



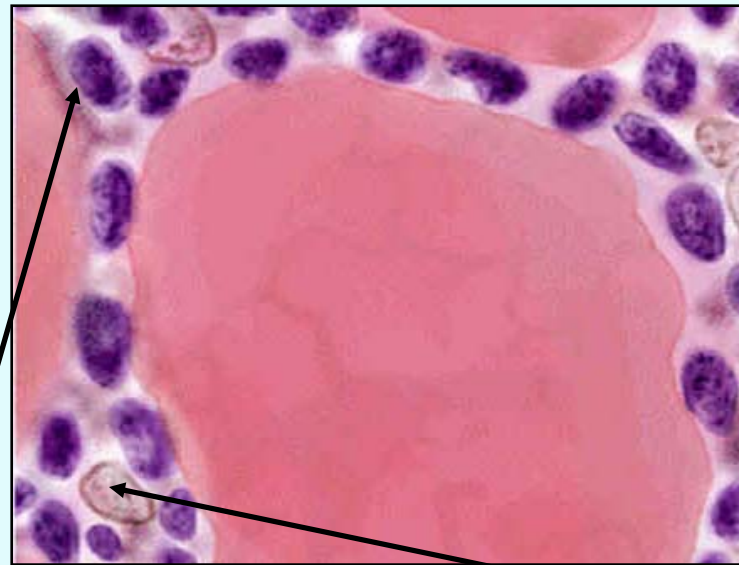
Diagnostika genetických změn u papilárního karcinomu štítné žlázy

Vlasta Sýkorová

Oddělení molekulární endokrinologie

Endokrinologický ústav, Praha

Nádory štítné žlázy



folikulární buňka

parafolikulární buňka

papilární
(PTC)

folikulární
(FTC)

anaplastický
(ATC)

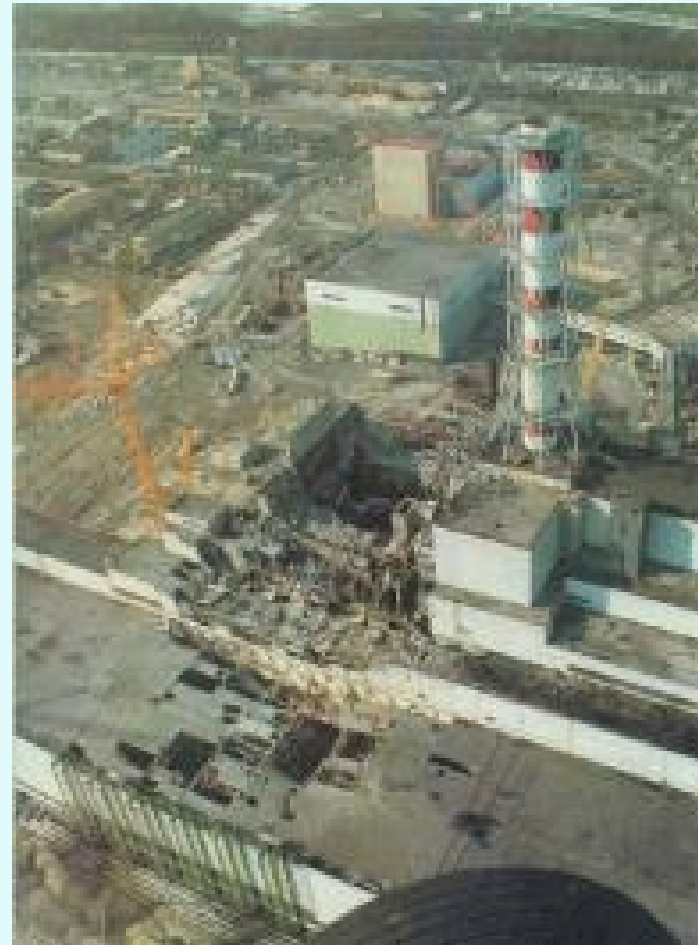
medulární
(MTC)

