

DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-8-22



Современные концепции молекулярного патогенеза рака щитовидной железы

А.А. Михайлова¹, А.В. Шестаков¹, К.А. Чубакова¹, Е.В. Колоколова¹, В.Ю. Елисеев¹, М.Я. Костяева¹,
Э.Г. Акперов¹, В.Е. Пилипенко¹, Т.В. Саприна¹, М.Р. Мухамедов^{1,2}, Е.Л. Чойнзон^{1,2}

¹ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; Россия, 634050 Томск,
Московский тракт, 2;

²Научно-исследовательский институт онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр
Российской академии наук»; Россия, 634028 Томск, ул. Савиных, 12/1

Контакты: Александр Владимирович Шестаков Shestakov1808@gmail.com

Рак щитовидной железы – распространенное злокачественное новообразование эндокринной системы. В последние десятилетия показатели заболеваемости и смертности вследствие этой патологии стремительно увеличиваются. Большинство случаев дифференцированного рака щитовидной железы (фолликулярного и папиллярного гистотипов) клинически проявляются как узловой зоб. Неопределенность результатов цитологической диагностики (категории III и IV по классификации Bethesda (Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology)) обуславливает сложности в выборе тактики ведения пациентов.

Известно, что развитие, прогрессирование, инвазия и метастазирование раковых клеток регулируются множеством молекулярных механизмов. В данной статье описываются некоторые молекулярные аспекты онкогенеза узловых образований щитовидной железы, а также наиболее перспективные диагностические онкомаркеры. В частности, рассматривается роль генных мутаций, белковых маркеров, эпигенетических воздействий микроРНК, гистонов и метилирования ДНК в патогенезе рака щитовидной железы. Изучение патогенеза этого заболевания имеет прогностическую ценность и способствует поиску эффективных лечебно-диагностических методов и их совершенствованию. Поэтому в исследовании были рассмотрены применяемые в настоящий момент тест-панели, направленные на дооперационную дифференциальную диагностику узловых образований щитовидной железы.

Анализ и обобщение результатов исследований по данной теме позволят не только расширить понимание фундаментальных процессов онкогенеза, но и наметить перспективные направления планирования экспериментальных научных работ для разработки новых прогностических, диагностических и терапевтических технологий с целью повышения качества медицинской помощи пациентам с раком щитовидной железы.

Ключевые слова: рак щитовидной железы, онкомаркеры, эпигенетика, микроРНК, гистоны, метилирование

Для цитирования: Михайлова А.А., Шестаков А.В., Чубакова К.А. и др. Современные концепции молекулярного патогенеза рака щитовидной железы. Успехи молекулярной онкологии 2021;8(2):8–22. DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-8-22.

Modern concepts of the molecular pathogenesis of thyroid cancer

A.A. Mikhailova¹, A.V. Shestakov¹, K.A. Chubakova¹, E.V. Kolokolova¹, V.Yu. Eliseev¹, M.Ya. Kostyaeva¹, E.G. Akperov¹,
V.E. Pilipenko¹, T.V. Saprina¹, M.R. Mukhamedov^{1,2}, E.L. Choinzonov^{1,2}

¹Siberian State Medical University, Ministry of Health of Russia; 2 Moskovsky trakt, 634050 Tomsk, Russia;

²Scientific Research Institute of Oncology of the Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences;
12/1 Savinykh St., 634028 Tomsk, Russia

Contacts: Alexander Vladimirovich Shestakov Shestakov1808@gmail.com

Thyroid cancer remains the most common malignancy of the endocrine system worldwide. The indicators of its morbidity and mortality rates have been increasing rapidly over the last decades. Most cases of differentiated thyroid cancer (follicular and papillary histotypes) are clinically manifested by nodular goiter frequently combined with uncertain results of cytological diagnosis (categories III and IV according to the Bethesda (Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology) classification). All of that makes it difficult to choose a proper tactic for patient treatment.

It is known that the development, progression, invasion, and metastasis of cancer cells are regulated by a variety of molecular mechanisms. This review describes several molecular aspects of thyroid nodules oncogenesis, as well as its most

promising diagnostic tumor markers. Following molecular pathways are described in particular: gene mutations, protein tumor markers, and epigenetic effects of micro-RNA, histones, as well as DNA methylation. The study of the pathogenesis of this disease has a prognostic value and contributes to the search for effective therapeutic and diagnostic methods and their improvement. That is why we also reviewed modern test panels aimed at preoperative differential diagnosis of thyroid nodules.

Summarizing the results of world research on this topic allows us not only to expand the understanding of the fundamental processes of oncogenesis, but also to outline promising areas for future experimental research projects. All of that together will contribute to developing new prognostic, diagnostic and therapeutic technologies, and as a result, will improve the quality of medical care for patients with thyroid cancer.

Key words: thyroid cancer, tumor biomarkers, epigenomics, microRNAs, histones, DNA methylation

For citation: Mikhailova A.A., Shestakov A.V., Chubakova K.A. et al. Modern concepts of the molecular pathogenesis of thyroid cancer. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2021;8(2):8–22. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-8-22.

ВВЕДЕНИЕ

Рак щитовидной железы (РЩЖ) входит в число наиболее распространенных эндокринных опухолей. Онтогенез и клинические аспекты этого заболевания еще не изучены полностью. При проведении ультразвукового исследования (УЗИ) узловые образования щитовидной железы (ЩЖ) обнаруживаются в 65 % случаев [1]. На сегодняшний день основным методом дифференциальной диагностики узловой патологии ЩЖ является тонкоигольная пункционная аспирационная биопсия (ТАБ) под контролем УЗИ с последующей цитологической оценкой по классификации Bethesda (Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology). Однако в 30 % случаев поставить точный диагноз, опираясь лишь на цитологические признаки, не представляется возможным [2]. Трудности в диагностике РЩЖ вызывают необходимость более глубокого изучения патогенеза этого заболевания на молекулярном и генетическом уровнях. Это важное научное направление имеет ключевое значение в комплексной оценке особенностей канцерогенеза различных гистотипов РЩЖ, в том числе дифференцированного РЩЖ. Не вызывает сомнений, что изучение патогенеза данного заболевания имеет прогностическую ценность, способствует поиску эффективных лечебно-диагностических методов и их совершенствованию.

МУТАЦИИ ДНК, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ВЫСОКОДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫМИ ФОРМАМИ РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

В настоящее время уже достигнуто определенное понимание молекулярного патогенеза РЩЖ. Данный процесс тесно связан с дисфункцией нескольких основных внутриклеточных сигнальных путей и обусловленными ею нарушениями. Центральное место в этих механизмах занимают генетические и эпигенетические изменения, такие как мутации, увеличение числа копий генов и aberrантное метилирование. Большинство подобных трансформаций представляют собой перспективные терапевтические мишени, а также диагностические и прогностические молекулярные маркеры, изучение которых поможет модифицировать

стратегию ведения пациентов с узловыми образованиями ЩЖ и повысить качество оказания медицинской помощи. Рассмотрим гены, мутации которых играют большую роль в онкогенезе папиллярного (ПРЩЖ) и фолликулярного (ФРЩЖ) рака щитовидной железы.

BRAF. Протоонкогеном и одним из факторов развития рака является *BRAF* – ген, кодирующий белки регуляции молекулярных путей роста клеток. Мутации данного гена приводят к экспрессии *BRAF V600E* – мутантного белка, а также активации серин/треонинкиназы 6–11, содействуя тем самым онкогенезу, инициации метастазирования и рецидиву опухоли [3].

RAS. Ген *RAS* (изоформы *HRAS*, *KRAS*, *NRAS*), кодирующий белок, который связывает энергетическую молекулу ГТФ (гуанозинтрифосфата), активирует внутриклеточные сигнальные пути, а также регулирует транскрипцию генов дифференцировки и пролиферации клетки. *RAS* является двойным активатором путей MAPK (митогенактивированная протеинкиназа) и PI3K/Akt (фосфоинозитид-3-киназа/протеинкиназа B). Исходя из связи мутаций в гене *RAS* с фосфорилированием протеинкиназы B, можно сказать, что они, вероятно, участвуют в активации только пути PI3K/Akt, что провоцирует онкогенез ЩЖ. Изоформы *HRAS*, *KRAS*, *NRAS* также принимают участие в онкогенезе, инвазии и метастазировании при ФРЩЖ и ПРЩЖ [3].

PTEN. Ген *PTEN* кодирует одноименный фермент (липидную фосфатазу), который, в свою очередь, дефосфорилирует фосфоинозитидфосфаты – продукты PI3K. Это приводит к снижению активности Akt и регулированию пролиферации и апоптоза клетки. Установлено, что мутации и делеции в гене *PTEN* являются характерными генетическими изменениями, способствующими онкогенезу и увеличивающими степень инвазии ФРЩЖ при синдроме Коудена и фолликулярном варианте ПРЩЖ [3].

TERT. Ген *TERT* кодирует теломеразную обратную транскриптазу, являющуюся каталитической субъединицей белка теломеразы. *TERT* – промотор теломеразной обратной транскриптазы, его мутации приводят к высокой теломеразной активности и повышенной экспрессии гена *TERT*. Функция последнего заключается

в добавлении повторяющейся последовательности ДНК (TTAGGG) к 3'-концу цепи ДНК в области теломер всех хромосом. Высокая теломеразная активность в соматических клетках способствует неограниченному делению клетки, а также активации протоонкогенов. Мутации TERT коррелируют с более низкими показателями безрецидивной выживаемости у пациентов с малоинвазивным, инкапсулированным, ангиоинвазивным фолликулярным раком. Такая корреляционная связь отсутствует в отношении больных с широкоинвазивным ФРЦЖ. Также есть доказательства того, что мутации промотора *TERT* связаны с агрессивным ПРЦЖ. Установлено, что одновременное наличие мутаций в *BRAF V600E* и TERT значительно увеличивает риск рецидива опухоли и повышает уровень смертности у пациентов с РЦЖ [4–6].

Помимо изменения генетического профиля, большая роль в патогенезе ФРЦЖ и ПРЦЖ принадлежит неконтролируемой активности различных внутриклеточных сигнальных путей, в том числе MAPK, PI3K/Akt, NF-κB (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, – универсальному фактору транскрипции, контролирующему экспрессию генов иммунного ответа), RASSF1/MST1/FOXO3 (RAS-ассоциированному домену, содержащему белок 1), STE20-like protein kinase (STE20-подобной серин/треонин-протеинкиназе), Wnt/β-catenin, HIF-1α (фактору, индуцируемому гипоксией, 1-альфа), TSHR (сигнальному пути рецептора тиреотропного гормона), которые регулируют рост, пролиферацию, апоптоз и метаболизм клеток [3].

VDR FokI. Это ген рецептора витамина D. Активация данного рецептора регулирует транскрипцию генов, оказывает противоопухолевое действие, стимулируя дифференцировку и апоптоз, а также уменьшает клеточную пролиферацию, воспаление, ангиогенез и опухолевую инвазию. В ходе исследования Т-аллеля гена *VDR FokI* и генотипа ТТ выявлена их связь с повышенным риском развития агрессивного ПРЦЖ. Таким образом, полиморфизм гена *VDR FokI* может служить фактором плохого прогноза при оценке риска развития ПРЦЖ [7].

