

МикроРНК – перспективные молекулярные маркеры обнаружения рака в узлах щитовидной железы

© *О.С. Сердюкова*^{1*}, *С.Е. Титов*², *Е.С. Малахина*², *О.Д. Рымар*¹

¹ Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал ФГБНУ “Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук”, Новосибирск, Россия

² ФГБНУ “Институт молекулярной и клеточной биологии” Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

Одним из распространенных заболеваний щитовидной железы (ЩЖ) является узловой зоб. Распространенность узловых образований ЩЖ составляет от 2 до 65%, в зависимости от метода обнаружения. На долю рака по отношению к доброкачественным образованиям ЩЖ приходится 5–10%. В настоящее время основным методом дооперационной диагностики узловых образований является тонкоигольная аспирационная биопсия (ТАБ). Несмотря на то что ТАБ является “золотым стандартом” в диагностике узловых образований ЩЖ, в 30% случаев цитологическое заключение оказывается неопределенным, поскольку цитологических признаков недостаточно для дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных опухолей. Необходимость повысить эффективность заключений ТАБ привела к поиску новых диагностических биомаркеров и созданию на их основе диагностических панелей с целью применения их в диагностике неопределенных узловых образований. Определение молекулярных маркеров в аспирате ЩЖ позволит более точно дифференцировать доброкачественные и злокачественные новообразования на дооперационном этапе и тем самым уменьшит количество нецелесообразных операций.

В данной обзорной статье представлены характеристики микроРНК, позволяющие их использовать в предоперационной диагностике, указаны диагностические панели на основе мутаций генов и экспрессии микроРНК. Анализ данных литературы свидетельствует, что молекулярный анализ генетического материала ТАБ из узловых образований ЩЖ показывает большие перспективы в диагностике, прогнозе и лечении рака ЩЖ, однако в настоящее время нет достаточной доказательной базы, чтобы рекомендовать либо запрещать использовать молекулярное тестирование при получении цитологического заключения неопределенных узлов ЩЖ. Молекулярный анализ микроРНК – перспективный метод оценки узловых образований ЩЖ с неопределенной цитологией, однако он требует дальнейшего изучения и совершенствования.

Ключевые слова: щитовидная железа, узлы щитовидной железы, молекулярные маркеры, тонкоигольная аспирационная биопсия, микроРНК.

MicroRNAs – promising molecular markers for detecting cancer in thyroid nodules

© *Olga S. Serdyukova*^{1*}, *Sergey E. Titov*², *Ekaterina S. Malakhina*², *Oksana D. Ryamar*¹

¹ Institute of Internal and Preventive Medicine – branch of Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

² Institute of Molecular and Cellular Biology of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

Thyroid nodules are one of the most common thyroid diseases. The prevalence of thyroid nodules is estimated to be 2–65% depending on the detection methods. Yet despite the high frequency of thyroid nodules only about 5–10% of such nodules are malignant. Fine needle aspiration cytology of the thyroid nodule is currently the primary diagnostic tool for determining the nature of a thyroid nodule. Now, the fine needle aspiration biopsy is the gold standard for diagnosing thyroid cancer but in 30% of cases the cytological conclusion is uncertain. Cytological research is not enough to diagnose benign and malignant tumors. The need to improve the effectiveness of fine needle aspiration biopsy findings led to the search for new diagnostic biomarkers and the creation of diagnostic panels on their basis for their application in the diagnosis of uncertain nodules. Determination of molecular markers in the thyroid aspirate will allow to differentiate benign and malignant tumors more accurately at the preoperative stage and reduce the number of inappropriate surgery. The review article presents the characteristics of MicroRNAs, allowing them to be used in preoperative diagnosis of thyroid nodules. Diagnostic panels based on gene mutations and MicroRNA expression demonstrating high sensitivity and specificity of these methods are also indicated. Analysis of literature indicates that molecular analysis of fine needle aspiration genetic material from thyroid nodal formations demonstrates great prospects of prognosis, diagnosis and treatment of thyroid cancer. However, there is no sufficient evidence to recommend or to prohibit of utilization this molecular testing during the cytological conclusion of

indeterminate thyroid nodules. Molecular analysis (MicroRNA) is a perspective method for evaluation of thyroid nodal formations with indeterminate cytology, however, this method requires further study and improvement.

Keywords: thyroid, thyroid nodules, molecular markers, FNA, MicroRNA.

Введение

Одним из распространенных заболеваний щитовидной железы (ЩЖ) является узловой зоб. Это собирательное клиническое понятие, объединяющее различные по морфологии объемные образования ЩЖ, выявляемые с помощью пальпации и/или ультразвукового исследования (УЗИ). Распространенность узловых образований ЩЖ составляет от 2 до 65%, в зависимости от метода обнаружения [1]. На долю рака щитовидной железы (РЩЖ) по отношению к доброкачественным образованиям приходится от 5 до 10% [2]. Методом, который позволяет провести дифференциальный диагноз заболеваний и исключить злокачественную патологию ЩЖ, является тонкоигольная пункционная биопсия (ТАБ).

Цитологическая диагностика патологического процесса в ЩЖ базируется на совокупности определенных признаков. На результативность метода пункционной биопсии влияют следующие факторы: квалификация врача, производящего пункцию, квалификация врача-цитолога, соблюдение правильной техники изготовления мазков, количество полученного материала. По данным многочисленных исследований, чувствительность ТАБ в выявлении рака составляет 70–98% (в среднем около 80%), а специфичность – 70–100% (в среднем 92%) [3].

