

## КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017  
УДК 616.441-006.04-07]:577.21.08Иванов А.А.<sup>1</sup>, Авдалян А.М.<sup>1</sup>, Гервальд В.Я.<sup>1,3</sup>, Лушников Е.Л.<sup>4</sup>, Зоркина Ю.Н.<sup>2</sup>, Круглова Н.М.<sup>1</sup>, Лазарев А.Ф.<sup>1</sup>

## МУТАЦИЯ BRAF V600E ПРИ ПАПИЛЛЯРНОМ РАКЕ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ, КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАЛЛЕЛИ И ПРОГНОЗ

<sup>1</sup>Алтайский филиал ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 656049, г. Барнаул, Россия;<sup>2</sup>КГБУЗ «Алтайский онкологический диспансер», 656043, г. Барнаул, Россия;<sup>3</sup>ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, 656038, г. Барнаул, Россия;<sup>4</sup>ФГБНУ «Институт молекулярной патологии и патоморфологии», 630117, г. Новосибирск, Россия

Авторами на материале 67 случаев папиллярного рака щитовидной железы (ПРЩЖ) проведено исследование взаимосвязи мутации BRAF V600E с прогнозом, биомолекулярными и клинико-морфологическими характеристиками заболевания. Проводился анализ образцов на наличие 7 мутаций гена KRAS, 4 мутаций гена PIK3CA, мутации BRAF V600E с выявлением взаимосвязи с биомолекулярными маркерами пролиферации и апоптоза Ki-67, p53, Bcl-2. Также проводили хромогенную гибридизацию *in situ* (метод CISH) для исследования статуса гена HER2. Определяли взаимосвязь мутации V600E гена BRAF с клиническими показателями прогноза: размерами опухоли, инвазией в капсулу, наличием метастазов в регионарных лимфоузлах. Кроме того, оценивали взаимосвязь BRAF V600E с 10-летней выживаемостью.

Мутации в генах KRAS, PIK3CA не выявлены. Мутация V600E в гене BRAF выявлена в 50 (75%) случаях. Частота мутации V600E у женщин составила  $75 \pm 6,4\%$ , у мужчин –  $67 \pm 27,1\%$ . У пациентов с наличием мутации V600E размер узла был несколько меньше, чем при отсутствии мутации, и в 76% случаев не достигал средней величины 1,8 см. Инвазию в капсулу выявляли в  $35 \pm 12,7\%$  случаев у пациентов с положительным статусом V600E и в  $56 \pm 8,4\%$  – с отрицательным статусом. Метастазы в регионарных лимфоузлах встречались в  $36 \pm 11,6\%$  случаев у пациентов с V600E и в  $47 \pm 18,9\%$  – с отсутствием данной мутации. Получена взаимосвязь мутации V600E с индексом Ki-67: средний уровень пролиферативной активности при наличии данной мутации составил  $4,4 \pm 0,6\%$ , при отсутствии –  $9,4 \pm 3,9\%$ . Не установлено взаимосвязи V600E с другими биомолекулярными параметрами, либо взаимосвязь носила тенденционный характер. С точки зрения 10-летней выживаемости группа больных с мутацией V600E статистически не отличалась от таковой при ее отсутствии. Исходя из полученных данных стало возможным говорить об отсутствии негативного влияния V600E на прогноз у больных ПРЩЖ.

Ключевые слова: папиллярный рак щитовидной железы; мутация BRAF V600E; экспрессия p53, Ki-67, Bcl2; прогноз.

Для цитирования: Иванов А.А., Авдалян А.М., Гервальд В.Я., Лушников Е.Л., Зоркина Ю.Н., Круглова Н.М., Лазарев А.Ф. Мутация BRAF V600E при папиллярном раке щитовидной железы, клинико-морфологические параллели и прогноз. *Российский онкологический журнал*. 2017; 22 (1): 15–20. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1028-9984-2017-22-1-15-20>

Для корреспонденции: Иванов Анатолий Акимович, научный сотрудник лаборатории исследований молекулярно-генетических характеристик опухолей, E-mail: Anatolij0199@yandex.ru.

Ivanov A.A.<sup>1</sup>, Avdalyan A.M.<sup>1</sup>, Gerval'd V.J.<sup>1,3</sup>, Lushnikova E.L.<sup>4</sup>, Zorkina Yu.N.<sup>2</sup>, Kruglova N.M.<sup>1</sup>, Lazarev A.F.<sup>1</sup>

## THE BRAF MUTATION V600E IN PAPILLARY THYROID CANCER, CLINICAL-MORPHOLOGICAL PARALLELES AND PROGNOSIS

<sup>1</sup>Altaysky branch of the N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Barnaul, 656049, Russian Federation;<sup>2</sup>Altai Oncological Center, Barnaul, 656043, Russian Federation;<sup>3</sup>Altai State Medical University, Barnaul, 656038, Russian Federation;<sup>4</sup>Institute of Molecular Pathology and Pathomorphology, Novosibirsk, 630117, Russian Federation