Papilární karcinom

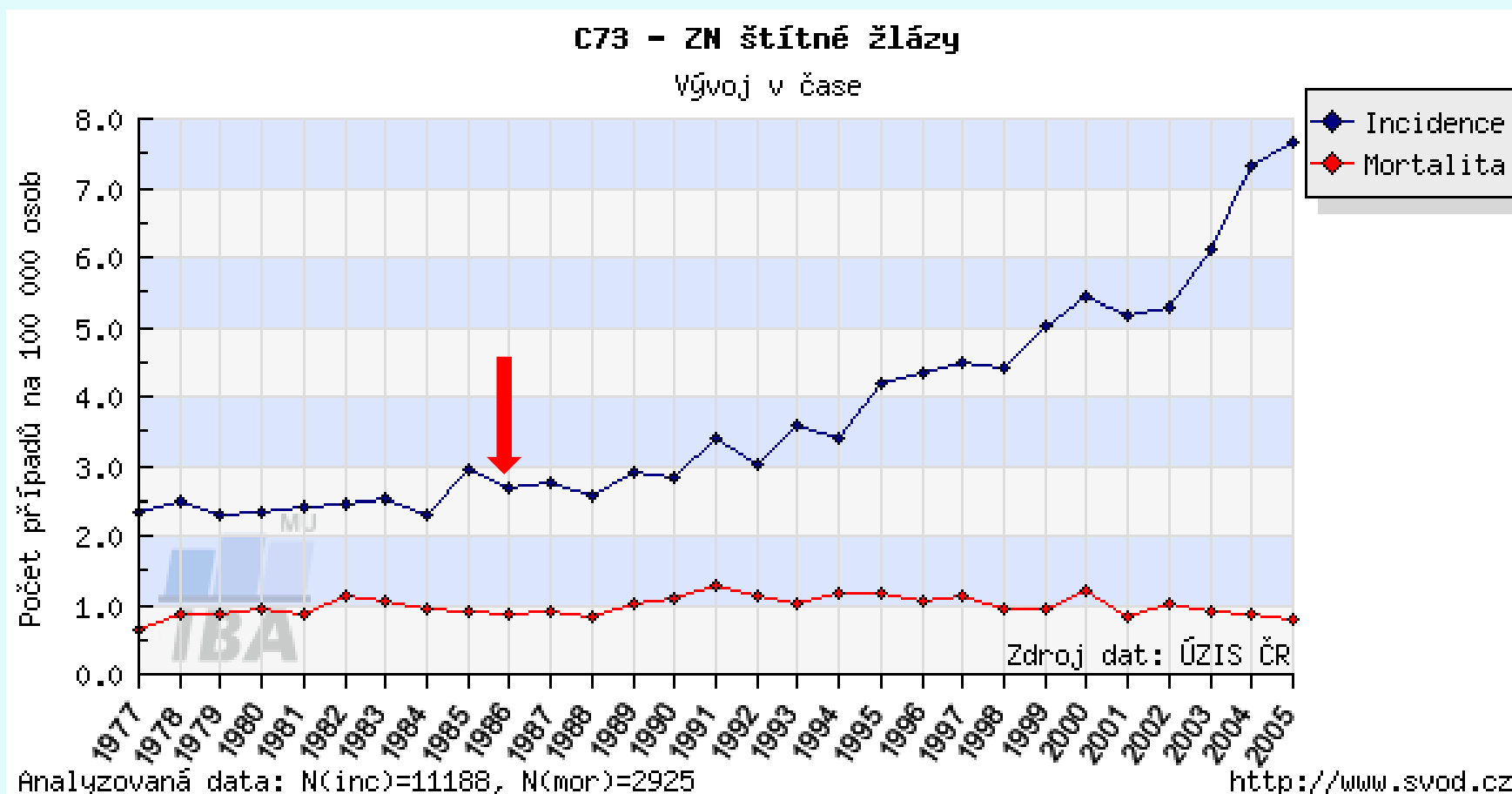
- Nejčastější karcinom štítné žlázy (80-85 %)
- 4. – 6. dekáda
- Nízká agresivita
- Lokální růst nebo infiltrativní šíření do tkání a okolních orgánů
- Časté metastázy v regionálních lymfatických uzlinách, vzdálené metastázy vzácně (plíce)
- Příznivá prognóza (80-95% pacientů přežívá déle než 10 let)

Černobylská havárie

- 26. duben 1986
- Zvýšený výskyt PTC
- Radioaktivní jód
- Vliv ionizujícího záření
 - Zlomy v DNA
 - Trvalá genomická instabilita



