

*М.С. Князева^{1,2,3}, Л.М. Забегина^{1,2,3}, Е.И. Сидина¹, А.А. Карицкий⁴, Е.В. Цырлина¹,
А.С. Артемьева¹, И.В. Кузнецова⁵, С.Л. Воробьев⁵, А.В. Малек^{1,2}*

Особенности профиля экспрессии микроРНК ткани анапластического рака щитовидной железы

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург,

²ООО «Онко-система», Москва,

³Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург,

⁴Университет ИТМО, Санкт-Петербург,

⁵ООО «Национальный центр клинической морфологической диагностики», Санкт-Петербург

Развитие злокачественных образований из фолликулярного эпителия щитовидной железы (ЩЖ) сопровождается специфическими изменениями профиля экспрессии внутриклеточных микроРНК. Оценка этих изменений находит практическое применение в ходе первичной или дифференциальной диагностики узловых образований ЩЖ. Анапластический рак ЩЖ (АРЩЖ) является относительно редкой формой заболевания, характеризуется злокачественным течением и высокой летальностью. Исследование роли микроРНК в процессе развития АРЩЖ создает основу для разработки новых диагностических и лечебных подходов. Цель исследования: анализ профиля экспрессии микроРНК в ткани АРЩЖ, идентификация микроРНК потенциально вовлеченных в патогенез заболевания. Материалы и методы: в исследование были включены образцы ткани АРЩЖ (n.20) и образцы нормальной ткани ЩЖ (n.22), анализ уровня экспрессии 85 опухоль-ассоциированных микроРНК был проведен методом ОТ-ПЦР. Результаты: в клетках АКЩЖ активирована экспрессия miR-375, miR-1246 и miR-21, снижена экспрессия miR-Let7b, miR-125b и miR-181a. Выводы: Дальнейшие исследования роли микроРНК в карциногенезе АРЩЖ необходимы для разработки новых подходов к диагностике и терапии этого заболевания.

Ключевые слова: анапластический рак щитовидной железы, микроРНК

Введение

МикроРНК — короткие молекулы РНК, регулирующие экспрессию генов на посттранскрипционном уровне. Важное значение микроРНК в развитии различных форм злокачественных новообразований щитовидной железы (ЩЖ) было показано в ряде отечественных [1] и зарубежных исследований [2, 3]. На стадии

внедрения в клиническую практику находятся несколько методов дифференциальной диагностики узловых образований ЩЖ, основанных на микроРНК-профилировании (Rosetta GXRveal, Rosetta Genomics) или комбинации анализа соматических мутаций и микроРНК (ThyGenX/ThyraMIR, Interpace diagnostics). Существующие решения позволяют дифференцировать различные варианты папиллярных и фолликулярных новообразований ЩЖ и повышать точность дооперационной диагностики [4].

Анапластический рак щитовидной железы (АРЩЖ) относится к редким опухолям с очень агрессивным течением. Эффективных способов лечения анапластической карциномы не существует, и это заболевание практически неизменно приводит к летальному исходу. На долю АРЩЖ приходится около 2% от всех злокачественных опухолей щитовидной железы и от 14 до 39% летальных исходов [5]. Медиана выживаемости с момента установления диагноза АРЩЖ составляет от 3 до 7 мес., 1- и 5-летний уровни выживаемости — 17 и 8% соответственно [6]. Согласно существующим представлениям АРЩЖ может возникать “de novo”, но по нашим данным в подавляющем большинстве случаев (более 80%) в ткани агрессивной опухоли удается обнаружить участки из предшествующих неоплазий (фолликулярная аденома, высокодифференцированная фолликулярная карцинома, папиллярная карцинома) и, как правило, эти опухоли с признаками Гюртле-клеточной дифференцировки [7]. Риск развития АРЩЖ повышается при наличии в ткани щитовидной железы очагов патологической пролиферации (аденомы) или наследственных синдромов (Гарднера, Каудена, синдромы МЭН 2А и 2В и др.) [6, 8]. В ткани АРЩЖ обнаруживается широкий спектр мутаций, включая мутации характерные для более частых форм РЩЖ (TP53 — 54%, (H-K-N)RAS — 43%, BRAF гена — 13,8%, PI3K-AKT — 17%) [9]. Эти данные указывают на высокую степень

генетической нестабильности клеток АРЦЖ, которая безусловно имеет связь с высоким потенциалом злокачественности.