Несмотря на то что ТАБ считается достаточно точным методом диагностики, в 30% случаев заключение оказывается неопределенным, так как цитологических признаков оказывается недостаточно для определения доброкачественных и злокачественных опухолей. Цитологическое исследование пунктата узлового образования ЩЖ не позволяет надежно дифференцировать доброкачественную фолликулярную аденому от высокодифференцированного фолликулярного РЩЖ. В новом пересмотре международной цитологической классификации (Bethesda Thyroid Classification) от 2017 г. рекомендовано проведение молекулярно-генетических исследований в образцах с неопределенным цитологическим заключением [4]. Определение молекулярных маркеров в аспирате ЩЖ позволит более точно дифференцировать доброкачественные и злокачественные новообразования на дооперационном этапе и тем самым уменьшит количество нецелесообразных операций [5]. В последние годы появляется большое количество работ, посвященных изучению молекулярных маркеров, их идентификации, роли в дифференциальной диагностике доброкачественных и злокачественных поражений ЩЖ [3, 5–7].

МикроРНК – молекулярные маркеры

Одним из молекулярных маркеров являются микроРНК. Это короткие (18–24 нуклеотида) молекулы, регулирующие экспрессию множества генов на посттранскрипционной стадии. Исследования показали, что зрелые микроРНК регулируют экспрессию примерно 10–30% всех человеческих генов [8]. Они участвуют в широком спектре процессов, включая апоптоз, пролиферацию, дифференцировку, ангиогенез, которые играют решающую роль в развитии канцерогенеза. Последние исследования показали, что микроРНК не только ассоциированы с различными типами опухолей, но могут сами выступать в роли онкогенов и супрессоров опухолей. При злокачественной трансформации всегда происходит изменение уровня экспрессии каких-либо микроРНК. Они достаточно стабильны и могут быть выявлены в различных биологических материалах, таких как плазма крови, моча, гистологическая ткань [9]. Таким образом, микроРНК представляют собой перспективные диагностические маркеры.

МикроРНК в диагностике рака щитовидной железы

В последнее время проведено большое количество исследований, связанных с измерениями уровня экспрессии микроРНК в опухолях ЩЖ (табл. 1). В исследовании, проведенном в Швейцарии, были проанализированы 52 образца ткани ЩЖ (17 образцов с диагнозом “фолликулярный вариант папиллярной карциномы ЩЖ” (ФВПКЩЖ), 21 образец с диагнозом ПКЩЖ, согласно гистологическому заключению, и 8 образцов с нормальной тканью ЩЖ). Исследование уровня экспрессии 748 микроРНК показало, что для следующих микроРНК: -146b-3p, -146-5p, -221, -222, -222-5p, -375, -551b, -181-2-3p, -99b-3p уровень экспрессии был повышен в образцах с диагнозом ПКЩЖ по сравнению с нормальной тканью ЩЖ. Снижен уровень экспрессии в злокачественных опухолях микроРНК-1179, -138, -144-5p, -199b-5p, -204, -219-5p, -451. Уровень экспрессии четырех микроРНК: -125a-3p, -1271, -153, -623 повышен более чем в 5 раз в образцах с диагнозом ФВПКЩЖ по сравнению с ПКЩЖ [10].

Согласно исследованию, проведенному в медицинском университете в г. Варшаве, экспериментальная выборка которого составила 42 препарата (ПКЩЖ, непораженная ткань ЩЖ, прилегающая к опухоли, доброкачественная ткань ЩЖ, по 14 пре-

Таблица 1. МикроРНК, дифференциально экспрессирующиеся при РЩЖ: данные, полученные при гистологическом исследовании опухоли ЩЖ

Гистологические типы РЩЖ	Экспрессия микроРНК (↑/↓)		Ссылка на источник в списке литературы
	↑ повышенный уровень	↓ сниженный уровень	
ПКЩЖ	↑ 146b-3p, 146-5p, 221, 222, 222-5p, 181a	↓ 1179, 138, 144-5p, 199b-5p, 204, 451	10
	↑ 146, 221, 551b-3p	↓ 7, 144, 199a-1, 486-3p	11
	↑ 146, 221, 222	↓ 7, 204	12
	↑ 25-3p, 451a, 140-3b, let-7i	—	13
	↑ 451	—	14
	—	↓ 21, 9	15
	—	↓ 137	16
	—	↓ 451a	17
ФКЩЖ	↑ 10b, 92a, 221, 222	—	18
	↑ 183-3p, 183-5p, 107, 146b-3p, 221-3p	↓ 486-5p, 9-5p, 205-5p, 199-5p, 34b-3p	19
	↑ 137, 767-5p, 663b, 30d-3p, 874-3p, 125a-3p, 375	↓ 7-5p, 1179, 144-5p, 130b-5p, 328-3p, 30a-3p, 10a-5p, 296-5p, 138-5p	20
	↑ 81, 200	↓ 199	21
	↑ 197, 346	—	22
	↑ 221	↓ 574-3p	23
	—	↓ 199a-5p	24
	—	—	—
МКЩЖ	↑ 130a, 138, 193a-3p, 373, 498	↓ 7, 10a, 29c, 200b, 200c	25
	↑ 10a, 375	↓ 455	26
	—	↓ 129-5p	27

Примечание. ↑/↓ – повышенный/сниженный уровень экспрессии микроРНК; ПКЩЖ – папиллярная карцинома щитовидной железы; ФКЩЖ – фолликулярная карцинома щитовидной железы; МКЩЖ – медуллярная карцинома щитовидной железы.