Incidence nádorů štítné žlázy v ČR

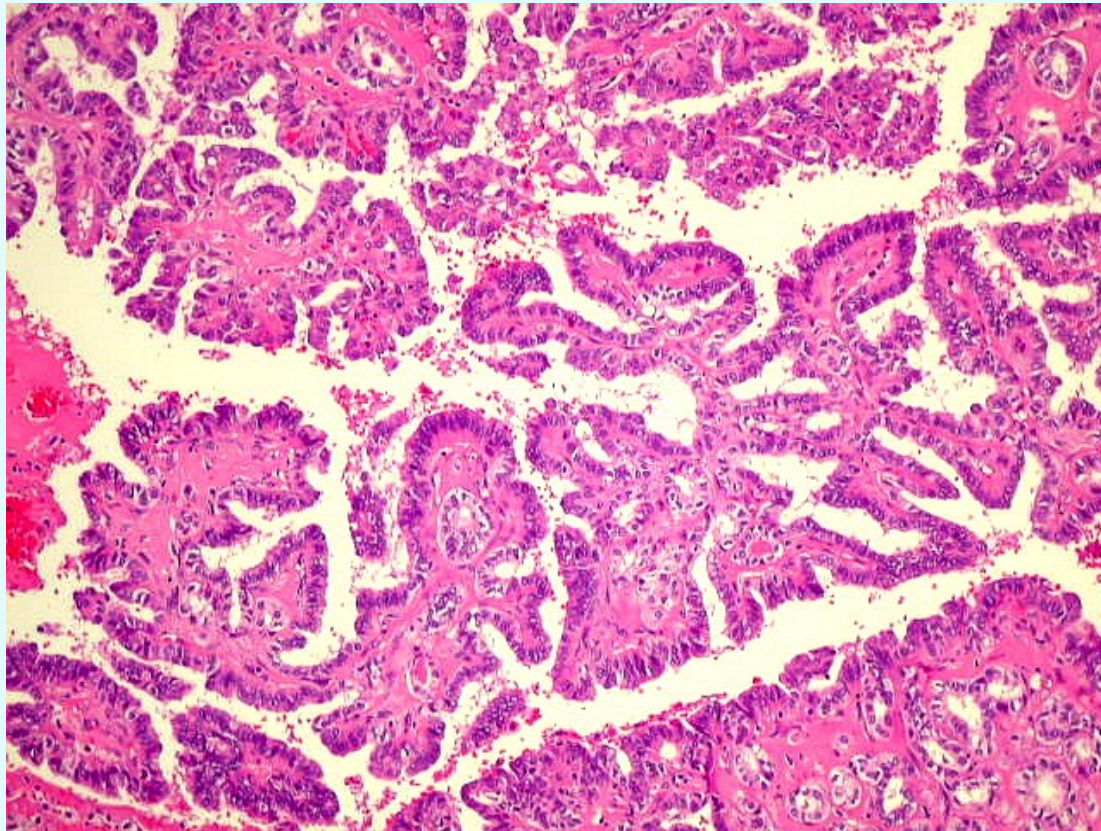


Diagnostika PTC

- Laboratorní vyšetření hladin thyreoidálních hormonů a/nebo jejich volných frakcí (T3,T4,fT3,fT4,TSH)
- Sonografie štítné žlázy
- Aspirační biopsie tenkou jehlou - cytologické vyšetření
- Pooperační histologické vyšetření

