

Исследование мутаций в ткани основных видов опухолей щитовидной железы в первичном и метастатическом очагах

Зяблицкая Е.Ю.*, Асанова Э.Р., Зима Д.В., Максимова П.Е.

Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Россия

* evgu79@mail.ru

Ключевые слова: щитовидная железа, полиморфизм генов, злокачественная опухоль, соматические мутации, метастазы

Мотивация и цель. Злокачественные и доброкачественные опухоли щитовидной железы – это гистологически и генетически гетерогенная группа заболеваний, связанных с трансформацией клеток щитовидной железы, имеющих определенную мутационную нагрузку, которая недостаточно исследована в различных популяциях людей [1]. Однако исследование полиморфизмов генов опухолей представляет большой диагностический интерес для подбора терапии и оценки злокачественного потенциала ткани, а также изучения фундаментальных основ канцерогенеза [2]. Цель нашей работы – изучить особенности полиморфизмов генов щитовидной железы у пациентов при доброкачественных и злокачественных опухолях для клинически значимых мутаций в первичном и метастатическом очагах и выявить возможные закономерности.

Методы и алгоритмы. Исследован тканевой материал (стружка с FFPE-блоков) удаленных щитовидных желез 71 пациента в возрасте 20–60 лет (среднее значение 44.2 года) с верифицированными диагнозами: папиллярный рак (ПР) $n = 31$, фолликулярный вариант папиллярного рака (ФВПР) $n = 10$, фолликулярная аденома (ФА) $n = 16$, контрольная группа аутоиммунный тиреоидит (АИТ) $n = 14$. Для молекулярно-генетической диагностики использовали наборы реагентов «ДНК-Ткань-Ф» (выделение геномной ДНК) и наборы «Тест-BRAF-ткань», «Тест-KRAS-ткань» и «Тест-EGFR-ткань» (определение статуса мутаций в указанных генах) производителя ТестГен, Россия. Математический анализ осуществляли с использованием «MS Excel».

Результаты. При классическом папиллярном варианте ПР в 54 % случаев выявлены мутации искомых генов. В 58 % случаев клетки имеют мутации BRAF V600E, однако в 29 % случаев выявлены мутации в гене BRAF V600K, редко описываемые в литературе, а в 16 % случаев – мутации в гене KRAS (12 и 13 кодон); 35 % пациентов имеют сочетанные варианты мутаций.

Также интерес представляют мутации, выявленные в метастатических очагах папиллярных карцином: 32 % пациентов этой группы имели метастазы, при этом 40% пациентов с метастатическими поражениями не имели мутаций в первичном очаге, и также 40% имели мутации в тканях лимфогенных метастазов. В такой небольшой выборке встречались любые варианты конкордантности и дискордантности, когда в первичном очаге не было мутаций, а в метастазе мутация KRAS G12V, когда мутации были идентичны (чаще в гене BRAF), или отсутствовали в лимфогенных отсевах опухоли.

При ФВПР щитовидной железы мутации BRAF V600E и BRAF V600K обнаружены в 10 и 20 % случаев соответственно. Мутации в гене KRAS выявлены

как у пациентов с ФА (18 %), так и с ФВПК (20 %). Делеция в гене EGFR обнаружена в 1 случае ФВПП. Таким образом, ФВПП продемонстрировал более широкий спектр мутаций (BRAF, KRAS и EGFR), для ФА характерна только KRAS-мутация.

В образцах с АИТ без опухолевой патологии мутаций обнаружено не было.

Выводы: Таким образом, выявленные мутации указывают на закономерности опухолевой прогрессии и эволюционного развития популяций клеток первичного очага и метастазов, указывают на высокую мутационную нагрузку фолликулярных аденом, подчеркивая сложность биологии фолликулярных неоплазий щитовидной железы, указывают на вероятную эффективность терапии таргетными препаратами.

Финансирование: Исследование поддержано FZEG-2023-0009 «Изучение гетерогенности микроокружения опухоли как фактора ее агрессивности и резистентности к терапии», № 123030700011-4 от 07.03.2023.

Study of mutations in the tissue of the main types of thyroid tumors in primary and metastatic foci

Zyablitskaya E. *, Asanova E., Zima D., Maksimova P.