ANGPTL2. Этот ген кодирует одноименный белок регуляции ангиогенеза, а также углеводного и липидного обмена. Его экспрессия увеличивает пролиферацию клеток опухоли, способствует миграции и инвазии РЦЖ, значительно ухудшает прогноз заболевания [8].

CHEK2. Этот ген кодирует белок, участвующий в поддержании стабильности генома и контролирующей процессы клеточного деления и репарации ДНК. Данный белок активируется в ответ на повреждение молекулы ДНК, блокируя клеточный цикл в фазе G1 или запуская процесс апоптоза. Установлена ассоциация между наличием мутаций в гене *CHEK2* и повышенным риском развития ПРЦЖ [9].

В некоторых исследованиях отмечена значимая роль других маркеров ПРЦЖ, таких как lncRNA

(длинные некодирующие РНК), регулирующих различные биологические клеточные процессы. Исследована регуляция lncRNA LINC00704, которая может значительно нарушить пролиферацию раковых клеток ЩЖ и образование колоний, ингибировать прогрессирование клеточного цикла, инвазию клеток и индуцировать их апоптоз. Дисфункция таких РНК предрасполагает к онкогенезу и прогрессированию рака, в частности ПРЦЖ. BRAF-активированная небелковая кодирующая РНК (BANCR) коррелирует с метастазированием в лимфатические узлы. Более того, ее экспрессия влияет на пролиферацию и миграцию клеток и индукцию апоптоза. BANCR регулирует пролиферацию клеток путем активации путей ERK/MAPK и PI3K/Akt. Предполагается, что BANCR играет роль в онкогенном процессе и может рассматриваться и как новая потенциальная цель, и как прогностический фактор для ПРЦЖ [10, 11].

Потенциальными онкомаркерами выступают гены микроокружения РЦЖ, в частности *CXCL10*, *AGTR1*, *CTGF*, *FAM3B*, *IL11*, *IL17C*, *PTH2R* и *SPAG11A*, которые кодируют белки регуляции иммунной функции клеток. Предполагается, что активность перечисленных, а также других подобных генов микроокружения опухоли может быть фактором благоприятного прогноза общей выживаемости для пациентов с ПРЦЖ [12, 13].

Таким образом, в онкогенезе ФРЦЖ и ПРЦЖ большую роль играет дисфункциональная активность следующих генов: *BRAF*, *HRAS*, *KRAS*, *NRAS*, *PTEN*, *PIK3CA*, *AKT1*, *CTNNA1*, *TP53*, *IDH1*, *EGFR*, *HCTC*, *RET*, *NTRK1* и *TERT* (TERT). Существуют и менее изученные генетические маркеры, включая мутации в генах *ANGPTL2*, *VDR FokI* и *CHEK2*. Кроме того, в современных исследованиях отмечаются большая роль в патогенезе РЦЖ lncRNA, а также дисфункции генетических маркеров микроокружения дифференцированного РЦЖ (*CXCL10*, *AGTR1*, *CTGF*, *FAM3B*, *IL11*, *IL17C*, *PTH2R* и *SPAG11A*).

БЕЛКОВЫЕ МАРКЕРЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С РАКОМ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Следующей не менее важной группой онкомаркеров являются белковые биомаркеры. Наиболее изученные и значимые представители данной группы – матриксные металлопротеиназы (ММР: MMP-1, 2, 7, 9), тканевые ингибиторы металлопротеиназ (ТИМР: TIMP-1, 2), фактор роста эндотелия сосудов типа С (VEGF-C), основной фактор роста фибробластов (bFGF), Е-кадгерин, дизадгерин, галектин-3, рецептор хемокинов (chemokine receptor type 4, CXCR4), хемокин подсемейства СХС (stromal cell-derived factor-1, CXCL12), моноклональные антитела, направленные против поверхностного белка мезотелиальных клеток (hector battifora mesothelial epitope-1, HBME-1), прототипный маркер естественных киллеров (CD56).

Матриксные металлопротеиназы. MMP-1, -2, -9 – белки семейства MMP, разрушающие внеклеточный

матрикс (коллаген, фибронектин, ламинин, протеогликаны) посредством образования капилляров в опухолевой ткани и создания благоприятных условий для инвазии клеток эндотелия. Матриксные металлопротеиназы обеспечивают проникновение сосудов в опухоль и способность опухолевых клеток растворять базальные мембраны путем протеолитической деградации. Это, в свою очередь, увеличивает риск инвазии опухолевых клеток в кровоток и последующего метастазирования в различные органы и ткани [14]. Повышенный уровень экспрессии белков MMP-2 и MMP-9 является фактором неблагоприятного прогноза в отношении метастазирования. Отмечается положительная корреляция между сверхэкспрессией MMP-2 и MMP-9 и более высокими показателями опухолевой инвазии, ангиогенеза и метастазирования опухоли [15, 16].

Тканевые ингибиторы металлопротеиназ. TIMP являются секреторными белками и специфическими ингибиторами MMP. Механизм ингибирования реализуется как в фазе активации проферментов, так и в фазе активации MMP. Функция TIMP в норме сводится к регрессии опухолевого роста, т.е. к подавлению всех изменений, вызываемых MMP (увеличение размера, числа опухолей, активация ангиогенеза). Однако информация о роли TIMP в онкогенезе противоречива. В ряде исследований отмечена парадоксально высокая экспрессия белков TIMP-1, а также неизменная или высокая экспрессия TIMP-2, что было ассоциировано с повышенным риском рецидива опухоли [17]. Наблюдается также значимая корреляция белков группы TIMP с большим размером опухоли, поздней клинической стадией, а также повышенной интраитреоидной и сосудистой инвазиями [18].

Фактор роста эндотелия сосудов типа С. Белки, относящиеся к семейству VEGF, представляют собой гликопротеины, основными функциями которых являются активация формирования новых кровеносных и лимфатических сосудов, а также повышение их проницаемости. Факторы семейства VEGF взаимодействуют с клеткой через тирозинкиназные рецепторы, что активирует остаток тирозина интрацитоплазматической части рецептора и запускает сигнальные каскады в эндотелиальных клетках. Повышенная экспрессия VEGF-C преобладает в опухолях с преимущественным метастазированием в лимфатические узлы, кроме того, она напрямую связана с высокой плотностью лимфатических сосудов и более низкими показателями выживаемости [19]. Местный инвазивный рост является признаком прогрессирования опухоли и независимым прогностическим фактором неблагоприятного исхода у пациентов с ПРЩЖ [20, 21].

Основной фактор роста фибробластов (bFGF). Это многофункциональный регуляторный пептид, который вызывает рост новых капилляров и действует как мощный митоген, стимулирующий митоз и пролиферацию. Основной фактор роста фибробластов активирует пролиферацию в клетках эндотелия в кооперации

с другими ангиостимулирующими факторами за счет связывания со специфическими трансмембранными и внутрицитоплазматическими рецепторами. Данное взаимодействие стимулирует выброс опухолевыми клетками различных протеолитических ферментов и коллагеназ, что способствует метастазированию и инфильтрации. Имеются данные о том, что высокая экспрессия основного фактора роста фибропластов коррелирует с агрессивным течением карцином ЩЖ [22].

Е-кадгерин. Этот белок представляет собой однопроходный трансмембранный гликопротеин, кодируемый геном, и играет большую роль в кальций-зависимой межклеточной адгезии эпителиальных клеток. Считается, что утрата межклеточных «мостиков» и связи с соседними эпителиальными клетками является одним из первых этапов развития опухоли [23]. Предположительно сниженная экспрессия Е-кадгерина в значительной степени связана с предрасположенностью к развитию ПРЩЖ, низкой степенью его дифференцировки и высоким уровнем метастазирования в лимфатические узлы. Все вышеперечисленное может рассматриваться в качестве потенциальных факторов неблагоприятного прогноза течения заболевания [24].

CXCR4 и CXCL12. Эти белки входят в семейство низкомолекулярных структурно родственных белков, связывающихся с хемокиновыми рецепторами, которые, в свою очередь, ассоциированы с гетеротримерными G-белками. Сигнальная ось CXCL12/CXCR4, по-видимому, способствует миграции клеток РЩЖ путем активации сигнальных путей Akt и ERK, что активирует MMP-2 и в конечном счете приводит к миграции и инвазии раковых клеток [25]. Согласно результатам исследований, совместная экспрессия CXCR4 и CXCL12 положительно коррелирует с метастазами ПРЩЖ в лимфатические узлы, а высокая экспрессия CXCR4, стимулирующего ангиогенез, в значительной степени связана с большим размером опухоли в случае как ПРЩЖ, так и ФРЩЖ [26].

НВМЕ-1. Этот маркер относится к классу моноклональных антител, направленных против поверхностного белка мезотелиальных клеток. Считается, что высокая экспрессия НВМЕ-1 имеет наиболее важное диагностическое значение в качестве индикатора злокачественности ПРЩЖ [27–29]. В отношении ФРЩЖ данные касательно экспрессии НВМЕ противоречивы: в некоторых исследованиях отмечается диагностическая ценность данного белка, в то время как в других она отрицается [30, 31].

CD56. Этот гомофильный белок семейства иммуноглобулинов обеспечивает адгезию нервных клеток и присутствует на фолликулярных эпителиальных клетках нормальной ткани ЩЖ. Считается, что CD56 участвует в регуляции клеточной подвижности, гомофильной связи между нейронами, стимуляции роста нервов, а его экспрессия может влиять на миграционную способность опухолевых клеток. Согласно

результатам недавних исследований, сниженная экспрессия данного белка способствует метастатическому распространению опухолевых клеток в регионарные лимфатические узлы за счет повышенной экспрессии лимфангиогенных факторов VEGF-C и VEGF-D [32]. Помимо этого, сниженная экспрессия CD56 коррелирует с метастатическим потенциалом и неблагоприятным прогнозом в отношении выживаемости, что может иметь диагностическую ценность при дифференциальной диагностике ПРЩЖ и ее доброкачественных поражений, при которых экспрессия этого белка нормальная или высокая [29, 33].

Галектин-3. Это белок семейства лектинов, который может экспрессироваться как внутриклеточно, так и во внеклеточном матриксе. Его aberrантная экспрессия в нормальных клетках ЩЖ фактически блокирует программу апоптоза, позволяя накапливать мутации ДНК и молекулярные изменения, которые, в свою очередь, способствуют развитию рака [34]. Повышенная экспрессия галектина-3 обуславливает неопластическую трансформацию и ингибирует апоптоз. В ряде работ было показано, что галектин-3 может играть роль маркера роста злокачественных опухолей ЩЖ [35]. Особенно часто сверхэкспрессия данного маркера обнаруживается при высокодифференцированном раке, в частности при ПРЩЖ. Возможность использования экспрессии галектина-3 в диагностике ФРЩЖ на сегодняшний день неоднозначна [28].