On the material of the 67 cases of papillary thyroid cancer (PTC) authors executed the study of the interrelationship between the BRAF mutation V600E and the forecast, biomolecular and morphological characteristics of the disease. There was implemented the analysis of samples for the presence of 7 KRAS gene mutations, 4 mutations of the PIK3CA gene, mutation BRAF V600E with the revealing of the interrelationship between such biomolecular markers for proliferation and apoptosis as Ki-67, p53, Bcl2. Also there was performed chromogenic hybridization (CISH method) *in situ* to study the status of the HER2 gene. There was determined the interrelationship between BRAF mutation V600E and clinical indices of prognosis: tumor sizes, capsule invasion, presence of metastases in regional lymph nodes. In addition, there was evaluated the interrelationship between BRAF mutation V600E and 10-years survival rate. No mutation were identified in KRAS, PI3K genes. BRAF mutation V600E was identified in 50 cases (75%). The frequency of V600E in women accounted of  $75 \pm 6.4\%$ , in men –  $67 \pm 27.1\%$ . In patients with the presence of V600E the size of a node was slightly less than in the absence of mutations and in 76% of cases did not reach the average value of 1.8 cm. Invasion into the capsule was identified in  $35 \pm 12.7\%$  cases with a positive BRAF mutation V600E status and in  $56 \pm 8.4\%$  – in cases with a negative status. Metastases in regional lymph nodes occurred in  $36 \pm 11.6\%$  in patients with V600E and in  $47 \pm 18.9\%$  of cases without this mutation. There was obtained the interrelationship between V600E and Ki-67: the average level of the proliferative activity in the presence of the given mutation was  $4.4 \pm 0.6\%$ , in the absence –  $9.4 \pm 3.9\%$ . No interrelationship was obtained

*between V600E and other biomolecular parameters or this interrelationship was tendentious in character. In terms of 10-years survival the groups with or without V600E statistically did not differ. Based on the data, it was possible to say about the absence of the negative impact of V600E on the prognosis in PTC patients*

**Key words:** *papillary thyroid carcinoma; BRAF V600E; expression of p53, Ki-67, Bcl2; forecast.*

**For citation:** Ivanov A.A., Avdalyan A.M., Gerval'd V.J., Lushnikova E.L., Zorkina Yu.N., Kruglova N.M., Lazarev A.F. The *BRAF* mutation V600E in papillary thyroid cancer, clinical-morphological parallels and prognosis. *Rossiiskii onkologicheskii zhurnal. (Russian Journal of Oncology)*. 2017; 22 (1): 15–20. (In Russ). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1028-9984-2017-22-1-15-20>

**For correspondence:** *Anatoly A. Ivanov*, MD, Researcher of the Laboratory of the Research of Molecular Genetic Characteristics of the Tumor; Barnaul, 656049, Russian Federation. E-mail: [Anatolij0199@yandex.ru](mailto:Anatolij0199@yandex.ru).

**Information about authors:**

Ivanov A.A., <http://orcid.org/0000-0001-5040-8854>

Avdalyan A.M., <http://orcid.org/0000-0002-2229-1713>

Gerval'd V.J., <http://orcid.org/0000-0001-8636-9025>

Lushnikova E.L., <http://orcid.org/0000-0003-3283-7932>

Zorkina Yu.N., <http://orcid.org/0000-0003-3793-1549>

Kruglova N.M., <http://orcid.org/0000-0002-0032-1715>

Lazarev A.F., <http://orcid.org/0000-0003-1080-5294>

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.

Received 02 July 2016

Accepted 28 July 2016

Злокачественные опухоли щитовидной железы составляют 1–2% в общей структуре онкологической заболеваемости [1], а встречаемость данной патологии среди болезней органов эндокринной системы достигает 90% [2]. К причинам роста заболеваемости раком щитовидной железы (РЩЖ) относят не только улучшение качества диагностики, но и воздействие экзогенных факторов [3, 4].

С точки зрения гистологических форм среди рака щитовидной железы у взрослых преобладают дифференцированные формы, подавляющее большинство которых составляет папиллярный рак. В Алтайском крае папиллярный рак щитовидной железы (ПРЩЖ) также является ведущим морфологическим вариантом РЩЖ, и его частота равняется 71% от числа всех диагностированных раковых опухолей ЩЖ [5]. ПРЩЖ имеет относительно благоприятное течение, но существуют редкие случаи, для которых характерно более агрессивное клиническое течение. Это обуславливает необходимость внедрения эффективных методов диагностики и рационального использования новых методов лечения.

По данным различных авторов, при папиллярном раке щитовидной железы наиболее часто встречается мутация гена *BRAF*, выявляются мутации в генах *PIK3CA*, *KRAS*, *HRAS*, *NRAS*, а также *RET/PTC* и *TRK*-перестройки [6–8]. Мутация V600E в гене *BRAF* обнаруживается при папиллярном раке щитовидной железы в широком диапазоне – в 29–83% случаев, по данным разных авторов [9, 10]. Такой большой разброс частоты встречаемости мутации *BRAF* V600E может быть связан не только с географическим расположением, но и с применением различных по чувствительности методов исследования, а также с неоднородностью состава групп пациентов с разными вариантами папиллярного рака щитовидной железы.

По данным ряда авторов, наличие мутации *BRAF* V600E является неблагоприятным прогностическим критерием, однако данное мнение разделяют не все исследователи [11–20]. Связь мутации *BRAF* V600E с прогностически неблагоприятными критериями, такими как инвазия в капсулу и наличие метастазов

в региональных лимфоузлах, продолжает оставаться одним из важных вопросов.

В настоящее время недостаточно изучена взаимосвязь *BRAF* V600E с прогностическими критериями и с биомолекулярными характеристиками опухолевых клеток, определяющими пролиферативную активность клеток и апоптоз, что является одним из важных факторов для фундаментального обоснования клинического течения заболевания и более глубокого понимания прогностической роли мутации при ПРЩЖ. Такими характеристиками в настоящее время являются хорошо зарекомендовавшие себя белки – маркеры пролиферативной активности Ki-67, а также Bcl-2, p53, отражающие состояние апоптоза (супрессия и активация) [21–23]. Гибридизация позволяет объективно определить статус гена *HER2*, который, как уже доказано, задействован в каскаде опухолевой прогрессии при злокачественных новообразованиях ряда локализаций [24].

