

Огляди

DOI: 10.31793/1680-1466.2019.24-1.53

# Молекулярно-генетичні механізми патогенезу злоякісних пухлин щитоподібної залози (огляд літератури та власні дані, частина 1)

**Б.Б. Гуда,  
В.М. Пушкарьов,  
А.Є. Коваленко,  
В.В. Пушкарьов,  
О.І. Ковзун,  
М.Д. Тронько**

ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»

**Резюме.** У 1-й частині огляду проаналізовано нові дані наукової літератури щодо молекулярно-генетичних механізмів утворення папілярної та фолікулярної карцином щитоподібної залози. Відзначено роль мутацій і перебудов генів, продукти яких формують МАРК- і РІЗК-сигнальні каскади. Аналізуються нещодавно виявлені за допомогою сучасних генетичних методів чинники, що впливають на патогенез папілярної карциноми щитоподібної залози. Особливу увагу приділено доказам впливу іонізуючої радіації на канцерогенез. Обговорюється значущість нових діагностичних і прогностичних маркерів раку щитоподібної залози.

**Ключові слова:** щитоподібна залоза, папілярна та фолікулярна карциноми, онкогени, іонізуюча радіація.

## Вступ

Злоякісні пухлини щитоподібної залози (ЩЗ) становлять близько 3-4% від загального числа пухлин людини [1]. Проте останнім часом у зв'язку з аварією на Чорнобильській АЕС в Україні та радіоактивним забрудненням низ-

ки інших територій кількість пухлин ЩЗ помітно збільшилася, і тенденція до зростання їх частоти зберігається [2, 3]. Приріст становить близько 4% на рік, що зумовлює актуальність вивчення механізмів індукції новоутворень ЩЗ. Зростаючу глобальну захворюваність на диференційовані раки ЩЗ (ДТС) тісно пов'язано з поліпшенням соціально-економічного статусу пацієнтів, розширенням доступу до ресурсів охорони здоров'я та вдосконаленням методів

\* Адреса для листування (Correspondence): ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», вул. Вишгородська, 69, м. Київ, 04114, Україна. E-mail: pushkarev.vm@gmail.com

©Б.Б. Гуда, В.М. Пушкарьов, А.Є. Коваленко, В.В. Пушкарьов, О.І. Ковзун, М.Д. Тронько

## Огляди

діагностики [1, 4]. Натомість таке гіпердіагностування може пояснити лише близько половини випадків «епідемії» ДТС, інші чинники мають систематично досліджуватись [5].

Одним із найсерйозніших наслідків аварії на Чорнобильській АЕС є суттєве зростання кількості випадків захворювання на рак ЩЗ [6]. Згідно з даними Наукового комітету ООН із дії атомної радіації (НКДАР), це збільшення підтверджено в кількох аналітичних дослідженнях, які показали вірогідний зв'язок між підвищеною захворюваністю на рак ЩЗ і індивідуальними дозами від радіоактивного йоду, викинутого під час аварії. Папілярна карцинома ЩЗ є єдиним типом злоякісного утворення, у патогенезі якого встановлено роль іонізуючої радіації (ІР).

Відповідно до Міжнародної гістологічної класифікації ВООЗ, виділяють такі форми тиреоїдного раку: папілярний (РТС) – до 80%, фолікулярний (ФТС) – близько 10%, низькодиференційований (інсулярний) (РДТС), недиференційований (анапластичний) (АТС) – 2-5%, медулярний (розвивається з нейроендокринних парафолікулярних С-клітин) (МТС) – 5-7% [7]. Крім того, розрізняють проміжні типи карцином, що мають спільні риси з основними типами раку і номенклатура яких часто змінюється [8]. Наведені типи карцином різняться походженням, гістологічною будовою, інвазійними властивостями, шляхами метастазування, прогнозом, а також молекулярно-генетичними характеристиками [9]. ФТС і РТС часто класифікуються як форми ДТС, адже вони зазвичай характеризуються доброякісною клітинною фізіологією, у тому числі здатністю реагувати на тиреотропний гормон (ТТГ), транспортувати йод через натрій-йод симпортер і виробляти тиреоглобулін (ТГ) [10].