МИКРОРНК, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫМИ ФОРМАМИ РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

К новейшим маркерам РЩЖ относят микроРНК (miRNA) — молекулы, участвующие в транскрипционных и посттранскрипционных процессах и, соответственно, влияющие на дифференцировку, ангиогенез, пролиферацию и апоптоз клеток за счет механизмов эпигенетической регуляции [2]. Образование микроРНК начинается в ядре, где образуется первичная двухцепочечная молекула первичной микроРНК [36]. Затем в результате модификаций и связывания с белками формируется микроРНК-индуцируемый комплекс, который регулирует процесс транскрипции путем прямого воздействия на матричную РНК (мРНК) [37, 38]. МикроРНК приводит к деградации целевой мРНК, в результате чего уровни микроРНК и белков-мишени регулируемой мРНК становятся обратно пропорциональными [39]. МикроРНК можно обнаружить как внутри клеток, так и во внеклеточных жидкостях (крови, моче, слюне, спинномозговой жидкости), что позволяет рассматривать эти молекулы в качестве потенциальных маркеров онкогенеза, в том числе при РЩЖ [40].

В последние годы количество изучаемых микроРНК сильно возросло. Ученые продолжают открывать новые молекулы. Наиболее изученными являются miRNA-21, -146b-5p, -221-3p, -222-3p, -222, -146b

[41]. Проведено множество исследований по изучению микроРНК в качестве маркеров онкогенеза при РЩЖ. Было обнаружено, что циркулирующие уровни miRNA-146b-5p, -221-3p и -222-3p у пациентов с ПРЩЖ выше, чем у здоровых людей [42–44], тогда как уровни miRNA-222 и miRNA-146b различаются при ПРЩЖ и доброкачественных образованиях ЩЖ [42, 45, 46]. Уровни miRNA-21 в плазме пациентов с фолликулярным РЩЖ выше, чем в плазме пациентов с доброкачественными узлами или ПРЩЖ. Известно, что у больных ПРЩЖ более высокий уровень экспрессии miRNA-181a, чем у больных ФРЩЖ [47]. У пациентов с ПРЩЖ циркулирующие уровни miRNA-146a-5p, -146b-5p, -221-3p и -222-3p снижаются после удаления опухоли [42–44, 46].

Согласно данным проведенного в 2014 г. Y. Zhang и соавт. метаанализа 18 исследований, в которых участвовали 543 пациента с доброкачественными ($n = 277$) и злокачественными ($n = 266$) узлами ЩЖ, анализ результатов микроРНК, полученных методом ТАБ под контролем УЗИ, позволяет более точно определить наличие злокачественных новообразований, чем обычное цитологическое исследование. Чувствительность составила 0,77 (95 % доверительный интервал (ДИ) 0,70–0,83), специфичность — 0,75 (95 % ДИ 0,68–0,81), прогностическая ценность истинно положительного результата — 3,1 (95 % ДИ 2,4–4,0), прогностическая ценность ложноположительного результата — 0,30 (95 % ДИ 0,23–0,39) [48].

S. Paskas и соавт. проанализировали эффективность панели, состоящей из 4 маркеров (мутации *BRAF V600E*, miRNA-221, miRNA-222 и белка галектин-3), с помощью разработанного ими алгоритма. Согласно результатам исследования, данный диагностический алгоритм позволяет в 2 раза сократить количество оперативных вмешательств на ЩЖ за счет уточнения неопределенных результатов цитологического исследования. Из 120 образцов категорий III и IV по международной классификации Bethesda в 62 случаях были выявлены доброкачественные новообразования, 9 из которых все-таки оказались злокачественными. В итоге чувствительность данной панели составила 73,5 %, специфичность — 89,8 % и точность — 75,7 %. Эти данные показывают перспективность клинического применения названной диагностической панели [49].

МикроРНК также можно использовать в качестве прогностического маркера. Например, в ходе исследования ПРЩЖ С. Chou и соавт., проведенного на базе медицинского центра Kaohsiung Chang Gung Memorial Hospital (Тайвань) (участвовали 100 человек после тиреоидэктомии), было выявлено, что показатели общей выживаемости среди пациентов с более высокими уровнями экспрессии miRNA-146b значительно хуже, чем среди больных, у которых отмечались более низкие уровни этой микроРНК в опухолях. Сверхэкспрессия miRNA-146b значительно увеличивает пролиферацию,

миграцию и инвазивность клеток и вызывает устойчивость к апоптозу, индуцированному химиотерапией [50].

По результатам исследования, проведенного в Италии F. Rosignolo и соавт., данные которого подтверждаются другими источниками, риск рецидива ПРЩЖ, рассчитанный по рекомендациям Американской тиреоидной ассоциации (American Thyroid Association), был положительно связан с повышенной экспрессией miRNA-146b-5p, miRNA-222-3p, а также с пониженной экспрессией miRNA-1179 и miRNA-7-2-3p [51, 52].

Ученые продолжают изучать микроРНК и открывать новые механизмы патогенеза РЩЖ. Так, Z. Zhang и соавт. исследовали miRNA-574-5p, FOXN3 (Forkhead Box Protein N3) и молекулярный путь Wnt/ β -catenin на культуре клеток ПРЩЖ и ФРЩЖ. Измерения проводились с помощью количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени и вестерн-блоттинга. В результате было выявлено, что miRNA-574-5p активирует ген *FOXN3*, который, в свою очередь, вызывает экспрессию белка β -catenin, что способствует прогрессированию рака. Этот новый механизм требует дальнейшего изучения в качестве мишени клинической терапии РЩЖ [53].

В исследовании X. Li и соавт. была изучена экспрессия miRNA-193a-3p на материале 510 образцов РЩЖ и 59 фрагментов здоровой ткани ЩЖ [54, 55]. Результаты показали, что экспрессия miRNA-193a-3p в клетках РЩЖ была значительно ниже, чем в здоровых клетках ($p < 0,001$). Снижение miRNA-193a-3p также было достоверно связано с возрастом, полом и наличием метастазов ($p = 0,020$; $0,044$ и $0,048$ соответственно). Биоинформационный анализ данных показал, что низкая экспрессия miRNA-193a-3p может увеличивать экспрессию циклина D1, который, в свою очередь, активирует пролиферацию и миграцию опухолевых клеток [55].

В исследовании X. Zou и соавт., в котором участвовали 100 пациентов с ПРЩЖ и 96 здоровых людей, были проанализированы уровни экспрессии miRNA-25-3p, -296-5p и -92a-3p. Данная диагностическая панель, состоящая из 3 микроРНК, была построена с помощью анализа логистической регрессии и показала стабильную способность дифференцировать пациентов с ПРЩЖ и пациентов с доброкачественным зобом с площадью под кривой до 0,969. Самостоятельное использование каждой микроРНК таких результатов не дало [56].

Таким образом, несмотря на то что существует много исследований использования микроРНК в диагностике различных форм РЩЖ, данное направление по-прежнему имеет огромный потенциал как для расширения фундаментальных знаний о процессах онкологической трансформации, так и для получения клинически значимых данных и повышения качества диагностики и лечения РЩЖ.

БЕЛКИ-ГИСТОНЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫМИ ФОРМАМИ РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Гистоны — это класс ядерных белков, осуществляющих упаковку нитей ДНК в ядре и участвующих в эпигенетической регуляции транскрипции, репарации и репликации. Концевые аминокислотные последовательности гистонов позволяют осуществлять их посттрансляционные модификации, такие как ацетилирование, метилирование, фосфорилирование и т. д. Подобные модификации инициируют связывание с различными белками (так называемыми считывателями), которые подавляют или активируют экспрессию генов путем индукции локального уплотнения или релаксации хроматина посредством перемещения нуклеосом. Основными механизмами модификации гистонов являются ацетилирование и метилирование.

Ацетилирование гистонов катализируется ацетилтрансферазами гистона (НАТ), а обратное действие осуществляется деацетилазами гистона (HDAC). Ацетилирование лизинов способствует транскрипционной активности. Добавление ацетильных групп нейтрализует положительный заряд лизинов и снижает их сродство к ДНК, что облегчает доступ к транскрипционному механизму.

Ферменты, участвующие в метилировании гистонов, представляют собой субстрат-специфические гистонметилтрансферазы (НМТ) и антагонистические гистоновые деметилазы (HDM). Метилирование может происходить в остатках лизина и аргинина, которые включают от 1 до 3 метильных групп. Эффект этой модификации зависит от соответствующего остатка и степени метилирования. Посттрансляционная модификация гистонов играет критическую роль в онкогенезе.

Роль модификаций гистонов заключается в участии в различных метаболических процессах организма и опухолевых клетках ЩЖ. Например, N-лизинметилтрансфераза 5A (KMT5A) принимает участие в липидном обмене. Известно, что в опухолевых клетках повышен синтез липидов *de novo*, что способствует построению мембран новых клеток. Изменение метаболизма жирных кислот влияет на запасы энергии, лекарственную устойчивость, модулирует пролиферацию и выживание клеток и стимулирует внеклеточную среду [57]. T. Liao и соавт. провели исследование в Шанхайском онкологическом центре и изучили 50 образцов ПРЩЖ и 50 образцов нормальной ткани ЩЖ, взятых на расстоянии 1 см от края опухолевой ткани (полученных в 2012–2015 гг.). Анализ экспрессии KMT5A был проведен с помощью полимеразной цепной реакции, иммуногистохимического окрашивания и белкового вестерн-блоттинга. Было выявлено, что в клетках ПРЩЖ наблюдается повышенная экспрессия KMT5A, которая метилирует лизин-20 гистона H4 (H4K20). Ингибирование данной гистонметилтрансферазы ухудшает липидный обмен в опухолевых

клетках. Результаты исследования показали, что ингибирование KMT5A снижает уровень ключевого гена — модулятора метаболизма липидов, холестерина *SREBP* (sterol-regulatory element-binding factor) и его целевых генов (*SCD*, *FASN* и *ACC*), а также подавляет уровень генерации малондиальдегида и активных форм кислорода в клетках ПРЩЖ. Предположительно KMT5A может регулировать липидный обмен в данных опухолевых клетках [58].

Еще один важный модификатор гистонов — энхансер *zeste* гомолога 2 (*EZH2*). Он является каталитической субъединицей репрессивного комплекса поликомб 2 (*PRC2*), который метилирует лизин-27 гистона H3, чтобы способствовать подавлению транскрипции [59]. Более высокая экспрессия *EZH2* была связана с рецидивом ПРЩЖ [60]. С. Tsai и соавт. исследовали иммуногистохимическую экспрессию триметилированного лизина-27 гистона H3 (*H3K27me3*) и обнаружили, что более высокая экспрессия *EZH2* ведет к избыточному образованию *H3K27me3*. Это наблюдалось в 80 % (8/10) случаев лимфоцитарного тиреоидита, 63 % (80/127) случаев ПРЩЖ, 41 % (7/17) случаев ФРЩЖ и 73 % (8/11) случаев низкодифференцированного и анапластического РЩЖ. Также было обнаружено, что повышенная экспрессия *H3K27me3* увеличивает частоту экстраклеточного расширения, лимфоваскулярной инвазии и метастазирования в лимфатические узлы при дифференцированном РЩЖ и, следовательно, может служить прогностическим маркером течения заболевания и вероятности метастазирования [61].

