УДК: 616.441-006.6-076

КОРРЕЛЯЦИЯ ЦИТОЛОГИЧЕСКИХ ЗАКЛЮЧЕНИЙ ПО СИСТЕМЕ БЕТЕСДА И РЕЗУЛЬТАТОВ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ НА МУТАЦИЮ BRAF V600E В ЖИДКОСТНОЙ ЦИТОЛОГИИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Ташматов Сухроб Абдурашидович – доктор
Мустафаев Дилшод Раббимович – доктор
Худайберганов Зафар Сафарбаевич – доктор
Хамидов Сирожиддин Юнусханович – доктор
Абдурайимов Фуркатжон Абдунахимович - доктор
ООО «Target-Med» (Ташкент, Узбекистан)

Аннотация. *Мутация BRAF V600E является высокоспецифичным маркером папиллярного рака щитовидной железы. Целью исследования была оценка частоты её выявления в зависимости от цитологической категории по Системе Бетесда (TBSRTC) при использовании методики жидкостной цитологии. Проведен ретроспективный анализ 27 случаев тонкоигольной аспирационной биопсии узлов щитовидной железы с жидкостной цитологией (Sure Path) и последующим молекулярно-генетическим тестированием на мутацию BRAF V600E методом ПЦР в реальном времени. Мутация была обнаружена в 5 (18,5%) из 27 случаев. Распределение положительных результатов по цитологическим категориям составило: TBS-III (AUS) — 3 случая (33%), TBS-IV (FN) — 1 случай (14%), TBS-V — 1 случай (50%). В категории TBS-II мутация не выявлена. Комбинация жидкостной цитологии по системе Бетесда и тестирования на BRAF V600E повышает точность диагностики, имея наибольшую клиническую значимость в категориях неопределенного значения (TBS-III) и подозрения на злокачественность (TBS-V), где положительный результат напрямую влияет на выбор хирургической тактики и необходимость таргетной терапии.*

Ключевые слова: *щитовидная железа, жидкостная цитология, система Бетесда, мутация BRAF V600E, папиллярная карцинома.*

CORRELATION BETWEEN BETHESDA SYSTEM CYTOLOGY REPORTS AND RESULTS OF GENETIC TESTING FOR THE BRAF V600E MUTATION IN THYROID LIQUID-BASED CYTOLOGY

Tashmatov Sukhrob Abdurashidovich – medical doctor
Mustafaev Dilshod Rabbimovich – medical doctor
Khudayberganov Zafar Safarbaevich – medical doctor
Khamidov Sirojiddin Yunuskhonovich – medical doctor
Abdurayimov Furkatjon Abdunakhimovich – medical doctor
Target-Med LLC (Tashkent, Uzbekistan)

Abstract. *The BRAF V600E mutation is a highly specific marker for papillary thyroid carcinoma. The aim of this study was to evaluate the frequency of its detection depending on the cytological category according to the Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology (TBSRTC) using liquid-based cytology (LBC). A retrospective analysis of 27 cases of fine-needle aspiration biopsy of thyroid nodules with liquid-based cytology (Sure Path) and subsequent molecular genetic testing for the BRAF V600E mutation by real-time PCR was performed. The mutation was detected in 5 (18.5%) out of 27 cases. The distribution of positive results by cytological categories was as follows: TBS-III (AUS) — 3 cases (33%), TBS-IV (FN) — 1 case (14%), TBS-V (Suspicious for malignancy) — 1 case (50%). No mutation was found in the TBS-II (Benign) category. The combination of Bethesda system liquid-based cytology and BRAF V600E testing improves diagnostic accuracy, demonstrating the highest clinical significance in the categories of undetermined significance (TBS-III) and suspicion for malignancy (TBS-V), where a positive result directly influences the choice of surgical strategy and the need for targeted therapy.*

Keywords: *thyroid gland, liquid-based cytology, Bethesda system, BRAF V600E, mutation, papillary carcinoma.*

BETESDA TIZIMI BO‘YICHA SITOLOGIK XULOSALAR VA BRAF V600E MUTATSIYASI UCHUN GENETIK TEST NATIJALARI O‘RTASIDAGI KORRELYATSIYA (QALQONSIMON BEZ SUYUQLIK ASOSIDAGI SITOLOGIYASIDA)

Tashmatov Suxrob Abdurashidovich – shifokor
Mustafaev Dilshod Rabbim o'g'li – shifokor
Khudayberganov Zafar Safarbayevich – shifokor
Khamidov Sirojiddin Yunusxonovich – shifokor
Abdurayimov Furqatjon Abdunaxim o'g'li - shifokor
MChJ "Target-Med" (Toshkent, O'zbekiston)