Інвазійні пухлини класифікують як карциноми; якщо інвазія є поверхневою та охоплює лише капсулу та обмежену місцеву паренхіму, пухлини позначають як мінімально інвазійні – це рак низького рівня агресивності, який не потребує інтенсивного лікування [11]. Інші пухлини інвазують у судини, де вони можуть поширюватися кров'ю та спричиняти серйозніше захворювання та смерть [12].

Рак ЩЗ є найбільш поширеним і вивченим типом ендокринних пухлин. Виникнення та розвиток цих новоутворень пов'язують із порушенням функції декількох важливих генів: *RET*,

*B-Raf*, *Ras* [13, 14]. Меншою мірою до канцерогенезу в ЩЗ причетні гени, що кодують Met, с-Мус, PTEN, TRK і низку інших білків [15]. Також запропоновано цікаву гіпотезу канцерогенезу в ЩЗ, за якою злоякісні пухлини утворюються із залишків фетальних клітин залози двох типів – стовбурових і тиреобластів [16].

### Папілярна карцинома (РТС)

Канцерогенез ЩЗ пов'язано із соматичними точковими мутаціями в генах *B-Raf* і *Ras*, а також перебудовами генів тирозинкіназ *RET* і *NTRK1* із конститутивною активацією сигнальних шляхів мітоген-активованої протеїнкінази (МАРК) і фосфоінозитид-3-кінази (PI3K) [15, 17]. За рідкісними винятками, ці мутації є взаємовиключними подіями, й існують досить-таки передбачувані зв'язки між онкогенним генотипом і гістопатологічним фенотипом пухлин із *RET*/РТС-перебудовами [18, 19] і точковими мутаціями *B-RAF*, характерними для РТС [13]. На підставі аналізу експресії 16 специфічних генів пухлини були розподілені на 2 підгрупи: *B-Raf*-подібні РТС (BVL-РТС) і *Ras*-подібні РТС (RL-РТС). Для пухлин BVL-РТС, що включають і карциноми з *RET*/РТС-перебудовами, характерною є переважна активація МАРК, тоді як для пухлин RL-РТС – одночасна активація каскадів PI3K/Akt і МАРК [10].

Мутації *Ras* є ознакою фолікулярної неоплазії. Мутації переважно в N-*Ras*, рідше – у H-*Ras* і K-*Ras* знаходять у фолікулярних аденомах, у фолікулярних карциномах та фолікулярних варіантах РТС – FVРТС [20]. Рідше ці пухлини містять мутації в *EIF1AX* [21], мутацію *B-Raf K601E*, перегрупування, пов'язані з *RET*, і перебудову PAX8-PPAR $\gamma$  [20].

Ідентифікація перестановок *RET* або мутацій *B-Raf V600E* та *Ras* не має суттєвого прогностичного значення. Додаткові молекулярні події, такі як мутації в промоторі TERT, мутації *PIK3CA*, незвичайне злиття *STRN-ALK* [22], та профілі мікроРНК, які корелюють з агресивними РТС, а також епігенетична дерегуляція p27 та цикліну D1, фібронектину, CEACAM (Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 (biliary glycoprotein)), MAGE (Melanoma Antigen Gene) і p53 [23] провокують прогресію агресивнішого фенотипу в пухлинах, які мають одну із загальних провідних мутацій [20, 24].

