with follicular thyroid carcinoma // *Thyroid*. 2014. Vol. 24, N 8. P. 1275–1281. doi: 10.1089/thy.2014.0053
27. Ravi N., Yang M., Gretarsson S., et al. Identification of targetable lesions in anaplastic thyroid cancer by genome profiling // *Cancers (Basel)*. 2019. Vol. 11, N 3. P. 402. doi: 10.3390/cancers11030402
28. Bonhomme B., Godbert Y., Perot G., et al. Molecular pathology of anaplastic thyroid carcinomas: a retrospective study of 144 cases // *Thyroid*. 2017. Vol. 27, N 5. P. 682–692. doi: 10.1089/thy.2016.0254
29. Lai W.A., Liu C.Y., Lin S.Y., et al. Characterization of driver mutations in anaplastic thyroid carcinoma identifies RAS and PIK3CA mutations as negative survival predictors // *Cancers (Basel)*. 2020. Vol. 12, N 7. P. 1973. doi: 10.3390/cancers12071973

30. Liu R., Xing M. TERT promoter mutations in thyroid cancer // *Endocr Relat Cancer*. 2016. Vol. 23, N 3. P. R143–R155. doi: 10.1530/ERC-15-0533

31. Gomes A. Genetic testing techniques. In: *Pediatric cancer genetics*. 2018. P. 47–64. doi: 10.1016/B978-0-323-48555-5.00005-3

32. Shen X., Liu R., Xing M. A six-genotype genetic prognostic model for papillary thyroid cancer // *Endocr Relat Cancer*. 2017. Vol. 24, N 1. P. 41–52. doi: 10.1530/ERC-16-0402

33. Lazzereschi D., Palmirotta R., Ranieri A., et al. Microsatellite instability in thyroid tumours and tumour-like lesions // *Br J Cancer*. 1999. Vol. 79, N 2. P. 340–345. doi: 10.1038/sj.bjc.6690054

34. Rocha M.L., Schmid K.W., Czapiewski P. The prevalence of DNA microsatellite instability in anaplastic thyroid carcinoma — systematic review and discussion of current therapeutic options //

Contemp Oncol (Pozn). 2021. Vol. 25, N 3. P. 213–223. doi: 10.5114/wo.2021.110052

35. Wong K.S., Lorch J.H., Alexander E.K., et al. Clinicopathologic features of mismatch repair-deficient anaplastic thyroid carcinomas // *Thyroid*. 2019. Vol. 29, N 5. P. 666–673. doi: 10.1089/thy.2018.0716

36. Romei C., Elisei R. RET/PTC translocations and clinico-pathological features in human papillary thyroid carcinoma // *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2012. Vol. 3. P. 54. doi: 10.3389/fendo.2012.00054

37. Garcia-Rostan G., Camp R.L., Herrero A., et al. Beta-catenin dysregulation in thyroid neoplasms: down-regulation, aberrant nuclear expression, and CTNNB1 exon 3 mutations are markers for aggressive tumor phenotypes and poor prognosis // *Am J Pathol*. 2001. Vol. 158, N 3. P. 987–996. doi: 10.1016/s0002-9440(10)64045-x

