



УДК 616.441-006:616-076:575.191:614.876

© 2010

Л. Г. Воскобойник, Т. І. Богданова, С. В. Гулеватий,
член-кореспондент НАН України М. Д. Тронько

Взаємозв'язок між наявністю генетичних порушень та інвазійними властивостями папілярних карцином щитоподібної залози

Досліджено взаємозв'язок між наявністю генетичних порушень та фенотипом папілярних карцином (ПК) щитоподібної залози (ЩЗ). Встановлено, що ПК з індукцією реаранжованих онкогенів RET/PTC та TRK найбільш агресивні за морфологічними ознаками біологічної поведінки порівняно з пухлинами з наявністю мутацій BRAF^{V600E} чи з ПК без генетичних порушень. У післяопераційний період наявність віддалених метастазів до легенів та середостіння виявлено виключно в RET/PTC- та TRK-позитивних ПК. За ефективністю радіоїодтерапії (кількість курсів лікування) гіршим прогнозом характеризуються, знов таки, ПК з наявністю реаранжованих онкогенів.

Папілярні карциноми (ПК) щитоподібної залози (ЩЗ) є найпоширенішою формою тиреоїдної онкопатології. Зазначеним карциномам властива характерна морфологія ядер та лімфогенний шлях метастазування [1]. Проте група ПК є досить гетерогенною щодо гістологічної будови, інвазійних властивостей та молекулярно-генетичних характеристик. Залежно від морфологічної структури виділяють такі основні варіанти ПК: типовий папілярний, фолікулярний, солідний та змішаний (папілярно-фолікулярний, папілярно-солідний, фолікулярно-солідний, папілярно-фолікулярно-солідний) [1].

Відомо, що переважна більшість ПК характеризується наявністю тих чи інших генетичних порушень — перебудови RET/PTC (ідентифіковано 16 різновидів), TRK, AKAP9-BRAF, PAX8-PPAR γ , CREB-PPAR γ , мутації генів BRAF та RAS [2]. Доведено існування певного взаємозв'язку між гістологічною будовою ПК та наявністю найбільш поширених генетичних змін. Так, індукція онкогена RET/PTC3 асоційована із солідним варіантом пухлин, RET/PTC1 та мутацій BRAF^{V600E} — з папілярним [3]. Перебудови PAX8-PPAR γ та мутації генів RAS виявлено лише в інкапсульованих ПК фолікулярної будови [4]. Інші типи онкогенів зустрічаються лише в окремих пухлинах [2] і дані про їх взаємозв'язок з фенотипом ПК у літературі відсутні.

Вважають, що наявність генетичних порушень асоційовано не лише з морфологічною структурою пухлин, а й інвазійними властивостями. Так, після відкриття онкогенів

RET/PTC з'явилися повідомлення, що ПК із зазначеними порушеннями характеризуються більш агресивною поведінкою порівняно з *RET/PTC*-негативними пухлинами [5]. Оскільки індукція онкогенів *TRK* спостерігається лише у невеликого відсотка ПК (0–12%), а механізм утворення та впливу на сигнальний MAPK-каскад для *RET/PTC* та *TRK* є однаковим — активація неспецифічної для тироцитів тирозинкінази, більшість дослідників розглядають їх разом [5]. Проте деякі дослідники виокремлюють за мітогенним впливом навіть різні типи перебудов *RET/PTC* і зазначають, що найбільш інвазійними є *RET/PTC3*-позитивні ПК [6].

Протягом тривалого часу онкогени *RET/PTC* та *TRK* вважали єдиними генетичними порушеннями, властивими ПК ЩЗ, та асоціювали їх з найбільш агресивними пухлинами. На початку цього тисячоріччя було встановлено, що в ПК ЩЗ достатньо часто (40–80% випадків) спостерігається онкогенна активація гена *BRAF* внаслідок мутації в 600 кодоні (*BRAF^{V600E}*) [2]. Дані літератури щодо взаємозв'язку між наявністю мутації *BRAF^{V600E}* та фенотипом ПК залишаються суперечливими. Так, деякі дослідники вважають, що карциноми із зазначеними порушеннями є більш агресивними і мають несприятливий прогноз [7]. За даними інших дослідників таку кореляцію не встановлено [8]. Більше того, наявність мутацій *BRAF^{V600E}* виявлено у 52% мікрокарцином ЩЗ, які не мали ознак екстра- та інтратиреоїдної інвазії і метастазів до лімфатичних вузлів шиї [9], що також суперечить висновкам про агресивний характер *BRAF^{V600E}*-позитивних ПК.