Лизин-специфическая гистон-деметилаза 1A (*KDM1A*) также является модификатором гистонов и активно изучается в качестве маркера онкогенеза. *KDM1A* принадлежит к семейству гистон-деметилаз, зависящих от флавинадениндинуклеотида (*FAD*), и регулирует экспрессию генов при деметилировании моно- и диметилированных гистонов H3 (*H3K4me1/2* и *H3K9me1/2* соответственно). В исследовании W. Zhang и соавт., проводившемся в течение 3 лет на базе Первой дочерней больницы Китайского медицинского университета г. Шэньян (First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University), с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени были изучены 61 пара образцов ткани ПРЩЖ и прилегающей к ней здоровой ткани и 94 образца только ткани ПРЩЖ, полученных от 155 пациентов. В тканях ПРЩЖ была обнаружена сверхэкспрессия мРНК *KDM1A*. Согласно результатам данного исследования, положительная экспрессия *KDM1A* указывает на более высокую скорость метастазирования в лимфатические узлы. *KDM1A* влияет на распространение опухолевой ткани посредством ММР-9 через подавление экспрессии *TIMP-1* путем деметилирования диметилированного по лизину-4 гистона H3 (*H3K4me2*) в области промотора *TIMP-1* [62]. В свою очередь, ММР-9 также может активировать несколько скрытых проте-

иназ и ангиогенных факторов или рецепторов цитокинов, которые усиливают инвазию и метастазирование [63]. Следовательно, активация ММР-9 за счет *KDM1A*-опосредованной репрессии *TIMP-1* способствует метастазированию папиллярных клеток РЩЖ и может служить прогностическим маркером.

Основные ферменты, участвующие в метилировании гистонов-мишеней, и потенциальные возможности их использования представлены в таблице.

Модификации гистонов в качестве диагностических и прогностических маркеров дифференцированного РЩЖ требуют дальнейшего изучения. Однако уже имеются исследования, направленные на поиск препаратов, влияющих на посттрансляционные модификации гистонов и которые можно использовать для лечения дифференцированного РЩЖ.

Так, в ходе исследования D. Russo и соавт. было выявлено, что препараты, ингибирующие активность HDAC, имеют противоопухолевую активность, в результате которой снижается рост опухолевых клеток и повышается способность поглощения радиоактивного йода раковыми клетками [64]. Известно, что мутация *BRAF V600E* при ПРЩЖ [65] вызывает нарушение экспрессии симпортера йодида натрия (*NIS*), который отвечает за поступление йодида натрия в тиреоциты и кодируется геном *SLC5A5* [66, 67]. В исследовании Z. Zhang и соавт. была выдвинута гипотеза, согласно которой данным механизмом является деацетилирование гистонов промотора *NIS*. С помощью метода иммунопреципитации хроматина ученые исследовали статус ацетилирования гистонов по остаткам лизина H3K9/14, H3K18 и H4K16 на промоторе *NIS* под влиянием гена *BRAF V600E*. В результате было обнаружено, что экспрессия мутировавшего *BRAF V600E* подавляет экспрессию *NIS* посредством деацетилирования гистонов его промотора, в то время как ингибитор деацетилазы N-гидрокси-N'-фенилоксантидиамид, также известный как воринолат (*suberoylanilide hydroxamic acid*, *SAHA*), стимулирует экспрессию *NIS*. Сбой функционирования *NIS* приводит к нарушению поступления йода в тиреоциты и вызывает резистентность к радиойодтерапии, а применение *SAHA* увеличивает чувствительность к радиоактивному йоду и способствует повышению эффективности лечения [67, 68].

В настоящее время ведется поиск наиболее эффективных не только препаратов, но и их сочетаний [68, 69]. S. Kim и соавт. изучили клеточные линии РЩЖ, такие как SNU-80 (анапластического РЩЖ) и SNU-790 (ПРЩЖ) из Корейского банка клеточных линий, а также противоопухолевый эффект гидрокси-7-(2-нафтилтио) гептаномид (*HNHA*). По сравнению с другими ингибиторами HDAC *HNHA* в более низких дозах вызывал более сильную индукцию апоптоза посредством ингибирования регулятора апоптоза *Bcl-2* и модуляции сигнального пути контрольной точки G_1/S клеточного цикла, а также индуцировал каспаза-зависимый

Основные ферменты, участвующие в метилировании гистонов-мишеней, и потенциальные возможности их использования

The main enzymes involved in the methylation of target histones and their potential use

Фермент Enzyme	Гистон-мишень Histone is a target	Механизм онкогенеза ПРЩЖ Mechanism of oncogenesis PTC	Возможности использования Possible uses
КМТ5А	H4K20	Метилирование H4K20 приводит к усилению продукции липидов <i>de novo</i> и построению мембран в опухолевых клетках Methylation of H4K20 leads to an increase in the production of <i>de novo</i> lipids and the construction of a membrane in tumor cells	Использование ингибиторов гистонметилтрансферазы КМТ5А приводит к нарушению липидного обмена в опухолевых клетках. Следовательно, можно применять данный механизм для лечения рака щитовидной железы The use of histone methyltransferase KMT5A inhibitors leads to a violation of lipid metabolism in tumor cells. Therefore, it is possible to use this mechanism for the treatment of thyroid cancer
EZH2	H3K27me3	Повышение продукции EZH2 увеличивает количество метилированного H3K27me3, что приводит к экстраатриоидному расширению, лимфоваскулярной инвазии и метастазированию в лимфатические узлы An increase in the production of EZH2 increases the amount of methylated H3K27me3, which leads to extrathyroid expansion, lymphovascular invasion and metastasis to the lymph nodes	Можно использовать в качестве прогностического маркера рецидивов и метастазирования It can be used as a prognostic marker of relapses and metastasis
KDM1A	H3K4me1/2 H3K9me1/2	KDM1A опосредованно активирует MMP-9, которая способствует активации протеиназы, ангиогенных факторов и рецепторов цитокинов, тем самым повышая вероятность инвазии и метастазирования KDM1A indirectly activates MMP-9, which promotes the activation of proteinase, angiogenic factors and cytokine receptors, thereby increasing the likelihood of invasion and metastasis	Путем ингибирования KDM1A можно предотвратить метастазирование By inhibiting KDM1A, metastasis can be prevented
Деацетилаза	H3K9/14 H3K16 H3K18	Подавляет работу NIS, вследствие чего нарушается поглощение йода и развивается резистентность к радиойодтерапии It suppresses the work of NIS, as a result of which the absorption of iodine is disrupted and resistance to radioiodine therapy develops	Ингибиторы можно использовать в лечении в целях повышения чувствительности к радиойодтерапии Inhibitors can be used in the treatment in order to increase sensitivity to radioiodine therapy

Примечание. ПРЩЖ – папиллярный рак щитовидной железы; КМТ5А – N-лизинметилтрансфераза 5А; H4K20 – лизин-20 гистона H4; EZH2 – энхансер zeste гомолога 2; H3K27me3 – триметилированный лизин-27 гистона H3; KDM1A – лизин-специфическая гистон-деметилаза 1А; H3K4me1/2 – ди- и монометилирование лизина-4 гистона H3; H3K9me1/2 – ди- и монометилирование лизина-9 гистона H3; H3K9/14 – лизин-9, 14 гистона H4; H3K16 – лизин-16 гистона H3; H3K18 – лизин-18 гистона H3; NIS – симпортер йодида натрия; MMP-9 – матриксная металлопротеиназа-9.

Note. PTC – papillary thyroid cancer; KMT5A – N-lysine methyltransferase 5A; H4K20 – histone H4 lysine 20; EZH2 – enhancer of zeste homolog 2; H3K27me3 – tri-methylation of lysine 27 on histone H3; KDM1A – lysine demethylase 1A; H3K4me1/2 – monomethylated and dimethylated of lysine-4 histone H3; H3K9me1/2 – monomethylated and dimethylated of lysine-9 histone H3; H3K9/14 – histone H3 lysine 9/14; H3K16 – histone H3 lysine 16; H3K18 – histone H3 lysine 18; NIS – sodium iodide symporter; MMP-9 – matrix metalloproteinase-9.

апоптоз, повышая уровень цитоплазматического кальция путем высвобождения ионов кальция из эндоплазматического ретикулума. Однако, в связи с тем что исследование было проведено на клеточных культурах, необходимо дальнейшее изучение безопасности применения данного препарата [68].

В ходе исследования Z. Zhang и соавт. было выявлено, что путь MAPK подавляет ацетилирование ги-

стонов в важных сайтах связывания транскрипционных факторов промоторов генов, метаболизирующих йод, что в конечном счете снижает экспрессию генов, отвечающих за метаболизм йода, при РЩЖ [67]. В 2019 г. Н. Fu и соавт. изучили одновременное ингибирование путей HDAC на клеточных линиях ПРЩЖ с использованием ингибиторов HDAC (панобиностат) и ингибиторов MAPK (дабрафениб и селуметиниб).

Результаты данного исследования показали, что обработка дабрафенибом приводит к значительному увеличению ацетилирования H3K9/14 и H4K16 по промотору NIS, тогда как селуметиниб увеличивает ацетилирование только H4K16 по промотору NIS. Панобиностат значительно увеличивает ацетилирование H3K9/14 и H4K16 по промотору NIS. Добавление дабрафениба/селуметиниба показало дальнейшее усиление ацетилирования гистонов в NIS промотора, чего не было выявлено при применении в культурах клеток одного панобиностата. Исходя из вышесказанного, можно сделать вывод, что комбинированное использование данных препаратов усиливает повторную дифференцировку и чувствительность опухолевых клеток к радиойодтерапии по сравнению с применением только ингибиторов HDAC [69].

Несмотря на многочисленные исследования в области эпигенетики, поиск новых механизмов онкогенеза и способов лечения РЩЖ остается актуальным.

МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК КАК МАРКЕР ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОГО РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Одной из важнейших эпигенетических модификаций является метилирование ДНК, которое заключается в присоединении к 5-углеродному цитозину метильной группы, что ведет к образованию 5-метилцитозина (5МЦ). [70]. Этот процесс происходит в CpG-динуклеотидах — участках ДНК с последовательно расположенными цитозином и гуанином. В норме большая часть данных участков (60–80 % всей ДНК) находится в метилированном состоянии, и они равномерно распределены по всей ДНК. Данное явление называют глобальным метилированием ДНК. При этом встречаются отдельные небольшие области, в которых количество CpG-участков в несколько раз выше. Обычно данные области остаются неметилированными, но они несут в себе потенциал к образованию фрагментов локального гиперметилирования. Данные участки повышенной концентрации CpG-динуклеотидов получили название «CpG-островки» [70]. Гипер- и гипометилирование в этих областях может привести к восстановлению онкогенов за счет ингибирования или усиления экспрессии генов [65, 71]. Отсутствие или изменение уровня экспрессии специфичных для ЩЖ генов связаны с ростом и дедифференцировкой клеток этой железы, что приводит к различным ее заболеваниям [72], в том числе онкологическим. Раковые клетки могут проявлять как гипометилирование (чаще в недифференцированных опухолях, что обычно связано с глобальной нестабильностью генома), так и гиперметилирование (чаще наблюдается в дифференцированных опухолях), которое происходит из-за сниженной экспрессии генов — супрессоров опухолей [65, 70, 73]. Глобальное гипометилирование (снижение уровня 5-метилцитозина) было впервые обнаружено в опухолевых клетках.