паратов в каждой группе соответственно) было обнаружено 427 микроРНК, экспрессия которых выражена в тканях ЩЖ, в том числе экспрессия 388 микроРНК повышена при ПКЩЖ. Экспрессия 396 микроРНК выражена в ткани ЩЖ, прилегающей к злокачественному образованию ЩЖ. Экспрессия 409 микроРНК выражена в нормальной ткани ЩЖ. Из общего числа микроРНК, которые были выражены как в доброкачественных, так и злокачественных опухолях ЩЖ, изменение экспрессии 124 микроРНК было более выражено в ПКЩЖ по сравнению с группой контроля (ткань ЩЖ без узлового образования). Список с наиболее выраженным изменением уровня экспрессии составили микроРНК-146b-5p, -221-3p, -551b-3p, -486-3p, -144-3p, -146b-3p, -7-5p, -221-5p, -144-5p. Анализ показал, что 44 микроРНК имели разный уровень экспрессии при сравнении образцов с ПКЩЖ и непораженной тканью ЩЖ, прилегающей к опухоли, из них наиболее высокий уровень экспрессии характерен для микроРНК-146b-5p, -146b, -3p, а низкий уровень экспрессии – для микроРНК-1179, -7-2-3p [11].

В исследовании, проведенном в Испании на базе госпиталей Сан-Пау, Сабадель в Барселоне и Арнауде-Виланова в Лерида, после получения информи-

рованного согласия от участников исследования осуществлялся набор послеоперационных препаратов ЩЖ. В общей сложности выборка состояла из 127 образцов ЩЖ, которые, согласно заключению патологоанатома, были распределены на следующие категории: фолликулярные аденомы ($n = 26$), ФКЩЖ ($n = 23$), ПКЩЖ ($n = 78$). Кроме того, было получено 17 препаратов с нормальной тканью ЩЖ от пациентов, которым была проведена гемитиреоидэктомия и которые подписали согласие на забор ткани ЩЖ из контралатеральной (здоровой) доли ЩЖ. Все препараты с диагнозом ПКЩЖ подвергались скринингу на мутацию BRAF. Препараты с диагнозом фолликулярной аденомы, ФКЩЖ, ФВПКЩЖ подвергались скринингу на мутации HRAS, NRAS, KRAS. В результате исследования были идентифицировано два основных профиля экспрессии микроРНК, характерных и для фолликулярной, и для папиллярной опухоли ЩЖ. В фолликулярной опухоли ЩЖ был повышен уровень экспрессии микроРНК-515 и снижен уровень экспрессии микроРНК-1247. Среди препаратов с диагнозом ПКЩЖ повышен уровень экспрессии микроРНК-146b, -221, -222, -21, -31, но снижен уровень экспрессии микроРНК-1179, -7, -204. Согласно полученным

Таблица 2. МикроРНК, дифференциально экспрессирующиеся при РЩЖ: данные, полученные в цитологическом материале после проведения ТАБ

Экспрессия микроРНК (↑/↓)	Заключения цитологической диагностики			Ссылка на источник в списке литературы
	ПКЩЖ	ФКЩЖ	МКЩЖ	
↑ 146b, 187, 221 / ↓ 30d	+	+	–	30
↑ 146b, 155, 221	+	–	–	31
↑ 146b, 222	+	–	–	32
↑ 221, 222	+	+	+	33
↑ 148b-3p, 484	–	+	–	34

Примечание. ↑/↓ – повышенный/сниженный уровень экспрессии микроРНК. ПКЩЖ – папиллярная карцинома щитовидной железы; ФКЩЖ – фолликулярная карцинома щитовидной железы; МКЩЖ – медуллярная карцинома щитовидной железы.

результатам, авторы данного исследования выявили как минимум две молекулы микроРНК-34a, -221, которые они относят к регуляторам канцерогенеза ЩЖ.

Роль микроРНК в развитии и прогрессировании медуллярной карциномы ЩЖ (МКЩЖ) изучена недостаточно. Только два исследования оценивали уровень экспрессии микроРНК при МКЩЖ. М.Н. Nikiforova и соавт. в 2008 г. первые исследовали экспрессию микроРНК при МКЩЖ. В результате было установлено повышение уровня экспрессии микроРНК-10a и -375 при МКЩЖ по сравнению с доброкачественными образованиями ЩЖ. Кроме того, экспрессия микроРНК-375 ассоциировалась с более злокачественным течением, включая метастазирование в лимфатические узлы [28]. С. Mian и соавт. в 2012 г. подтвердили повышенную экспрессию микроРНК-375 как при МР, так и при С-клеточной гиперплазии [26, 29].

Кроме гистологического материала, количество микроРНК можно определять и в материале, полученном экстракцией с цитологических препаратов после проведения ТАБ (табл. 2). По результатам проведенного ретроспективного исследования R. Shen и соавт. [30], в которое вошли цитологические препараты ($n = 510$ в период с 2005 по 2010 г.), из которых 135 образцов имели гистологическое заключение, полностью соответствующее цитологическому, был отобран набор из 4 микроРНК (-146b, -221, -187 и -30d), с помощью которого можно с высокой точностью дифференцировать доброкачественные новообразования ЩЖ от злокачественных. Данные, полученные в этом исследовании, аналогичны результатам, полученным в других лабораториях. В исследовании М.Н. Nikiforova и соавт. сообщается, что набор из семи микроРНК (-187, -221, -222, -146b, -155, -224 и -197) может быть использован в дифференциальной диагностике РЩЖ в дооперационных образцах после проведения ТАБ [28].