Цель исследования – определение частоты клинически значимых мутаций в генах *BRAF*, *KRAS* и *PIK3CA* во взаимосвязи данных генетических повреждений с клинико-патологическими и биомолекулярными характеристиками папиллярного рака щитовидной железы.

## Материал и методы

В исследование включены 67 пациентов с ПРЩЖ с известным прогнозом за период 2005–2015 гг., пролеченных в Алтайском краевом онкологическом диспансере и перенесших операцию по поводу ПРЩЖ в 2005–2009 гг. Средний возраст больных составил 48 лет, из них мужчин было 9%, женщин – 91%. Инвазия в капсулу отмечена у 40% пациентов. Метастазы в регионарных лимфоузлах выявлены в 39% случаев. За данный период были прооперированы 888 человек, из них умерли по причине прогрессирования ПРЩЖ 14 пациентов, 9 из которых были включены в анализ.

Материалом для исследования послужил операционный материал, фиксированный в 10% нейтральном забуференном формалине в течение 6–24 ч и заключенный в парафин. Ткань, из которой выделяли ДНК, верифицировалась патоморфологом,

проводилась оценка характера опухоли, количества опухолевой ткани в материале, при необходимости выполнялась микродиссекция нужного фрагмента. Выделение ДНК из ткани производили с помощью набора FFPE QIAGEN по протоколу производителя на автоматической станции для выделения нуклеиновых кислот и белков QIACube (QIAGEN). Мутация р. Val600Glu(V600E) с.1799T>A [COSMIC ID 475] 15-го экзона гена *BRAF* определялась с помощью аллель-специфичной ПЦР в реальном времени набором Real-time – PCR-BRAF-V600E («Биолинк»). Мутации р. Gly12Cys (G12C) с.34G>T [COSMIC ID 516], р. Gly12Ser (G12S) с.34G>A [COSMIC ID 517], р. Gly12Arg (G12R) с.34G>C [COSMIC ID 518], р. Gly12Val (G12V) с.35G>T [COSMIC ID 520], р. Gly12Asp (G12D) с.35G>A [COSMIC ID 521], р. Gly12Ala (G12A) с.35G>C [COSMIC ID 522], р. Gly13Asp (G13D) с.38 G>A [COSMIC ID 532] в 12-м и 13-м кодонах 2-го экзона гена *KRAS* выявлялись с помощью аллель-специфичной ПЦР в реальном времени набором Real-time – PCR-*KRAS*-7M («Биолинк»). Мутации р. His1047Arg (H1047R) с.3140A>G [COSMIC ID 775], р. Glu542Lys (E542K) с.1624G>A [COSMIC ID 760], р. Glu545Asp (E545D) с.1635G>T [COSMIC ID 765], р. Glu545Lys (E545K) с.1633G>A [COSMIC ID 763] в 9-м и 20-м экзонах гена *PIK3CA* определяли с помощью аллель-специфичной ПЦР в реальном времени набором *PIK3CA* Mutation Test Kit (QIAGEN). Реакции и анализ результатов проводили на аппарате SFX-96 («Bio-Rad», США) по протоколам производителей реактивов. Также использовали иммуногистохимическое исследование с антителами Ki-67 (клон MIB1, «DAKO»), p53 (клон DO-7, «Ventana»), Bcl-2 (клон 124, «Ventana») и хромогенную гибридизацию *in situ* (методом CISH) на стейнере Ventana XT по стандартным протоколам. Для стандартизации исследования использовался метод тканевых матриц. При проведении окраски материала изготавливали срезы толщиной 4 мкр. Для определения статуса гена *HER2* методом CISH использовали набор ДНК-зондов INFORM *HER2* Dual ISH DNA Probe Cocktail, «Ventana». Процедуру окраски ISH и идентификацию результатов производили по рекомендованным протоколам производителя. В диагностике биомолекулярных параметров использовали пороговые величины, представляющие собой средние арифметические показатели маркера. Анализ выживаемости оценивали актуриальным методом Каплана–Мейера, многофакторный анализ проводили по Коксу, с определением ряда статистических предикторов для многофакторных и моновариантных систем просчета с уровнем безошибочного суждения 95% для непараметрических систем анализа. Различия считались статистически достоверными при значениях  $p \leq 0,05$  и  $t \geq 2$ . Для статистической обработки данных использовали программу Statistica 8.0.

### Результаты и обсуждение

Мутации генов *KRAS* (р. Gly12Cys, р. Gly12Ser, р. Gly12Arg, р. Gly12Val, р. Gly12Asp, р. Gly12Ala, р. Gly13Asp), *PIK3CA* (р. His1047Arg, р. Glu542Lys, р. Glu545Asp, р. Glu545Lys) не выявлены ни в одном случае ППЦЖ. Мутация р. Val600Glu в гене *BRAF* выявлена в 50 (75%) случаях.