Annotatsiya. *BRAF V600E mutatsiyasi papillyar qalqonsimon bez saratonining o'ta o'ziga xos belgisidir. Ushbu tadqiqotning maqsadi suyuqlik asosidagi sitologiya usuli qo'llanganda, Bethesda Tizimi (TBSRTC) bo'yicha sitologik toifaga qarab uning aniqlanish chastotasini baholash edi. Qalqonsimon bez tugunlarining suyuqlik asosidagi sitologiya (Sure Path) usuli yordamida ingichka igna aspiratsion biopsiyasining 27 holati va keyingi real vaqtda PZR usuli bilan BRAF V600E mutatsiyasini molekulyar-genetik tekshiruvi retrospektiv tahlil qilindi. Mutatsiya 27 holatdan 5 tasida (18,5%) aniqlandi. Ijobiy natijalarning sitologik toifalar bo'yicha taqsimlanishi quyidagicha edi: TBS-III (AUS) — 3 holat (33%), TBS-IV (FN) — 1 holat (14%), TBS-V (Xavfli) — 1 holat (50%). TBS-II (Xavfsiz) toifasida mutatsiya aniqlanmadi. Bethesda tizimi bo'yicha suyuqlik asosidagi sitologiya va BRAF V600E testini birlashtirish diagnostik aniqlikni oshiradi, bu esa noaniq ahamiyatga ega (TBS-III) va xavfli (TBS-V) toifalarida eng yuqori klinik ahamiyatga ega bo'lib, bu erda ijobiy natija jarrohlik strategiyasini tanlash va nishonli terapiya zaruratiga bevosita ta'sir etadi.*

Kalit so'zlar: *qalqonsimon bez, suyuqlik asosidagi sitilogiya, Bethesda sistemasi, BRAF V600E, mutatsiya, papillyar cartsinoma.*

Введение.

Узловые образования щитовидной железы являются распространенной клинической проблемой, выявляемой у 19-68% взрослого населения при ультразвуковом скрининге [1]. Основным методом их дооперационной диагностики является тонкоигольная аспирационная биопсия (ТАБ) под контролем УЗИ. Для унификации интерпретации результатов цитологического исследования была разработана Международная система цитологической отчетности щитовидной железы (The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology – TBSRTC), которая категоризирует findings по шести диагностическим группам, каждой из которых соответствует определенный риск злокачественности [2]. Однако в категориях неопределенного значения (TBS-III, AUS/FLUS) и фолликулярного новообразования (TBS-IV, FN) сохраняется диагностическая неопределенность, что создает сложности в определении дальнейшей тактики ведения пациентов.

Мутация V600E в гене BRAF встречается примерно в 40-60% случаев папиллярного рака щитовидной железы (ПРЩЖ) и является его высокоспецифичным маркером, достигая 99.8% [3]. Ее детекция в материале ТАБ позволяет повысить диагностическую точность, особенно в сомнительных случаях, и определить показания к таргетной терапии на поздних стадиях заболевания. Современные руководства рекомендуют использование молекулярных тестов для стратификации риска у пациентов с неопределенными цитологическими заключениями [4].

Жидкостная цитология (ЖЦ) улучшает качество препаратов за счет стандартизации процесса приготовления, уменьшения количества артефактов и наличия крови, а также предоставляет сохраненный клеточный материал для последующих молекулярно-генетических исследований [5]. Целью настоящего исследования явился анализ частоты выявления мутации BRAF V600E в зависимости от цитологической категории по системе Бетесда при использовании метода жидкостной цитологии.

Материал и методы.

В ретроспективное одноцентровое исследование включены 27 пациентов с узловыми образованиями щитовидной железы, проходивших обследование в период с мая по октябрь 2025 года. Всем пациентам была выполнена ТАБ под контролем УЗИ аппаратом высокого разрешения. Полученный материал переносили в стабилизирующий раствор BD SurePath™ для приготовления препаратов жидкостной цитологии. Цитологические исследования проводили на аппарате CitoTech Sakura (Япония), окрашивали по Папаниколау.

Цитологическая диагностика и верификация проводилась двумя независимыми цитологами в соответствии с актуальной редакцией системы Бетесда (TBSRTC, 2023) [2]. Для всех случаев было проведено молекулярно-генетическое исследование на основе того же жидкостного материала для выявления точечной мутации V600E (c.1799T>A, p.Val600Glu) в гене BRAF методом ПЦР в реальном времени (Real-Time PCR) с использованием аллель-специфичных зондов. Для исследования использовали ПЦР аппарат Gentier 96 TIANLONG (Китай). Статистический анализ проводился с использованием методов описательной статистики (абсолютные и относительные частоты) в программе Microsoft Excel 365.