Подозрение на АРЦЖ возникает в первую очередь на основании клинической картины — прогрессивного роста узлов щитовидной железы [10]. Диагноз ставится после цитологического или гистологического исследования. Но с учетом злокачественного характера течения заболевания, в подавляющем большинстве случаев имеющиеся терапевтические средства оказываются неэффективны. В этой связи актуальным становится необходимость поиска и внедрения в клиническую практику новых методов ранней диагностики АРЦЖ. В качестве потенциальных молекулярных маркеров заболевания, которые могут быть детектированы в биопсийном материале или в циркулирующей крови, рассматривают генетические мутации (изменения структуры ДНК), эпигенетические изменения (появление участков аномального гипометилирования), молекулярные маркеры стволовых клеток и изменения профиля экспрессии микроРНК [11].

По сравнению с обилием публикаций на тему особенностей профиля экспрессии микроРНК в клетках фолликулярных и папиллярных форм РЩЖ [12], участие микроРНК в развитии АРЦЖ исследовано слабо. В ряде работ описаны экспрессионные изменения отдельных молекул, оценка которых проводилась в образцах ткани АРЦЖ или в клеточных культурах. Например, экспрессия miR-125b miR-30a подавлена [13, 14], а экспрессия miR-483 — активирована [15] в клетках АРЦЖ. Для некоторых молекул (miR-144, miR-27b) показано участие в регуляции ответа клеток АРЦЖ на цитостатическую терапию [16, 17]. Очевидно, углубление имеющихся знаний, получение и анализ новых данных об участии микроРНК в развитии АРЦЖ необходимы для разработки новых подходов к диагностике и/или терапии этого заболевания.

Материалы и методы

Выделение РНК из образцов ткани. В исследовании были использованы архивные образцы ткани АРЦЖ (п. 20) и образцы нормальной ткани щитовидной железы (п. 22) от пациентов, проходивших лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России и в ФГБУ «Национальный медико-хирургический Центр имени Н.И. Пирогова» Минздрава России за период 2008 по 2015 гг. Образцы были получены после оперативного лечения (экстирпаций ЩЖ), прошли традиционные процедуры фиксации формалином и заливки в парафин. После гистологической верификации диагноза из каждого образца (блока) было получено 8-12 срезов толщиной 5 мкм. Выделение РНК из препаратов проводилось с помощью набора RNeasy FFPE Kit (Qiagen, №73504) в соответствии с протоколом производителя. Качество и количество выделенной РНК оценивалось с помощью флуориметра Qubit 4 (Invitrogen).

Профайлинг опухоль-ассоциированных микроРНК. С целью «широкого» анализа экспрессии молекул микроРНК были приготовлены т.н. «пулы». 22 образца РНК, выделенной из здоровой ткани щитовидной железы были объединены в эквимольных количествах для получения пула «норма», аналогичным образом из 20 образцов был получен пул «АРЦЖ». Последующий анализ проводился с двумя комплексными образцами, «пулами». Для этого был использован набор реагентов, производства компании Exiqon (miScript II RT Kit, miRCURY LNA miRNA Cancer-Focus PCR Panel), который позволяет провести реакцию универсальной (не микроРНК-специфической) обратной транскрипции и последующий ПЦР в реальном времени для 85 молекул. Все реакции были проведены в соответствии с протоколом производителя.

Оценка экспрессионных изменений отдельных молекул микроРНК. С целью валидации обнаруженных при анализе «пулов» различий уровней экспрессии ряда молекул микроРНК, анализ концентрации этих молекул был проведен методом ОТ-ПЦР в каждом образце отдельно. Был использован метод микроРНК-специфичной обратной транскрипции с последующей ПЦР, впервые описанный группой чешских исследователей под руководством М. Kubista [18] и реализованной с незначительными модификациями в виде набора для количественного анализа микроРНК (AL-miR, ООО «Альгимед-Техно, Минск). Набор для анализа каждой микроРНК содержал «two-tailed» праймер для обратной транскрипции, праймеры для ПЦР, флуоресцентный ПЦР зонд и ферментные смеси. Исследования были проведены в соответствии с протоколом производителя.