В нормальных же клетках наблюдалось обычное метилирование [70].

Описанные явления легли в основу поиска биологических маркеров, гипо- и/или гиперметилирование которых влияет на процессы онкогенеза. Рассмотрим некоторые из этих маркеров.

RASSF1A. Белок семейства ассоциативных доменов RASSF1A регулирует функцию белка RAS и участвует в регуляции клеточного цикла и митотическом процессе [65]. Было обнаружено, что гиперметилирование промотора RASSF1A является ранним событием в развитии опухоли при ПРЩЖ (32 %) и ФРЩЖ (100 %) [65]. В отличие от ФРЩЖ, только небольшая часть ПРЩЖ имела aberrантное метилирование RASSF1A, что может иметь критически важное значение в онкогенезе ФРЩЖ, независимо от киназы BRAF/MAPK молекулярного пути MAPK [72].

PTEN. Этот ген представляет собой отрицательный модулятор пути PI3K/Akt, участвует в регуляции клеточного цикла, противодействуя росту клеток и быстрому делению, и конститутивно активируется в опухолях. Гиперметилированный *PTEN* был обнаружен в 50 % случаев ПРЩЖ и в 100 % случаев ФРЩЖ [72, 74].

RASAL1. Еще один недавно идентифицированный ген — супрессор опухолей, активатор белка Ras — *RASAL1*. Он обладает ГТФазной активностью и участвует в передаче сигналов RAS. Гиперметилированный *RASAL1* обнаружен почти в 27 % образцах ФРЩЖ [65].

Rap1GAP. Этот белок, активирующий ГТФазу, обнаружен в 72 % случаев ПРЩЖ и 38 % случаев ФРЩЖ. Было установлено, что его ингибирование связано с повышенным риском инвазии опухоли. В норме Rap1GAP снижает активность внутриклеточного сигнального белка Rap1. При нарушении экспрессии Rap1GAP происходит нарушение функционирования Rap1 и связанного с ним механизма клеточного сигнализации. Все это в итоге приводит к активации процессов онкогенеза клетки [74]. Данные иммуногистохимического исследования показали снижение экспрессии гена, кодирующего белок Rap1GAP в ПРЩЖ, что связано с развитием более агрессивных форм РЩЖ [72].

HOXB4, ADAMTS8. Эти гены связаны с другими генами, такими как *NIS*, *RAR-2* (рецептор ретинойдной кислоты) и *TIMP-3*. Было выявлено, что все они могут подавлять онкогенез. В связи с этим их дисрегуляция влияет на процессы клеточной пролиферации и метастазирования. Было обнаружено гиперметилирование промоторов генов *ADAMTS8* и *HOXB4* в 4 из 22 образцов ПРЩЖ (18 %) в обоих случаях и гиперметилирование промоторов генов *ZIC1* и *KISS1R* в 4 и 1 из 6 образцов РЩЖ соответственно (67 и 17 %). Это подтверждает, что гиперметилирование промоторных участков генов *ADAMTS8*, *HOXB4*, *ZIC1* и *KISS1R* нередко наблюдается в клетках РЩЖ [74].

RDH5. Данный фермент обратимо окисляет транс-ретинол до транс-ретинольдегида, который, в свою

очередь, с помощью ретиноид-активных альдегидных ферментов необратимо окисляется до ретиноевой кислоты (ALDH1A) [75]. Эта кислота участвует в дифференцировке клеток и играет большую роль в предотвращении роста опухолей [75]. В ПРЩЖ были обнаружены гипометилирование, гиперэкспрессия RDH5 и гипоекспрессия ALDH1A1, что свидетельствует о нарушении регуляции метаболизма ретиноевой кислоты [76].

KLK10. Этот ген кодирует белок, участвующий в деградации внеклеточного матрикса. V. Mancikova и соавт. наблюдали гипометилирование в данном гене, который тесно связан с *BRAF*-позитивными вариантами ПРЩЖ [76].

ZIC1, KISS1R. Эти гены часто обнаруживаются гиперметилированными или описываются как опухолевые супрессоры при злокачественных опухолях других локализаций, в частности головного мозга и молочной железы [74]. Была выявлена потенциальная роль гиперметилированного варианта гена *KISS1R* в развитии ФРЩЖ. Участки локального гиперметилирования, наблюдаемые в этом гене по сравнению с нормальной тканью и доброкачественными образованиями, предполагают его участие в прогрессировании опухоли. С. Savvidis и соавт. выяснили, что статистически значимое снижение экспрессии *KISS1R* способствует ускорению роста и увеличению размера опухоли ЩЖ [65, 77]. Кроме того, было выявлено, что *KISS1R* подавляет метастазирование ФРЩЖ [74].

p16INK4a, p14ARF. Эти гены участвуют в регуляторных процессах и генерируются ингибитором циклин-зависимой киназы 2A (CDKN2A) [78]. Для оценки их гиперметилирования E. Ishida и соавт. исследовали 39 образцов РЩЖ с помощью количественной метилирование-специфической полимеразной цепной реакции (qMSP). Они предположили, что гиперметилирование в *p16INK4a* может быть связано с ростом опухоли, а изменения в *p14ARF* способствуют индукции хронических воспалительных процессов [79].

RUNX3. Белок, кодируемый данным геном, принадлежит к семейству транскрипционных факторов и обладает функцией супрессора опухолей благодаря модуляции апоптоза и пролиферации клеток в солидных опухолях [65]. Связь между метилированием *RUNX3* и рецидивом ПРЩЖ позволяет использовать определение степени метилирования этого гена в клинической практике для диагностики ПРЩЖ [65].

Помимо рассмотренных выше, существуют также гены, изучение которых, несмотря на то что их метилирование мало изучено, очень перспективно. В частности, была выявлена повышенная степень метилирования следующих генов в клетках ПРЩЖ: *RAPb2* – метилирован на 22 %, *SLC5A8* – на 33,0 %, *DAPK* – на 34,0 %, *TIMP3* – на 53 %, *DKK3* – на 38,8 %, *DACT2* – на 64,6 %, *Mig-6* – на 79,0 %, *XAF1* – на 35,7 %. Аберрантное метилирование ДНК этих генов происходит во время канцерогенеза ЩЖ, что подтверждается

исследованиями супрессоров опухолей с использованием генного подхода [80]. Результаты других исследований показали, что гены *ADAMTS8*, *HOXB4*, *ZIC1*, *KISS1R*, *INSL4*, *DPPA2*, *TCL1B* и *NOTCH4* часто регулируются за счет их аберрантного метилирования в клетках ПРЩЖ и ФРЩЖ [78]. Кроме того, аберрантное метилирование генов *TIMP3*, *SLC5A8*, *DAPK* и *RAR2* связано с мутацией протоонкогена *BRAF* [74].

В исследовании S. Rodríguez-Rodero и соавт. были детально изучены уровни метилирования различных CpG-участков в здоровых образцах тканей ЩЖ и в образцах первичных опухолей РЩЖ [74]. В результате было обнаружено, что в образцах здоровой ткани 2946 CpG-участков были не метилированы, а 16901 участок оказался метилирован в разной степени. Анализ образцов РЩЖ выявил наличие 8613 CpG-участков (соответствующих 6904 генам) с измененным профилем метилирования по сравнению с аналогичными участками в нормальных тканях ЩЖ. Среди данных участков: 184 CpG-участка, соответствующих 155 генам, были гиперметилированы только при ПРЩЖ; 250 участков, соответствующих 210 генам, – только при ФРЩЖ; 309 участков, соответствующих 352 генам, – в большей степени при ПРЩЖ и реже при других формах РЩЖ; 408 участков, соответствующих 352 генам, – преимущественно при ФРЩЖ и реже при других формах РЩЖ. Таким образом, в результате было установлено, что измененный профиль метилирования ДНК в CpG-участках приводит к нарушению функционирования ряда онкогенов и в конечном счете – к развитию различных форм РЩЖ.

Помимо прочего, было установлено, что хромосомная транслокация, включающая слияние промоторной области гена *PAX8* и кодирующей области гена рецептора- γ , активируемого пролифератором пероксисом (*PPAR γ*), наблюдается в 35 % случаев ФРЩЖ [78]. Изменения в генах *RAS* и *PAX-PPAR γ* были выявлены в большинстве случаев ФРЩЖ [78]. Эти результаты доказывают роль метилирования в онкогенезе РЩЖ, а также наличие специфических генных маркеров, способных в перспективе упростить диагностику РЩЖ.

V. Mancikova и соавт. оценили профиль метилирования ДНК в высокодифференцированных опухолях ЩЖ [76]. Исследование включало в себя 83 образца опухоли и 8 образцов нормальных соседних тканей [76, 78]. Было обнаружено 460 гиперметилированных CpG-участков, соответствующих 416 генам, в образцах ФРЩЖ и 39 гиперметилированных CpG-участков, соответствующих 31 гену, в образцах ПРЩЖ. Кроме того было показано, что фолликулярные опухоли имеют более высокий уровень метилирования по сравнению с аденомами, что, вероятно, связано с прогрессивным накоплением участков гиперметилирования по мере развития онкологического процесса [78]. Интересно, что глобальный профиль метилирования ДНК зависит от гистологического подтипа РЩЖ. Так, у пациентов

с медуллярным РЩЖ наблюдались более высокие уровни метилирования по сравнению с пациентами с ПРЩЖ [78].

Таким образом, результаты исследований показывают важность дополнительного исследования метилирования ДНК. В перспективе можно надеяться на появление надежных и информативных биомаркеров, которые улучшат диагностику РЩЖ и позволят подобрать индивидуальную тактику лечения.

СОВРЕМЕННЫЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ПАНЕЛИ МОЛЕКУЛЯРНОГО ТЕСТИРОВАНИЯ

Выявление определенных молекулярных маркеров и генных мутаций, характерных для злокачественных или доброкачественных опухолей ЩЖ, используется в клинической практике в качестве диагностического инструмента. В частности, Американская тиреоидологическая ассоциация в 2015 г. разработала несколько рекомендаций относительно молекулярного тестирования при неопределенных результатах ТАБ узлов ЩЖ [81].

