

Диагностическая и прогностическая ценность наиболее распространенных мутаций при раке щитовидной железы

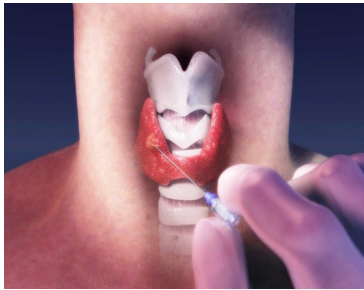
Авторы: П.А. Федорова, к.м.н., В.Д. Назаров, А.А. Мусаелян,

Научный руководитель: к.м.н., С.В. Лапин

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова»

Министерства здравоохранения РФ; г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого д. 6-8.

Введение



Рак щитовидной железы (РЩЖ) является **самым распространенным злокачественным новообразованием органов эндокринной системы**. Золотым стандартом диагностики является тонкоигольная аспирационная биопсия (ТАБ) с последующим цитологическим исследованием и интерпретацией результатов согласно классификации Bethesda.

Однако в 30-40% случаев достоверно подтвердить или исключить диагноз рак не представляется возможным. Недостатки стандартных методов диагностики диктуют поиск новых дополнительных методов, одним из них может стать **метод молекулярно-генетического тестирования**

Цель

Разработать генетическую панель для обнаружения диагностически значимых мутаций при раке щитовидной железы (РЩЖ)

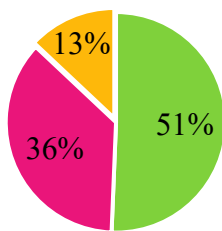
Материалы и методы

Собрана группа из 83 пациентов. Для всех были получены образцы ТАБ и для некоторых образцы гистологического исследования.

Пациенты разделены на 3 группы:

- 1) Пациенты только с цитологическим материалом - распределены на 3 подгруппы (Bethesda IV, Bethesda V, Bethesda VI) (группа «Цитология»)
- 2) Пациенты только с гистологическим материалом (группа «Гистология»)
- 3) Пациенты с обоими видами образцов (цитологическим и гистологическим) (группа «Цитология и гистология»)

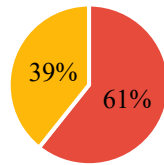
Структура пациентов



- Bethesda IV
- Bethesda V
- Bethesda VI

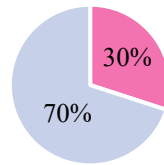
Результаты

Мутации в группе Bethesda VI



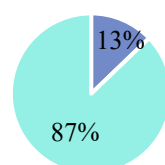
- BRAF (V600E) +
- Мутаций не обнаружено

Мутации в группе Bethesda V



- BRAF (V600E) +
- Мутаций не обнаружено

Мутации в группе Bethesda VI



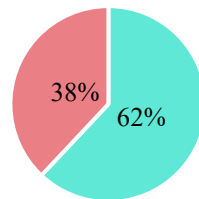
- NRAS (Q61R) +
- Мутаций не обнаружено

Мутация BRAF V600E была детектирована только в образцах Bethesda V-VI

Мутация в генах RAS выявлена только в гене NRAS Q61R в образцах Bethesda IV

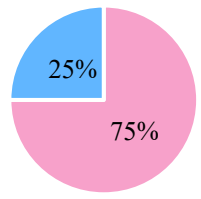
Все образцы отрицательны на мутации в генах KRAS, HRAS

Мутации гена BRAF в папиллярных карциномах



- BRAF (V600E) +
- BRAF (V600E) -

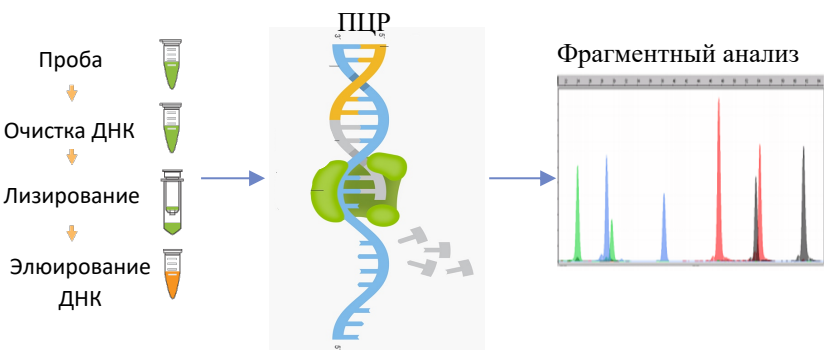
Мутации в группе «цитология и гистология»



- BRAF (V600E) +
- NRAS (Q61R) +

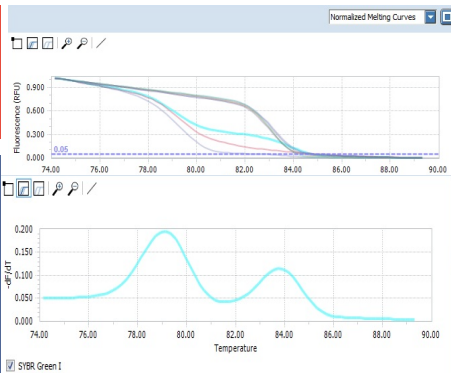
- Специфичность мутации BRAF^{V600E} – 100% для папиллярного РЩЖ
- Мутация NRAS^{Q61R} встретилась только в образцах фолликулярной аденомы
- Мутации выявлены в гистологических и в цитологических материалах

Метод мультитаргетной однонуклеотидной элонгации (МОЭ)



Метод аллель-специфической ПЦР с последующей постройкой кривой плавления

Все образцы, положительные на мутации с помощью метода МОЭ были подтверждены методом ПЦР



Метод МОЭ

- Основан на методе Сэнгера
- Возможность обнаружить до 10 точечных мутаций в одной пробе
- Высокая чувствительность (до 48 копий/мкл)

Выводы

- С помощью метода МОЭ удалось создать генетические панели с наиболее распространенными мутациями

BRAF	NRAS	KRAS	HRAS
V600E	61 кодон	12, 13, 61 кодоны	61 кодон

- 100% специфичность мутации BRAF^{V600E} позволяет считать ее **диагностическим маркером** для папиллярного РЩЖ
- С помощью аллель-специфической ПЦР с последующей постройкой кривой плавления **подтверждено обнаружение мутации BRAF^{V600E}**
- Мутации в генах RAS детектированы исключительно в образцах **фолликулярной аденомы**