Анализ данных: анализ результатов микроРНК профайлинга был проведен путем простого сравнения значений Ct, полученных при анализе «пулов» РНК. Результаты, полученные при анализе экспрессии выбранных молекул в индивидуальных образцах РНК были нормализованы относительно значения Ct, среднего для каждого образца, по стандартной методике подсчета $dCt (2^{Ct(average)-Ct(miR)})$. После этого определялось среднее значение Ct для групп «АРЦЖ» и «Норм. ЩЖ», статистическая значимость разницы этих значений оценивалась с помощью U-критерия Манна-Уитни (Mann-Whitney U-test). Поиск оптимальных соотношений относительных концентраций двух молекул с разнонаправленными изменениями уровней экспрессии был проведен с использованием специально разработанного программного решения для частичной автоматизации процесса обработки данных. С его помощью для всех возможных пар молекул из исследуемого множества микроРНК (количество пар = (количество размещений), где N — количество микроРНК в исследуемом множестве) высчитывались относительные концентрации и значение AUC, а также проводилась оценка диагностической значимости каждой пары с помощью построения ROC-кривой.

Результаты

С целью предварительной оценки возможной разницы профиля экспрессии микроРНК в ткани АРЦЖ и ткани нормальной железы образцы РНК, выделенной из соответствующих гистологических препаратов, были объединены в равных долях в т.н. «пулы». Такой подход обеспечил достаточное количество материала для проведения «профайлинга» экспрессии таких молекул микроРНК, которые имеют доказанное отношение к развитию онкологических заболеваний. Использованный набор реактивов предполагал анализ 85 молекул микроРНК.

В проведенном эксперименте хотя бы в одном из пулов была детектирована экспрессия только 41 молекулы из 85 (АРЦЖ и норм.ЩЖ). Для нормализации результатов для данных по каждому «пулу» было подсчитано среднее значение, затем результат по каждой микроРНК был нормализован относительно среднего значения. На рис. 1 схематично представлены результаты: так уровень экспрессии ряда молекул совпадал или отличался не существенно в образцах нормальной ткани щитовидной железы и АРЦЖ (miR-126-3p, miR-150-5p, miR-214-3p, miR-223-3p, miR-26a-5p — обозначены зеленым цветом), уровень экспрессии ряда анализируемых молекул существенно отличался между двумя «пулами». В частности, в ткани АРЦЖ была детектирована сниженная экспрессия miR-let7b-5p, miR-125b-3p и miR-181a и повышенная экспрессия miR-21-5p, miR-375-3p и miR-1246-3p по сравнению с нормальной тканью щитовидной железы (рис. 1). Определенная разница уровня экспрессии наблюдалась также для других молекул микроРНК, но с учетом отсутствия возможности оценки статистической значимости, полученные данные могли быть расценены лишь как предварительные и нуждались в валидации.

Для получения статистически значимых результатов оценки уровня экспрессии нескольких потенциально «маркерных» молекул микроРНК, анализ относительной концентрации таких молекул был проведен во всех образцах РНК, полученных из ткани АРЦЖ (n. 20) и ткани нормальной железы (n.22). Результаты представлены на рис. 2. Так, экспрессия miR-21-5p, miR-375-3p и miR-1246-3p была статистически значимо выше в группе образцов ткани АРЦЖ по сравнению с группой образцов нормальной ткани щитовидной железы. Обратная ситуация наблюдалась относительно miR-let7b-5p, miR-125b-3p и miR-181a. Экспрессия этих молекул в клетках опухоли была ниже, чем в клетках нормальной ткани щитовидной железы. Представленные данные отражают возникающие в процессе развития АРЦЖ изменения уровня экспрессии и, вероятно, функциональной активности, нескольких молекул микроРНК.

Эти результаты являются усредненными для двух клинических групп, но их трудно экстраполировать на ситуацию анализа биопсийного материала конкретного пациента с быстро растущим узловым образованием щитовидной железы. В нескольких ранних исследованиях нами был предложен метод подбора и анализа так называемых «реципрокных пар» микроРНК [19, 20]. Принцип этого подхода заключается в поиске пар молекул, для которых характер-