*RET* – рецепторну тирозинкіназу (RTK) клітинної мембрани, яка не експресується в нор-

мальних фолікулярних клітинах ЩЗ [18, 19, 25], було ідентифіковано 1985 року, а її перебудови невдовзі було знайдено в РТС [1]. RET функціонує як рецептор для ростових чинників GDNF (glial cell line-derived neurotrophic growth factor) із родини GFL. Ці ростові чинники включають GDNF, Neurturin, Persephin та Artemin. GFL взаємодіє з GPI (glycosylphosphatidylinositol)-зв'язаними корецепторами GFR $\alpha$ , формуючи біпартитний лігандний комплекс [25].

Ген *RET* людини локалізується на довгому плечі хромосоми 10q11.2 і складається з 21 екзона, які охоплюють ділянку 55000 п.о. Він кодує трансмембранний білок, RET. Позаклітинний сегмент RET містить 4 кадгериноподібні домени (CLD1-4), за якими йде домен, що містить цистеїнові залишки, які беруть участь в утворенні внутрішньомолекулярних дисульфідних зв'язків, та один Ca<sup>2+</sup>-зв'язуючий сайт. Білок RET є високоглікованим, що необхідно для його транспортування до клітинної мембрани. Трансмембранний сегмент складається з 22 амінокислот, серед яких S649 і S653 опосередковують внутрішньомолекулярну асоціацію та димеризацію RET, можливо, через формування міжмолекулярних водневих зв'язків [19, 25]. Внутрішньоклітинна частина RET містить примембранний домен (JM) і домен тирозинкінази (TK), розділений на два субдомени вставкою з 27 амінокислот у N-кінцевій і C-кінцевій ділянках. C-кінцева частка містить вставку кінази та петлю активації. Активність кінази RET контролюється цис-інгібуючим механізмом, причому замкнута автоінгібована конформація стабілізується взаємодією між N-кінцевою ділянкою та петлею активації C-кінцевої ділянки. Формування комплексу GFL-GFR $\alpha$ -RET змінює цю конформацію, стимулюючи активність RET-кінази. Фосфорилування RET по тирозинах Y687 (у JM), Y900 і Y905 (активаційна петля), Y981 (ділянка кінази) і Y1015, Y1029 і Y1062 (у C-хвості) залучено до передачі сигналу RET. Ці автофосфорилування відбуваються в порядку в часі — спочатку фосфорилуються Y1062 (ключове для трансдукції сигналу RET) і Y687, а пізніше — Y900, Y905, Y1015 і Y1029. Нещодавно показано, що RET функціонує як кіназа подвійної специфічності, і автофосфорилування S909 в активаційній петлі стимулює функцію кінази. COOH-кінцевий регіон RET може мати різну довжину внаслідок альтерна-

тивного сплайсингу 3'-кінця, утворюючи три різні ізоформи, що містять 9 (RET9), 43 (RET43) або 51 (RET51) амінокислот. Y1062 функціонує як стикувальний сайт для сигнальних молекул, що містять фосфотирозин-зв'язуючий (PTB) домен. Сюди належать Shc, N-Shc (RAI), Frs2, IRS1/2, DOK1 і DOK4/5, які активують каскади Ras/MAPK та PI3K/Akt. Y1096, специфічний для варіанта сплайсингу RET51, також пов'язано із цими сигнальними каскадами, які опосередковують RET-залежне виживання клітин, проліферацію та міграцію [25]. Y905 розташовано в активаційній петлі RET, і його фосфорилування пов'язано з активацією кінази. Y981 та Y1015 пов'язано з такими сигнальними молекулами, як Src і PLC- $\gamma$  відповідно [19, 25].

Разом з іншими мембранними та ядерними рецепторами RET належить до сімейства так званих «залежних» рецепторів. За відсутності ліганду RET проявляє проапоптотичну активність, яка блокується за умов стимуляції лігандом. Такий проапоптотичний ефект є незалежним від RET-кіназної активності й опосередковується розщепленням цитозольної частини RET каспазою-3, що вивільняє C-кінцевий пептид, здатний викликати загибель клітин. Чи важлива модуляція цієї функції для захворювань, пов'язаних із RET, поки невідомо [26].

