

залежить не тільки від кваліфікації лікаря, його матеріально-технічного забезпечення та використання сучасних технологій діагностики та лікування, а й від інтервалу часу між постановкою діагнозу та зверненням пацієнта за хірургічною допомогою, а також стадії захворювання. На підставі аналізу 600 анкет хворих на катаракту встановлено, що в перший рік після постановки діагнозу за хірургічною допомогою звертається тільки 50% міських і 46% сільських хворих. Майже половина пацієнтів звертається за хірургічним лікуванням на пізніх стадіях захворювання, що не сприяє отриманню високих результатів. Для підвищення якості надання допомоги хворим катарактою необхідно широко інформувати населення про перші симптоми захворювання, оптимальні строки звернення за хірургічною допомогою, особливості перебігу та можливі ускладнення. При побудові моделі «лікар-пацієнт» необхідно враховувати не тільки сучасні можливості лікарів і потреби пацієнтів, але і роль їх інформованості в підвищенні якості медичної допомоги.

**Ключові слова:** інформатизація, катаракта, модель «хворий-лікар», якість медичної допомоги.

Стаття надійшла 4.05 2013 р.

only on doctor qualification, his material and technical provision and use of modern technologies of diagnostic and treatment, but also on the time interval between the patient is being diagnosed and time of surgical recourse, as well as on the stage of the disease itself. Based on analysis of 600 questionnaires of cataract patients, it has been established that during the first year after the patient is being diagnosed, only 50 % of the city and 46 % of country inhabitants are calling for surgical help. Almost a half of patients are asking for surgical treatment on the late stages of disease, that won't lead to higher results. For the increase of quality of medical care for cataract patients, it is essential to openly inform people about first symptoms of the disease, optimal terms of surgical help receiving, and peculiarities of disease flow and possible complications. While building “doctor-patient” model we need to take into account not only doctors' modern resources and needs of patients, but doctor's awareness of his role in the increasing of medical care quality.

**Key words:** informatization, cataract, “patient-doctor model”, quality of medical treatment.

Рецензент Катеринчук І.П.

УДК: 616.441-076.4:575.113

М.С. Кротевич, Гузь О.О., В.Т. Хонерія

Український науково-практичний центр ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин, м. Київ

## ВИЯВЛЕННЯ МУТАЦІЇ BRAF V600E ПІД ЧАС ПРОВЕДЕННЯ ТАПБ ВУЗЛІВ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

Мутація BRAF є специфічною для папілярного раку (ПР) щитовидної залози (ЩЗ) і корелює з інвазивністю. Визначення BRAF-мутації при проведенні тонкоголкової аспіраційної пункційної біопсії (ТАПБ) може підвищити точність цитологічного діагнозу у пацієнтів з вузловим зобом. Метою цього дослідження була оцінка можливості визначення BRAF-мутації на стандартно забарвлених цитологічних препаратах ТАПБ. Матеріалом для дослідження послужили 134 цитологічних препарату ТАПБ вузлів ЩЗ, забарвлених за методом Май-Грюнвальда-Гімза. З них за результатами цитологічного аналізу підозрілі і злоякісні склали 30 і 104 випадків відповідно. Після проведення патогістологічного дослідження доброякісні пухлини склали 10, а злоякісні - 124 випадки. У випадках з підозрілими цитологічними висновками ТАПБ BRAF-мутація була виявлена у 2/30 (6%) пацієнтів (2 ПРЩЗ). У випадках злоякісних ТАПБ BRAF-мутацію виявили у 47/104 (45,2%) хворих. Визначено значна кореляція мутації BRAF у цитологічних препаратах ТАПБ пухлин з ознаками екстраорганні інвазії і метастазами в лімфатичних вузлах. Таким чином, стандартно пофарбовані цитологічні препарати ТАПБ вузлів ЩЗ можна використовувати для виділення ДНК і оцінки мутації BRAF. Визначення даної мутації має обмежене значення в діагностиці злоякісності у випадках підозрілих ТАПБ. У випадках злоякісних ТАПБ виявлення мутації BRAF може бути корисним доповненням для визначення пухлин з високим ризиком екстраорганні інвазії і метастазів у передопераційний період.