При анализе взаимосвязи мутации V600E гена

*BRAF* с возрастными-половыми характеристиками выявлено, что частота обнаружения данной мутации у женщин составила  $75 \pm 6,4\%$ , а у мужчин –  $67 \pm 27,1\%$  соответственно. Нами не обнаружено никакой взаимосвязи между полом и наличием мутации *BRAF* V600E (табл. 1), что соответствует данным публикаций X. Lee и соавт. [25] и D. Ahn и соавт. [16]. Вместе с тем, по данным некоторых исследователей (S. Kim et al., 2012; X. Xu et al., 2003), мутация *BRAF* V600E чаще обнаруживалась у мужчин [26, 27]. Средний возраст *BRAF*-позитивных пациентов составил  $49 \pm 1,8$  года, а *BRAF*-негативных пациентов –  $45 \pm 4,2$  года (см. табл. 1). В исследовании E. Kebebew и соавт. мутация *BRAF* V600E чаще выявлялась в старших возрастных группах [11]. Однако S. Kim и соавт. (2012) и X. Lee и соавт. (2009) не выявили взаимосвязи между возрастом и мутацией *BRAF* V600E [25, 26].

При анализе взаимосвязи мутации *BRAF* V600E с размером опухоли выявлено, что у пациентов с наличием данной мутации размер узла несколько меньше, чем при отсутствии мутации, и в 76% случаев не достигал средней величины 1,8 см. Средние размеры узла при наличии мутации *BRAF* V600E составили  $1,4 \pm 0,1$  см против  $3 \pm 0,8$  см при отсутствии данной мутации, различия статистически значимы (см. табл. 1). Полученные результаты противоречат данным в публикации S. Kim и соавт. (2012), где описана связь между наличием мутации *BRAF* V600E и большим размером опухоли [26]. В работе D. Ahn и соавт. (2012) исследователи не смогли выявить закономер-

Таблица 1

Ассоциация мутации *BRAF* V600E и клинико-патологических параметров

Показатель	<i>BRAF</i> V600E+ (n = 50)	<i>BRAF</i> V600E- (n = 17)	p
<i>Возраст</i>			
средний возраст установления диагноза, лет	$49,0 \pm 1,8$	$45,0 \pm 4,2$	>0,05
48 лет и более, %	$68 \pm 8$	$41 \pm 20$	>0,05
менее 48 лет, %	$32 \pm 12$	$59,0 \pm 16,4$	>0,05
<i>Пол</i>			
женщины, %	$75,0 \pm 6,4$	$25,0 \pm 11,6$	>0,05
мужчины, %	$67,0 \pm 27,1$	$33,0 \pm 47,0$	>0,05
<i>Размер узла</i>			
средний, см	$1,4 \pm 0,1$	$3,0 \pm 0,8$	<0,045*
$\geq 1,8$ см, %	$24,0 \pm 12,9$	$41,0 \pm 20,1$	>0,05
<1,8 см, %	$76 \pm 6,9$	$59,0 \pm 16,4$	>0,05
<i>Инвазия в капсулу</i>			
с инвазией, %	$35,0 \pm 12,7$	$56,0 \pm 8,4$	>0,05
без инвазии, %	$65,0 \pm 8,4$	$44,0 \pm 20,3$	>0,05
<i>Метастазы в регионарных лимфоузлах</i>			
есть, %	$36,0 \pm 11,6$	$47,0 \pm 18,9$	>0,05
нет, %	$64,0 \pm 8,5$	$53,0 \pm 17,6$	>0,05

Примечание. \* – различия статистически значимы.

ности между наличием данной мутации и размером узла [16].

Инвазию в капсулу мы выявляли в  $35 \pm 12,7\%$  случаев с положительным статусом V600E и в  $56 \pm 8,4\%$  случаев с отрицательным статусом V600E – различия статистически недостоверны (см. табл. 1). В исследованиях X. Lee и соавт. [25] и S. Kim и соавт. [26] получены противоположные результаты, показывающие более частую инвазию в капсулу у пациентов с наличием мутации *BRAF* V600E.

Метастазы в регионарных лимфоузлах в нашем исследовании встречались у  $36 \pm 11,6\%$  пациентов с наличием мутации V600E и у  $47 \pm 18,9\%$  – с отсутствием данной мутации (см. табл. 1). Полученные нами результаты отличны от результатов E. Kebebew и соавт. [11] и X. Lee и соавт. [25], по данным которых метастазы в лимфатических узлах встречаются чаще у больных с мутацией *BRAF* V600E, однако наши данные сопоставимы с результатами исследований других авторов – D. Ahn и соавт. [16] и S. Kim и соавт. [26], в которых частота метастазов существенно не отличалась в группах пациентов с диким и мутантным типом данного гена.

Анализ взаимосвязи уровня индекса Ki-67 с наличием мутации V600E показал, что в опухолях с положительным статусом мутации *BRAF* V600E пролиферативная активность была несколько ниже и составила  $4,4 \pm 0,6\%$ , а в опухолях с отрицательным статусом мутации V600E пролиферативная активность была выше и составила  $9,4 \pm 3,9\%$ . Отличия были статистически незначимы, но зависимость имела тенденционный характер (табл. 2; рис. 1, см. 3-ю полосу обложки).

В случаях с мутантным типом гена *BRAF* число больных с допороговым показателем уровня пролиферативной активности до  $5,4\%$  составило  $81 \pm 7,2\%$ , а при диком типе гена *BRAF* –  $44 \pm 28,7\%$ . Однако в связи с малой выборкой при отрицательном статусе V600E снижение пролиферативной активности при наличии данной мутации носило характер тенденции (см. табл. 2).

Полученные нами данные не совпадают с результатами исследования F. Grabelius и соавт. [28], где наблюдалась тенденция к более высокому уровню экспрессии Ki-67 в группе опухолей с наличием мутации *BRAF* V600E.