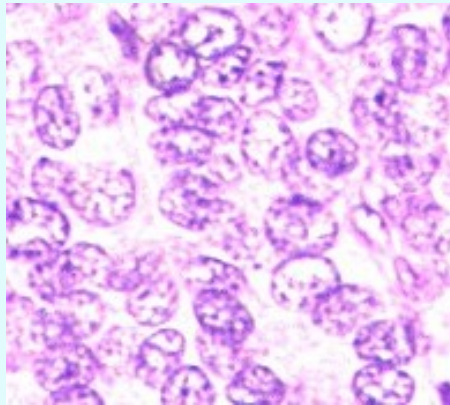
Diagnostika PTC

➤ Papilární struktura



Typické jaderné znaky PTC

Matnicová jádra



Psamomatózní tělíčka



Intranukleární inkluze

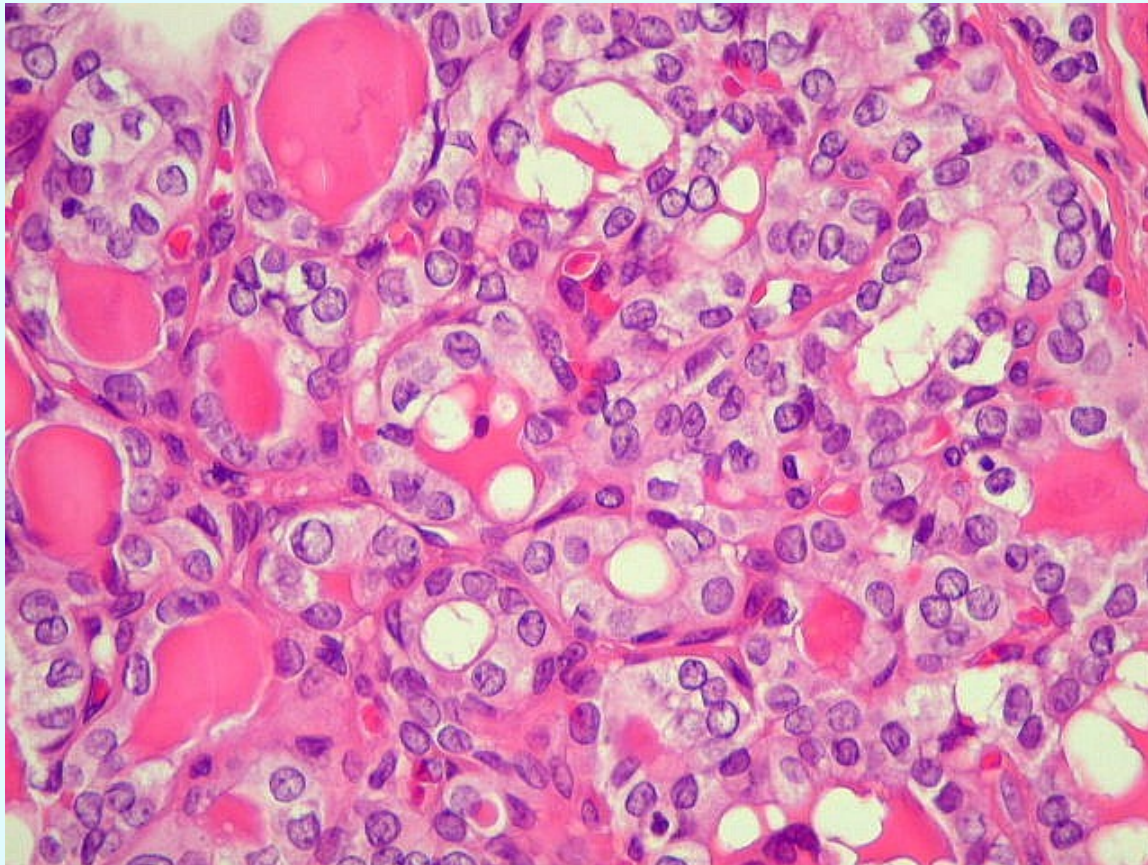


Jaderné zářezy



Folikulární varianta PTC

- Jaderné znaky PTC + folikulární růst



Terapie PTC

- Lobektomie, subtotální a totální tyreoidektomie
- Radioaktivní jód ^{131}I
- Hormonální supresivní léčba L-thyroxinem
- Doživotní dispenzarizace

***BRAF* proto-onkogen**

- Nejčastější mutace (29 – 83%) u PTC
- Cytoplasmatická serin/threoninová proteinkináza
- Buněčná proliferace, diferenciaci a programovaná buněčná smrt
- RET-RAS-RAF-MEK-MAPK signalizační dráha
- Substituce T1799A v 15. exonu (Val600Glu)
- Zvýšení aktivity BRAF, která je nezávislá na RAS stimulaci
- Agresivnější forma nádoru, horší prognóza, lokální metastázy

Cíl

- Zjištění výskytu *BRAF* mutace v české populaci
- Porovnání genotypu s fenotypem
- Retrospektivní studie pro zjištění vlivu černobylské havárie na vývoj PTC v České republice

Studovaný materiál

- Čerstvé zamražené tkáně PTC pacientů z ORL 2.LF UK a FN Motol
- Parafinové bločky
 - Fingerlandův ústav patologie, Hradec Králové
 - Ústav patologie 1.LF UK, Praha
 - Ústav patologie LF UP, Olomouc
- Vzorky biopsií z Endokrinologického ústavu

Soubor

Papilární karcinom (249):

- čerstvé tkáně – 100
- parafinové bločky – 141
- biopsie – 8

Medulární karcinom (20):