**Ключові слова:** папілярний рак, BRAF-мутація, тонкоігольова аспіраційна пункційна біопсія.

*Робота являється фрагментом науково-дослідної роботи «Уніфікація та стандартизація методів морфологічної діагностики ендокринної системи» (№ державної реєстрації 0111U004094).*

Папілярний рак (ПР) щитоподібної залози (ЩЗ) є найпоширенішою формою злоякісних пухлин залози і складає понад 80% усіх випадків раку органа [12,21]. Більшість пацієнтів із ПР ефективно піддаються стандартній схемі лікування (тиреоедектомія та радіоїодтерапія), але у 20% хворих розвиваються рецидиви хвороби [5, 8-11, 17]. Обсяг первинної операції у лікуванні ПР значною мірою впливає на поопераційний прогноз. Наприклад, тиреоїдектомія, на відміну від лобектомії, сприяє зменшенню ризику пролонгації/рецидиву хвороби та смерті. З іншого боку, з тиреоїдектомією пов'язано підвищений ризик хірургічних ускладнень. Загально визнано, що дисекція шії з видаленням макроскопічно видимих метастазів зменшує ризик рецидиву ПР, проте профілактична центральна дисекція супроводжується більшим ризиком ускладнень, тому необхідність її проведення залишається дискусійною. Ці протиріччя значною мірою обумовлено неточністю в оцінці ризику агресивності раку щитоподібної залози (РЩЗ) на підставі клінічних даних у передопераційний період.

Наразі тонкоігольова аспіраційна пункційна біопсія (ТАПБ) вважається найбільш ефективним методом для морфологічної діагностики вузлових утворень ЩЗ. У більшості установ ТАПБ успішно застосовується як метод скринінгу вузлів ЩЗ, що вимагають хірургічного втручання [10]. Традиційно результати ТАПБ поділяють на чотири категорії: неінформативні, доброякісні, сумнівні та злоякісні. Ефективність даного методу для діагностики доброякісних і злоякісних випадків є досить високою. У сумнівних випадках ТАПБ діагноз раку за даними остаточного патогістологічного дослідження виставляється у 10-60% випадків [8]. Водночас можливості ТАПБ в оцінці агресивності ПРЩЗ (екстраорганні інвазії, метастази у лімфовузлах, стадія пухлини, агресивний гістологічний підтип) часто є обмеженими.

Передопераційне ультразвукове дослідження (УЗД) лімфатичних вузлів шії рекомендовано для всіх пацієнтів із злоякісними цитологічними висновками ТАПБ. Підозрілі лімфатичні вузли виявляються у 20-31% таких випадків, що обумовлює зміну обсягу хірургічного втручання у 20% пацієнтів. У передопераційний період визначаються лише 50% лімфатичних вузлів, решта виявляються у ході операції [1]. Очевидно, що існує

необхідність у додаткових методах стратифікації ризику, таких як виявлення молекулярних характеристик, пов'язаних із більшою агресивністю пухлини.

Мутацію BRAF поширено серед злоякісних пухлин людини, надто у меланомах і РЩЗ, де її частота складає 66-83% у [3]. Raf-кіназа є компонентом RAS→RAF→MEK→ERK/MAP-кіназного сигнального шляху, що відіграє ключову роль у регуляції росту клітин, їх поділу та проліферації [13, 18]. Онкогенні мутації BRAF часто виявляються у ПРЩЗ (близько 45%) і в деяких анапластичних РЩЗ [2-4, 6,7,14,15,19,20,22,24,26-29]. У наших попередніх дослідженнях встановлено залежність між наявністю мутації BRAF, клініко-морфологічними ознаками агресивності ПР, що включають екстраорганну інвазію, метастази у лімфатичних вузлах, гістологічний підтип, і несприятливим прогнозом захворювання [20]. За даними нещодавніх досліджень запропоновано виявлення мутації BRAF у передопераційний період на цитологічних препаратах ТАПБ як новий метод для визначення груп пацієнтів високого ризику із ПР.

**Метою** роботи було встановити можливості застосування рутинно забарвлених цитологічних препаратів ТАПБ для виділення ДНК та оцінки BRAFV600 мутації, а також оцінка ефективності даного методу у цитологічній діагностиці сумнівних ТАПБ і можливість ідентифікації пацієнтів із високим ризиком розвитку метастазів у групі з цитологічно діагностованим РЩЗ.