В настоящее время проводятся исследования циркулирующих микроРНК в плазме крови в каче-

стве потенциальных биомаркеров для ранней диагностики опухоли, ее рецидива, метастазирования. Одной из конечных целей исследований является разработка панели на основе оценок количества микроРНК, циркулирующих в плазме крови [9]. Исследования, опубликованные на сегодняшний день, ориентированы в основном на пациентов с папиллярным раком (табл. 3). В работе S. Cantara и соавт. исследовалась роль циркулирующих в крови микроРНК с целью диагностики злокачественных узловых образований ЩЖ. В исследование вошли препараты сыворотки крови с предварительным диагнозом “доброкачественные узловые образования ЩЖ” (ДУОЩЖ) ($n = 12$), ПКЩЖ ($n = 12$), препараты с отсутствием патологии в ЩЖ ($n = 12$). Для анализа были отобраны 8 микроРНК (-579, -95, -29b, -501-3p, -548d-5p, -190, -362-3p, -518a-5p). В результате исследования был выявлен повышенный уровень экспрессии в сыворотке крови следующих микроРНК: -579, -95, -29b, -190 в образцах с диагнозом ПКЩЖ по сравнению с доброкачественными образованиями. Вторым этапом исследования стала проверка уровня экспрессии 4 микроРНК во второй исследуемой группе пациентов (ПКЩЖ ($n = 79$), узловой зоб ($n = 80$), препараты с отсутствием патологии в ЩЖ ($n = 41$)). В результате выявлено повышение уровня экспрессии микроРНК-190 в группе ПКЩЖ по сравнению с группами “доброкачественные образования ЩЖ”, “отсутствие патологии в ЩЖ”, снижение уровня экспрессии микроРНК-579, -95, -29b. Статистически значимых различий в уровне экспрессии микроРНК при сравнении подгруппы доброкачественных узловых образований и препаратов с отсутствием патологии в ЩЖ получено не было. Так как при исследовании сыворотки крови авторами были получены достоверные различия в уровне экспрессии микроРНК между подгруппами ПКЩЖ и доброкачественных узловых образований, было принято решение определить уровень экспрессии данных микроРНК в тканях

Таблица 3. Циркулирующие микроРНК – молекулярные маркеры в диагностике злокачественных новообразований ЩЖ

Гистологический тип ЗНО щитовидной железы	Биологический материал		Экспрессия микроРНК	Ссылка на источник в списке литературы
	Сыворотка	Плазма		
ПКЩЖ	–	+	↑ 146b, 222	35
	+	–	↑ 190 ↓ 95	36
	+	–	↑ let 7b-5p, 10a-5p, 93-5p, 191	37
	–	+	↓ 146a-5p, 150-5p, 199b-3p, 342-3p	
	–	+	↑ let-7i, 25-3p, 140-3p, 451a	38
	–	+	↑ 146b, 155	39
	–	+	↑ 9-3p, 134-3p	40
	+	–	↑ 222, ↓ 21	41
	+	–	↑ 24-3p, 28-3p, 103a-3p, 146a-5p, 146b-5p, 191-5p, 221-3p, 222-3p	42
ФКЩЖ	–	+	↑ 21	43

Примечание. ↑/↓ – повышенный/сниженный уровень экспрессии микроРНК; ПКЩЖ – папиллярная карцинома щитовидной железы; ФКЩЖ – фолликулярная карцинома щитовидной железы; ЗНО – злокачественное новообразование.

ЩЖ с диагнозами ПКЩЖ и ДУОЩЖ. В результате было обнаружено, что уровни экспрессии микроРНК-579, -95, -190 в тканях ЩЖ совпадают с уровнями экспрессии, полученными в сыворотке. Наибольшая диагностическая точность была получена для микроРНК-95, -190. Авторы делают вывод, что данные микроРНК могут быть использованы для дифференциальной диагностики узловых образований ЩЖ.

S. Yu и соавт. в 2012 г. впервые исследовали сывороточные микроРНК в ПКЩЖ и определили три микроРНК (-let-7e, -151-5p, -222), уровень экспрессии которых был повышен у пациентов из Китая с диагнозом папиллярного рака по отношению к доброкачественным образованиям [44]. M.E. Graham и соавт. провели количественную оценку 128 микроРНК в сыворотке крови 31 пациента, у 13 из которых диагностировалась ПКЩЖ. В результате исследования был выявлен сниженный уровень экспрессии микроРНК-146a-5p, -199b-3p и повышение уровня экспрессии микроРНК-let7b-5p, -10a-5p в сыворотке крови. Несмотря на полученные данные, различия в количестве микроРНК, выявленные в исследованиях, указывают на необходимость проведения крупномасштабного, строго контролируемого исследования, которое послужило бы основой для исследований в других популяциях с различными клиническими характеристиками [37].

В исследовании M. Li и соавт. приняли участие 56 пациентов с диагнозом ПКЩЖ, 95 пациентов с доброкачественными узловыми образованиями ЩЖ (ДУОЩЖ) и 10 пациентов без патологии в ЩЖ (контрольная группа). Исследование проводилось на базе хирургического отделения больницы Китайского медицинского университета (Шэньян, Китай). Среди 95 пациентов с ДУОЩЖ у 61 пациента выявлена аденома ЩЖ, у 34 – узловой зоб. Образцы

крови были взяты у всех пациентов до и после проведения операции на ЩЖ. В результате проведенного исследования было выявлено повышенное количество микроРНК-25-3p, -451a, -140-3p и -let-7i в случаях ПКЩЖ по сравнению с доброкачественными узлами ЩЖ и группой контроля. Более высокие уровни микроРНК-25-3p и -451a были обнаружены в тканях ЩЖ у пациентов с ПКЩЖ. Кроме того, уровень экспрессии микроРНК-25-3p и -451a в крови уменьшился после иссечения опухоли. Таким образом, авторы делают вывод, что уровни микроРНК-451a и микроРНК-25-3p в плазме могут служить новыми минимально инвазивными биомаркерами для предоперационной диагностики ПКЩЖ [38].