Отже, зберігають актуальність такі питання. Чи можуть генетичні порушення, і які саме, бути маркером агресивності ПК? Які об'єктивні ознаки можуть свідчити про агресивний характер карцином? Деякі дослідники до таких ознак відносять розмір пухлин та стадію пухлинного процесу [7]. Проте виникає питання, чи великий розмір ПК та III–IV стадія захворювання обумовлені лише агресивністю пухлини, чи це є наслідком несвоєчасного звернення до лікаря? Яка карцинома є більш агресивною — велика з метастазами до лімфатичних вузлів шиї чи мікрокарцинома, але ж з метастазами? У більшості досліджень щодо асоціації між генетичними порушеннями та фенотипом ПК поряд з найбільш типовими варіантами карцином розглядають і висококлітинний, який має найгірший прогноз [1]. На нашу думку, такі карциноми, як і дифузно-склерозуючий варіант ПК, є доцільним аналізувати окремою групою. Крім того, достатньо часто характер поведінки пухлини пов'язують з віком хворих [7].

У зв'язку із зазначеним вище, наша мета полягала в проведенні порівняльного аналізу між наявністю генетичних порушень, інвазійними властивостями ПК ЩЗ та перебігом післяопераційного періоду.

Досліджено 34 ПК ЩЗ, що були видалені у відділенні хірургії ендокринних залоз ДУ “Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН України” у осіб, які були дітьми чи підлітками на час аварії на Чорнобильській АЕС. Середній вік пацієнтів на момент операції становив (21 ± 3) років (група молодих дорослих), середній латентний період (тобто час, що минув між Чорнобильською катастрофою і оперативним втручанням) — (14 ± 1) років. Діагноз “папілярна карцинома” встановлювався згідно з класифікацією ВООЗ [10] у лабораторії морфології ендокринної системи ДУ “Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН України” і був додатково верифікований міжнародною групою експертів-патологів [11]. До групи досліджених карцином не були залучені мікрокарциноми, середній розмір досліджених пухлин становив $(30,7 \pm 5,1)$ мм. За морфологічною структурою зазначені ПК були представлені основними найбільш поширеними варіантами: типовим папілярним, фолікулярним, солідним та змішаним. Методи