**Матеріал та методи дослідження.** Ретроспективно досліджено 134 цитологічні препарати пацієнтів, яким на базі Українського науково-практичного центру ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України виконано ТАПБ вузлів ЩЗ. Усі цитологічні препарати ТАПБ забарвлювали за методом Май-Грюнвальда-Гімзи (МГГ). Цитологічні висновки розподілено на дві категорії: сумнівні (30 випадків) і злоякісні (104 випадки). Усім пацієнтам виконано тиреоїдектомію і, за необхідності, центральну та/або латеральну дисекцію лімфатичних вузлів шиї. Гістологічний діагноз встановлено подвійним сліпим методом двома патологоанатомами (Хоперія В.Г. і Васько В.В.) згідно з гістологічною класифікацією пухлин ВООЗ 2004. Серед випадків із сумнівними цитологічними висновками ТАПБ після остаточного патогістологічного дослідження виявлено 5 фолікулярних аденом (ФА), 5 аденом із клітин Гюртля (АКГ), 10 фолікулярних раків (ФР) і 10 фолікулярних варіантів ПР (ФВПР). В усіх випадках із злоякісними висновками ТАПБ після остаточного гістологічного дослідження встановлено діагноз РЩЗ: 11 випадків ФВПР і 93 випадки класичного ПР. Виділення ДНК проведено з рутинно забарвлених цитологічних препаратів ТАПБ за допомогою комплекту для екстракції ДНК (Zymo Research, Ірвін, Каліфорнія, США) відповідно до процедури виробника. Після додавання буферу та протеїнази К матеріал інкубували за температури 55°C протягом 4 год. і за температури 98°C протягом 10 хвилин. Виділення ДНК проводили за стандартною методикою із застосуванням комплекту для чистки та екстракції ДНК (Zymo Research, Ірвін, Каліфорнія, США) відповідно до процедури виробника. Виявлення мутації BRAF V600E проведено за допомогою прямого секвестування геномної ДНК і колориметричного методу з використанням набору PCR Master Mix (SABiosciences, Фредерік, Меріленд, США). Статистичний аналіз проведено за допомогою SPSS програмного забезпечення, де вірогідними вважали результати із  $p < 0,05$ .

**Результати дослідження та їх обговорення. Оцінка кількості клітинного матеріалу для молекулярного тестування.** З метою оцінки можливого застосування виявлення мутації BRAF як доповнення до стандартного цитологічного аналізу ТАПБ досліджено ДНК на рутинно забарвлених цитологічних препаратах ТАПБ. Попередньо на цитологічних препаратах виявляли ділянки з високою щільністю клітин, що становлять інтерес для виділення ДНК. Кількість ДНК, що її оцінювали перед молекулярним тестуванням, коливалась від 1 мкг до 5 мкг. Якість ДНК оцінювали під час ПЛР-ампліфікації гена BRAF. На всіх цитологічних препаратах ТАПБ виявлено достатню якість ДНК, що дозволило застосувати менше від 35 циклів ампліфікації. **Виявлення мутації BRAF в сумнівних випадках ТАПБ.** З метою оцінки ефективності застосування виявлення мутації BRAF у цитологічній діагностиці сумнівних випадків ТАПБ вивчено цитологічні препарати ТАПБ 30 хворих із сумнівними висновками. За цитологічними критеріями сумнівні результати ТАПБ було розподілено на дві підгрупи: фолікулярна пухлина (20 випадків) і підозра на рак (10 випадків). Частоту мутації BRAF залежно від патогістологічного діагнозу наведено у табл. 1. У групі сумнівних ТАПБ BRAF-мутацію виявлено у 2/30 (6%) випадках (1 фолікулярний варіант ПР і 1 класичний варіант ПР). Обидва BRAF позитивні випадки було діагностовано як сумнівні за даними стандартного цитологічного аналізу. У жодному з цитологічних препаратів фолікулярної аденоми мутації BRAF не виявлено.

Таблиця 1

Результати виявлення мутації BRAF у сумнівних випадках ТАПБ				
Гістологія	Фолікулярна неоплазія (n=20)		Підозра на рак (n=10)	
	BRAF (+)	BRAF (-)	BRAF (+)	BRAF (-)
ФА (10)	0	9	0	1
ФР(5)	0	4	0	1
ФВПР(10)	0	7	1	2
ПР(5)	0	0	1	4

**Виявлення мутації BRAF у випадках із злоякісними висновками ТАПБ.** На цитологічних препаратах ТАПБ 104 пацієнтів із ПР виявляли мутацію BRAF та аналізували її зв'язок із клініко-морфологічними характеристиками пухлин. Мутацію BRAF виявлено у 43 (45%) із 93 випадків із класичним ПР і в чотирьох (36,3%) з 11 випадків фолікулярного варіанта ПР, що загалом склало 45,2%. Результати аналізу зв'язку між наявністю мутації BRAF, віком і статтю пацієнтів наведено у табл. 2.