Виникнення РТС пов'язують насамперед із хромосомною перебудовою гена *RET*, унаслідок якої промотор і N-кінцевий домен інших генів з'єднуються із C-кінцевим доменом *RET*. Наслідком перебудови є утворення химерних форм рецептора з конститутивно активною ТК. Усі точки розриву для реаранжування розташовано в межах 11-го інтрону гена. Перебудови є характерними лише для РТС і часто спостерігаються в невеликих карциномах, що свідчить на користь їх участі в ранньому канцерогенезі [27, 28]. Таких перебудов зараз налічують близько 20, але найбільш поширеними є *RET/PTC1* і *RET/PTC3*. Цей тип перебудов асоціюється зі спорадичними та індукованими радіацією РТС, які за морфологічними ознаками належать до класичних РТС, солідних РТС і дифузно-склерозуючого варіанта РТС [10].

*RET/PTC1* утворюється шляхом парацентричної інверсії довгого плеча хромосоми 10, що призводить до злиття гена тирозинкінази з геном *H4 (CCDC6, D10S170)*. *RET/PTC2* — за рахунок реципрокної транслокації між хромосо-

## Огляди

мами 10 і 17, унаслідок чого ТК-домен гена *RET* опиняється поряд із геном *R1a*, що кодує регуляторну субодиницю cAMP-залежної протеїнкінази А (РКА). *RET*/PTC3 є результатом внутрішньохромосомної перебудови, унаслідок якої відбувається злиття з геном *NCOA4* (*RFG*, *ELE1*). Ці перебудови можливі завдяки тому, що ділянки хромосом, які беруть участь у перебудові, під час інтерфази розташовано поряд, і двониткові розриви, що утворюються під дією опромінення або інших чинників, з'єднуються неправильно. Наслідком цих перебудов є втрата рецептором позаклітинної та трансмембранної частин і перехід такої урізаної форми в цитозоль. Промотор гена з боку 5'-кінця, під контроль якого потрапляє частина гена *RET*, забезпечує експресію химерного гена. Для участі химерного продукту в сигнальних процесах необхідною є димеризація, яка забезпечується наявністю доменів, які походять із N-кінцевого фрагмента гена-партнера, що містить елементи згорнутої спіралі [15]. Наступною стадією активації ТК є автофосфорилування специфічних тирозинових залишків, яке посилює взаємодію рецептора з ефекторними білками. Три ізоформи білків RET (*RET9*, *RET43* і *RET51*), які утворюються внаслідок альтернативного сплайсингу, характеризуються однаковою амінокислотною послідовністю до залишку 1063 і наступної за ним C-кінцевої послідовності [15]. Усі сайти фосфорилування RET є спільними для цих ізоформ і є місцями, що зумовлюють взаємодію із сигнальними білками. Фосфорилування тирозину pY905 забезпечує взаємодію з адапторними білками Grb7 і Grb10, що містять домен SH2; pY1062 — зв'язок із Shc і Frs2; pY1015 сприяє асоціації з фосфоліпазою C із подальшою активацією протеїнкінази C. Фосфорилування pY1062 активує сигнальний каскад Shc-Ras-Raf-МЕК-ERK, який, у свою чергу, стимулює синтез ДНК і поділ клітини [19, 25]. Для з'ясування ролі цих тирозинових залишків у канцерогенезі використали мутанти із заміною тирозину фенілаланіном. Виявилось, що швидкість утворення пухлини зменшується внаслідок кожної з трьох заміні: pY905, pY1015, pY1062, але надто помітно внаслідок заміни тирозину pY905. Цей факт підкреслює роль адапторних білків Grb7 і Grb10 у трансформації клітин ЩЗ, але водночас свідчить про важливість усіх трьох сигнальних шляхів. Зокрема, диференціація клітин ЩЗ залежить від локусу

pY1062, на що вказує зниження продукції тиреоїд-специфічних генів — *NIS*, *PAX-8* і тиреоглобуліну в разі мутації. Утім слід зазначити, що жодна із цих мутацій сама по собі не може спричинити утворення пухлини [19, 25].