Анализ взаимосвязи уровня индекса p53 с наличием мутации V600E показал, что в опухолях с положительным статусом мутации *BRAF* V600E индекс p53 был несколько ниже и составил  $1,8 \pm 0,4\%$ , а с отрицательным статусом мутации V600E индекс p53 составил  $2,8 \pm 1,7\%$  (см. табл. 2; рис. 2, см. 3-ю полосу обложки).

В случаях с положительным статусом V600E образцы с допороговым показателем экспрессии p53 составили  $64 \pm 9,1\%$ , при отрицательном статусе V600E –  $69 \pm 16,4\%$ . Однако в связи с малой выборкой образцов с отрицательным статусом V600E снижение индекса p53 при наличии мутации носило также тенденционный характер (см. табл. 2).

При положительном статусе V600E случаев с преобладанием негативного пула клеток по уровню Vcl-2 выявлено  $42 \pm 11,3\%$ , при отрицательном статусе V600E –  $47 \pm 20,4\%$  (см. табл. 2).

Амплификации гена *HER2* не обнаружено ни в одном случае, но при наличии мутации V600E ко-

Таблица 2

Ассоциация мутации *BRAF* V600E и биомолекулярных показателей

Показатель	<i>BRAF</i> V600E+ (n = 50)	<i>BRAF</i> V600E- (n = 17)	p
<i>Индекс Ki-67 относительно допорогового показателя</i>			
средний уровень, %	$4,4 \pm 0,6$	$9,4 \pm 3,9\%$	>0,05
≥5,4%	$19,0 \pm 16,0\%$	$56,0 \pm 24,8\%$	>0,05
<5,4%	$81,0 \pm 7,2\%$	$44,0 \pm 28,7\%$	>0,05
<i>Индекс p53 относительно допорогового показателя</i>			
средний уровень	$1,8 \pm 0,4\%$	$2,8 \pm 1,7\%$	>0,05
≥2	$36,0 \pm 12,4\%$	$31,0 \pm 26,7\%$	>0,05
<2	$64,0 \pm 9,1\%$	$69,0 \pm 16,4\%$	>0,05
<i>Индекс Vcl-2 относительно допорогового показателя</i>			
≥0 (bcl-2) выше 43,87	$42,0 \pm 11,3\%$	$47,0 \pm 20,4\%$	>0,05
<0 (bcl-2) ниже 43,87	$58,0 \pm 9,5\%$	$53,0 \pm 18,9\%$	>0,05
Копийность гена <i>Her2</i>	$1,98 \pm 0,1$	$1,88 \pm 0,2$	>0,05

Примечание. Статистически значимых отличий не найдено.

пийность гена *HER2* несколько выше, чем при отсутствии мутации, –  $1,98 \pm 0,1$  против  $1,88 \pm 0,2$  соответственно (см. табл. 2).

Общая 10-летняя выживаемость больных ПРЦЖ в нашей выборке составила  $85,3 \pm 4,3\%$ . При анализе 10-летней выживаемости больных ПРЦЖ в зависимости от статуса гена *BRAF* получены интересные данные. Так, в группе с наличием мутации V600E 10-летняя выживаемость составила  $83,4 \pm 15,2\%$  и практически не отличалась от 10-летней выживаемости в группе с отсутствием данной мутации ( $88,2 \pm 32,3\%$ ; различия статистически недостоверны) (табл. 3; рис. 3). Стоит отметить, что данный показатель обусловлен абсолютно одинаковой пропорциональной частотой неблагоприятного исхода как в группе с наличием мутации *BRAF* V600E, так и без нее – 12% больных в этих группах погибали в течение 10 лет, что доказывает отсутствие зависимости прогноза от статуса гена *BRAF* V600E.

Аналогичные данные, показывающие отсутствие взаимосвязи *BRAF* V600E и отрицательного прогноза, получены в исследованиях D. Ahn и соавт. [16], E. Puxeddy и соавт. [17], R. Liu и соавт. [18], Y. Ito и соавт. [19], D. Barbaro и соавт. [20], однако в работах E. Kebebew и соавт. [11], M. Nikiforova и соавт. [12], M. Xing и соавт. [13], C. Lupi и соавт. [14], F. Basolo и соавт. [15] получены противоположные результаты. При анализе корреляции мутации *BRAF* V600E с различными параметрами выявлена слабая зависимость между статусом гена *BRAF* и индексом Ki-67, а также

Таблица 3

Десятилетняя выживаемость больных ПРЦЖ в зависимости от статуса гена *BRAF* V600E

Показатель	10-летняя выживаемость
<i>BRAF</i> V600E+	$83,4 \pm 15,2\%$ (7 из 50)
<i>BRAF</i> V600E-	$88,2 \pm 32,3\%$ (2 из 17)
p	> 0,05