ны разнонаправленные изменения уровней экспрессии. Например, в клетках АРЦЖ можно предполагать сочетанное угнетение экспрессии miR-125b-3p и активацию экспрессии miR-21-5p, но для проверки этого предположения необходимо определить соотношение концентраций двух молекул во всех анализируемых образцах и оценить корреляцию этого параметра (Ratio) с гистологическим диагнозом. В рамках данного исследования был разработан и автоматизирован алгоритм поиска таких «реципрокных микроРНК пар», при этом диагностическая значимость каждой возможной пары оценивалась путем ROC анализа распределения значений параметра Ratio в двух группах образцов: АРЦЖ и норм. ЩЖ. Так, например, соотношение концентраций двух молекул miR-21 и miR-125b позволяет уверенно дифференцировать АРЦЖ и нормальную ткань щитовидной железы: AUC = 0.99, чувствительность = 95.45%, специфичность = 92.86%. Аналогичные показатели диагностической значимости для пары miR-375/miR-125b составили: AUC = 0.97, чувствительность = 90.91%, специфичность = 100%, для пары miR-375/Let7b: AUC = 0.95, чувствительность = 90.91%, специфичность = 85.71%, соответственно. ROC-кривые для данных трех пар представлены на рис. 3.

Обсуждение

АРЦЖ — относительно редкая опухоль, на долю которой приходится лишь 1-2% от всех злокачественных новообразований щитовидной железы [21]. Это объясняет тот факт, что количество исследований молекулярных особенностей этой опухоли несоизмеримо мало по сравнению с количеством работ, сфокусированных на более дифференцированных вариантах РЦЖ. Но анализ даже столь ограниченного числа релевантных публикаций выявил совпадение полученных данных по некоторым молекулам микроРНК. Так, например, в недавней работе было показано угнетение экспрессии miR-125b в клетках ткани АРЦЖ и клеточных линиях [13]. Авторы этого исследования изучали биологические эффекты наблюдаемого снижения активности miR-125b и продемонстрировали, что мишенью негативной регуляции miR-125b является белок семейства фосфоинозитол-3-киназ (PI3K), который стимулирует двигательную активность и повышает инвазивность клеток АРЦЖ. Таким образом, следствием снижения концентрации miR-125b является патологическая активация PI3K, опосредующая высокий потенциал инвазивного роста АРЦЖ. В другой работе было показано, что следствием угнетения экспрессии микроРНК

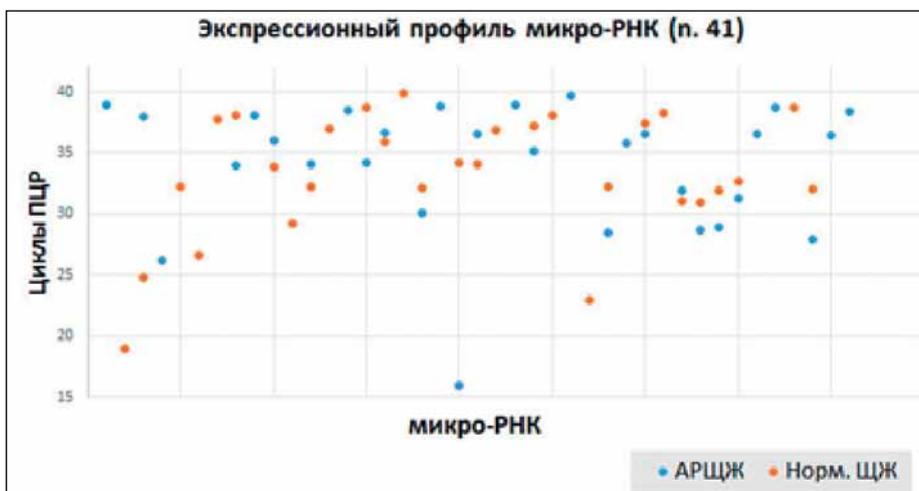


Рис. 1. Экспрессионный профиль 41 молекулы микроРНК определен методом ОТ-ПЦР в двух «пулах» образцов РНК, выделенной из здоровой ткани щитовидной железы (оранжевый) и выделенной из ткани АРЦЖ (голубой)