Важливим відкриттям було виявлення онкогенної мутації T1799A в гені B-типу серин/треонінової протеїнкінази Raf — *B-Raf*. Існують 3 ізоформи Raf — A-Raf, B-Raf і C-Raf. Остання ізоформа експресується в усіх тканинах і є ланкою, що стоїть вище за МЕК/ERK, який опосередковує головним чином проліферативні, антиапоптозні механізми в клітині. B-Raf домінує у фолікулярних клітинах ЩЗ і є найактивнішою серед інших ізоформ щодо зв'язування та фосфорилування МЕК [13, 14].

Активація шляху ERK1/2, як правило, є наслідком мутацій сімейства генів *Ras* і *Raf* або ампліфікації та гіперактивації RTK [29]. Важливо відзначити, що онкогенні мутації *B-Raf* відбуваються набагато частіше, ніж *A-Raf* або *Raf-1*. Для повної активації A-Raf і Raf-1 потребують фосфорилування двох сайтів у межах свого кіназного домену, тоді як B-Raf містить два фосфомітетичних залишки аспарагінової кислоти та конститутивно фосфорильований серин в еквівалентних позиціях. Отже, B-Raf має вищу базальну активність, і потрібна лише одна мутація в межах його кіназного домену, аби «увімкнути» конститутивно високу активність. Такі заміни часто спостерігаються в ERK1/2-залежних пухлинах, найчастіше — це мутації V600E [29]. Мутації *B-Raf* є найбільш поширеними генетичними змінами в дорослих, і знаходять їх приблизно в 60% (29-87%) PTC [20]. Хоча наразі ідентифіковано понад 40 мутацій *B-Raf*, 95% мутацій — заміна тиміну 1799 на аденін. Ця мутація трапляється в спорадичних папілярних карциномах ЩЗ, переважно у відносно агресивних її підтипах, таких як високотітинна PTC. Унаслідок мутації гена *B-Raf* відбувається заміна глютамату на валін у позиції 600-го залишку білка B-Raf — V600, поряд із сайтом фосфорилування й активації Ser599 [30]. У неактивній формі послідовність G596-V600 в активаційній петлі білка утворює гідрофобний зв'язок із послідовністю G464-V471 у сайті P-петлі, що зв'язує АТР. У результаті кіназа втрачає здатність зв'язувати субстрат й АТР, що зумовлює її неактивність. Мутація V600 в активаційній петлі білка B-Raf порушує взаємодію цієї петлі

з Р-петлею, що може призводити до конститутивної активації протеїнкінази та всього каскаду, що лежить нижче. Описано також варіант перебудови B-Raf, коли кіназа була практично неактивною, проте фосфорилувала ERK за рахунок гетеродимеризації із C-Raf кіназою [30]. Потрібно відзначити, що мутація B-Raf відсутня в доброякісних новоутвореннях ЩЗ, але її знайдено в третині пухлин АТС [10].

У дорослих виявлення мутації B-Raf у РТС є незалежним чинником ризику прогресії пухлини та рецидивів, а також зниження реакції на терапію радіоїодом як наслідок індукованого B-Raf гальмування експресії NIS [10].

Мутації в гені B-Raf є взаємовиключними щодо інших типів генетичних порушень, що підтверджує їх незалежність в онкогенезі. Оскільки такі мутації спостерігаються лише в РТС і АТС, що розвиваються з РТС, їх можна використовувати як один із маркерів цих новоутворень [14].

Останні рекомендації пропонують більш комплексний набір даних для ідентифікації пацієнтів, які мають низький, середній або високий ризик рецидиву [11]. Серед них перспективними є молекулярні маркери. Більшість дослідників показали, що мутація B-Raf V600E не має практичного значення в стратифікації ризику попри той факт, що її пов'язано з більшою ймовірністю рецидиву вузлів, ніж папілярні раки, керовані іншими онкогенами [31].