REFERENCES

- Pereira M, Williams VL, Hallanger Johnson J, Valderrabano P. Thyroid cancer incidence trends in the United States: association with changes in professional guideline recommendations. *Thyroid*. 2020;30(8):1132–1140. doi: 10.1089/thy.2019.0415
- Lin B, Ma H, Ma M, et al. The incidence and survival analysis for anaplastic thyroid cancer: a SEER database analysis. *Am J Transl Res*. 2019;11(9):5888–5896.
- Maniakas A, Dadu R, Busaidy NL, et al. Evaluation of overall survival in patients with anaplastic thyroid carcinoma, 2000–2019. *JAMA Oncol*. 2020;6(9):1397–1404. doi: 10.1001/jamaoncol.2020.3362
- Pozdeyev N, Gay LM, Sokol ES, et al. Genetic analysis of 779 advanced differentiated and anaplastic thyroid cancers. *Clin Cancer Res*. 2018;24(13):3059–3068. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-0373
- Volante M, Lam AK, Papotti M, et al. molecular pathology of poorly differentiated and anaplastic thyroid cancer: what do pathologists need to know? *Endocr Pathol*. 2021;32:63–76. doi: 10.1007/s12022-021-09665-2
- Landa I, Ibrahimpasic T, Boucai L, et al. Genomic and transcriptomic hallmarks of poorly differentiated and anaplastic thyroid cancers. *J Clin Invest*. 2016;126(3):1052–1066. doi: 10.1172/JCI85271
- Quiros RM, Ding HG, Gattuso P, et al. Evidence that one subset of anaplastic thyroid carcinomas are derived from papillary carcinomas due to BRAF and p53 mutations. *Cancer*. 2005;103(11):2261–2268. doi: 10.1002/cncr.21073
- Xu B, Fuchs T, Dogan S, et al. Dissecting anaplastic thyroid carcinoma: a comprehensive clinical, histologic, immunophenotypic, and molecular study of 360 cases. *Thyroid*. 2020;30(10):1505–1517. doi: 10.1089/thy.2020.0086
- Kebebew E, Greenspan FS, Clark OH, et al. Anaplastic thyroid carcinoma. Treatment outcome and prognostic factors. *Cancer*. 2005;103(7):1330–1335. doi: 10.1002/cncr.20936
- Yoo SK, Lee S, Kim SJ, et al. Comprehensive analysis of the transcriptional and mutational landscape of follicular and papillary thyroid cancers. *PLoS Genet*. 2016;12(8):e1006239. doi: 10.1371/journal.pgen.1006239
- Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic characterization of papillary thyroid carcinoma. *Cell*. 2014;159(3):676–690. doi: 10.1016/j.cell.2014.09.050
- Mitmaker E, Alvarado C, Bégin LR, Trifiro M. Microsatellite instability in benign and malignant thyroid neoplasms. *J Surg Res*. 2008;150(1):40–48. doi: 10.1016/j.jss.2007.12.760
- Ragazzi M, Torricelli F, Donati B, et al. Coexisting well-differentiated and anaplastic thyroid carcinoma in the same primary resection specimen: immunophenotypic and genetic comparison of the two components in a consecutive series of 13 cases and a review of the literature. *Virchows Arch*. 2021. 478(2):265–281. doi: 10.1007/s00428-020-02891-9
- Pekova B, Sykorova V, Mastnikova K, et al. NTRK fusion genes in thyroid carcinomas: clinicopathological characteristics and their impacts on prognosis. *Cancers (Basel)*. 2021;13:1932. doi: 10.3390/cancers13081932
- Godbert Y, Henriques de Figueiredo B, Bonichon F, et al. Remarkable response to crizotinib in woman with anaplastic lymphoma kinase-rearranged anaplastic thyroid carcinoma. *J Clin Oncol*. 2015;33(20):e84–e87. doi: 10.1200/JCO.2013.49.6596
- Dudley JC, Lin MT, Le DT, Eshleman JR. Microsatellite Instability as a biomarker for PD-1 blockade. *Clin Cancer Res*. 2016;22(4):813–820. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-1678
- Le DT, Uram JN, Wang H, et al. PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency. *N Engl J Med*. 2015;372(26):2509–2520. doi: 10.1056/NEJMoa1500596
- Jarry A, Masson D, Cassagnau E, et al. Real-time allele-specific amplification for sensitive detection of the BRAF mutation V600E. *Mol Cell Probes*. 2004;18(5):349–352. doi: 10.1016/j.mcp.2004.05.004
- Luchini C, Bibeau F, Ligtenberg MJL, et al. ESMO recommendations on microsatellite instability testing for immunotherapy in cancer, and its relationship with PD-1/PD-L1 expression and tumour mutational burden: a systematic review-based approach. *Ann Oncol*. 2019;30(8):1232–1243. doi: 10.1093/annonc/mdz116
- Rashid M, Agarwal A, Pradhan R, et al. Genetic alterations in anaplastic thyroid carcinoma. *Indian J Endocrinol Metab*. 2019;23(4):480–485. doi: 10.4103/ijem.IJEM_321_19
- Sugitani I, Miyauchi A, Sugino K, et al. Prognostic factors and treatment outcomes for anaplastic thyroid carcinoma: ATC research consortium of Japan cohort study of 677 patients. *World J Surg*. 2012;36(6):1247–1254. doi: 10.1007/s00268-012-1437-z
- Prete A, Borges de Souza P, Censi S, et al. Update on fundamental mechanisms of thyroid cancer. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020;11:102. doi: 10.3389/fendo.2020.00102
- Gunda V, Gigliotti B, Ndishabandi D, et al. Combinations of BRAF inhibitor and anti-PD-1/PD-L1 antibody improve survival and tumour immunity in an immunocompetent model of orthotopic murine ana-