V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia

* evgu79@mail.ru

Key words: thyroid gland, gene polymorphism, malignant tumor, somatic mutations, metastases

Motivation and Aim. Malignant and benign thyroid tumors are a histologically and genetically heterogeneous group of diseases associated with the transformation of thyroid cells with a certain mutational load, which has not been sufficiently studied in various human populations [1]. However, the study of tumor gene polymorphisms is of great diagnostic interest for selecting therapy and assessing the malignant potential of tissue, as well as studying the fundamental principles of carcinogenesis [2]. The purpose of our work is to study the features of thyroid gene polymorphisms in patients with benign and malignant tumors for clinically significant mutations in the primary and metastatic foci and to identify possible patterns.

Methods and Algorithm. Tissue material (shavings from FFPE blocks) of removed thyroid glands of 71 patients aged 20–60 years (average value 44.2 years) with verified diagnoses was studied: papillary cancer (PC) $n = 31$, follicular variant of papillary cancer (FVPC) $n = 10$, follicular adenoma (FA) $n = 16$, control group autoimmune thyroiditis (AIT) $n = 14$. For molecular genetic diagnostics, we used the “DNA-Tissue-F” reagent kits (isolation of genomic DNA) and the “Test-BRAF-tissue”, “Test-KRAS-tissue” and “Test-EGFR-tissue” kits (determining the status of mutations in specified genes) manufacturer TestGen, Russia. Mathematical analysis was carried out using MS Excel.

Results. In the classic papillary variant of PC, mutations of the desired genes were identified in 54 % of cases. In 58 % of cases, the cells have BRAF V600E mutations, but in 29 % of cases mutations in the BRAF V600K gene, rarely described in the literature, were detected, and in 16% of cases – mutations in the KRAS gene (codons 12 and 13); 35 % of patients have combined variants of mutations.

Also of interest are the mutations identified in the metastatic foci of papillary carcinomas: 32 % of patients in this group had metastases, while 40% of patients with metastatic lesions did not have mutations in the primary lesion, and also 40% had mutations in the tissues of lymphogenous metastases. In such a small sample, there were any variants of concordance and discordance, when there were no mutations in the primary focus, and the KRAS G12V mutation in the metastasis, when the mutations were identical (usually in the BRAF gene), or were absent in the lymphogenous screenings of the tumor.

In the FVPC, BRAF V600E and BRAF V600K mutations are found in 10 and 20 % of cases, respectively. Mutations in the KRAS gene were identified in both patients with FA (18%) and FVPC (20 %). A deletion in the EGFR gene was found in 1 case of FVPC. Thus, FVPC demonstrated a wider range of mutations (BRAF, KRAS and EGFR), while FA was characterized only by the KRAS mutation. No mutations were found in samples with AIT without tumor pathology.

Conclusion: Thus, the identified mutations indicate patterns of tumor progression and evolutionary development of cell populations of the primary lesion and metastases, indicate a high mutational load of follicular adenomas, emphasizing the complexity of the biology of follicular neoplasia of the thyroid gland, and indicate the likely effectiveness of therapy with targeted drugs.

Funding: The study is supported by FZEG-2023-0009 “Study of the heterogeneity of the tumor microenvironment as a factor in its aggressiveness and resistance to therapy,” No. 123030700011-4 dated 03/07/2023.

Список литературы/References

1. Иванов А.А., Авдалян А.М., Гервальд В.Я. и др. Мутация BRAF V600E при папиллярном раке щитовидной железы, клиноморфологические параллели и прогноз. *Российский онкологический журнал*. 2017;22(1):15-20. doi 10.18821/1028-9984-2017-22-1-15-20
[Ivanov A.A., Avdalyan A.M., Gervald V.J. et al. 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. doi 10.18821/1028-9984-2017-22-1-15-20 (in Russian)]
2. Ромашенко П.Н., Майстренко Н.А., Криволапов Д.С., Симонова М.С. Молекулярно-генетические исследования в хирургии щитовидной железы. *Таврический медико-биологический вестник*. 2021;24(2):118-126
[Romashchenko P.N., Maistrenko N.A., Krivolapov D.S., Simonova M.S. Molecular-genetic testing in thyroid surgery. *Tavrisheskii Mediko-biologicheskii vestnik = Tauride Medical and Biological Bulletin*. 2021;24(2):118-126 (in Russian)]