В мировой клинической практике для молекулярного тестирования новообразований ЩЖ наиболее часто применяются следующие диагностические панели: Afirma GSC (Afirma Genomic Sequencing Classifier); Afirma XA (Xpression Atlas); ThyGeNEXT (Thyroid oncogene next generation sequencing panel) ThyraMIR (Thyroid miRNA classifier); ThyroSeq v3 (Thyroid Cancer Next-Generation Sequencing Panel).

Первым вариантом теста Afirma GSC (Veracyte, Inc., Калифорния, США) был созданный в 2012 г. классификатор экспрессии генов, основанный на технологии микрочипов Afirma GEC (Gene Expression Classifier). С его помощью проводили анализ относительного уровня экспрессии микроРНК 167 генов, характерных для РЩЖ, в цитологическом материале ТАБ с неопределенными результатами [82]. Эффективность теста Afirma GEC была установлена в ряде исследований [83]. Однако с июля 2017 г. для повышения точности диагностики в клинической практике стала использоваться модифицированная версия теста Afirma GEC — Afirma GSC, основанная на более современной технологии NGS (next generation sequencing — секвенатор нового поколения). Этот тест позволяет анализировать более 10 тыс. генов для определения уровня экспрессии, вариантов последовательностей и изменений количества копий генома [84]. В исследовании 164 образцов ТАБ Afirma GSC показал 100 % чувствительность (95 % ДИ 78–100), 93 % специфичность (95 % ДИ 87–96), 60 % прогностическую ценность положительного результата (95 % ДИ 39–79) и 100 % прогностическую ценность отрицательного результата (95 % ДИ 97–100) [85].

В дополнение к Afirma GSC в 2018 г. была создана диагностическая панель Afirma XA, в настоящее время включающая 593 гена [86]. Ее используют не для выявления РЩЖ, а для прогнозирования осложнений

и тяжести течения этого заболевания в каждом конкретном случае на основании изменений в определенных генах, что позволяет применять индивидуальный подход к лечению [87].

Диагностическая панель ThyGeNEXT (Interpace Diagnostics, PDI, Inc., Нью-Джерси, США) создана в 2018 г. и является улучшенным вариантом панели ThyGenX — платформы, основанной на NGS и идентифицировавшей более 100 изменений в 8 генах, ассоциированных со злокачественными новообразованиями ЩЖ. С помощью новой панели можно обнаружить изменения в 10 генах [88]. Так же, как и старая версия, ThyGeNEXT используется совместно с панелью ThyraMIR, с помощью которой можно проанализировать 10 определенных микроРНК [88, 89]. Новый комбинированный механизм исследования 197 образцов ТАБ показал 95 % чувствительность (95 % ДИ 86–99), 90 % специфичность (95 % ДИ 84–95), 75 % прогностическую ценность положительного результата (95 % ДИ 60–86) и 97 % прогностическую ценность отрицательного результата (95 % ДИ 91–99) [88].

ThyroSeq (University of Pittsburgh Medical Center Division of Molecular & Genomic Pathology MGP Laboratory, Питтсбург, США) — диагностическая панель, в основе которой также лежит NGS. С помощью 1-й версии этого теста исследовали 12 генов на наличие 284 точечных мутаций [90]. Впоследствии была представлена 2-я (расширенная) версия данной диагностической панели — ThyroSeq v2, позволяющая распознавать более 400 мутаций в 14 генах [91]. В 2018 г. стала использоваться 3-я версия панели — ThyroSeq v3, с помощью которой можно проанализировать 112 генов на предмет различных генетических изменений, включая точечные мутации, вставки или делеции, слияния генов, изменения числа копий и аномальную экспрессию генов. В исследовании 247 образцов ТАБ данный тест показал 94 % чувствительность (95 % ДИ 86–98), 82 % специфичность (95 % ДИ 75–87), 66 % прогностическую ценность положительного результата (95 % ДИ 56–75) и 97 % прогностическую ценность отрицательного результата (95 % ДИ 93–99) [92].

В 2016 г. российские авторы разработали проект диагностической панели для определения 456 мутаций в 25 генах и детекции 23 геномных перестроек, ассоциированных с РЩЖ [93].

Имеются сведения о создании в Институте молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения Российской академии наук (Новосибирск) тест-систем, оценивающих уровень экспрессии микроРНК и онкогена *HMGA2*, а также мутации в гене *BRAF*, что позволяет различать доброкачественные и злокачественные опухоли ЩЖ, а также дифференцировать различные типы новообразований [2].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Широкая распространенность заболеваний ЩЖ, в частности дифференцированного РЩЖ, обуславливают

актуальность совершенствования методов диагностики. Кроме того, отсутствие патогномичных клинических симптомов при узловой патологии ЩЖ и трудности дооперационной малоинвазивной диагностики данного нарушения определяют значимость организации и проведения исследований молекулярных биомаркеров.

В настоящее время наиболее изучены генные и белковые биомаркеры. Исследователи все большее внимание уделяют определению роли эпигенетических механизмов: метилирования ДНК, молекул микроРНК и гистонов. Однако возможность использования большинства указанных молекулярных маркеров на сегодняшний день неоднозначна: требуются дальнейшие экспериментальные и клинические исследования для их прикладного использования в рутинной практике.

Большим потенциалом в качестве инструмента исследования обладают комплексные диагностические панели, позволяющие уже на этапе пункционной

биопсии выявить злокачественность процесса и спрогнозировать осложнения, тяжесть течения заболевания, вероятность метастазирования и рецидива в каждом конкретном случае. Однако относительно высокая стоимость подобных тест-систем ограничивает их использование в повседневной клинической практике.

Разработка и исследование новых диагностических панелей, особенно отечественного производства, позволят не только расширить фундаментальные знания о патогенезе РЩЖ, но и увеличить доступность более точных методов диагностики, позволяющих оценивать риски и прогноз в каждом конкретном случае. В совокупности с данными клинических, ультразвукового и цитологического исследований применение молекулярных панелей поможет принимать более обоснованные решения в отношении тактики ведения пациентов, что станет важным шагом в переходе к персонализированной медицине в повседневной клинической практике.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Durante C., Grani G., Lamartina L. et al. The diagnosis and management of thyroid nodules: a review. *JAMA* 2018;319(9): 914–24. DOI: 10.1001/jama.2018.0898.
- Сердюкова О.С., Титов С.Е., Малахина Е.С., Рымар О.Д. МикроРНК – перспективные молекулярные маркеры обнаружения рака в узлах щитовидной железы. *Клиническая и экспериментальная тиреоидология* 2018;14(3):140–8. [Serdyukova O.S., Titov S.E., Malakhina E.S., Rymar O.D. MicroRNAs – promising molecular markers for detecting cancer in thyroid nodules. *Klinicheskaya i eksperimental'naya tireoidologiya = Clinical and experimental thyroidology* 2018;14(3):140–8. (In Russ.)]. DOI: 10.14341/ket977.
- Xing M. Molecular pathogenesis and mechanisms of thyroid cancer. *Nat Rev Cancer* 2013;13(3):184–99. DOI: 10.1038/nrc3431.
- Duan H., Liu X., Ren X. et al. Mutation profiles of follicular thyroid tumors by targeted sequencing. *Diagn Pathol* 2019;14(1):39. DOI: 10.1186/s13000-019-0817-1.
- Donati B., Ciarrocchi A. Telomerase and telomeres biology in thyroid cancer. *Int J Mol Sci* 2019;20(12):2887. DOI: 10.3390/ijms20122887.
- Liu R., Xing M. TERT promoter mutations in thyroid cancer. *Endocr Relat Cancer* 2016;23(3):R143–55. DOI: 10.1530/erc-15-0533.
- Beysel S., Eyerci N., Pinarli F.A. et al. VDR gene foki polymorphism as a poor prognostic factor for papillary thyroid cancer. *Tumor Biol* 2018;40(11):101042831881176. DOI: 10.1177/1010428318811766.
- Yang L., Sun R., Wang Y. et al. Expression of ANGPTL2 and its impact on papillary thyroid cancer. *Cancer Cell Int* 2019;19:204. DOI: 10.1186/s12935-019-0908-9.
- Siołek M., Cybulski C., Gašior-Perczak D. et al. CHEK2 mutations and the Risk of Papillary Thyroid Cancer. *Int J Cancer* 2015;137(3):548–52. DOI: 10.1002/ijc.29426.
- Lu W., Xu Y., Xu J. et al. Identification of differential expressed LncRNAs in human thyroid cancer by a genome-wide analyses. *Cancer Med* 2018;7(8):3935–44. DOI: 10.1002/cam4.1627.
- Zhang J., Du Y., Zhang X. et al. Downregulation of BANCR promotes aggressiveness in papillary thyroid cancer via the MAPK and PI3K pathways. *J Cancer* 2018;9(7):1318–28. DOI: 10.7150/jca.20150.
- Zhao K., Yang H., Kang H., Wu A. Identification of key genes in thyroid cancer microenvironment. *Med Sci Monit* 2019;25:9602–08. DOI: 10.12659/msm.918519.
- Lin P., Guo Y., Shi L. et al. Development of a prognostic index based on an immunogenomic landscape analysis of papillary thyroid cancer. *Aging* 2019;11(2):480–500. DOI: 10.18632/aging.101754.
- Guan H., Guo Y., Liu L. et al. INAVA promotes aggressiveness of papillary thyroid cancer by upregulating MMP9 expression. *Cell Biosci* 2018;8:26. DOI: 10.1186/s13578-018-0224-4.
- Shi Y., Su C., Hu H. et al. Serum MMP-2 as a potential predictive marker for papillary thyroid carcinoma. *PLoS One* 2018;13(6):e0198896. DOI: 10.1371/journal.pone.0198896.
- Marečko I., Cvejić D., Šelemetjev S. et al. Enhanced activation of matrix metalloproteinase-9 correlates with the degree of papillary thyroid carcinoma infiltration. *Croat Med J* 2014;55(2):128–37. DOI: 10.3325/cmj.2014.55.128.
- Zhang W., Song B., Yang T. MMP-2, MMP-9, TIMP-1, and TIMP-2 in the peripheral blood of patients with differentiated thyroid carcinoma. *Cancer Manag Res* 2019;11:10675–81. DOI: 10.2147/cmar.s233776.
- Bumber B., Kavanagh M., Jakovcevic A. et al. Role of matrix metalloproteinases and their inhibitors in the development of cervical metastases in papillary thyroid cancer. *Clin Otolaryngol* 2019;45(1):55–62. DOI: 10.1111/coa.13466.
- Wang C., Tsai S. The non-canonical role of vascular endothelial growth factor-c axis in cancer progression. *Exp Biol Med* 2015;240(6):718–24. DOI: 10.1177/1535370215583802.
- Šelemetjev S., Đorić I., Paunović I. et al. Coexpressed high levels of VEGF-C and active MMP-9 are associated with lymphatic spreading and local invasiveness of papillary thyroid carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2016;146(5):594–602. DOI: 10.1093/ajcp/aqw184.
- Jang J., Kim D., Park H. et al. Preoperative serum VEGF-C but not VEGF-A level is correlated with lateral neck metastasis in papillary thyroid