Таблиця 2

**Результати оцінки впливу віку та статі пацієнтів із папілярним раком щитоподібної залози на частоту мутації BRAF**

	<b>BRAF (+) (n=47)</b>	<b>BRAF (-) (n=57)</b>	<b>p</b>
Вік на момент діагнозу, роки	42,4±13,3	40,3±17,3	0,49
Стать (м/ж)	8/39	13/44	0,62

Згідно з результатами однофакторного аналізу не було виявлено вірогідної кореляції між наявністю мутації BRAF V600E і віком або статтю пацієнта. Частота мутації BRAF істотно не відрізнялася серед пацієнтів віком на момент операції до 45 років і хворих віком 45 років і більше. Наявність мутації BRAF V600E було пов'язано з такими клініко-морфологічними параметрами, як розмір пухлини, багатофокусний ріст, екстраорганна інвазія та наявність метастазів у лімфовузлах. Частоту мутації BRAF V600E залежно від розміру пухлини наведено у табл. 3. Виявлено більшу частоту мутації BRAF V600E у пухлинах розміром 3 см і більше порівняно з пухлинами невеликих розмірів, але різниця не була статистично значущою.

Таблиця 3

**Зв'язок між наявністю мутації BRAF і розміром пухлини**

<b>Розмір пухлини</b>	<b>BRAF позитивні випадки</b>	<b>Всього</b>
1 см і менше	4	11
2-2,9 см	15	39
3-3,9 см	15	28
4 см і більше	13	24

Результати, що демонструють зв'язок між мутацією BRAF V600E і чинниками несприятливого прогнозу пухлин ЩЗ, наведено у табл. 4. Багатофокусний ріст частіше виявлявся у BRAF-позитивних, ніж у BRAF-негативних ПР, проте ця різниця не була вірогідною. Встановлено зв'язок між наявністю BRAF-мутації на цитологічних препаратах ТАПБ і чинниками негативного прогнозу (ознаки екстраорганної інвазії та метастази у лімфатичних вузлах), виявленими після патогістологічного дослідження операційного матеріалу тканини залози.

Таблиця 4

**Зв'язок між наявністю мутації BRAF і чинниками несприятливого прогнозу папілярного раку щитоподібної залози**

<b>Чинник</b>	<b>BRAF (+) (n=47)</b>	<b>BRAF (-) (n=57)</b>	<b>p</b>
Багатофокусний ріст	21 (44,6%)	16 (28,1%)	0,1
Екстраорганна інвазія	35 (74,4%)	24 (42,1%)	0,001
Метастази у лімфатичних вузлах	37 (78,7%)	28 (49,1%)	0,002

Результатами молекулярних досліджень продемонстровано зв'язок між мутацією BRAF і ПЩЗ. Експериментальні дослідження, у тому числі моделі на трансгенних мишах, показали здатність мутації BRAF сприяти агресивності та прогресуванню ПРЩЗ. За результатами кількісного багатовимірного аналізу, наявність мутації BRAF є незалежним чинником ризику пролонгації/рецидиву ПРЩЗ. У даному дослідженні оцінено можливість доповнення цитологічного аналізу аспіратів ТАПБ вузлів ЩЗ використанням рутинно забарвлених препаратів для генетичного тестування. Наші результати показали, що ДНК може бути успішно ізольована зі звичайно забарвлених цитологічних препаратів ТАПБ. Якість ДНК, виділеної із забарвлених препаратів, була належною для генетичного аналізу. Кількість виділеної ДНК була більшою порівняно із зазначеною у результатах тих досліджень, де нуклеїнові кислоти виділяли з матеріалу, що залишився у голці після ТАПБ. Наші результати дозволяють припустити, що цитологічне дослідження забарвлених препаратів може бути корисним для вибору ділянки з достатньою клітинністю для подальшого виділення ДНК. За даними попередніх досліджень припускали, що ідентифікація мутації BRAF в аспіратах ТАПБ вузлів ЩЗ може сприяти диференційній діагностиці доброякісних і злоякісних пухлин у випадках обмеженої ефективності стандартного цитологічного аналізу. Ми розглянули статус мутації BRAF у серії цитологічних препаратів, які після стандартного цитологічного дослідження класифіковано як сумнівні. Наші результати показали, що виявлення мутації BRAF мало обмежену діагностичну цінність у випадках із сумнівними цитологічними висновками ТАПБ. У пацієнтів із злоякісними цитологічними висновками мутацію BRAF було виявлено у 45% випадків.