В исследование E.E. Yöğüker и соавт. были включены 86 пациентов, в том числе 31 пациент с диагнозом ПКЩЖ, которые лечились в Стамбульском университете, 31 пациент с диагнозом “многоузловой зоб ЩЖ”, 24 пациента без патологии в ЩЖ (контрольная группа). Образцы сыворотки крови пациентов с ПКЩЖ были получены до и через пять недель после операции. При анализе уровня экспрессии 7 микроРНК были получены следующие результаты: повышение уровня экспрессии микроРНК-222, -31, -151-5p и -let-7i, но снижение уровня экспрессии микроРНК-21 у пациентов с ПКЩЖ по сравнению с доброкачественными опухолями ЩЖ и контрольной группой пациентов. Послеоперационный уровень экспрессии микроРНК-222 был достоверно ниже предоперационного уровня для всех опухолей. Оценка до- и послеоперационной групп показала, что уровни экспрессии микроРНК-221 и микроРНК-222 были ниже после операции в группе пациентов с ПКЩЖ [41]. Согласно проведенным исследованиям, повышение количества микроРНК-146b, -222 в плазме крови характерно для ПКЩЖ [39, 41],

а повышение количества микроРНК-21 больше характерно для пациентов с ФКЩЖ, нежели с ПКЩЖ или доброкачественными образованиями ЩЖ [43].

Диагностические панели на основе определения мутаций и уровня экспрессии генов и микроРНК

На данный момент уже создано несколько доступных коммерческих диагностических панелей, таких как классификатор экспрессии генов Afirma (Gene Expression Classifier) (GEC), ThyGenX TEST, ThyraMIR, ThyroSeq TEST [45, 46] (табл. 4). В классификаторе экспрессии генов Afirma GEC оценивается относительный уровень экспрессии микроРНК в цитологическом материале, полученном после проведения ТАБ из доброкачественных и злокачественных образований ЩЖ. Это тест, основанный на технологии микрочипов, используемой для анализа экспрессии микроРНК 167 различных генов. Эти 167 генов включают в себя два набора генов, один из которых содержит 25 генов, менее распространенных при РЩЖ, а другой – 142 гена, наиболее распространенных при РЩЖ. По результатам исследования сообщается о принадлежности узла к доброкачественным образованиям или о подозрении на рак. Тест Afirma GEC был валидизирован в слепом проспективном многоцентровом исследовании с анализом 265 узловых образований ЩЖ с неопределенной цитологией и последующим гистологическим исследованием. В 2014 г. Veracyte представил классификаторы злокачественных новообразований Afirma (AMCs) для дальнейшего улучшения теста Afirma GEC в качестве комплексного диагностического инструмента для оценки риска развития злокачественных новообразований, в том числе МКЩЖ. Тесты AMCs выполняются только на цитологическом материале после проведения ТАБ, содержащем

подозрительный или злокачественный цитоморфологический диагноз или подозрительный результат Afirma GEC. AMCs включают изолированный профиль микроРНК для МКЩЖ и/или мутацию гена BRAF V600E для помощи в принятии дальнейшего клинического решения [47].

Тест ThyGenX разработан на основе геномных мутаций и транслокаций в гистологической ткани ЩЖ и на цитологическом материале. ThyGenX использует платформу следующего поколения (NGS) для выявления более ста генетических изменений по 8 генам, связанных со злокачественными новообразованиями ЩЖ. Он включает в себя оригинальные генетические изменения, проанализированные в тесте miRInform, а также тестирование мутации PIK3CA, которая участвует в формировании и прогрессировании фолликулярной карциномы и анапластической карциномы. Позднее был представлен новый молекулярный тест ThyraMIR. Этот тест основан на анализе 10 микроРНК: -29b-1-5p, -31-5p, -138-1-3p, -139-5p, -146b-5p, -155, -204-5p, -222-3p, -375, -551b-3p. Он используется в дополнение к тесту ThyGenX в тех случаях, когда результат теста ThyGenX неинформативен для постановки диагноза. Его диагностические характеристики: чувствительность 89% и специфичность 85% [45].

Тест ThyroSeq включает более 400 точечных мутаций и транслокаций. По мере добавления новых мутаций в панель увеличивается чувствительность, но уменьшается специфичность, полученные результаты все еще требуют проверки и дополнительной информации о применении этого теста относительно категории III, согласно заключениям современной международной цитологической классификации (Bethesda Thyroid Classification, 2017) [45].

В Институте молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения Российской академии

Таблица 4. Сравнение доступных в настоящее время молекулярных тест-систем для определения вероятности злокачественных изменений в цитологическом материале, полученном после проведения ТАБ ЩЖ

Молекулярные маркеры	Диагностические панели			
	Afirma GEC/Afirma BRAF	ThyGenX	ThyraMIR	ThyroSeq
Экспрессия мРНК/микроРНК	+/-	-	-/+	-
BRAF V600E	+	+	-	+
NRAS	-	+	-	+
HRAS	-	+	-	+
KRAS	-	+	-	+
RET/PTC	-	+	-	+
PAX8/PPARG	-	+	-	+
ALK fusions	-	-	-	+
TP 53	-	-	-	+
PIK3CA	-	-	-	+
AKT1	-	-	-	+

наук (г. Новосибирск) созданы тест-системы [48, 49] на основе молекулярных маркеров – уровней экспрессии микроРНК и онкогена HMGA2, мутации в гене BRAF. Данные панели позволяют различать доброкачественные и злокачественные опухоли ЩЖ, а также дифференцировать различные типы новообразований с высокой точностью на дооперационном уровне. Согласно проведенным исследованиям, с помощью данных панелей были получены следующие результаты: при ПКЩЖ в большинстве случаев происходит повышение уровней микроРНК-221, -222 и -146b, маркером МКЩЖ выступает микроРНК-375. Разделение фолликулярной карциномы и фолликулярной аденомы оказалось более сложным и менее надежным, с диагностическими характеристиками (для выявления ФКЩЖ) [50]. Данные результаты не противоречат результатам, описанным в литературных источниках.