#### **Фолікулярна карцинома (FTC)**

FTC становить приблизно 5-10% злоякісних пухлин ЩЗ. У дітей трапляється зрідка — до 5% випадків [32]. FTC є агресивнішим за РТС типом раку ЩЗ і характеризується 95% 5-річним виживанням [33]. Для цього типу раку характерною є дерегуляція понад 400 генів. Деякі із цих генів збігаються у FTC і FA, проте є і важливі відмінності, такі як порушення регуляції генів, що беруть участь в ангиогенезі та клітинній міграції [34].

**Мутації Ras.** Головними генетичними порушеннями, що призводять до розвитку FTC, є мутації гена Ras (40-53%) [10], що активують його, та перебудови генів PAX8/PPAR $\gamma$ , причому ці порушення є практично взаємовиключними, оскільки лише в 3% випадків трапляються разом [35]. Три типи гена Ras — H-Ras, K-Ras і N-Ras кодують невеликий (21 кДа) білок, ГТФази, який розташовується на внутрішній поверхні клітинної мембрани. Він може пере-

бувати в неактивній формі, яка містить ГДФ, і в активній — ГТФ-зв'язаній. Цей білок відіграє найважливішу роль у передачі сигналу від RTK і рецепторів, зв'язаних із G-білками. Характерними для гена Ras є точкові мутації по кодонах 12, 13 і 61, що призводить до конститутивної активації сигнальних каскадів, які лежать нижче і забезпечують проліферативні ефекти. А це, у свою чергу, може стати причиною виникнення злоякісних пухлин. У FTC, зокрема, частота точкових соматичних мутацій становить до 52%. Доказами на користь участі Ras у канцерогенезі ЩЗ є результати дослідів експресії мутованого по кодону 61 гена N-Ras у клітинах ЩЗ трансгенних мишей, у яких розвивалися фолікулярні неоплазми (в 11% — фолікулярні аденоми, у близько 40% — інвазійні фолікулярні карциноми). Виявлено супресор Ras — NORE1A (RasSF5A). У пухлинах FTC із перебудовами PAX8/PPAR $\gamma$  активність цього супресора виявилася пригніченою [36], що побічно підтверджує участь Ras у малігнізації тканини ЩЗ.

**Перебудови PAX8/PPAR $\gamma$ .** PAX8/PPAR $\gamma$  (paired box 8/peroxisome proliferator activated receptor  $\gamma$ ) з'єднаний шляхом перебудови ген, часто внаслідок хромосомної транслокації t(2,3)(q13,25), є відомим рекомбінантним онкогеном у карциномах ЩЗ, який трапляється майже в 60% FTC. Перебудови PAX8/PPAR $\gamma$  виявляються в типових FTC та пухлинах із клітин Гюртле (5%), і їх наявність пов'язано з добрим прогнозом [35]. Пухлини, які презентують ці перебудови, зазвичай не містять мутацій Ras, що може свідчити про співіснування двох окремих механізмів (перебудови PAX8/PPAR $\gamma$  або онкогенної активації Ras), що спонукають розвиток FTC. Перебудови PAX8/PPAR $\gamma$  виявляються у фолікулярних аденомах (2-10%) та фолікулярному варіанті РТС (FVРТС). Злиття PAX8/PPAR $\gamma$  містять приблизно 0-1% РТС [35].

