STRESZCZENIE W JĘZYKU POLSKIM

W ostatnich dekadach na całym świecie, w tym także w Polsce, zaobserwowano wzrost częstości występowania raka tarczycy w szczególności raka brodawkowatego tarczycy, który jest najczęstszym typem histologicznym raka tarczycy. Mutacja *BRAF V600E* jest najczęstszą zmianą genetyczną występującą w raku brodawkowatym tarczycy. Szereg doniesień literaturowych prezentuje znaczący wpływ tej mutacji nie tylko na przebieg kliniczny choroby, ale także na przeżycie. W innych pracach podważa się rolę tej mutacji jako czynnika niekorzystnego przebiegu klinicznego raka brodawkowatego tarczycy. Testy oparte na analizie DNA należą do standardowych metod stosowanych w wykrywaniu mutacji *BRAF V600E*. W ostatnim czasie pojawiła się możliwość wykrywania mutacji *BRAF V600E* za pomocą badania immunohistochemicznego (IHC).

Celem rozprawy doktorskiej była ocena statusu mutacji *BRAF V600E* w raku brodawkowatym tarczycy za pomocą IHC z użyciem mysiego przeciwciała monoklonalnego (klonu VE1) z zastosowaniem dwóch alternatywnych protokołów barwienia IHC z metodami biologii molekularnej: sekwencjonowanie Sangerowskie (SEQ) i Real-Time PCR (qPCR). A także ocena zgodności wyników uzyskanych różnymi metodami. Podjęto także próbę skorelowania wyników IHC-2 BRAF + oraz stopnia siły odczynu IHC-2 z cechami kliniczno-patologicznym.

U 140 pacjentów wieku 15-76 lat (średnia=51,8; mediana=52) z podtypem klasyczny raka brodawkowatego tarczycy oceniono status mutacji *BRAF V600E* za pomocą badań IHC (z użyciem dwóch alternatywnych protokołów barwienia IHC-1 vs IHC-2, różniących się tylko czasem inkubacji) oraz metod biologii molekularnej: SEQ i qPCR.

Metodą IHC-1 wykryto mutację *BRAF V600E* u 57,1% (80/140) chorych, zaś metodą IHC-2 u 62,9% (88/140) chorych. Najwyższą zgodność w wykrywaniu mutacji *BRAF V600E* stwierdzono między IHC-2 i qPCR (94,2%), zaś miedzy IHC-1 i qPCR (83,9%). Zgodność między: IHC-1 i SEQ, a IHC-2 i SEQ wynosiła odpowiednio 71,5% i 76,2%. %. W analizowanych aspektach wyliczonych względem qPCR: czułość, ppv, npv, zgodność, Cohen's kappa z wyjątkiem specyficzności obserwowano przewagę IHC-2 nad IHC-1. Istotną statystycznie korelację z oceną obecności mutacji *BRAF V600E* w IHC-2 stwierdzono w przypadku: wieku w momencie rozpoznania choroby, stopnia zaawansowania histopatologicznego, nacieku pozatarczycowego. Wyższa intensywność zabarwienia komórek

nie korelowała w sposób statystycznie istotny z żadnymi cechami kliniczno- patologicznymi.

Brak pełnej zgodności wyników uzyskanych metodą IHC z metodami molekularnymi wskazuje, iż metoda IHC nie może zastąpić badań molekularnych w wykrywaniu mutacji *BRAF V600E*. Występowanie zarówno wyników fałszywie dodatnich oraz fałszywie ujemnych nie pozwala traktować metody IHC jako badania wstępnego do późniejszej weryfikacji metodami molekularnymi tylko przypadków z wynikiem IHC dodatnim.