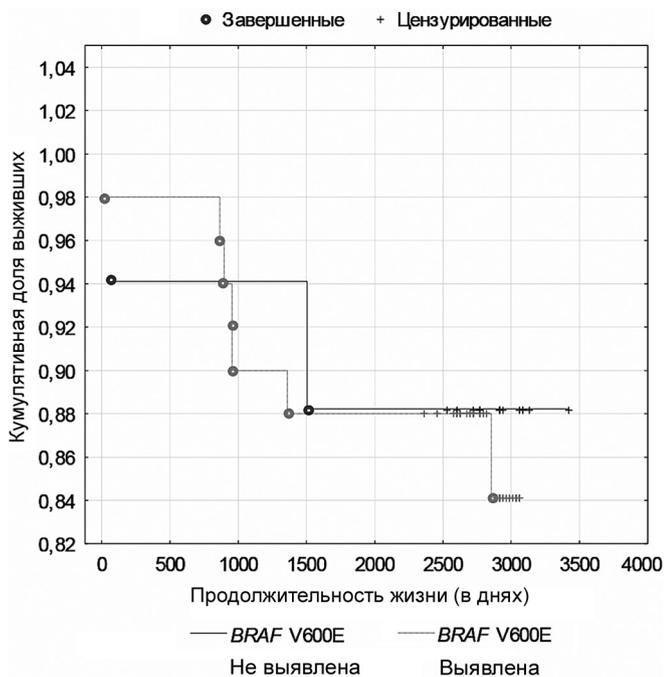


Рис. 3. Анализ 10-летней выживаемости больных ПРЩЖ по Каплану—Мейеру.

Таблица 4

**Корреляция мутации BRAF V600E с различными параметрами**

Показатель	r	p
Пол (мужчины, женщины)	0,06	>0,05
Возраст относительно 48 лет	0,24	>0,05
Инвазия в капсулу	0,14	>0,05
Максимальный размер узла	0,43	<0,0000
Метастазы в региональных лимфоузлах	0,10	>0,05
Ki-67	0,33	0,03
p53	0,12	>0,05
Vcl-2	0,08	>0,05
Her2/Chr	0,01	>0,05

размером узла, но абсолютно не выявлено корреляции с полом, возрастом, инвазией в капсулу, метастазами в региональных лимфоузлах, индексом p53, экспрессией Vcl-2, амплификацией Her2 (табл. 4).

**Заключение**

Частота мутации p. Val600Glu (V600E) гена BRAF при ПРЩЖ в Алтайском крае составила 75%. Мутации KRAS (p. Gly12Cys, p. Gly12Ser, p. Gly12Arg, p. Gly12Val, p. Gly12Asp, p. Gly12Ala, p. Gly13Asp), PIK3CA (p. His1047Arg, p. Glu542Lys, p. Glu545Asp, p. Glu545Lys) не выявлены. Найдена зависимость мутации V600E гена BRAF с индексом пролиферативной активности и максимальным размером узла. Установлено, что мутация BRAF V600E не является неблагоприятным прогностическим критерием при ПРЩЖ.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Румянцев П.О., Ильин А.А., Румянцева У.В., Саенко В.А. *Рак щитовидной железы: Современные подходы к диагностике и лечению.* М.: ГЭОТАР-Медия; 2009: 24.
2. Гервальд В.Я., Климачев В.В., Авдалян А.М., Иванов А.А., Бобров И.П., Лепилов А.В. и др. Рак щитовидной железы и методы его иммуногистохимической диагностики. *Фундаментальные исследования.* 2014; 10(10): 1911–2.
3. Chen A.Y., Jemal A., Ward E.M. Increasing incidence of differentiated thyroid cancer in the United States, 1988–2005. *Cancer.* 2009; 115(16): 3801–7.
4. Vergamini L.B., Frazier A.L., Abrantes F.L., Ribeiro K.B., Rodriguez-Galindo C. Increase in the incidence of differentiated thyroid carcinoma in children, adolescents, and young adults: a population-based study. *J. Pediatr.* 2014; 164(6): 1481–85.
5. Гервальд В.Я., Климачев В.В., Иванов А.А., Рагулина В.Д., Авдалян А.М., Бобров И.П. и др. Рак щитовидной железы. *Международный научно-исследовательский журнал.* 2014; 8(27): 17–8.
6. Abubaker J., Jehan Z., Bavi P., Sultana M., Al-Harbi S., Ibrahim M. et al. Clinicopathological analysis of papillary thyroid cancer with PIK3CA alterations in a Middle Eastern population. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2008; 93: 611–8.
7. Trovisco V., Soares P., Preto A., Castro P., Maximo V., Sobrinho-Simoes M. Molecular genetics of papillary thyroid carcinoma – great expectations. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.* 2007; 51(5): 643–53.
8. Costa A.M., Herrero A., Fresno M.F., Heymann J., Alvarez J.A., Cameselle-Teijeiro J. et al. BRAF mutation associated with other genetic events identifies a subset of aggressive papillary thyroid carcinoma. *Clin. Endocrinol. (Oxf).* 2008; 68: 618–34.
9. Choi S., Park H., Kang M., Lee D., Lee K., Lee H. et al. The relationship between the BRAF V600E mutation in papillary thyroid microcarcinoma and clinicopathologic factors. *World J. Surg. Oncol.* 2013; 11: 291.
10. Trovisco V., Soares P., Sobrinho-Simoes M. B-Raf mutations in the etiopathogenesis, diagnosis, and prognosis of thyroid carcinomas. *Hum. Pathol.* 2006; 37: 781–6.
11. Kebebew E., Weng J., Bauer J., Ranvier G., Clark O.H., Duh Q.Y. et al. The prevalence and prognostic value of BRAF mutation in thyroid cancer. *Ann. Surg.* 2007; 246: 466–470.
12. Nikiforova M., Kimura E., Gandhi M., Biddinger P., Knauf J., Basolo F. et al. BRAF mutations in thyroid tumors are restricted to papillary carcinomas and anaplastic or poorly differentiated carcinomas arising from papillary carcinomas. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003; 88(11): 5399–404.
13. Xing M., Westra W., Tufano R., Cohen Y., Rosenbaum E., Rhoden K. et al. BRAF mutation predicts a poorer clinical prognosis for papillary thyroid cancer. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2005; 90(12): 6373–79.
14. Lupi C., Giannini R., Ugolini C., Proietti A., Berti P., Minuto M. et al. Extensive clinical experience. Association of BRAF V600E mutation with poor clinicopathological outcomes in 500 consecutive cases of papillary thyroid carcinoma. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2007; 92(11): 4085–90.
15. Basolo F., Torregrossa L., Giannini R., Miccoli M., Lupi C., Sensi E. et al. Correlation between the BRAF V600E mutation and tumor invasiveness in papillary thyroid carcinomas smaller than 20 millimeters: Analysis of 1060 cases. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2010; 95(9): 4197–205.
16. Ahn D., Park J.S., Sohn J.H., Kim J.H., Park S.K., Seo A.N. et al. BRAF V600E mutation does not serve as a prognostic factor in Korean patients with papillary thyroid carcinoma. *Auris. Nasus Larynx.* 2012; 39: 198–203.
17. Puxeddu E., Moretti S., Elisei R., Romei C., Pascucci R., Martinelli M. BRAF V599E mutation is the leading genetic event in