- čerstvé tkáně – 5
- parafinové bločky - 15

Detekce *BRAF* mutace

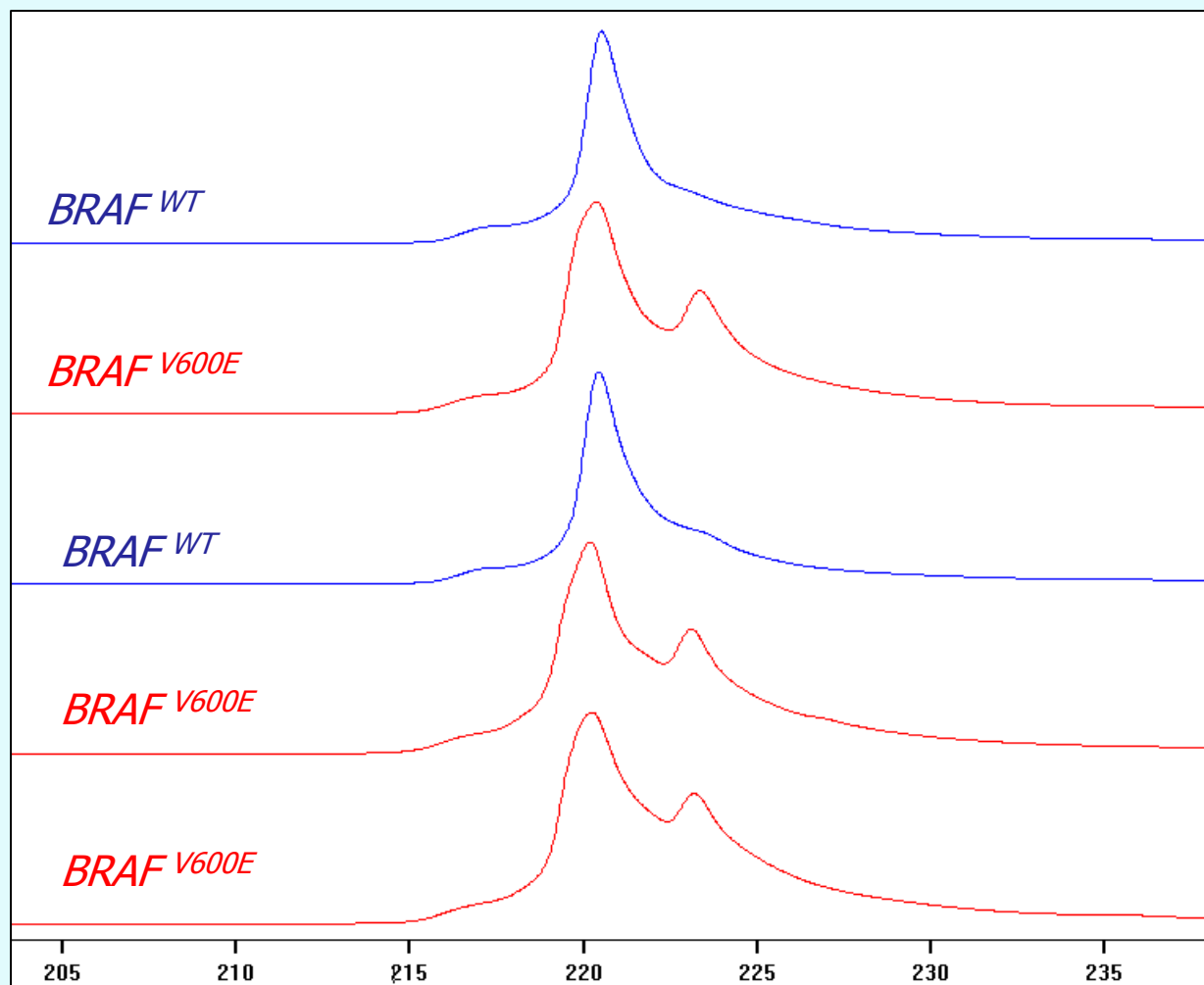
Izolace DNA:

- Trizolová izolace DNA (biopsie, čerstvé tkáně)
- QIAamp DNA Blood Mini Kitu (parafinové bločky)

Detekce mutace:

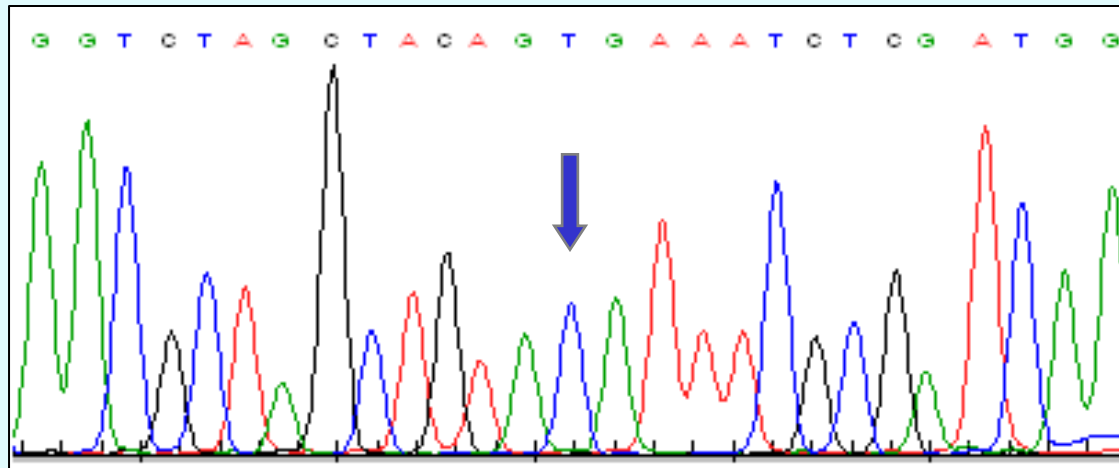
- PCR
- SSCP (single strand conformation polymorphism)
- Přímá fluorescenční sekvenace (gelová, kapilární) (CEQ 8000, Beckman Coulter)