Заключение

Таким образом, целью молекулярного тестирования является оценка характера узлов ЩЖ и снижение цитологической диагностической неопределенности перед операцией. Нужны дополнительные исследования на крупной когорте, с более длительным наблюдением для того, чтобы определить, какой конкретно тест будет считаться точнее другого. Эксперты Американской и Европейской тиреологических ассоциаций, Российского общества эндокринологов продолжают обсуждение, следует ли использовать молекулярные тесты в обычной клинической практике. Хотя молекулярный анализ генетического материала ТАБ из узловых образований ЩЖ показывает большие перспективы в диагностике, прогнозе и лечении РЩЖ, в настоящее время нет достаточной доказательной базы, чтобы рекомендовать либо выступать против использования молекулярного тестирования при получении цитологического заключения неопределенных узлов ЩЖ. Отмечается, что молекулярное тестирование должно всегда выполняться и интерпретироваться в контексте клинических, ультразвуковых и цитологических данных. Молекулярный анализ – перспективный метод оценки узловых образований щитовидной железы с неопределенной цитологией, однако он требует дальнейшего изучения и совершенствования.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках бюджетной темы НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН ГЗ No 0324-2018-0001, рег. No АААА-А17-117112850280-2. Работа выполнена при финансовой поддержке программы фундаментальных научных исследований по теме 0310-2018-0007.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Информация о вкладе каждого автора. Сердюкова О.С. – сбор и обработка материалов, написание текста. Титов С.Е. – редактирование текста. Малахина Е.С. – редактирование текста. Рымар О.Д. – сбор материалов, финальное редактирование текста рукописи. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили итоговую версию до публикации.

Список литературы [References]

1. Khalil AB, Dina R, Meeran K, et al. Indeterminate thyroid nodules: a pragmatic approach. *Eur Thyroid J.* 2018;7(1):39-43. doi: <https://doi.org/10.1159/000484600>.
2. Witczak J, Taylor P, Chai J, et al. Predicting malignancy in thyroid nodules: feasibility of a predictive model integrating clinical, biochemical, and ultrasound characteristics. *Thyroid Res.* 2016;9:4. doi: <https://doi.org/10.1186/s13044-016-0033-y>.
3. Haugen BR, Alexander EK, Bible KC, 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: <https://doi.org/10.1089/thy.2015.0020>.
4. Cibas ES, Ali SZ. The 2017 Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology. *Thyroid.* 2017;27(11):1341-1346. doi: <https://doi.org/10.1089/thy.2017.0500>.
5. Paschke R, Cantara S, Crescenzi A, et al. European Thyroid Association Guidelines regarding Thyroid Nodule Molecular Fine-Needle Aspiration Cytology Diagnostics. *Eur Thyroid J.* 2017; 6(3):115-129. doi: <https://doi.org/10.1159/000468519>.
6. Якушина В.Д., Лернер Л.В., Казубская Т.П., и др. Молекулярно-генетическая структура фолликулярно-клеточного рака щитовидной железы. // Клиническая и экспериментальная тиреология. – 2016. – Т. 12. – №2. – С. 55-64. [Yakushina VD, Lerner LV, Kazubskaya TP, et al. Molecular genetics of follicular cell thyroid carcinoma. *Clinical and experimental thyroidology.* 2016;12(2):55-64. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.14341/ket201625564>.
7. Березкина И.С., Саприна Т.В., Зима А.П., и др. Возможности традиционной и жидкостной цитологии в сочетании с иммуноцитохимической детекцией некоторых молекулярных маркеров в дооперационной диагностике высокодифференцированного рака щитовидной железы. // Клиническая и экспериментальная тиреология. – 2016. – Т. 12. – №1. – С. 38-45. [Beryozkina IS, Saprina TV, Zima AP, et al. Possibilities traditional and liquid-based cytology combined with immunocytochemical detection of some molecular markers in the preoperative diagnosis of well-differentiated thyroid cancer. *Clinical and experimental thyroidology.* 2016;12(1):38-45. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.14341/ket201613845>.
8. Kang YY, Liu Y, Wang ML, et al. Construction and analyses of the microRNA-target gene differential regulatory network in