- adult sporadic papillary thyroid carcinomas. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004; 89(5): 2414–20.
18. Liu R., Chen Y., Chou F., Li C., Wu W., Tsai P. et al. No correlation between *BRAF* V600E mutation and clinicopathological features of papillary thyroid carcinomas in Taiwan. *Clin. Endocrinol.* 2005; 63: 461–66.
19. Ito Y., Miyauchi A. Prognostic factors of papillary and follicular carcinomas in Japan based on data of Kuma hospital. *J. Thyroid Res.* 2012; Article ID 973497.
20. Barbaro D., Incensati R.M., Materazzi G., Boni G., Grosso M., Panicucci E. et al. The *BRAF* V600E mutation in papillary thyroid cancer with positive or suspected pre-surgical cytological finding is not associated with advanced stages or worse prognosis. *Endocrine.* 2014; 45(3): 462–8.
21. Scholzen T., Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J. Cell. Physiol.* 2000; 182(3): 311–22.
22. McDonnell T.J., Beham A., Sarkiss M., Anderson M.M., Lo P. Importance of the Bcl-2 family in cell death regulation. *Experientia.* 1996; 52: 1008–17.
23. Surget S., Khoury M., Bourdon J. Uncovering the role of p53 splice variants in human malignancy: a clinical perspective. *Oncotargets and Ther.* 2014; 7: 57–68.
24. Ménard S., Casalini P., Campiglio M., Pupa S.M., Tagliabue E. Role of HER2/neu in tumor progression and therapy. *Cell. Mol. Life Sci.* 2004; 61: 2965–78.
25. Lee X., Gao M., Ji Y., Yu Y., Feng Y., Li Y. et al. Analysis of differential *BRAF* (V600E) mutational status in high aggressive papillary thyroid microcarcinoma. *Ann. Surg. Oncol.* 2009; 16: 240–5.
26. Kim S.J., Lee K.E., Myong J.P., Park J.H., Jeon Y.K., Min H.S. et al. *BRAF* V600E mutation is associated with tumor aggressiveness in papillary thyroid cancer. *World J. Surg.* 2012; 36: 310–7.
27. Xu X., Quiros R.M., Gattuso P., Ain K.B., Prinz R.A. High prevalence of *BRAF* gene mutation in papillary thyroid carcinomas and thyroid tumor cell lines. *Cancer Res.* 2003; 63: 4561–7.
28. Grabellus F., Worm K., Schmid K.W., Sheu S.Y. The *BRAF* V600E mutation in papillary thyroid carcinoma is associated with glucose transporter 1 overexpression. *Thyroid.* 2012; 22(4): 377–82.
- microcarcinoma and clinicopathologic factors. *World J. Surg. Oncol.* 2013; 11: 291.
10. Trovisco V., Soares P., Sobrinho-Simoes M. B-RAF mutations in the etiopathogenesis, diagnosis, and prognosis of thyroid carcinomas. *Hum. Pathol.* 2006; 37: 781–6.
11. Kebebew E., Weng J., Bauer J., Ranvier G., Clark O.H., Duh Q.Y. et al. The prevalence and prognostic value of *BRAF* mutation in thyroid cancer. *Ann. Surg.* 2007; 246: 466–470.
12. Nikiforova M., Kimura E., Gandhi M., Biddinger P., Knauf J., Basolo F. et al. *BRAF* mutations in thyroid tumors are restricted to papillary carcinomas and anaplastic or poorly differentiated carcinomas arising from papillary carcinomas. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003; 88(11): 5399–404.
13. Xing M., Westra W., Tufano R., Cohen Y., Rosenbaum E., Rhoden K. et al. *BRAF* mutation predicts a poorer clinical prognosis for papillary thyroid cancer. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2005; 90(12): 6373–79.
14. Lupi C., Giannini R., Ugolini C., Proietti A., Berti P., Minuto M. et al. Extensive clinical experience. Association of *BRAF* V600E mutation with poor clinicopathological outcomes in 500 consecutive cases of papillary thyroid carcinoma. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2007; 92(11): 4085–90.
15. Basolo F., Torregrossa L., Giannini R., Miccoli M., Lupi C., Sensi E. et al. Correlation between the *BRAF* V600E mutation and tumor invasiveness in papillary thyroid carcinomas smaller than 20 millimeters: Analysis of 1060 cases. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2010; 95(9): 4197–205.
16. Ahn D., Park J.S., Sohn J.H., Kim J.H., Park S.K., Seo A.N. et al. *BRAF* V600E mutation does not serve as a prognostic factor in Korean patients with papillary thyroid carcinoma. *Auris. Nasus Larynx.* 2012; 39: 198–203.
17. Puxeddu E., Moretti S., Elisei R., Romei C., Pascucci R., Martinelli M. *BRAF* V599E mutation is the leading genetic event in adult sporadic papillary thyroid carcinomas. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004; 89(5): 2414–20.
18. Liu R., Chen Y., Chou F., Li C., Wu W., Tsai P. et al. No correlation between *BRAF* V600E mutation and clinicopathological features of papillary thyroid carcinomas in Taiwan. *Clin. Endocrinol.* 2005; 63: 461–66.
19. Ito Y., Miyauchi A. Prognostic factors of papillary and follicular carcinomas in Japan based on data of Kuma hospital. *J. Thyroid Res.* 2012; Article ID 973497.
20. Barbaro D., Incensati R.M., Materazzi G., Boni G., Grosso M., Panicucci E. et al. The *BRAF* V600E mutation in papillary thyroid cancer with positive or suspected pre-surgical cytological finding is not associated with advanced stages or worse prognosis. *Endocrine.* 2014; 45(3): 462–8.
21. Scholzen T., Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J. Cell. Physiol.* 2000; 182(3): 311–22.
22. McDonnell T.J., Beham A., Sarkiss M., Anderson M.M., Lo P. Importance of the Bcl-2 family in cell death regulation. *Experientia.* 1996; 52: 1008–17.
23. Surget S., Khoury M., Bourdon J. Uncovering the role of p53 splice variants in human malignancy: a clinical perspective. *Oncotargets and Ther.* 2014; 7: 57–68.
24. Menard S., Casalini P., Campiglio M., Pupa S.M., Tagliabue E. Role of HER2/neu in tumor progression and therapy. *Cell. Mol. Life Sci.* 2004; 61: 2965–78.
25. Lee X., Gao M., Ji Y., Yu Y., Feng Y., Li Y. et al. Analysis of differential *BRAF* (V600E) mutational status in high aggressive papillary thyroid microcarcinoma. *Ann. Surg. Oncol.* 2009; 16: 240–5.
26. Kim S.J., Lee K.E., Myong J.P., Park J.H., Jeon Y.K., Min H.S. et al. *BRAF* V600E mutation is associated with tumor aggressiveness in papillary thyroid cancer. *World J. Surg.* 2012; 36: 310–7.
27. Xu X., Quiros R.M., Gattuso P., Ain K.B., Prinz R.A. High prevalence of *BRAF* gene mutation in papillary thyroid carcinomas and thyroid tumor cell lines. *Cancer Res.* 2003; 63: 4561–7.
28. Grabellus F., Worm K., Schmid K.W., Sheu S.Y. The *BRAF* V600E mutation in papillary thyroid carcinoma is associated with glucose transporter 1 overexpression. *Thyroid.* 2012; 22(4): 377–82.