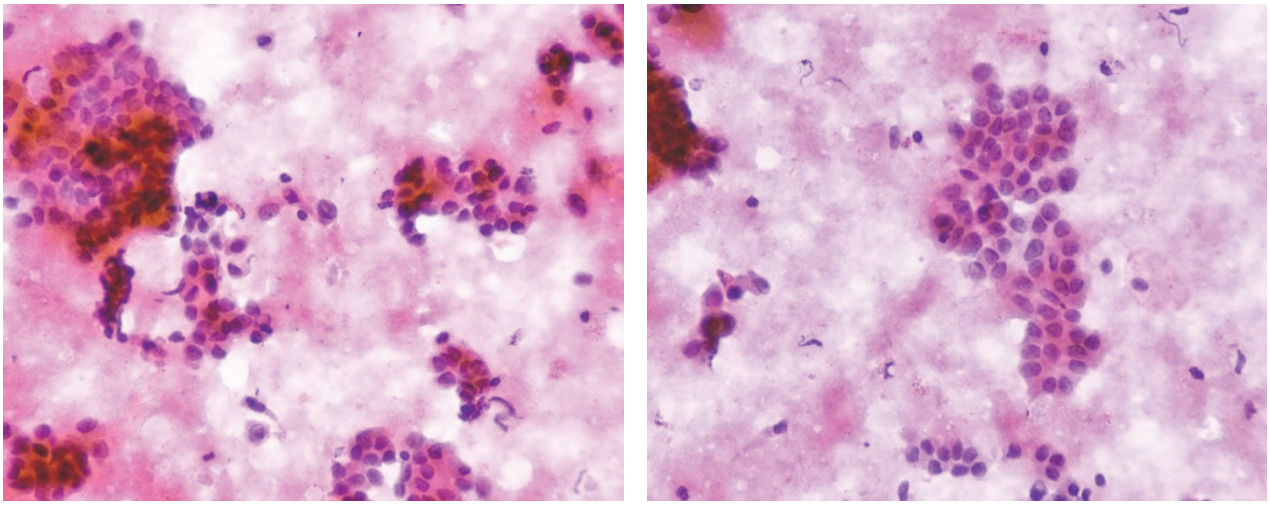


Рисунок 1. **Цитологическая картина папиллярного рака щитовидной железы в препарате жидкостной цитологии (образец № LC472-25 окраска по Папаниколау, ув. х400).**

Примечание: демонстрируются характерные признаки: ядерные борозда и интрануклеарные псевдовключения.

Результаты и их обсуждение.

Среди 27 исследованных случаев распределение по цитологическим категориям Бетесда было следующим (Таблица 1):

Таблица 1.

Распределение случаев и частота выявления мутации BRAF V600E по категориям Bethesda

Категория Bethesda	Количество случаев (n, %)	BRAF V600E+ (n, %)
TBS-II (Доброкач.)	9 (33,3%)	0 (0%)
TBS-III (AUS)	9 (33,3%)	3 (33,3%)
TBS-IV (FN)	7 (25,9%)	1 (14,3%)
TBS-V (Подозр. на малиг.)	2 (7,4%)	1 (50%)
Всего	27 (100%)	5 (18,5%)

• **TBS-II (доброкачественные):** 9 случаев (33,3%). Во всех этих случаях мутация BRAF V600E не была обнаружена (генотип T/T). Это согласуется с низким риском злокачественности данной категории (0-3% по данным TBSRTC [2]) и подтверждает высокую отрицательную прогностическую ценность молекулярного теста в этой группе.

• **TBS-III (AUS – атипия неопределенного значения):** 9 случаев (33,3%). В 3 из 9 случаев (33,3%) была обнаружена гетерозиготная мутация BRAF V600E (генотип T/A). Данный результат имеет высокую клиническую значимость, так как категория TBS-III традиционно представляет наибольшие диагностические трудности и имеет вариабельный риск малигнизации (10-30%) [2]. Обнаружение высокоспецифичной мутации в трети случаев позволило перевести этих пациентов в группу высокого риска и обосновать необходимость оперативного лечения, избежав повторной биопсии или длительного наблюдения.

• **TBS-IV (FN – фолликулярное новообразование):** 7 случаев (25,9%). В 1 из 7 случаев (14,3%) была выявлена мутация BRAF V600E. Это указывает на возможность наличия фолликулярного варианта ПРЩЖ, который цитологически сложно дифференцировать от фолликулярной аденомы. Данный результат подчеркивает дополнительную ценность молекулярного тестирования для данной категории, хотя его частота ниже, чем в TBS-III и TBS-V, что согласуется с литературными данными [6].

• **TBS-V (подозрение на злокачественность):** 2 случая (7,4%). В 1 из 2 случаев (50%) была обнаружена мутация BRAF V600E. В данном случае положительный результат генетического теста стал решающим аргументом в пользу диагноза ПРЩЖ до операции, что критически важно для планирования объема хирургического вмешательства (тиреоидэктомия vs гемитиреоидэктомия).