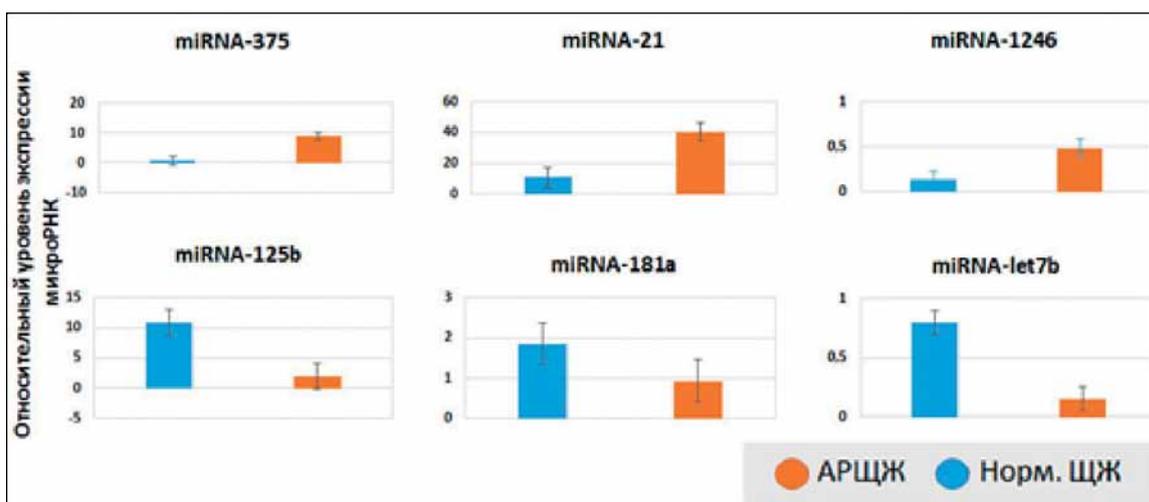


Рис. 2. Результаты анализа экспрессии микроРНК в образцах нормальной ткани ЩЖ (n. 22) и образцах ткани АРЦЖ (n. 20). Результаты нормализованы в рамках каждого образца, затем вычислены средние значения для двух клинических групп. Оценка статистической значимости проведена с помощью метода Манна-Уитни; $p < 0,5$ (*); $p < 0,05$ (**); $p < 0,005$ (***)

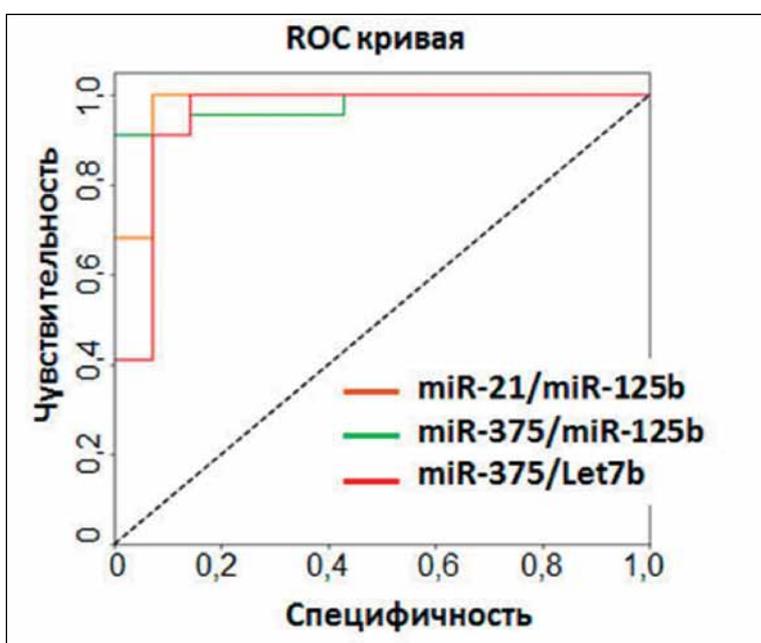


Рис. 3. Оценка диагностической значимости «реципрокных пар» микроРНК (параметра Ratio) в материале гистологических образцов (парафиновых блоков) ткани АРЦЖ (n. 20) и образцов нормальной ткани щитовидной железы (n. 22) с помощью построения ROC-кривой

Let7b в клетках различных вариантов РЩЖ, включая АРЩЖ, является ре-активация синтеза ядерного фактора HMGA2 [22]. В норме этот белок активен лишь в период эмбрионального развития, в клетках взрослого организма его синтез угнетается, но ре-экспрессия HMGA2 наблюдается в различных опухолях [23, 24], включая РЩЖ [25]. Повышение концентрации и функциональной активности miR-21 в клетках АРЩЖ было показано в ряде публикаций [26-28]. Результаты анализа экспрессии других микроРНК в клетках АРЩЖ не нашли подтверждения в литературе. Так, в нашей работе впервые показано, что в клетках АРЩЖ активирован синтез miR-375 и miR-1246, и угнетена экспрессия miR-181a. Дальнейшие исследования необходимы для понимания роли этих молекул в канцерогенезе АРЩЖ.