## REFERENCES

1. Rumyantsev P.O., Il'in A.A., Rumyantseva U.V., Saenko V.A. *Thyroid Cancer: Contemporary Approaches to Diagnosis and Treatment.* Moscow: GEOTAR-Media; 2009: 24. (in Russian)
2. Gerval'd V.Ya., Klimachev V.V., Avdalyan A.M., Ivanov A.A., Bobrov I.P., Lepilov A.V. et al. Thyroid cancer and immunohistochemical methods for its diagnosis. *Fundamental'nye issledovaniya.* 2014; 10(10): 1911–2. (in Russian)
3. Chen A.Y., Jemal A., Ward E.M. Increasing incidence of differentiated thyroidcancer in the United States, 1988–2005. *Cancer.* 2009; 115(16): 3801–7.
4. Vergamini L.B., Frazier A.L., Abrantes F.L., Ribeiro K.B., Rodriguez-Galindo C. Increase in the incidence of differentiated thyroid carcinoma in children, adolescents, and young adults: a population-based study. *J. Pediatr.* 2014; 164(6): 1481–85.
5. Gerval'd V.Ya., Klimachev V.V., Ivanov A.A., Ragulina V.D., Avdalyan A.M., Bobrov I.P. et al. Thyroid cancer. *Mezhdunarodnyy nauchno-issledovatel'skiy zhurnal.* 2014; 8(27): 17–8. (in Russian)
6. Abubaker J., Jehan Z., Bavi P., Sultana M., Al-Harbi S., Ibrahim M. et al. Clinicopathological analysis of papillary thyroid cancer with *PIK3CA* alterations in a Middle Eastern population. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2008; 93: 611–8.
7. Trovisco V., Soares P., Preto A., Castro P., Maximo V., Sobrinho-Simoes M. Molecular genetics of papillary thyroid carcinoma – great expectations. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.* 2007; 51(5): 643–53.
8. Costa A.M., Herrero A., Fresno M.F., Heymann J., Alvarez J.A., Cameselle-Teijeiro J. et al. *BRAF* mutation associated with other genetic events identifies a subset of aggressive papillary thyroid carcinoma. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)* 2008; 68: 618–34.
9. Choi S., Park H., Kang M., Lee D., Lee K., Lee H. et al. The relationship between the *BRAF* V600E mutation in papillary thyroid