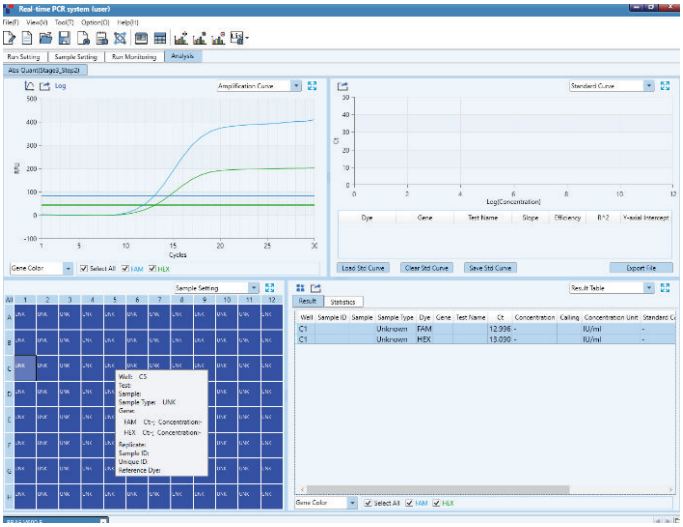


Рисунок 2. **Результат ПЦР в реальном времени для детекции мутации BRAF V600E**

Примечание: на графике кривых плавления (melting curves) пик при более низкой температуре соответствует мутантному аллелю (T/A – гетерозигота, образец № LC472-25).

Таким образом, общая частота обнаружения мутации BRAF V600E в нашей выборке составила 18,5% (5/27). Полученные данные демонстрируют четкую корреляцию между повышением цитологической категории по Бетесда и увеличением вероятности обнаружения онкогенной мутации. Наши результаты согласуются с данными других исследований, подчеркивающих роль молекулярных маркеров в разрешении диагностических сомнений при неопределенных цитологических заключениях [4, 6].

Заключение (выводы).

Комбинированное использование жидкостной цитологии с классификацией по системе Бетесда и молекулярно-генетического тестирования на мутацию BRAF V600E является высокоинформативным и практичным подходом в диагностике узловых образований щитовидной железы, позволяя использовать один забор материала для двух видов исследований.

1. Молекулярный тест обладает наибольшей клинической значимостью для ведения пациентов с цитологическими заключениями категорий TBS-III (AUS) и TBS-V (подозрение на малигнизацию). Положительный результат позволяет значительно снизить диагностическую неопределенность, перевести пациента в группу высокого риска и определиться с радикальной тактикой хирургического лечения.

2. Выявление мутации BRAF V600E в материале ТАБ не только повышает точность дооперационной диагностики, но и открывает возможности для планирования таргетной терапии ингибиторами BRAF в случае распространенного или метастатического процесса.

3. Отсутствие мутации в категориях с низким риском (TBS-II) подтверждает высокую специфичность метода и может служить дополнительным аргументом в пользу выбора наблюдательной тактики.

ЛИТЕРАТУРА

1. Haugen B.R., Alexander E.K., Bible K.C., et al. 2015 American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with a Thyroid Nodule and Differentiated Thyroid Cancer. Thyroid. 2016;26(1):1-133. DOI: 10.1089/thy.2015.0020.

2. Ali S.Z., Baloch Z.W., Cochand-Priollet B., Schmitt F.C., Vielli P., Clark D.P. The 2023 Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology. Thyroid. 2023;33(9):1039-1044. DOI: 10.1089/thy.2023.0141.

3. Xing M., Alzahrani A.S., Carson K.A., et al. Association between BRAF V600E mutation and mortality in patients with papillary thyroid cancer. JAMA. 2013;309(14):1493-1501. DOI: 10.1001/jama.2013.3190.

4. Patel K.N., Angell T.E., Babiarz J., et al. Performance of a Multigene Genomic Classifier in Thyroid Nodules with Indeterminate Cytology: A Prospective Blinded Multicenter Study. JAMA Oncol. 2019;5(2):204-212. DOI: 10.1001/jamaoncol.2018.4616.

5. Rossi E.D., Pantanowitz L., Hornick J.L. A worldwide journey of thyroid cancer incidence centred on tumour histology. Lancet Diabetes Endocrinol. 2021;9(4):193-194. DOI: 10.1016/S2213-8587(21)00049-8.

6. Nikiforov Y.E., Steward D.L., Robinson-Smith T.M., et al. Molecular testing for mutations in improving the fine-needle aspiration diagnosis of thyroid nodules. J Clin Endocrinol Metab. 2009;94(6):2092-2098. DOI: 10.1210/jc.2009-0247.