**РІЗК.** Важливу роль у контролі ростових і проліферативних процесів відіграє сигнальний каскад, ядром якого є протеїнкінази РІЗК і Акт, що активуються через RTK [37]. Порушення нормального функціонування цього сигнального шляху часто призводять до виникнення та прогресії різних пухлин, у тому числі й пухлин ЩЗ. РІЗК каталізує приєднання фосфату до інозитольного кільця в 3'-положенні, унаслідок чого можуть утворитися фосфатидилінозитол-3,4-

## Огляди

дифосфат або -3,4,5-трифосфат (PI(3,4)P2 і PI(3,4,5)P3). У відповідь на дію ростових чинників RTK активує PI3K з утворенням на плазматичній мембрані PI(3,4)P2 і PI(3,4,5)P3, що сприяє транслокації на мембрану серинтреонінової протеїнкінази Akt, яка знаходиться нижче за PI3K у сигнальному ланцюгу, і потім фосфорилується та активується фосфоінозитид-залежною протеїнкіназою (PDK). Akt є центральною протеїнкіназою, що фосфорилує багато клітинних субстратів, наслідком чого є активація проліферативних, антиапоптотичних процесів [37]. Однією з найчастіших причин порушення функціонування цього каскаду є посилення активності PIK3CA — каталітичної субодиниці (p110) PI3K, що, відповідно, веде до інтенсифікації фосфорилування субстратів Akt. Таке посилення можливо внаслідок соматичних мутацій у гені *PIK3CA*, як це доведено для низки пухлин людини, таких як гліобластома, рак шлунка та молочної залози. Іншою причиною є ампліфікація *PIK3CA*, характерна для раку яєчників, раку легень і низки інших. Останніми роками активно ведеться пошук сполук, здатних впливати на активність Akt, яка є потенційною мішенню для протиракової терапії ШЦЗ. Важливим чинником канцерогенезу FTC є мутації, що інактивують пухлинний супресор PTEN, фосфатазу, яка контролює PI3K/Akt-сигнальний каскад [38]. Хоча детальні механізми, що пов'язують порушення функції PTEN із малігнізацією ШЦЗ, досі не з'ясовано, є дані, що мутації в гені, який кодує цю фосфатазу, призводять до неконтрольованої активації Akt і кіназ, що знаходяться нижче в регуляторному ланцюгу — mTOR і p70S6K. А це, у свою чергу, веде до зниження активності проапоптотного чинника FOXO3a та каспази-3, зростання експресії цикліну D1 і NF-κB, що в цілому призводить до пригнічення апоптозу та посилення проліферативних процесів [38].

**Інші чинники.** Певну роль у канцерогенезі FTC можуть відігравати ядерні рецептори тиреоїдного гормону — сімейство ліганд-залежних транскрипційних чинників, що беруть участь у регуляції росту, розвитку та диференціювання. Унаслідок альтернативного сплайсингу первинних транскриптів утворюються два продукти — TRα або TRβ. Мутації в гені *TRβ* із досить високим ступенем вірогідності призводять до спонтанних FTC [39].

Пацієнти з FTC характеризуються підвищеним ризиком розвитку метастазів у легенях і кістках, які з'являються раніше та є агресивнішими, ніж у хворих із РТС. Частота їх виникнення становить від 10% до 30% від загальної кількості хворих на FTC. Надекспресія рецепторів епідермального ростового чинника (EGFR) та васкулярного ендотеліального ростового чинника (VEGFR) за наявності FTC є свідченням канцерогенного та метастатичного потенціалу пухлини й корелює з погіршенням прогнозу [40].