Высокая летальность АРЩЖ определяет как несвоевременной диагностикой, так и низкой эффективностью стандартных методов лечения. Поэтому новые данные о молекулярных особенностях этого типа опухоли должны анализироваться с точки зрения возможностей разработки новых методов ранней диагностики и новых терапевтических подходов. В контексте разработки новых диагностических подходов особый интерес представляют различные варианты так называемой «жидкостной биопсии» [29]. С учетом крайне агрессивного характера опухоли, морфологическая или молекулярная диагностика биопсийного материала на этапе макроскопического узла является «a priori» поздней в случае АРЩЖ. Среди различных стратегий жидкостной биопсии наибольший интерес исследователей концентрируется на разработке методов детекции специфических мутаций в пуле свободно-циркулирующей ДНК [30]. Результаты таких исследований позволяют пока лишь предлагать методы стратификации пациентов с определенными мутациями (т.н. «druggable target»), диагностический потенциал методов анализа циркулирующей ДНК пока не понятен. Перспективной представляется разработка методов анализа циркулирующих нано-везикул, в частности оценка состава везикулярных микроРНК [1, 31]. К настоящему моменту опубликованы результаты нескольких исследований, посвященных разработке методов диагностики дифференцированных форм РЩЖ. Актуальность разработки аналогичного подхода к проблеме ранней диагностики АРЩЖ представляется очевидной.

Исследование микроРНК-опосредованных механизмов формирования агрессивного фенотипа клеток АРЩЖ открывает перспективы разработки новых терапевтических подходов

[12]. Пока лишь в экспериментальных условиях было показано, что активация экспрессионной активности или введение в клетки АРЩЖ синтетических аналогов «tumor-suppressive» молекул микроРНК (miR-599, miR-128, miR-544, miR-34b, miR-125b [13, 32-35] может иметь терапевтический потенциал. Модификации состава микроРНК в клетках АРЩЖ может также рассматриваться как стратегия повышения их чувствительности к традиционным цитостатикам [16, 17]. Интересным подходом представляется технология редактирования генома (CRISPR/Cas9), позволяющая стабильно инактивировать экспрессию про-опухолевых микроРНК (так называемых «онко-миР») в клетках АРЩЖ [36].

В целом исследование роли микроРНК в развитии АРЩЖ ведется активно в различных лабораториях и исследовательских центрах, что позволяет надеяться на улучшение показателей летальности этой, к счастью редкой, формы рака щитовидной железы.

Заключение

Профиль экспрессии микроРНК в клетках АРЩЖ имеет характерные отличия от профиля экспрессии микроРНК в клетках нормальной ткани щитовидной железы. В частности, в клетках АКЩЖ активирована экспрессия miR-375, miR-1246 и miR-21, снижена экспрессия miR-Let7b, miR-125b и miR-181a.

ЛИТЕРАТУРА

1. 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.
2. Nikiforova M.N., Chiosea S.I., Nikiforov Y.E. MicroRNA expression profiles in thyroid tumors. *Endocr Pathol.* 2009; 20(2):85-91.
3. Nikiforov Y.E. Role of Molecular Markers in Thyroid Nodule Management: Then and Now. *Endocr Pract.* 2017; 23(8):979-988.
4. Sciacchitano S., Lavra L., Olivieri A. et al. Comparative analysis of diagnostic performance, feasibility and cost of different test-methods for thyroid nodules with indeterminate cytology. *Oncotarget.* 2017; 8(30):49421-49442.
5. Seshadri K.G. Anaplastic Cancer of the Thyroid: The Viper in the Pit. *Indian J Endocrinol Metab.* 2019; 23(1):1-2.
6. Haddad R.I., Lydiatt W.M., Ball D.W. et al. Anaplastic Thyroid Carcinoma, Version 2.2015. *J Natl Compr Canc Netw.* 2015; 13(9):1140-1150.
7. Воробьев С.В.: Морфологическая диагностика заболеваний щитовидной железы (цитология для патологов, патология для цитологов), СПб: КОСТА; 2014:104.
8. Smallridge R.C., Copland J.A. Anaplastic thyroid carcinoma: pathogenesis and emerging therapies. *Clin Oncol (R Coll Radiol).* 2010; 22(6):486-497.