Ці результати порівнянні з раніше опублікованими даними про поширеність BRAF у ПРЩЗ. Частота мутації BRAF у випадках фолікулярного варіанта ПР була більшою порівняно з попередніми даними. Слід зазначити, що лише 10 із 21 гістологічно підтверджених випадків ФВПР було діагностовано як злоякісні за результатами цитологічного дослідження. У майже 50% випадків ФВПР не було виявлено характерних для ПР ядерних ознак, аби встановити діагноз раку, і тому ці випадки класифікували як сумнівні або підозрілі на рак за даними цитологічного дослідження. Частота мутації BRAF у ФВПР, які були класифіковані як сумнівні за даними цитологічного дослідження, була низькою (1 із 10 випадків), що відповідає раніше опублікованим даним. Ці результати показали, що ФВПР із BRAF-мутацією мають більш виражені ядерні морфологічні особливості ПР порівняно з ФВПР без мутації BRAF.

Патологічні характеристики несприятливого прогнозу за ПРЩЗ, що підвищують ризик пролонгації/рецидиву хвороби та смерті (ознаки екстраорганної інвазії, метастази у лімфатичних вузлах, стадія

пухлини, агресивний гістологічний підтип), як правило, погано або зовсім не визначаються перед операцією. Численні дослідження ПРЦЗ у пацієнтів різних етнічних і географічних груп продемонстрували асоціацію мутації BRAF з агресивним перебігом захворювання. Результати даного дослідження показують, що на підставі виявлення мутації BRAF на цитологічних препаратах ТАПБ ПР, тобто на передопераційному етапі, дозволяє передбачити наявність чинників несприятливого прогнозу (ознаки екстраорганної інвазії, метастази у лімфатичних вузлах).

Загально визнано, що обсяг первинної операції з приводу ПР значною мірою впливає на рецидив захворювання. Оцінка ризику агресивності РЦЗ на підставі клінічних даних і тестування перед операцією може допомогти у виборі відповідної хірургічної тактики. Можливості УЗД у передопераційній оцінці агресивності хвороби за ПР часто обмежено, надто щодо виявлення метастазів у лімфатичних вузлах центрального відділу шії. Отже, новий параметр, а саме мутація BRAF, для передопераційної оцінки ризику може виявитися надзвичайно цінним у виборі оптимальної тактики лікування за ПРЦЗ.

#### Висновки

1. Доведено, що забарвлені цитологічні препарати ТАПБ вузлів ЦЗ можна використовувати для виділення ДНК та оцінки наявності мутації BRAF V600E.
2. Виявлення даної мутації має обмежене значення для діагностики злякисного процесу у випадках із сумнівними цитологічними висновками ТАПБ.
3. Виявлення мутації BRAF V600E у випадках злякисних ТАПБ може бути корисним для передопераційного визначення пухлин із високим ризиком екстраорганної інвазії та метастазів у лімфовузлах.

*Перспективи подальших досліджень. Розробка та впровадження протоколів морфологічних методів досліджень захворювань щитоподібної залози.*