- plastic thyroid cancer. *Br J Cancer*. 2018;119(10):1223–1232. doi: 10.1038/s41416-018-0296-2
24. Angell TE, Lechner MG, Jang JK, et al. BRAF V600E in papillary thyroid carcinoma is associated with increased programmed death ligand 1 expression and suppressive immune cell infiltration. *Thyroid*. 2014;24(9):1385–1393. doi: 10.1089/thy.2014.0134
25. Brauner E, Gunda V, Vanden Borre P, et al. Combining BRAF inhibitor and anti PD-L1 antibody dramatically improves tumor regression and anti tumor immunity in an immunocompetent murine model of anaplastic thyroid cancer. *Oncotarget*. 2016;7(13):17194–17211. doi: 10.18632/oncotarget.7839
26. Jang EK, Song DE, Sim SY, et al. NRAS codon 61 mutation is associated with distant metastasis in patients with follicular thyroid carcinoma. *Thyroid*. 2014;24(8):1275–1281. doi: 10.1089/thy.2014.0053
27. Ravi N, Yang M, Gretarsson S, et al. Identification of targetable lesions in anaplastic thyroid cancer by genome profiling. *Cancers (Basel)*. 2019;11(3):402. doi: 10.3390/cancers11030402
28. Bonhomme B, Godbert Y, Perot G, et al. Molecular pathology of anaplastic thyroid carcinomas: a retrospective study of 144 cases. *Thyroid*. 2017;27(5):682–692. doi: 10.1089/thy.2016.0254
29. Lai WA, Liu CY, Lin SY, et al. Characterization of driver mutations in anaplastic thyroid carcinoma identifies RAS and PIK3CA mutations as negative survival predictors. *Cancers (Basel)*. 2020;12(7):1973. doi: 10.3390/cancers12071973
30. Liu R, Xing M. TERT promoter mutations in thyroid cancer. *Endocr Relat Cancer*. 2016;23(3):R143–R155. doi: 10.1530/ERC-15-0533
31. Gomes A. Genetic testing techniques. In: *Pediatric cancer genetics*. 2018. P. 47–64. doi: 10.1016/B978-0-323-48555-5.00005-3
32. Shen X, Liu R, Xing M. A six-genotype genetic prognostic model for papillary thyroid cancer. *Endocr Relat Cancer*. 2017;24(1):41–52. doi: 10.1530/ERC-16-0402
33. Lazzereschi D, Palmirotta R, Ranieri A, et al. Microsatellite instability in thyroid tumours and tumour-like lesions. *Br J Cancer*. 1999;79(2):340–345. doi: 10.1038/sj.bjc.6690054
34. Rocha ML, Schmid KW, Czapiewski P. The prevalence of DNA microsatellite instability in anaplastic thyroid carcinoma — systematic review and discussion of current therapeutic options. *Contemp Oncol (Pozn)*. 2021;25(3):213–223. doi: 10.5114/wo.2021.110052
35. Wong KS, Lorch JH, Alexander EK, et al. Clinicopathologic features of mismatch repair-deficient anaplastic thyroid carcinomas. *Thyroid*. 2019;29(5):666–673. doi: 10.1089/thy.2018.0716
36. Romei C, Elisei R. RET/PTC translocations and clinico-pathological features in human papillary thyroid carcinoma. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2012;3:54. doi: 10.3389/fendo.2012.00054
37. Garcia-Rostan G, Camp RL, Herrero A, et al. Beta-catenin dysregulation in thyroid neoplasms: down-regulation, aberrant nuclear expression, and CTNNB1 exon 3 mutations are markers for aggressive tumor phenotypes and poor prognosis. *Am J Pathol*. 2001;158(3):987–996. doi: 10.1016/s0002-9440(10)64045-x