9. Bonhomme B., Godbert Y., Perot G. et al. Molecular Pathology of Anaplastic Thyroid Carcinomas: A Retrospective Study of 144 Cases. *Thyroid*. 2017; 27(5):682-692.
10. Кореньюк В.А., Сосновский В.А., Мануилова А.А. et al.: Клинико-морфологический анализ анапластического рака щитовидной железы Молодой ученый. 2018; 16:31-32.
11. Bozorg-Ghalati F., Hedayati M.: Molecular Biomarkers of Anaplastic Thyroid Carcinoma. *Curr Mol Med*. 2017; 17(3):181-188.
12. Pishkari S., Paryan M., Hashemi M. et al. The role of microRNAs in different types of thyroid carcinoma: a comprehensive analysis to find new miRNA supplementary therapies. *J Endocrinol Invest*. 2018; 41(3):269-283.
13. Bu Q., You F., Pan G. et al. MiR-125b inhibits anaplastic thyroid cancer cell migration and invasion by targeting PIK3CD. *Biomed Pharmacother*. 2017; 88:443-448.
14. Boufraqueh M., Nilubol N., Zhang L. et al.: miR30a inhibits LOX expression and anaplastic thyroid cancer progression. *Cancer Res*. 2015; 75(2):367-377.
15. Zhang X., Liu L., Deng X. et al. MicroRNA 483-3p targets Pard3 to potentiate TGF-beta1-induced cell migration, invasion, and epithelial-mesenchymal transition in anaplastic thyroid cancer cells. *Oncogene*. 2019; 38(5):699-715.
16. Liu J., Feng L., Zhang H. et al.: Effects of miR-144 on the sensitivity of human anaplastic thyroid carcinoma cells to cisplatin by autophagy regulation. *Cancer Biol Ther*. 2018; 19(6):484-496.
17. Xu Y., Han Y.F., Ye B. et al. miR-27b-3p is Involved in Doxorubicin Resistance of Human Anaplastic Thyroid Cancer Cells via Targeting Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2018; 123(6):670-677.
18. Androvic P., Valihrach L., Elling J. et al. Two-tailed RT-qPCR: a novel method for highly accurate miRNA quantification. *Nucleic acids research*. 2017; 45(15):e144.
19. Колесников Н.Н., Титов С.Е., Верякина Ю.А. и др. Повышение точности и информативности тонкоигольной аспирационной пункционной биопсии опухолей молочной железы путем анализа микроРНК в материале цитологического мазка. *Успехи молекулярной онкологии*. 2016; 3(1):44-52.
20. Архангельская П.А., Самсонов Р.Б., Штам Т.А. и др. Оценка экспрессии 4 микроРНК в цитологических препаратах в качестве дополнительного метода диагностики рака шейки матки. *Опухоли женской репродуктивной системы*. 2017; 13(3):63-72.
21. Nagaiah G., Hossain A., Mooney C.J. et al. Anaplastic thyroid cancer: a review of epidemiology, pathogenesis, and treatment. *Journal of oncology*. 2011; 2011:542358.
22. Damanakis A.I., Eckhardt S., Wunderlich A. et al. MicroRNAs let7 expression in thyroid cancer: correlation with their deputed targets HMGA2 and SLC5A5. *Journal of cancer research and clinical oncology*. 2016; 142(6):1213-1220.
23. Malek A., Bakhidze E., Noske A. et al. HMGA2 gene is a promising target for ovarian cancer silencing therapy. *Int J Cancer*. 2008; 123(2):348-356.
24. Zhang S., Mo Q., Wang X. Oncological role of HMGA2 (Review). *International journal of oncology*. 2019; 55(4):775-788.
25. Титов С.Е., Иванов М.К., Цивликова Е.В. и др. Анализ относительной экспрессии гена HMGA2 и онкогенной микроРНК-221 в цитологических препаратах, полученных при тонкоигольной аспирационной биопсии узлов щитовидной железы. *Успехи молекулярной онкологии*. 2017; 4:24-31.
26. Allegri L., Rosignolo F., Mio C. et al. Effects of nutraceuticals on anaplastic thyroid cancer cells. *Journal of cancer research and clinical oncology*. 2018; 144(2):285-294.
27. Haghpanah V., Fallah P., Tavakoli R. et al. Antisense-miR-21 enhances differentiation/apoptosis and reduces cancer stemness state on anaplastic thyroid cancer. *Tumour Biol*. 2016; 37(1):1299-1308.
28. Frezzetti D., De Menna M., Zoppoli P. et al. Upregulation of miR-21 by Ras in vivo and its role in tumor growth. *Oncogene*. 2011; 30(3):275-286.
29. Khatami F., Tavangar S.M. Liquid Biopsy in Thyroid Cancer: New Insight. *International journal of hematology-oncology and stem cell research*. 2018; 12(3):235-248.
30. Sandulache V.C., Williams M.D., Lai S.Y. et al. Real-Time Genomic Characterization Utilizing Circulating Cell-Free DNA in Patients with Anaplastic Thyroid Carcinoma. *Thyroid*. 2017; 27(1):81-87.
31. Lee J.C., Zhao J.T., Gundara J. et al. Papillary thyroid cancer-derived exosomes contain miRNA-146b and miRNA-222. *The Journal of surgical research*. 2015; 196(1):39-48.
32. Bi J.W., Zou Y.L., Qian J.T. et al.: MiR-599 serves a suppressive role in anaplastic thyroid cancer by activating the T-cell intracellular antigen. *Experimental and therapeutic medicine*. 2019; 18(4):2413-2420.
33. Chen J., Zhao D., Meng Q. Knockdown of HCP5 exerts tumor-suppressive functions by up-regulating tumor suppressor miR-128-3p in anaplastic thyroid cancer. *Biomed Pharmacother*. 2019; 116:108966.
34. Wang F., Li Z., Sun B. miR-544 inhibits the migration and invasion of anaplastic thyroid cancer by targeting Yin Yang-1. *Oncology letters*. 2019; 17(3):2983-2992.
35. Maroof H., Islam F., Dong L. et al.: Liposomal Delivery of miR-34b-5p Induced Cancer Cell Death in Thyroid Carcinoma. *Cells*. 2018; 7(12).
36. Fuziwara C.S., Saito K.C., Kimura E.T. Thyroid follicular cell loss of differentiation induced by miRNA miR-17-92 cluster is attenuated by CRISPR/Cas9n gene silencing in anaplastic thyroid cancer. *Thyroid*. 2019.