#### Література

1. AACE/AAES medical/surgical guidelines for clinical practice: management of thyroid carcinoma. American Association of Clinical Endocrinologists. American College of Endocrinology // *Endocr. Pract.* - 2001. - Vol. 7, № 3. - P. 202-220.
2. Begum S. BRAF mutations in anaplastic thyroid carcinoma: implications for tumor origin, diagnosis and treatment / S. Begum, E. Rosenbaum, R. Henrique [et. al.] // *Mod. Pathol.* - 2004. - Vol. 17. - P. 1359-1363.
3. Cohen Y. BRAF mutation in papillary thyroid carcinoma / Y. Cohen, M. Xing, E. Mambo [et. al.] // *J. Natl. Cancer. Inst.* - 2003. - Vol. 95. - P. 625-627.
4. Cohen Y. Mutational analysis of BRAF in fine needle aspiration biopsies of the thyroid: a potential application for the preoperative assessment of thyroid nodules / Y. Cohen, E. Rosenbaum, D.P. Clark [et. al.] // *Clin. Cancer. Res.* - 2004. - Vol. 10. - P. 2761-2765.
5. Fonseca E. Prognostic factors in thyroid carcinomas / E. Fonseca, P. Soares, S. Rossi [et. al.] // *Verh. Dtsch. Ges. Pathol.* - 1997. - Vol. 81. - P. 82-96.
6. Fukushima T. BRAF mutations in papillary carcinomas of the thyroid / T. Fukushima, S. Suzuki, M. Mashiko [et. al.] // *Oncogene.* - 2003. - Vol. 22. - P. 6455-6457.
7. Fugazzola L. BRAF mutations in an Italian cohort of thyroid cancers / L. Fugazzola, D. Mannavola, V. Cirello [et. al.] // *Clin. Endocrinol. (Oxf.)* - 2004. - Vol. 61. - P. 239-243.
8. Gharib H. Fine-needle aspiration biopsy of thyroid nodules: advantages, limitations, and effect / H. Gharib // *Mayo Clin. Proc.* - 1994. - Vol. 69, № 1. - P. 44-49.
9. Gilliland F.D. Prognostic factors for thyroid carcinoma. A population-based study of 15,698 cases from the Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) program 1973-1991 / F.D. Gilliland, W.C. Hunt, D.M. Morris [et. al.] // *Cancer.* - 1997. - Vol. 79. - P. 564-573.
10. Heim M. La cytoponction a l'aiguille fine des nodules thyroïdiens. Valeur diagnostique et place dans la strategie therapeutique / Heim. M. [et al.] // *Rev. F. Endocrinol. Clin.* - 1984. - Vol. 25, № 1. - P. 37-42.
11. Hay I.D. Predicting outcome in papillary thyroid carcinoma: development of a reliable prognostic scoring system in a cohort of 1779 patients surgically treated at one institution during 1940 through 1989 / I.D. Hay, E.J. Bergstralh, J.R. Goellner [et. al.] // *Surgery.* - 1993. - Vol. 114. - P. 1050-1057.
12. Hundahl S.A. National Cancer Data Base report on 53,856 cases of thyroid carcinoma treated in the U.S., 1985-1995 / S.A. Hundahl, I.D. Fleming, A.M. Fremgen [et al.] // *Cancer.* - 1998. - Vol. 83. - P. 2638-2648.
13. Hilger R.A. The Ras-Raf-MEK-ERK pathway in the treatment of cancer / R.A. Hilger, M.E. Scheulen, D. Strumberg // *Oncology.* - 2002. - Vol. 25. - P. 511-518.
14. Kimura E.T. High prevalence of BRAF mutations in thyroid cancer: genetic evidence for constitutive activation of the RET/PTC-RAS-BRAF signaling pathway in papillary thyroid carcinoma / E.T. Kimura, M.N. Nikiforova, Z. Zhu [et al.] // *Cancer. Res.* - 2003. - Vol. 63. - P. 1454-1457.
15. Kim K.H. Mutations of the BRAF gene in papillary thyroid carcinoma in a Korean population / K.H. Kim, D.W. Kang, S.H. Kim [et al.] // *Yonsei Med. J.* - 2004. - Vol. 45. - P. 818-821.
16. LiVolsi V.A. Prognostic factors in well-differentiated thyroid cancer / V.A. LiVolsi, G. Fadda, Z.W. Baloch // *Rays.* - 2000. - Vol. 25. - P. 163-175.
17. Mazzaferri E.L. Long-term impact of initial surgical and medical therapy on papillary and follicular thyroid cancer / E.L. Mazzaferri, S.M. Jhiang // *Am. J. Med.* - 1994. - Vol. 97. - P. 418-428.
18. Mercer K.E. Raf proteins and cancer: B-Raf is identified as a mutational target / K.E. Mercer, C.A. Pritchard // *Biochim. Biophys. Acta.* - 2003. - Vol. 1653. - P. 25-40.
19. Namba H. Clinical Implication of hot spot BRAF mutation, V599E, in papillary thyroid cancers / H. Namba, M. Nakashima, T. Hayashi [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* - 2003. - Vol. 88. - P. 4393-4397.
20. Nikiforova M.N. BRAF mutations in thyroid tumors are restricted to papillary carcinomas and anaplastic or poorly differentiated carcinomas arising from papillary carcinomas / M.N. Nikiforova, E.T. Kimura, M. Gandhi [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* - 2003. - Vol. 88. - P. 5399-5404.
21. Paterson I.C. Thyroid cancer in Wales 1985-1996: a cancer registry-based study / I.C. Paterson, R. Greenlee, D. Adams Jones // *Clin. Oncol. (R. Coll. Radiol.)* - 1999. - Vol. 11. - P. 245-251.
22. Puxeddu E. BRAF(V599E) mutation is the leading genetic event in adult sporadic papillary thyroid carcinomas / E. Puxeddu, S. Moretti, R. Elisei [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* - 2004. - Vol. 89. - P. 2414-2420.
23. Sherman S.I. 3rd Prospective multicenter study of thyroid carcinoma treatment: initial analysis of staging and outcome. National Thyroid Cancer Treatment Cooperative Study Registry Group / S.I. Sherman, J.D. Brierley, M. Sperlberg // *Cancer.* - 1998. - Vol. 83. - P. 1012-1021.
24. Soares P. BRAF mutations and RET/PTC rearrangements are alternative events in the etiopathogenesis of PTC / P. Soares, V. Trovisco, A.S. Rocha [et al.] // *Oncogene.* - 2003. - Vol. 22. - P. 4578-4580.
25. Trovisco V. BRAF mutations are associated with some histological types of papillary thyroid carcinoma / V. Trovisco, I. Vieira de Castro, P. Soares [et al.] // *J. Pathol.* - 2004. - Vol. 202. - P. 247-251.