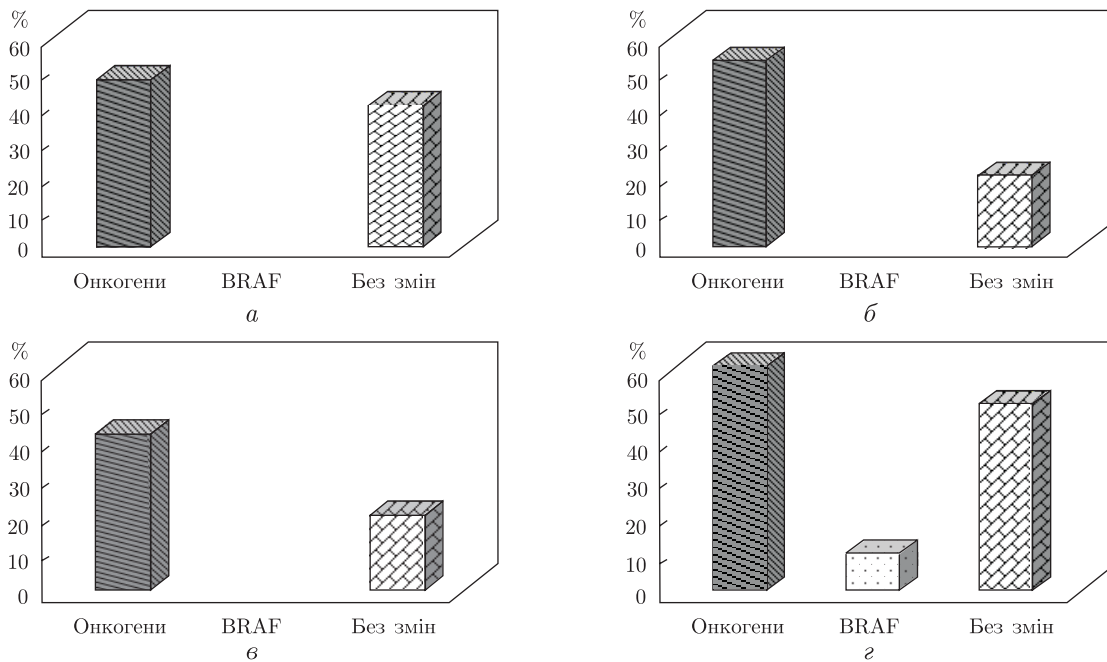


Рис. 1. Взаємозв'язок між типом генетичних порушень та інвазійними властивостями папілярних карцином: *a* — екстратиреоїдна інвазія; *б* — багатофокусний ріст; *в* — ознаки кровоносної інвазії; *г* — наявність метастазів до лімфатичних вузлів щі. До групи з онкогенами включені пухлини з наявністю реаранжованих онкогенів *RET/PTC* та *TRK*

екстракції РНК та виявлення мутацій і реаранжованих онкогенів описані в попередніх публікаціях [12].

Встановлено, що в переважній більшості карцином (71,4%) наявні генетичні порушення: онкогени *RET/PTC1* виявлено у чотирьох випадках, *RET/PTC3* — у шести випадках, одночасна індукція *RET/PTC1* та *RET/PTC3* — в одному випадку, *RET/PTCX* — у шести випадках, *TRK* — у двох випадках, мутації *BRAF^{V600E}* — у п'яти випадках.

Залежно від молекулярно-генетичних характеристик ПК були поділені на три групи: I — карциноми з наявністю онкогенів *RET/PTC* та *TRK* ($n = 19$); II — карциноми з мутаціями *BRAF^{V600E}* ($n = 5$); III — пухлини без генетичних змін ($n = 10$).

Вірогідної різниці щодо розміру досліджених пухлин по групах не встановлено ($(29,58 \pm 2,99)$ мм, $(32,80 \pm 4,70)$ мм та $(29,80 \pm 4,63)$ мм відповідно).

Ознаки екстратиреоїдної інвазії (поширення карциноми за межі залози) та багатофокусного росту в протилежну частку залози найчастіше спостерігалися в групі ПК з наявністю реаранжованих онкогенів *RET/PTC* та *TRK* і були відсутні в пухлинах з мутаціями *BRAF^{V600E}* (рис. 1, *a*, *б*).

Поширення пухлинних клітин може відбуватися як лімфогенним, так і гематогенним шляхом. Для ПК ЩЗ більш властивим є лімфогенне метастазування. У наших дослідженнях ознаки лімфатичної інвазії спостерігалися в переважній більшості пухлин усіх груп (89,5, 80,0 та 80,0% відповідно). Інвазію пухлинних клітин до кровоносних судин, на відміну від лімфатичних, виявлено у невеликого відсотка ПК ЩЗ (10 із 34 або 29,1 %). При цьому частіше ознаки кровоносної інвазії спостерігали в карциномах з реаранжованими онкогенами. У *BRAF^{V600E}*-позитивних ПК ЩЗ інвазію пухлинних клітин до кровоносних судин не виявлено (див. рис. 1, *в*).