- carcinoma. *Head Neck* 2019;41(8):2602–09. DOI: 10.1002/hed.25729.
22. Jia Z., Wu X., Zhang Y. et al. The correlation between ultrasonographic features, BFGF, and the local invasiveness of thyroid papillary carcinoma. *Medicine* 2020;99(26):e20644. DOI: 10.1097/md.0000000000020644.
 23. Zhou C., Yang C., Chong D. E-cadherin expression is associated with susceptibility and clinicopathological characteristics of thyroid cancer. *Medicine* 2019;98(30):e16187. DOI: 10.1097/md.0000000000016187.
 24. Ali K., Awny S., Ibrahim D. et al. Role of P53, E-cadherin and BRAF as predictors of regional nodal recurrence for papillary thyroid cancer. *Ann Diagn Pathol* 2019;40:59–65. DOI: 10.1016/j.anndiagpath.2019.04.005.
 25. Zhu X., Bai Q., Lu Y. et al. Expression and function of CXCL12/CXCR4/CXCR7 in thyroid cancer. *Int J Oncol* 2016;48(6):2321–9. DOI: 10.3892/ijo.2016.3485.
 26. Werner T., Forster C., Dizdar L. et al. CXCR4/CXCR7/CXCL12-axis in follicular thyroid carcinoma. *J Cancer* 2018; 9(6):929–40. DOI: 10.7150/jca.23042.
 27. Cho H., Kim J., Oh Y. Diagnostic value of HBME-1, CK19, Galectin 3, and CD56 in the subtypes of follicular variant of papillary thyroid carcinoma. *Pathol Int* 2018;68(11):605–13. DOI: 10.1111/pin.12729.
 28. Xin Y., Guan D., Meng K. et al. Diagnostic accuracy of CK-19, Galectin-3 and HBME-1 on papillary thyroid carcinoma: a meta-analysis. *Int J Clin Exp Pathol* 2017;10(8):8130–40.
 29. Erdogan-Durmus S., Ozcan D., Yarikaya E. et al. CD56, HBME-1 and cytokeratin 19 expressions in papillary thyroid carcinoma and nodular thyroid lesions. *J Res Med Sci* 2016;21(1):49. DOI: 10.4103/1735-1995.183986.
 30. Arcolia V., Journe F., Renaud F. et al. Combination of Galectin-3, CK19 and HBME-1 immunostaining improves the diagnosis of thyroid cancer. *Oncol Lett* 2017;14(4):4183–9. DOI: 10.3892/ol.2017.6719.
 31. Palo S., Biligi D.S. Differential diagnostic significance of HBME-1, CK19 and S100 in various thyroid lesions. *Malays J Pathol* 2017;39(1):55–67.
 32. Vlad M., Golu I., Dema A. et al. The absence of CD56 expression can differentiate papillary thyroid carcinoma from other thyroid lesions. *Ind J Pathol Microbiol* 2017;60(2):161. DOI: 10.4103/0377-4929.208378.
 33. Muthusamy S., Azhar Sha S., Abdullah Suhaimi S.N. et al. CD56 expression in benign and malignant thyroid lesions. *Malays J Pathol* 2018;40(2):111–9.
 34. Bartolazzi A., Sciacchitano S., D'Alessandria C. Galectin-3: the impact on the clinical management of patients with thyroid nodules and future perspectives. *Int J Mol Sci* 2018;19(2):445. DOI: 10.3390/ijms19020445.
 35. Li J., Vasilyeva E., Wiseman S. Beyond immunohistochemistry and immunocytochemistry: a current perspective on Galectin-3 and thyroid cancer. *Exp Rev Anticancer Ther* 2019;19(12):1017–27. DOI: 10.1080/14737140.2019.1693270.
 36. Gadelha M., Kasuki L., Dénes J. et al. MicroRNAs: suggested role in pituitary adenoma pathogenesis. *J Endocrinol Invest* 2013;36(10):889–95. DOI: 10.1007/bf03346759.
 37. Луценко А.С., Белая Ж.Е., Пржиялковская Е.Г. и др. МикроРНК и их значение в патогенезе СТГ-продуцирующих аденом гипофиза. *Вестник Российской академии медицинских наук* 2017;72(4):290–8. [Lutsenko A.S., Belaya Z.E., Przhilyalkovskaya E.G. et al. MicroRNA: role in GH-secreting pituitary adenoma pathogenesis. *Vestnik Rossijskoj akademii mediczinskikh nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences* 2017;72(4):290–8. (In Russ.)]. DOI: 10.15690/vgramn856.
 38. Аушев В.Н. МикроРНК: малые молекулы с большим значением Клиническая онкогематология. *Фундаментальные исследования и клиническая практика* 2015;8(1):1–12. [Aushev V.N. MicroRNA: small molecules of great significance. *Klinicheskaya onkologematologiya. Fundamental'nye issledovaniya i klinicheskaya praktika = Clinical oncohematology. Basic research and clinical practice* 2015;8(1):1–12. (In Russ.)].
 39. Wierinckx A., Roche M., Legras-Lachuer M. et al. MicroRNAs in pituitary tumors. *Mol Cell Endocrinol* 2017; 456:51–61. DOI: 10.1016/j.mce.2017.01.021. Available at: (<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0303720717300254?via%3Dihub>).
 40. Weber J., Baxter D., Zhang S. et al. The microRNA spectrum in 12 body fluids. *Clin Chem* 2010;56(11):1733–41. DOI: 10.1373/clinchem.2010.147405.
 41. Celano M., Rosignolo F., Maggisano V. et al. MicroRNAs as biomarkers in thyroid carcinoma. *Int J Genomics* 2017;2017:6496570. DOI: 10.1155/2017/6496570.
 42. Yu S., Liu Y., Wang J. et al. Circulating microRNA profiles as potential biomarkers for diagnosis of papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97(6):2084–92. DOI: 10.1210/jc.2011-3059.
 43. Lee J., Zhao J., Clifton-Bligh R. et al. MicroRNA-222 and MicroRNA-146B are tissue and circulating biomarkers of recurrent papillary thyroid cancer. *Cancer* 2013;119(24):4358–65. DOI: 10.1002/cncr.28254.
 44. Rosignolo F., Sponziello M., Giacomelli L. et al. identification of thyroid-associated serum microRNA profiles and their potential use in thyroid cancer follow-up. *J Endocr Soc* 2017; 1(1):3–13. DOI: 10.1210/js.2016-1032.
 45. Lee Y., Lim Y., Lee J. et al. Differential expression levels of plasma-derived Mir-146B and Mir-155 in papillary thyroid cancer. *Oral Oncol* 2015;51(1):77–83. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2014.10.006.
 46. Yoruker E., Terzioglu D., Teksoz S. et al. MicroRNA expression profiles in papillary thyroid carcinoma, benign thyroid nodules and healthy controls. *J Cancer* 2016;7(7): 803–9. DOI: 10.7150/jca.13898.
 47. Samsonov R., Burdakov V., Shtam T. et al. Plasma exosomal Mir-21 and Mir-181A differentiates follicular from papillary thyroid cancer. *Tumor Biol* 2016;37(9):12011–21. DOI: 10.1007/s13277-016-5065-3.
 48. Zhang Y., Zhong Q., Chen X. et al. Diagnostic value of MicroRNAs in discriminating malignant thyroid nodules from benign ones on fine-needle aspiration samples. *Tumour Biol* 2014;35(9):9343–53. DOI: 10.1007/s13277-014-2209-1.
 49. Paskaš S., Janković J., Živaljević V. et al. Malignant risk stratification of thyroid FNA Specimens with indeterminate cytology based on molecular testing. *Cancer Cytopathol* 2015;123(8):471–9. DOI: 10.1002/cncy.21554.
 50. Chou C., Yang K., Chou F. et al. Prognostic implications of MiR-146b expression and its functional role in papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98(2):E196–205. DOI: 10.1210/jc.2012-2666.
 51. Rosignolo F., Memeo L., Monzani F. et al. MicroRNA-based molecular classification of papillary thyroid carcinoma. *Int J Oncol* 2017;50(5):1767–77. DOI: 10.3892/ijo.2017.3960.
 52. Geraldo M., Kimura E. Integrated analysis of thyroid cancer public datasets reveals role of post-transcriptional regulation on tumor progression by targeting of immune system mediators. *PLoS One* 2015;10(11):e0141726. DOI: 10.1371/journal.pone.0141726.
 53. Zhang Z., Xiao Q., Li X. et al. MicroRNA-574-5p directly targets FOXN3 to mediate thyroid cancer progression via Wnt/ β -Catenin signaling pathway. *Pathol Res Pract* 2020;216(6):152939. DOI: 10.1016/j.prp.2020.152939.
 54. Chandran U., Medvedeva O., Barmada M. et al. TCGA expedition: a data acquisition and management system for TCGA data. *PLoS One* 2016;11(10):e0165395. DOI: 10.1371/journal.pone.0165395.
 55. Li X., Wen R., Wen D. et al. Downregulation of MiR-193a-3p via targeting Cyclin D1 in thyroid cancer. *Mol*