SSCP detekce

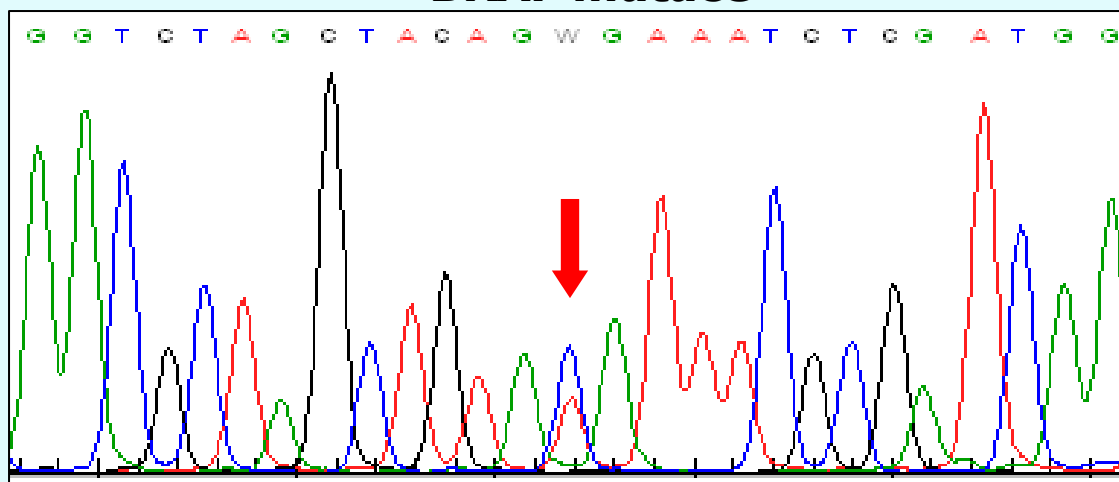


Sekvenace *BRAF* mutace

Bez mutace



BRAF mutace



Klinicko-patologické parametry

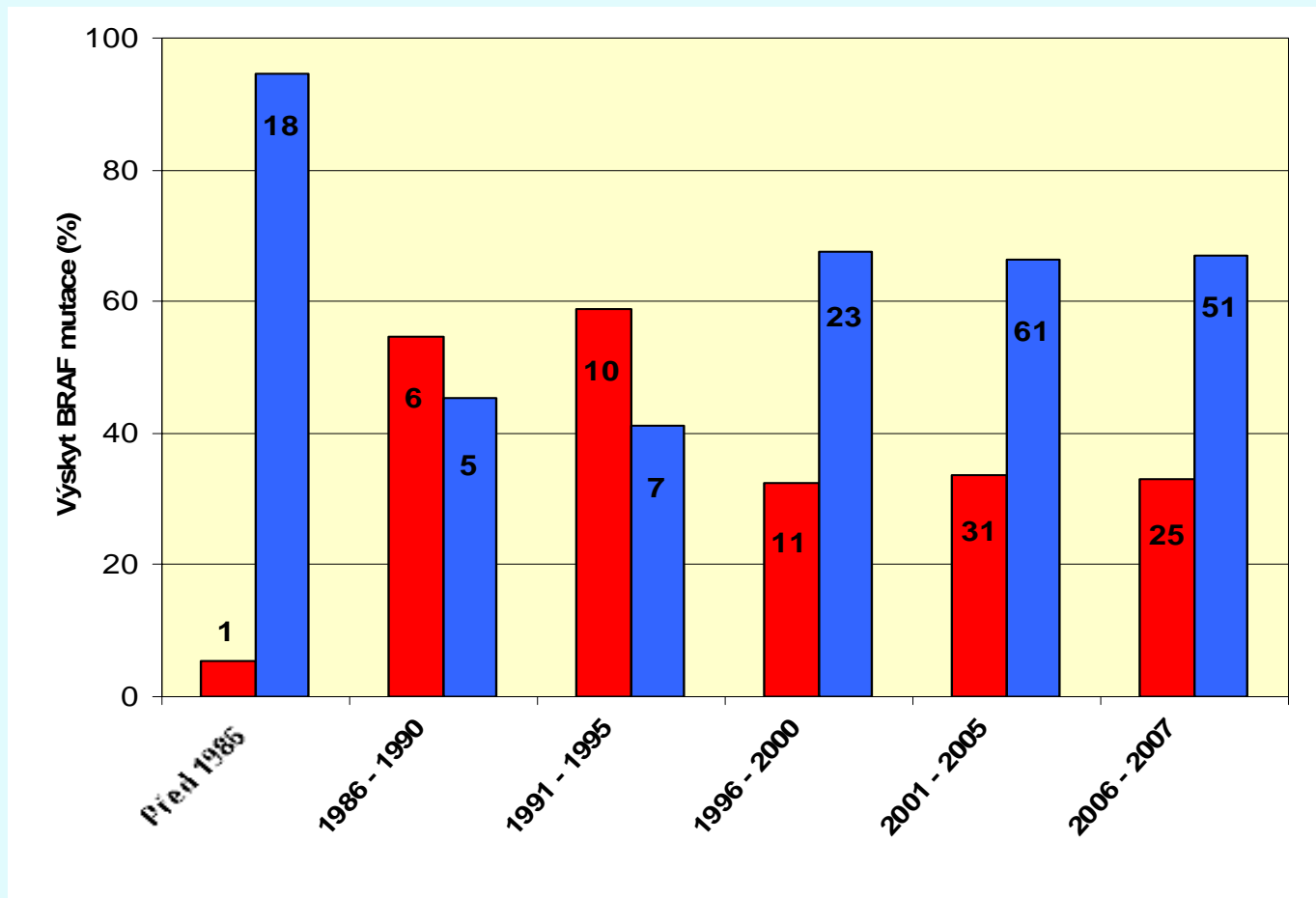
- Pohlaví
- Věk
- Velikost nádoru
- Varianty PTC
- Invaze
- Metastázy v lymfatických uzlinách
- Multifokalita
- Opouzdření nádoru
- Angioinvaze

Výsledky

- *BRAF* mutace u 84 z 249 PTC (33,7 %)
- Jeden homozygot, ostatní heterozygoti
- Větší velikost nádoru u pacientů s *BRAF* mutací ($p=0,038$)
- Vyšší věk u pacientů s *BRAF* mutací ($p=0,068$)
- MTC - žádná mutace