ОБ АВТОРАХ

*** Мусонова Анастасия Константиновна;**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0986-5150>;
eLibrary SPIN: 8719-8518;
e-mail: amusonova@mail.ru

Назаров Владимир Дмитриевич, к.м.н.;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9354-8790>;
eLibrary SPIN: 5072-7229;
e-mail: nazarov19932@mail.ru

Сидоренко Дарья Владимировна;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8503-0759>;
eLibrary SPIN: 4978-3190;
e-mail: si-do-renko@mail.ru

Мусаелян Арам Ашотович, младший научный сотрудник;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7570-2256>;
eLibrary SPIN: 1093-3044;
e-mail: a.musaelyan8@gmail.com

Алексеева Екатерина Александровна;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7341-419X>;
e-mail: kkatealex96@gmail.com

Кузовенкова Дария Андреевна;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0087-0917>;
e-mail: Kuzovenkovadasha@gmail.com

Козорезова Евгения Сергеевна, к.м.н.;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3659-7510>;
e-mail: pdclient@ncmd.ru

Воробьев Сергей Леонидович, к.м.н.;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7817-9069>;
eLibrary SPIN: 5920-0603; e-mail: ncmd@ncmd.ru

AUTHORS' INFO

*** Anastasia K. Musonova;**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0986-5150>;
eLibrary SPIN: 8719-8518;
e-mail: amusonova@mail.ru

Vladimir D. Nazarov, MD, Cand. Sci. (Med.);

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9354-8790>;
eLibrary SPIN: 5072-7229;
e-mail: nazarov19932@mail.ru

Daria V. Sidorenko;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8503-0759>;
eLibrary SPIN: 4978-3190;
e-mail: si-do-renko@mail.ru

Aram A. Musaelyan, Junior Research Associate;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7570-2256>;
eLibrary SPIN: 1093-3044;
e-mail: a.musaelyan8@gmail.com

Ekaterina A. Alekseeva;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7341-419X>;
e-mail: kkatealex96@gmail.com

Daria A. Kuzovenkova;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0087-0917>;
e-mail: Kuzovenkovadasha@gmail.com

Evgeniya S. Kozorezova, MD, Cand. Sci. (Med.);

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3659-7510>;
e-mail: pdclient@ncmd.ru

Sergey L. Vorobev, MD, Cand. Sci. (Med.);

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7817-9069>;
eLibrary SPIN: 5920-0603; e-mail: ncmd@ncmd.ru

Орлов Сергей Владимирович, д.м.н., профессор,
член-корреспондент РАН;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6080-8042>;
eLibrary SPIN: 7517-4104;
e-mail: mail@primatologia.ru

Мазинг Александра Васильевна, к.м.н., старший научный
сотрудник;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3055-6507>;
eLibrary SPIN: 4458-4633;
e-mail: alex_mazing@mail.ru

Лاپин Сергей Владимирович, к.м.н.;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4998-3699>;
eLibrary SPIN: 9852-7501;
e-mail: svlapin@mail.ru

Эмануэль Владимир Леонидович, д.м.н., профессор;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2079-0439>;
eLibrary SPIN: 1177-4802;
e-mail: vladimirem1@gmail.com

Sergey V. Orlov, MD, Dr. Sci. (Med.), Professor, Corresponding
Member of the RAS;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6080-8042>;
eLibrary SPIN: 7517-4104;
e-mail: mail@primatologia.ru

Aleksandra V. Mazing, MD, Cand. Sci. (Med.), Senior Research
Associate;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3055-6507>;
eLibrary SPIN: 4458-4633;
e-mail: alex_mazing@mail.ru

Sergej V. Lapin, MD, Cand. Sci. (Med.);
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4998-3699>;
eLibrary SPIN: 9852-7501;
e-mail: svlapin@mail.ru

Vladimir L. Emanuel, MD, Dr. Sci. (Med.), Professor;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2079-0439>;
eLibrary SPIN: 1177-4802;
e-mail: vladimirem1@gmail.com

*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author