- thyroid carcinoma. *PLoS One*. 2017;12(6):e0178331. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178331>.
9. Mahmoudian-Sani MR, Mehri-Ghahfarrokhi A, Asadi-Samani M, Mobini GR. Serum miRNAs as biomarkers for the diagnosis and prognosis of thyroid cancer: a comprehensive review of the literature. *Eur Thyroid J*. 2017;6(4):171-177. doi: <https://doi.org/10.1159/000468520>.
 10. Dettmer M, Perren A, Moch H, et al. Comprehensive MicroRNA expression profiling identifies novel markers in follicular variant of papillary thyroid carcinoma. *Thyroid*. 2013;23(11):1383-1389. doi: <https://doi.org/10.1089/thy.2012.0632>.
 11. Swierniak M, Wojcicka A, Czetwertynska M, et al. In-depth characterization of the microRNA transcriptome in normal thyroid and papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(8):E1401-1409. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2013-1214>.
 12. Mancikova V, Castelblanco E, Pineiro-Yanez E, et al. MicroRNA deep-sequencing reveals master regulators of follicular and papillary thyroid tumors. *Mod Pathol*. 2015;28(6):748-757. doi: <https://doi.org/10.1038/modpathol.2015.44>.
 13. Li M, Song Q, Li H, et al. Circulating miR-25-3p and miR-451a may be potential biomarkers for the diagnosis of papillary thyroid carcinoma. *PLoS One*. 2015;10(7):e0132403. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132403>.
 14. Wang Z, Zhang H, Zhang P, et al. Upregulation of miR-2861 and miR-451 expression in papillary thyroid carcinoma with lymph node metastasis. *Med Oncol*. 2013;30(2):577. doi: <https://doi.org/10.1007/s12032-013-0577-9>.
 15. Sondermann A, Andreghetto FM, Moulatlet AC, et al. MiR-9 and miR-21 as prognostic biomarkers for recurrence in papillary thyroid cancer. *Clin Exp Metastasis*. 2015;32(6):521-530. doi: <https://doi.org/10.1007/s10585-015-9724-3>.
 16. Dong S, Jin M, Li Y, et al. MiR-137 acts as a tumor suppressor in papillary thyroid carcinoma by targeting CXCL12. *Oncol Rep*. 2016;35(4):2151-2158. doi: <https://doi.org/10.3892/or.2016.4604>.
 17. Minna E, Romeo P, Dugo M, et al. miR-451a is underexpressed and targets AKT/mTOR pathway in papillary thyroid carcinoma. *Oncotarget*. 2016;7(11):12731-12747. doi: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7262>.
 18. Jikuzono T, Kawamoto M, Yoshitake H, et al. The miR-221/222 cluster, miR-10b and miR-92a are highly upregulated in metastatic minimally invasive follicular thyroid carcinoma. *Int J Oncol*. 2013;42(6):1858-1868. doi: <https://doi.org/10.3892/ijo.2013.1879>.
 19. Wojtas B, Ferraz C, Stokowy T, et al. Differential miRNA expression defines migration and reduced apoptosis in follicular thyroid carcinomas. *Mol Cell Endocrinol*. 2014;388(1-2):1-9. doi: <https://doi.org/10.1016/j.mce.2014.02.011>.
 20. Stokowy T, Wojtas B, Krajewska J, et al. A two miRNA classifier differentiates follicular thyroid carcinomas from follicular thyroid adenomas. *Mol Cell Endocrinol*. 2015;399:43-49. doi: <https://doi.org/10.1016/j.mce.2014.09.017>.
 21. Mancikova V, Castelblanco E, Pineiro-Yanez E, et al. MicroRNA deep-sequencing reveals master regulators of follicular and papillary thyroid tumors. *Mod Pathol*. 2015;28(6):748-757. doi: <https://doi.org/10.1038/modpathol.2015.44>.
 22. Chu YH, Lloyd RV. Medullary thyroid carcinoma: recent advances including MicroRNA expression. *Endocr Pathol*. 2016;27(4):312-324. doi: <https://doi.org/10.1007/s12022-016-9449-0>.
 23. Dettmer M, Vogetseder A, Durso MB, et al. MicroRNA expression array identifies novel diagnostic markers for conventional and oncocytic follicular thyroid carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(1):E1-7. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2012-2694>.
 24. Sun D, Han S, Liu C, et al. MicroRNA-199a-5p functions as a tumor suppressor via suppressing connective tissue growth factor (CTGF) in follicular thyroid carcinoma. *Med Sci Monit*. 2016;22:1210-1217. doi: <https://doi.org/10.12659/msm.895788>.
 25. Santarpia L, Calin GA, Adam L, et al. A miRNA signature associated with human metastatic medullary thyroid carcinoma. *Endocr Relat Cancer*. 2013;20(6):809-823. doi: <https://doi.org/10.1530/ERC-13-0357>.
 26. Hudson J, Duncavage E, Tamburrino A, et al. Overexpression of miR-10a and miR-375 and downregulation of YAP1 in medullary thyroid carcinoma. *Exp Mol Pathol*. 2013;95(1):62-67. doi: <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2013.05.001>.
 27. Duan L, Hao X, Liu Z, et al. MiR-129-5p is down-regulated and involved in the growth, apoptosis and migration of medullary thyroid carcinoma cells through targeting RET. *FEBS Lett*. 2014;588(9):1644-1651. doi: <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2014.03.002>.
 28. Nikiforova MN, Tseng GC, Steward D, et al. MicroRNA expression profiling of thyroid tumors: biological significance and diagnostic utility. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(5):1600-1608. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2007-2696>.
 29. Mian C, Pennelli G, Fassan M, et al. MicroRNA profiles in familial and sporadic medullary thyroid carcinoma: preliminary relationships with RET status and outcome. *Thyroid*. 2012;22(9):890-896. doi: <https://doi.org/10.1089/thy.2012.0045>.
 30. Shen R, Liyanarachchi S, Li W, et al. MicroRNA signature in thyroid fine needle aspiration cytology applied to "atypia of undetermined significance" cases. *Thyroid*. 2012;22(1):9-16. doi: <https://doi.org/10.1089/thy.2011.0081>.
 31. Agretti P, Ferrarini E, Rago T, et al. MicroRNA expression profile helps to distinguish benign nodules from papillary thyroid carcinomas starting from cells of fine-needle aspiration. *Eur J Endocrinol*. 2012;167(3):393-400. doi: <https://doi.org/10.1530/EJE-12-0400>.
 32. Panebianco F, Mazzanti C, Tomei S, et al. The combination of four molecular markers improves thyroid cancer cytologic diagnosis and patient management. *BMC Cancer*. 2015;15:918. doi: <https://doi.org/10.1186/s12885-015-1917-2>.
 33. Paskas S, Jankovic J, Zivaljevic V, et al. Malignant risk stratification of thyroid FNA specimens with indeterminate cytology based on molecular testing. *Cancer Cytopathol*. 2015;123(8):471-479. doi: <https://doi.org/10.1002/cncy.21554>.
 34. Stokowy T, Wojtas B, Jarzab B, et al. Two-miRNA classifiers differentiate mutation-negative follicular thyroid carcinomas and follicular thyroid adenomas in fine needle aspirations with high specificity. *Endocrine*. 2016;54(2):440-447. doi: <https://doi.org/10.1007/s12020-016-1021-7>.
 35. Lee JC, Zhao JT, Clifton-Bligh RJ, et al. MicroRNA-222 and microRNA-146b are tissue and circulating biomarkers of recurrent papillary thyroid cancer. *Cancer*. 2013;119(24):4358-4365. doi: <https://doi.org/10.1002/cncr.28254>.
 36. Cantara S, Pilli T, Sebastiani G, et al. Circulating miRNA95 and miRNA190 are sensitive markers for the differential diagnosis