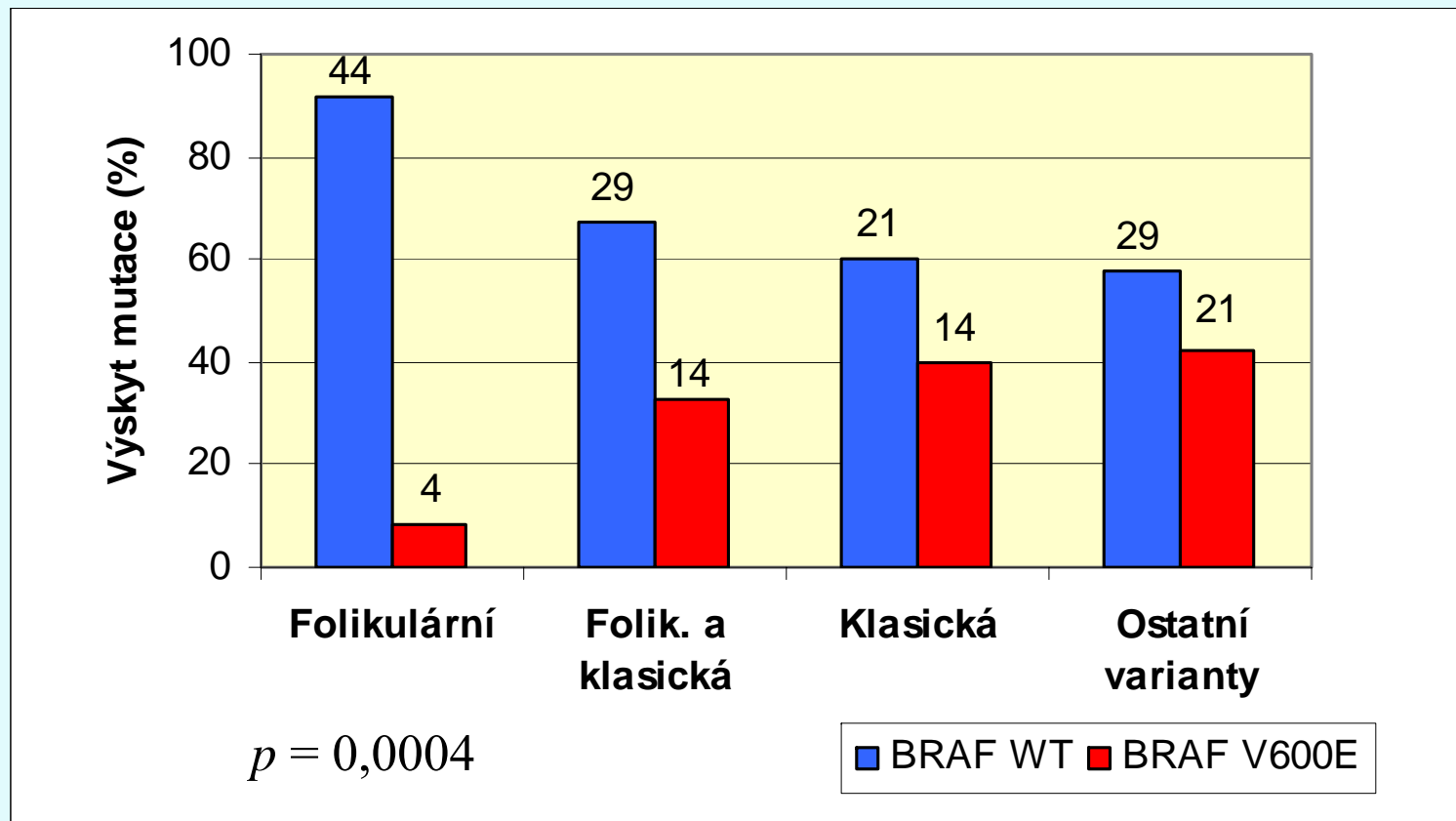
Výskyt *BRAF* mutace

- Před černobylskou havárií – 5,3 %
- Po roce 1986 – 36,1 %



***BRAF* mutace u variant PTC**

- Vzácná u folikulární varianty



Závěr

- *BRAF* mutace nalezena u 33,7 % PTC
- Zvýšený výskyt po černobylské havárii
- Vzácná u folikulární varianty
- Větší velikost nádoru u pacientů s *BRAF* mutací
- Žádná *BRAF* mutace u MTC – genetický marker pro PTC

Poděkování

Endokrinologický ústav

RNDr. B. Bendlová, CSc.

RNDr. Š. Dvořáková, Ph.D.

Mgr. E. Václavíková

MUDr. Z. Novák, CSc.

Fingerlandův ústav patologie, Hradec Králové

Prof. MUDr. A. Ryška, CSc., MUDr. J. Laco

Ústav patologie a molekulární medicíny, 1. LF UK a FNM

Prim. MUDr. D. Kodetová

Ústav patologie 1. LF UK a VFN, Praha

Doc. MUDr. J. Dušková, CSc.

Klinika ORL a chirurgie hlavy a krku, 1. LF UK a FNM

Doc. MUDr. J. Astl, CSc., MUDr. J. Veselý

Chirurgická klinika, 2. LF UK a FNM

Prof. MUDr. Jiří Hoch, CSc., MUDr. S. Smutný

Klinika nukleární medicíny a endokrinologie, 2. LF UK a FNM

Doc. MUDr. P. Vlček, CSc.

Ústav patologie LF UP, Olomouc

MUDr. A. Hlobilková, Ph.D.

Děkuji za pozornost

vsykorova@endo.cz

Endokrinologický ústav

Praha