26. Xu X. High prevalence of BRAF gene mutation in papillary thyroid carcinomas and thyroid tumor cell lines / X. Xu, R.M. Quiros, P. Gattuso [et al.] // Cancer Res. – 2003. – Vol. 63. – P. 4561-4567.
27. Xing M. BRAF T1796A transversion mutation in various thyroid neoplasms / M. Xing, V. Vasko, G. Tallini [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2004. – Vol. 89. – P. 1365-1368.
28. Xing M. Early occurrence of RASSF1A hypermethylation and its mutual exclusion with BRAF mutation in thyroid tumorigenesis / M. Xing, Y. Cohen, E. Mambo [et al.] // Cancer Res. – 2004. – Vol. 64. – P. 1664-1668.
29. Xing M. Detection of BRAF mutation on fine needle aspiration biopsy specimens: a new diagnostic tool for papillary thyroid cancer / M. Xing, R.P. Tufano, A.P. Tufano [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2004. – Vol. 89. – P. 2867-2872.

## Реферати

### ВЫЯВЛЕНИЕ МУТАЦИИ V600E ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ТАПБ УЗЛОВ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Кротеви́ч М.С., Гузь О.О., Хоперия В.Г.

Мутация BRAF является специфической для папиллярного рака (ПР) щитовидной железы (ЩЖ) и коррелирует с инвазивностью. Определение BRAF-мутации при проведении тонкоигольной аспирационной пункционной биопсии (ТАПБ) может повысить точность цитологического диагноза у пациентов с узловым зобом. Целью настоящего исследования была оценка возможности определения BRAF-мутации на стандартно окрашенных цитологических препаратах ТАПБ. Материалом для исследования послужили 134 цитологических препарата ТАПБ узлов ЩЖ, окрашенных по методу Май-Грюнвальда-Гимза. Из них по результатам цитологического анализа подозрительные и злокачественные составили 30 и 104 случая соответственно. После проведения патогистологического исследования доброкачественные опухоли составили 10, а злокачественные – 124 случая. В случаях с подозрительными цитологическими выводами ТАПБ BRAF-мутация была обнаружена у 2/30 (6%) пациентов (2 ПРЩЖ). В случаях злокачественных ТАПБ BRAF-мутацию обнаружили у 47/104 (45,2%) больных. Определена значительная корреляция мутации BRAF в цитологических препаратах ТАПБ опухолей с признаками экстраорганной инвазии и метастазами в лимфатических узлах. Таким образом, стандартно окрашенные цитологические препараты ТАПБ узлов ЩЖ можно использовать для выделения ДНК и оценки мутации BRAF. Определение данной мутации имеет ограниченное значение в диагностике злокачественности в случаях подозрительных ТАПБ. В случаях злокачественных ТАПБ выявление мутации BRAF может быть полезным дополнением для определения опухолей с высоким риском экстраорганной инвазии и метастазов в предоперационный период.