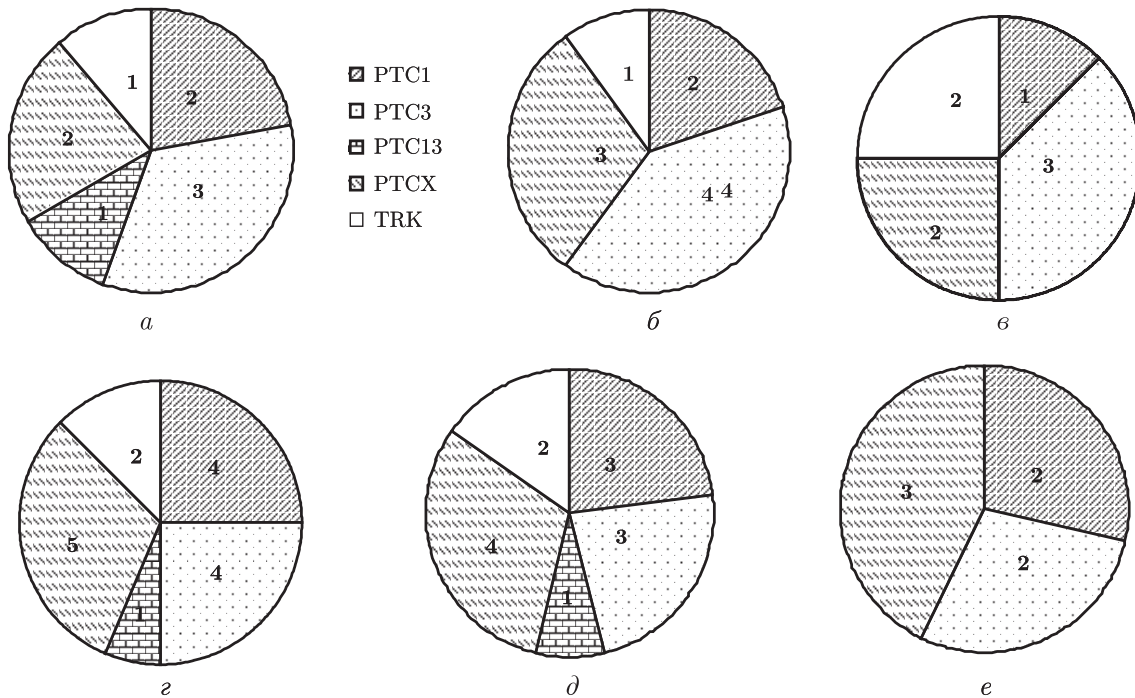


Рис. 2. Взаємозв'язок між типом реаранжованих онкогенів та інвазійними властивостями папілярних карцином: *a* — екстратиреоїдна інвазія; *б* — багатофокусний ріст; *в* — ознаки кровоносної інвазії; *г* — наявність метастазів до лімфатичних вузлів ший; *д* — наявність віддалених метастазів до легенів чи лімфатичних вузлів середостіння; *е* — наявність віддалених метастазів тільки до легенів

Наявність метастазів до лімфатичних вузлів ший спостерігали в усіх досліджених групах, однак найменший відсоток пухлин з метастазами був серед $BRAF^{V600E}$ -позитивних ПК — лише один випадок (див. рис. 1, *г*).

Чи властиві морфологічні ознаки агресивної поведінки карцином усім типам онкогенів? Чи, можливо, деякі інвазійні властивості карцином обумовлені індукцією лише певних онкогенів? Нами ознаки екстратиреоїдної інвазії, багатофокусного росту, кровоносної інвазії та наявність метастазів до лімфатичних вузлів ший спостерігалися в ПК з різними типами реаранжованих онкогенів, без статистично вірогідної різниці (рис. 2, *a–г*).

Таким чином, ПК ЩЗ з індукцією реаранжованих онкогенів, незалежно від їх типу, були більш агресивними за морфологічними ознаками ніж карциноми з мутаціями $BRAF^{V600E}$ чи ПК з відсутністю генетичних змін.

Треба зауважити, що зазначені морфологічні ознаки мали місце на момент операції, тобто характеризували пухлину, яку щойно видалили. Наступне важливе питання — який прогноз чекає пацієнтів у післяопераційний період? Чи будуть розвиватися метастази, зокрема віддалені, і наскільки ефективною буде терапія з радіоактивним йодом?

Майже всі пацієнти досліджених груп (крім одного) проходили післяопераційне лікування та планове спостереження у відділенні клінічної радіології ДУ “Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН України”. Таким чином, ми мали можливість проаналізувати залежність між наявністю тих чи інших генетичних порушень у первинній пухлині та виявленням метастазів і ефективністю їх лікування в післяопераційний період. Середня тривалість спостереження становила (8 ± 1) років.