- of thyroid nodules in a Caucasian population. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(11):4190-4198.
doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2014-1923>.
37. Graham ME, Hart RD, Douglas S, et al. Serum microRNA profiling to distinguish papillary thyroid cancer from benign thyroid masses. *J Otolaryngol Head Neck Surg.* 2015;44:33.
doi: <https://doi.org/10.1186/s40463-015-0083-5>.
38. Li M, Song Q, Li H, et al. Correction: circulating miR-25-3p and miR-451a may be potential biomarkers for the diagnosis of papillary thyroid carcinoma. *PLoS One.* 2015;10(8):e0135549.
doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135549>.
39. Lee YS, Lim YS, Lee JC, 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: <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2014.10.006>.
40. Yu S, Liu X, Zhang Y, et al. Circulating microRNA124-3p, microRNA9-3p and microRNA196b-5p may be potential signatures for differential diagnosis of thyroid nodules. *Oncotarget.* 2016;7(51):84165-84177. doi: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12389>.
41. Yoruker EE, Terzioglu D, Teksoz S, et al. MicroRNA expression profiles in papillary thyroid carcinoma, benign thyroid nodules and healthy controls. *J Cancer.* 2016;7(7):803-809.
doi: <https://doi.org/10.7150/jca.13898>.
42. Rosignolo F, Spozziello 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: <https://doi.org/10.1210/js.2016-1032>.
43. Samsonov R, Burdakov V, Shtam T, et al. Plasma exosomal miR-21 and miR-181a differentiates follicular from papillary thyroid cancer. *Tumour Biol.* 2016;37(9):12011-12021.
doi: <https://doi.org/10.1007/s13277-016-5065-3>.
44. 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):2084-2092.
doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2011-3059>.
45. 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):1338-1344.
doi: <https://doi.org/10.5858/arpa.2016-0100-RA>.
46. Poller DN, Glaysher S. Molecular pathology and thyroid FNA. *Cytopathology.* 2017;28(6):475-481.
doi: <https://doi.org/10.1111/cyt.12492>.
47. Valderrabano P, Zota VE, McIver B, et al. Molecular assays in cytopathology for thyroid cancer. *Cancer Control.* 2015;22(2):152-157.
doi: <https://doi.org/10.1177/107327481502200205>.
48. Патент РФ на изобретение №2569154/ 26.10.15. Колесников Н.Н., Титов С.Е., Ахмерова Л.Г., и др. Способ дифференциальной диагностики новообразований щитовидной железы человека. [Patent RUS №2569154/ 26.10.15. Kolesnikov NN, Titov SE, Ahmerova LG, et al. Sposob differentsial'noy diagnostiki novoobrazovaniy shchitovidnoy zhelezy cheloveka. (In Russ.)]
49. Патент РФ на изобретение №2548773/ 24.03.2015. Колесников Н.Н., Титов С.Е., Ахмерова Л.Г., и др. Способ определения доброкачественных и злокачественных новообразований щитовидной железы человека. [Patent RUS №2548773/ 24.03.2015. Kolesnikov NN, Titov SE, Ahmerova LG, et al. Sposob opredeleniya dobrokachestvennykh i zlokachestvennykh novoobrazovaniy shchitovidnoy zhelezy cheloveka. (In Russ.)]
50. Titov SE, Ivanov MK, Karpinskaya EV, et al. miRNA profiling, detection of BRAF V600E mutation and RET-PTC1 translocation in patients from Novosibirsk oblast (Russia) with different types of thyroid tumors. *BMC Cancer.* 2016;16:201.
doi: <https://doi.org/10.1186/s12885-016-2240-2>.

Информация об авторах [Authors info]

*Сердюкова Ольга Станиславовна, ординатор [Olga S. Serdyukova]; адрес: Россия, 630089, Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1 [address: Borisa Bogatkova 175/1, 630089 Novosibirsk, Russia]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3741-5301>; eLibrary SPIN: 6611-3580; e-mail: olganov92@mail.ru

Титов Сергей Евгеньевич, к.б.н. [Sergei E. Titov, PhD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9401-5737>; eLibrary SPIN: 4924-8365; e-mail: titovse78@gmail.com

Малахина Екатерина Сергеевна, к.м.н. [Ekaterina S. Malakhina, MD, PhD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9276-642X>; eLibrary SPIN: 4242-7224; e-mail: ekaterina.malakhina@gmail.com

Рымар Оксана Дмитриевна, д.м.н. [Oksana D. Rymar, MD, PhD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4095-0169>; eLibrary SPIN: 8345-9365; e-mail: orymar23@gmail.com

Как цитировать [To cite this article]

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 тиреондология. – 2018. – Т.14. – №3. – С. 140-148. doi: <https://doi.org/10.14341/ket9774>

Serdyukova OS, Titov SE, Malakhina ES, Rymar OD. MicroRNAs – promising molecular markers for detecting cancer in thyroid nodules. *Clinical and experimental thyroidology.* 2018;14(3):140-148.
doi: <https://doi.org/10.14341/ket9774>

Рукопись получена: 05.08.2018.

Рукопись одобрена: 11.11.2018.

Received: 05.08.2018.

Accepted: 11.11.2018.