Поступила в редакцию 24.09.2020 г.

*M.S. Knyazeva^{1,2,3}, L.M. Zabegina^{1,2,3}, E.I. Sidina¹,
A.A. Karizky⁴, E.V. Tsyrlina¹, A.S. Atrem'eva¹,
I.V. Kuznetsova⁵, S.L. Vorobyev⁵, A.V. Malek^{1,2}*

Mirna expression profiling of anaplastic thyroid cancer

¹N.N. Petrov National Medical Center of Oncology,
Saint Petersburg,

²Oncosystem Company Limited, Moscow,

³Institute of Biomedical Systems and Biotechnologies,
Peter the Great Saint. Petersburg Polytechnic University
(SPbPU), Saint Petersburg,

⁴Information Technologies and Programming Faculty,
Information Technologies, Mechanics and Optics (ITMO)
University, Saint-Petersburg,

⁵National Center of Clinical Morphological Diagnostics,
Saint Petersburg

Introduction: Malignant transformation of follicular epithelium of the thyroid gland is associated with specific alterations of miRNA profile. Evaluation of miRNAs expression changes is being applied for primary or differential diagnostic of thyroid nodes. Anaplastic thyroid cancer (ATC) is relatively rare form of thyroid cancer with high malignant potency and rate of lethality. Investigation of miRNAs role in ATC might provide with soul for development of new diagnostic and therapeutic approaches. Goal: To analyze expression profile of miRNA in ATC and to identify miRNAs involved in pathogenesis of ATC. Material and Methods: Samples of ATC (n.20) and normal thyroid tissue (n. 22) were included in the study, expression levels of 85 cancer-associated miRNAs were analyzed by RT-PCR. Results: Expression of miR-375, miR-1246 and miR-21 is activated while expression of miR-Let7b, miR-125b and miR-181a is suppressed in cells of ATC. Conclusions: Further investigation of miRNA involvement into carcinogenesis of ATC is needed for development of new diagnostic and therapeutic approaches.

Key words: anaplastic thyroid cancer, microRNA