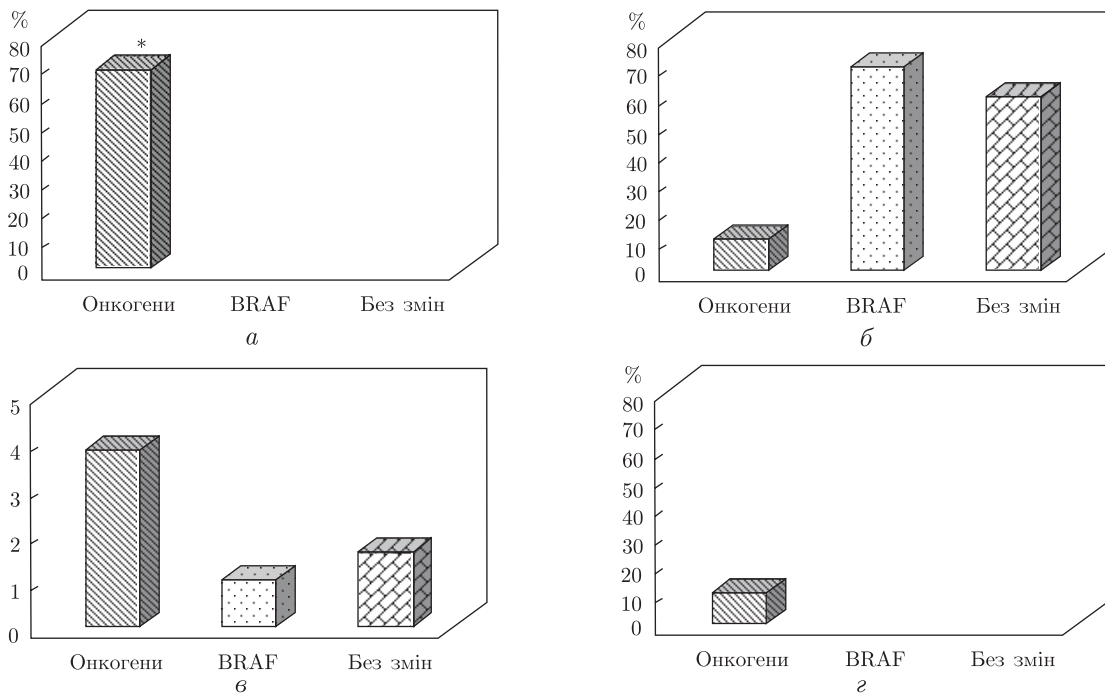


Рис. 3. Взаємозв'язок між типом генетичних порушень та наявністю метастазів і ефективністю їх лікування в післяопераційний період, термін спостереження 8 років: *а* — наявність віддалених метастазів до легенів чи лімфатичних вузлів середостіння; *б* — відсутність будь-яких метастазів за даними скінтиграфії на тлі негативних результатів аналізу крові до тироглобуліну в післяопераційний період; *в* — кількість курсів радіоїодтерапії для досягнення стану ремісії; *г* — кількість рецидивів, що були видалені оперативним шляхом. До групи з онкогенами включені пухлини з наявністю реаранжованих онкогенів *RET/PTC* та *TRK*. * — $P < 0,001$ за критерієм χ^2 порівняно з *BRAF*^{V600E}-позитивними ПК та ПК без генетичних порушень

Згідно з результатами дослідження, віддалені метастази до легенів та лімфатичних вузлів середостіння в післяопераційний період утворювалися у 13 із 33 пацієнтів (39,4%): метастази до легенів — у семи випадках, метастази до середостіння — у дев'яти випадках, серед них метастази до легенів та середостіння разом — у трьох випадках. Варто зауважити, що всі 13 випадків належали до групи ПК з індукцією онкогенів *RET/PTC* та *TRK* (рис. 3, б). Вірогідної різниці між наявністю віддалених метастазів та типом онкогенів не спостерігалося (див. рис. 2, д, е). Таким чином, ризик розвитку віддалених метастазів вірогідно вищий у випадках карцином з індукцією реаранжованих онкогенів, незалежно від їх типу. З іншого боку, кількість пацієнтів без будь-яких метастазів на тлі негативних результатів аналізу крові до тироглобуліну впродовж усього післяопераційного періоду спостереження була найменшою в цій же групі, а найбільшою — у групі *BRAF*^{V600E}-позитивних пухлин (див. рис. 3, б). Наведені дані повністю відповідають результатам порівняльного аналізу між інвазійними властивостями ПК ЩЗ (тобто їх агресивністю) та наявністю генетичних порушень.