- Med Rep 2020;22(3):2199–218.
DOI: 10.3892/mmr.2020.11310.
56. Zou X., Gao F., Wang Z. et al. A three-MicroRNA panel in serum as novel biomarker for papillary thyroid carcinoma diagnosis. *Chin Med J* 2020;133(21):2543–51. DOI: 10.1097/cm9.0000000000001107.
 57. Santos C., Schulze A. Lipid metabolism in cancer. *FEBS J* 2012;279(15):2610–23. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2012.08644.x.
 58. Liao T., Wang Y., Hu J. et al. Histone methyltransferase KMT5A gene modulates oncogenesis and lipid metabolism of papillary thyroid cancer *in vitro*. *Oncol Rep* 2018;39(5):2185–91. DOI: 10.3892/or.2018.6295.
 59. Yan K., Lin C., Liao T. et al. EZH2 in cancer progression and potential application in cancer therapy: a friend or foe? *Int J Mol Sci* 2017;18(6):1172. DOI: 10.3390/ijms18061172.
 60. Chien M., Yang P., Lee J. et al. Recurrence-associated genes in papillary thyroid cancer: An analysis of data from the Cancer Genome Atlas. *Surgery* 2017;161(6):1642–50. DOI: 10.1016/j.surg.2016.12.039.
 61. Tsai C., Chien M., Chang Y. et al. Overexpression of histone H3 lysine 27 trimethylation is associated with aggressiveness and dedifferentiation of thyroid cancer. *Endocr Pathol* 2019;30(4):305–11. DOI: 10.1007/s12022-019-09586-1.
 62. Zhang W., Sun W., Qin Y. et al. Knockdown of KDM1A suppresses tumour migration and invasion by epigenetically regulating the TIMP1/MMP9 pathway in papillary thyroid cancer. *J Cell Mol Med* 2019;23(8):4933–44. DOI: 10.1111/jcmm.14311.
 63. Aalinkeel R., Nair B., Reynolds J. et al. Overexpression of MMP-9 contributes to invasiveness of prostate cancer cell line LNCaP. *Immunol Invest* 2011;40(5):447–64. DOI: 10.3109/08820139.2011.557795.
 64. Russo D., Durante C., Bulotta S. et al. Targeting histone deacetylase in thyroid cancer. *Expert Opin Ther Targets* 2012;17(2):179–93. DOI: 10.1517/14728222.2013.740013.
 65. Rodríguez-Rodero S., Delgado-Álvarez E., Díaz-Naya L. et al. Epigenetic modulators of thyroid cancer. *Endocrinol Diabetes Nutr* 2017;64(1):44–56. DOI: 10.1016/j.endien.2017.02.006.
 66. De Morais R., Sobrinho A., de Souza Silva C. et al. The role of the *NIS* (*SLC5A5*) gene in papillary thyroid cancer: a systematic review. *Int J Endocrinol* 2018;2018:1–11. DOI: 10.1155/2018/9128754.
 67. Zhang Z., Liu D., Murugan A. et al. Histone deacetylation of *NIS* promoter underlies BRAF V600E-promoted *NIS* silencing in thyroid cancer. *Endocr Relat Cancer* 2013;21(2):161–73. DOI: 10.1530/erc-13-0399.
 68. Kim S., Park K., Jeon J. et al. Potential anti-cancer effect of N-hydroxy-7-(2-naphthylthio) heptanamide (HNHA), a novel histone deacetylase inhibitor, for the treatment of thyroid cancer. *BMC Cancer* 2015;15(1):1003. DOI: 10.1186/s12885-015-1982-6.
 69. Fu H., Cheng L., Jin Y. et al. MAPK inhibitors enhance HDAC inhibitor-induced redifferentiation in papillary thyroid cancer cells harboring BRAF^{V600E}: an *in vitro* study. *Mol Ther Oncolytics* 2019;12:235–45. DOI: 10.1016/j.omto.2019.01.007.
 70. Zafon C., Gil J., Pérez-González B. et al. DNA Methylation in Thyroid Cancer. *Endocr Relat Cancer* 2019;26(7):R415–39. DOI: 10.1530/erc-19-0093.
 71. Якушина В.Д., Лернер Л.В., Казубская Т.П. и др. Молекулярно-генетическая структура фолликулярно-клеточного рака щитовидной железы. *Клиническая и экспериментальная тиреоидология* 2016;12(2):55–64. [Yakushina V.D., Lerner L.V., Kazubskaya T.P. et al. Molecular genetics of follicular cell thyroid carcinoma. *Klinicheskaya i eksperimental'naya tiroidologiya = Clinical and experimental thyroidology* 2016;12(2):55–64. (In Russ.)]. DOI: 10.14341/ket2016255-64.
 72. Faam B., Ghaffari M., Ghadiri A. et al. Epigenetic modifications in human thyroid cancer. *Biomed Rep* 2014;3(1):3–8. DOI: 10.3892/br.2014.375.
 73. Mitmaker E., Tabah R., How J. Thyroid nodule DNA methylation signatures: an important diagnostic annotation. *Clin Cancer Res* 2018;25(2):457–59. DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-18-2820.
 74. Rodríguez-Rodero S., Fernández A., Fernández-Morera J. et al. DNA methylation signatures identify biologically distinct thyroid cancer subtypes. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98(7):2811–21. DOI: 10.1210/jc.2012-3566.
 75. Beltrami C., dos Reis M., Barros-Filho M. et al. Integrated data analysis reveals potential drivers and pathways disrupted by DNA methylation in papillary thyroid carcinomas. *Clin Epigenetics* 2017;9:45. DOI: 10.1186/s13148-017-0346-2.
 76. Mancikova V., Buj R., Castelblanco E. et al. DNA methylation profiling of well-differentiated thyroid cancer uncovers markers of recurrence free survival. *Int J Cancer* 2014;135(3):598–610. DOI: 10.1002/ijc.28703.
 77. Savvidis C., Papaoiconomou E., Petraki C. et al. The role of KISS1/KISS1R system in tumor growth and invasion of differentiated thyroid cancer. *Anticancer Res* 2015;35:819–26.
 78. Zarkesh M., Zadeh-Vakili A., Azizi F. et al. Altered epigenetic mechanisms in thyroid cancer subtypes. *Mol Diagn Ther* 2017;22(1):41–56. DOI: 10.1007/s40291-017-0303-y.
 79. Ishida E., Nakamura M., Shimada K. et al. DNA hypermethylation status of multiple genes in papillary thyroid carcinomas. *Pathobiology* 2007;74(6):344–52. DOI: 10.1159/000110028.
 80. Zhu X., Cheng S. Epigenetic modifications: novel therapeutic approach for thyroid cancer. *Endocrinol Metab (Seoul)* 2017;32(3):326. DOI: 10.3803/enm.2017.32.3.326.
 81. Haugen B., Alexander E., Bible K. et al. 2015 American Thyroid Association management guidelines for adult patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer: The American Thyroid Association guidelines task force on thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid* 2016;26(1):1–133. DOI: 10.1089/thy.2015.0020.
 82. Alexander E., Kennedy G., Baloch Z. et al. Preoperative diagnosis of benign thyroid nodules with indeterminate cytology. *N Engl J Med* 2012;367(8):705–15. DOI: 10.1056/nejmoa1203208.
 83. Sahli Z., Smith P., Umbricht C. et al. Preoperative molecular markers in thyroid nodules. *Front Endocrinol* 2018;9:179. DOI: 10.3389/fendo.2018.00179.
 84. Ali S., Siperstein A., Sadow P. et al. Extending expressed RNA genomics from surgical decision making for cytologically indeterminate thyroid nodules to targeting therapies for metastatic thyroid cancer. *Cancer Cytopathol* 2019;127(6):362–9. DOI: 10.1002/cncy.22132.
 85. Endo M., Nabhan F., Porter K. et al. Afirma gene sequencing classifier compared with gene expression classifier in indeterminate thyroid nodules. *Thyroid* 2019;29(8):1115–24. DOI: 10.1089/thy.2018.0733.
 86. Krane J., Cibas E., Endo M. et al. The Afirma Xpression Atlas for thyroid nodules and thyroid cancer metastases: insights to inform clinical decision-making from a fine-needle aspiration sample. *Cancer Cytopathol* 2020;128(7):452–9. DOI: 10.1002/cncy.22300.
 87. Angell T., Wirth L., Cabanillas M. et al. Analytical and clinical validation of expressed variants and fusions from the whole transcriptome of thyroid FNA samples. *Front Endocrinol* 2019;(10):612. DOI: 10.3389/fendo.2019.00612.
 88. Lupo M., Wälts A., Sistrunk J. et al. Multiplatform molecular test performance in indeterminate thyroid nodules. *Diagn Cytopathol* 2020;48(12):1254–64. DOI: 10.1002/dc.24564.
 89. Zhang M., Lin O. Molecular testing of thyroid nodules: A Review of current available tests for fine-needle aspiration specimens. *Arch Pathol Lab Med* 2016;140(12):1338–44. DOI: 10.5858/arpa.2016-0100-ra.
 90. Nikiforova M., Wald A., Roy S. et al. Targeted next-generation sequencing panel (ThyroSeq) for detection of mutations

- in thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98(11):E1852–60. DOI: 10.1210/jc.2013-2292.
91. Valderrabano P., Zota V., McIver B. et al. Molecular assays in cytopathology for thyroid cancer. *Cancer Control* 2015;22(2):152–7. DOI: 10.1177/107327481502200205.
92. Nikiforov Y., Baloch Z. Clinical validation of the ThyroSeq v3 genomic classifier in thyroid nodules with indeterminate FNA cytology. *Cancer Cytopathol* 2019;127(4): 225–30. DOI: 10.1002/cncy.22112.
93. Якушина В.Д., Зайцева М.А., Павлов А.Е. и др. Разработка таргетной панели для молекулярно-генетической диагностики рака щитовидной железы. *Медицинская генетика* 2016;15(9):44–8. [Yakushina V.D., Zaytseva M.A., Pavlov A.E. et al. Design of targeted gene panel for molecular diagnostics of thyroid cancer. *Medicinskaya genetika = Medical Genetics* 2016;15(9):44–8. (In Russ.)]. DOI: 10.1234/XXXX-XXXX-2016-9-44-48.

Вклад авторов

А.А. Михайлова, А.В. Шестаков: разработка концепции исследования, сбор и обработка данных, редактирование текста статьи;
 К.А. Чубакова, Е.В. Колоколова, В.Ю. Елисеев, М.Я. Костяева, Э.Г. Акперов, В.Е. Пилипенко: сбор и обработка данных, написание и редактирование текста статьи;
 Т.В. Саприна: разработка концепции исследования, анализ научной работы, редактирование статьи, руководство процессом написания статьи;
 М.Р. Мухамедов, Е.Л. Чойнзонов: анализ научной работы, критический пересмотр материала с внесением ценного интеллектуального содержания, редактирование статьи.

Authors' contribution

A.A. Mikhailova, A.V. Shestakov: developing the research design, obtaining data for analysis, analysis of the obtaining data, text editing;
 K.A. Chubakova, E.V. Kolokolova, V.Yu. Eliseev, M.Ya. Kostyaeva, E.G. Akperov, V.E. Pilipenko: obtaining data for analysis, analysis of the obtaining data, article writing, text editing;
 T.V. Saprina: developing the research design, analysis of scientific work, text editing, guiding the process of writing an article;
 M.R. Mukhammedov, E.L. Choinzonov: analysis of scientific work, critical revision of the material with the introduction of valuable intellectual content, text editing.

Авторы внесли равный вклад в создание статьи.

The authors made an equal contribution to the creation of the article.

ORCID авторов / ORCID of authors

А.В. Шестаков / A.V. Shestakov: <https://orcid.org/0000-0001-9648-8255>
 А.А. Михайлова / A.A. Mikhailova: <https://orcid.org/0000-0001-6066-3525>
 К.А. Чубакова / K.A. Chubakova: <https://orcid.org/0000-0001-9010-4142>
 Е.В. Колоколова / E.V. Kolokolova: <https://orcid.org/0000-0001-6328-5697>
 В.Ю. Елисеев / V.Yu. Eliseev: <https://orcid.org/0000-0002-8671-0307>
 М.Я. Костяева / M.Ya. Kostyaeva: <https://orcid.org/0000-0002-7011-0307>
 Э.Г. Акперов / E.G. Akperov: <https://orcid.org/0000-0001-9621-4713>
 В.Е. Пилипенко / V.E. Pilipenko: <https://orcid.org/0000-0003-3488-8979>
 Т.В. Саприна / T.V. Saprina: <https://orcid.org/0000-0001-9011-8720>
 М.Р. Мухамедов / M.R. Muhamedov: <https://orcid.org/0000-0001-6262-7202>
 Е.Л. Чойнзонов / E.L. Choinzonov: <https://orcid.org/0000-0002-3651-0665>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Financing. The work was performed without external funding.

Статья поступила: 23.04.2021. Принята к публикации: 25.05.2021.

Article submitted: 23.04.2021. Accepted for publication: 25.05.2021.