**Ключевые слова:** папиллярный рак, BRAF-мутация, тонкоигольная аспирационная пункционная биопсия.

Статья надійшла 21.04.2013 р.

### DETECTION BRAFV600E MUTATION ON FINE NEEDLE BIOPSIES (FNAB) OF THYROID NODULES

Krotevich M., Guz O., Khoperiia V.

The BRAF<sup>V600E</sup> mutation is specific for thyroid papillary cancer (PTC) and correlates with PTCs invasiveness. Detection of BRAF<sup>V600E</sup> mutation on fine needle biopsies (FNAB) can improve accuracy of cytological diagnosis in patients with thyroid nodules. This study investigated whether detection of BRAF<sup>V600E</sup> mutation can be performed on routinely stained FNABs. Using this approach we examined if establishment of BRAF<sup>V600E</sup> mutation can 1) improve cytological diagnosis in cases of suspicious FNABs; and 2) could help in identification of patients at higher risk for metastatic disease in cases with malignant FNABs. One hundred thirty four FNABs samples stained by May-Grunwald/Geimsa technique were classified as suspicious (30 cases) or malignant FNABs (104 cases). Post-operative diagnoses were 10 benign and 124 malignant tumors. BRAF mutation was detected by PCR followed by sequencing. DNA was successfully extracted from all examined FNABs samples. In suspicious FNABs, BRAF<sup>V600E</sup> mutation was found in 2/30 (6%) of cases (2 PTC). In malignant FNABs, BRAF mutation was detected in 47/104 (45.2%) including 4 follicular variant of PTC and 43 typical PTCs. There was a significant association of BRAF mutation in preoperative FNAB specimens with the presence of extra-thyroidal extension and lymph node metastases. Stained FNAB specimens can be used for DNA extraction and assessment of BRAF mutation. Detection of BRAF mutation has a limited value in diagnosis of malignancy in cases of suspicious FNABs. In malignant FNABs, detection of BRAF<sup>V600E</sup> mutation could be a useful adjunct for preoperative identification of tumors with a high risk of extra-thyroidal extension and metastases.

**Key words:** papillary carcinoma, BRAF mutation, fine needle biopsies.

Рецензент Бобирьова Л.С.

УДК 616.12:616.44-053.2:615.838-846

Г. А. Мороз

Государственное учреждение «Крымский государственный медицинский университет  
им. С.И. Георгиевского», г. Симферополь

### ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ КВЧ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ЮНОШЕЙ С КАРДИАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ В УСЛОВИЯХ САНАТОРИЯ-ПРОФИЛАКТОРИЯ

В результате проведенных исследований у 36 юношей (16-17 лет) с кардиальной патологией неревматического генеза и сопутствующими изменениями щитовидной железы изучены (в сравнительном аспекте) функциональные перестройки в организме в процессе комплексного лечения с применением КВЧ-терапии в условиях санатория-профилактория. В результате комплексного лечения получен благоприятный эффект с улучшением состояния кардиогемодинамики, вегетативной регуляции сердечной деятельности, снижения процессов несогласованности вегетативной нервной системы.

**Ключевые слова:** КВЧ-терапия, кардиальная патология, юноши.

*Работа является фрагментом НДР "Использование физиотерапевтических факторов и ЛФК с учетом конституционального и генетического полиморфизма для повышения эффективности адаптации и реабилитации", № госрегистрации 0110U003984.*

Общеизвестно что, электромагнитное излучение крайне высокой частоты (ЭМИ КВЧ) обладает общим нервнорефлекторным и местным воздействием на организм. Активизирует кровообращение и обмен веществ. КВЧ-терапию относят к факторам, оказывающим противовоспалительное действие, улучшающим процессы охранительного торможения в коре головного мозга, с выраженным седативным и гипосенсебилизирующим влиянием [2,3,4]. Поэтому, учитывая механизм действия, ЭМИ КВЧ широко используют при лечении ряда заболеваний [1,2,5]. Лечебный эффект КВЧ-терапии возрастает при сочетании с другими лечебными факторами [5,6].