Метастази до легенів та середостіння (усі 13 випадків) були виявлені вже при першій скінтиграфії з радіоактивним йодом. За протоколом післяопераційного ведення хворих на диференційований рак ЩЗ першу процедуру сканування проводять через 1–1,5 міс. після операції [13], тому, найімовірніше, віддалені метастази в зазначених пацієнтів не є рецидивами захворювання, а вони розвинулися ще до оперативного втручання. Для знищення

метастазів до легенів було потрібно від 2 до 9 (у середньому $4,7 \pm 0,9$) курсів радіоїодтерапії. У випадках метастазів до лімфатичних вузлів середостіння — від 1 до 4 (у середньому $2,3 \pm 0,3$) курсів.

При подальшому спостереженні за хворими в післяопераційний період в одному випадку з 13 виявлено рецидив метастазів у лімфатичні вузли середостіння. Такі метастази спочатку були виявлені у хворого безпосередньо після операції, але проведення радіоїодтерапії протягом 2 років (4 курси) призвело до повної ремісії з негативною скінтиграфією і відсутністю тироглобуліну в крові. Через 5 років після операції у хворого знову були зафіксовані метастази середостіння, тобто мав місце рецидив захворювання, що потребувало ще 2 додаткових курси радіоїодтерапії. В усіх інших 32 випадках рецидиви віддалених метастазів у післяопераційний період не розвивалися. Таким чином, пацієнти з наявністю віддалених метастазів одразу після операції і наявністю реаранжованих онкогенів у пухлинах (за нашими даними 1 із 13, або 7,7%) мають певний ризик щодо розвитку рецидивів карциноми у віддалений період.

Метастази до лімфатичних вузлів ший при 1–2 сеансах сканування виявлено в 16 випадках, що, за даними літератури, також є не рецидивом карциноми, а обумовлено недостатнім об'ємом хірургічного втручання [14]. Для досягнення стану ремісії було достатньо в середньому ($2,1 \pm 0,4$) курсів лікування. Знищення таких метастазів та залишкової тканини ЩЗ відбувалося паралельно і, таким чином, не потребує перегляду загального протоколу ведення хворих.

Повторне оперативне втручання з приводу видалення уражених метастазами лімфатичних вузлів ший (більше 3 см у діаметрі) було проведено у двох випадках, що належали до групи ПК з наявністю реаранжованих онкогенів (див. рис. 3, з).

Виникнення рецидивів метастазів до лімфатичних вузлів ший, які ефективно лікувалися радіоактивним йодом (всього 1 курс), виявлено через 5 та 4 роки після операції в одному випадку в групі ПК з наявністю реаранжованих онкогенів *RET/PTC* та *TRK* і в одному — у групі ПК без генетичних змін. Таким чином, лікування віддалених метастазів до легенів є більш складним та тривалим порівняно з метастазами до лімфатичних вузлів.

В цілому найбільшу кількість курсів радіоактивного йоду отримали хворі на ПК ЩЗ з індукцією реаранжованих онкогенів *RET/PTC* та *TRK*, найменшу — з мутаціями *BRAF^{V600E}* (див. рис. 3, в).

Таким чином, ПК ЩЗ з індукцією реаранжованих онкогенів *RET/PTC* та *TRK* є більш агресивними за інвазійними властивостями і потребують більш тривалого лікування радіоактивним йодом у післяопераційний період порівняно з ПК з наявністю мутацій *BRAF^{V600E}* та пухлинами без генетичних порушень.

1. Rosai J. Ackerman's Surgical Pathology. – 8th ed. – Ch. 9: Thyroid gland. – St. Louis: Mosby, 1996. – P. 493–588.
2. Nikiforov Y. E. Thyroid carcinoma: molecular pathways and therapeutic targets // Modern Pathology. – 2008. – 21. – P. S37–S43.
3. Thomas G. A. Update from Chernobyl tissue bank: effect of latency on different types of thyroid cancer post-Chernobyl // Radiation health risk sciences / Eds. M. Nakashima, N. Takamura, K. Tsukasaki et al. – Tokyo; Berlin; Heidelberg; New-York: Springer, 2009. – P. 34–42.
4. Salehian B., Liu Z. Genetic alterations in differentiated thyroid cancers // Endocr. Metab. Immune Disord. Drug. Targets. – 2009. – 9, No 3. – P. 257–268.
5. Musholt T. J., Musholt P. B., Khaladj N. et al. Prognostic significance of RET and NTRK1 rearrangements in sporadic papillary thyroid carcinoma // Surgery. – 2000. – 128, No 6. – P. 984–993.
6. Wang Y. L., Zhang R. M., Luo Z. W. et al. High frequency of level II–V lymph node involvement in RET/PTC positive papillary thyroid carcinoma // Eur. J. Surg. Oncol. – 2008. – 34, No 1. – P. 77–81.

7. Adeniran A. J., Zhu Z., Gandhi M. et al. Correlation between genetic alterations and microscopic features, clinical manifestations, and prognostic characteristics of thyroid papillary carcinomas // Amer. J. Sur. Pathol. – 2006. – **30**. – С. 216–222.
8. Kumagai A., Namba H., Saenko V. A. et al. Low frequency of BRAF^{Y1796A} mutations in childhood thyroid carcinomas // J. Clin. Endocrinol. and Metabol. – 2004. – **89**, No 9. – P. 4280–4284.
9. Kim T. Y., Kim W. B., Song J. Y. et al. The BRAF V600E mutation is not associated with poor prognostic factor in Korean patients with conventional papillary thyroid microcarcinoma // Clin. Endocrinol. – 2005. – **63**. – P. 588–593.
10. DeLellis R., Lloyd R., Heitz Ph., Eng Ch. Pathology and genetics of tumours of endocrine organs. WHO classification of tumours. – Lyon: IARC Press, 2004. – 320 p.
11. Thomas G. A., Williams E. D., Becker D. V. et al. Thyroid tumor banks // Science. – 2000. – **289**, No 29. – P. 2945–2948.
12. Воскобойник Л. Г. Онкогенна активація генів RET, BRAF та NTRK1 в доброякісних та злоякісних післячорнобильських пухлинах щитовидної залози // Ендокринологія. – 2007. – **12**, № 1. – С. 33–47.
13. Эпштейн Е. В., Матяшук С. И., Божок Ю. М. и др. Рак щитовидной железы: диагностика и послеоперационное лечение // Там само. – 2006. – **11**, № 1. – С. 109–118.
14. Чернышев С. В., Гулеватый С. В., Совенко Т. К., Эпштейн Е. В. Сравнительный анализ результатов первичного хирургического лечения папиллярных карцином щитовидной железы и данных послеоперационной сцинтиграфии с NaI-131 // Там само. – 2007. – **12**, № 2. – С. 208–217.

Державна установа “Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН України”, Київ

Надійшло до редакції 06.05.2010

L. G. Voskoboynyk, T. I. Bogdanova, S. V. Gulevaty,
Corresponding Member of the NAS of Ukraine **M. D. Tronko**

Interrelation between the presence of gene alterations and invasive characteristics of papillary thyroid carcinomas

The interrelation between the presence of gene alterations and the phenotype of papillary thyroid carcinomas (PTC) is studied. It is shown that papillary thyroid carcinomas with the induction of RET/PTC and TRK oncogenes were more aggressive by morphological signs of biological behavior than tumors with mutations BRAF^{V600E} and carcinomas without gene alterations. The presence of distant metastases in postoperative period in both lung and mediastinum was found only in RET/PTC- or TRK-positive PTC. The evaluation of the effectiveness of radioactive iodide therapy (the number of treatment's courses) revealed that the worse prognosis had PTCs with the presence of rearranged oncogenes.