### Значення інших онкогенів і чинників у злоякісній трансформації клітин ШЦЗ

**Met.** Протоонкоген, що кодує рецепторну тирозинкіназу. Рецептор є гетеродимером із мол. масою 190 кДа та складається з α- і β-субодиниць, поєднаних дисульфідними зв'язками. Лігандом, що зв'язується з рецептором, є ростовий чинник гепатоцитів / scatter-фактор (HGF/SF) — гетеродимер, який стимулює проліферацію тиреоцитів. Він характеризується високою спорідненістю до рецептора та був ідентифікований незалежно як ростовий чинник гепатоцитів і як чинник рухливості клітин (SF), що утворюється фібробластами [15]. Онкогенний потенціал Met реалізується через ампліфікацію або надекспресію гена, яка спостерігається приблизно в 70% випадків РТС та АТС, а також у 25% випадків FTC, тоді як у нормальній тканині та в доброякісних пухлинах експресія Met є незначною. Підвищена експресія Met асоціюється з агресивнішою поведінкою пухлини, але не є специфічною для клітин раку ШЦЗ, вона виявляється також у нейрогенних пухлинах і в гастроінтестинальних карциномах. У клітинах РТС сигнальні механізми RET/PTC1 взаємодіють із Met-онкогеном на транскрипційному та сигнальному рівнях, що, у свою чергу, підсилює транскрипційну активність β-катеніну та визначає неопластичну трансформацію тиреоцитів із вираженим проінвазійним фенотипом. Експресія с-Met може корелювати з поганим прогнозом РТС та утворенням метастазів у лімфатичних вузлах [41].

**Мутації промотора теломеразної зворотної транскриптази.** Соматичні мутації промотора гена теломерази (*TERT*) присутні приблизно в 9% папілярних карцином ШЦЗ [20]. Ці мутації генерують de novo зв'язуючі мотиви

для сімейства транскрипційних чинників Ets, що призводить до надмірної експресії теломерази. Така експресія, імовірно, призводить до іморталізації, високої ймовірності додаткових онкогенних процесів і прогресії пухлини. Серед пацієнтів із РТС із мутаціями *B-Raf V600E* та *TERT* виживання є значно нижчим, ніж у тих, хто має лише мутації *B-Raf V600E* [42].

Теломери — комплекси нуклеопроїнів, що складаються з декількох коротких нетранскрибованих ДНК-последовностей TTAGGG і білка. Вони захищають кінці хромосом від укорочення в ході поділу клітини за рахунок втрати їх последовності ДНК. Коли довжина теломер досягає критичної точки, клітини перестають ділитися та стають сенесцентними [43]. Загалом активність теломерази є низькою в більшості нормальних тканин і доброякісних пухлин і підвищеною — у злоякісних пухлинах, що пояснює здатність злоякісних клітин до тривалих поділів. Мутації промотора *TERT* описано в різних типах раку ЩЗ. Їх вивчення необхідно для передопераційної діагностики та прогнозу раку ЩЗ відповідно до їх високої поширеності в агресивних типах пухлин [44]. Найпоширенішими є 2 мутації — С288Т і С250Т — у різних типах раку ЩЗ [45]. Вивчено зв'язок між ними та деякі специфічні клініко-патологічні особливості, а також їх значущість для передопераційної діагностики та прогнозування розвитку раку. Поширеність цих мутацій у різних типах карцином становить 10,0%, із них 86,1% — із мутацією С228Т, 12% — із мутацією С250Т і 2,1% інших мутацій. Частота мутацій є то більшою, що більшою є агресивність раку, і вона досягає 56,8% в АТС [42, 45].

**с-Мус.** Транскрипційний чинник с-Мус є активатором транскрипції декількох регуляторних генів, що беруть участь у забезпеченні росту та диференціації. Збільшення експресії с-Мус спостерігається в основному в низькодиференційованих пухлинах ЩЗ. Вивченню функції й особливостей експресії гена *с-Мус* останнім часом приділяється значна увага. Для цілої низки злоякісних пухлин інактивація цього гена є необхідною та достатньою умовою зупинки або гальмування росту пухлини [10].

**Сигнальний шлях *RasSF1A/MST1/FOXO3*.** *RasSF1A* (Ras association domain family 1 isoform A) — білок, зв'язаний із мікротрубочками, який регулює активацію шляхів Ras, бере

участь у підтриманні стабільності геному, регулює зупинку клітинного циклу та мітозу [46]. Входить до складу доменної групи родини Ras та активує STE20-подібну протеїнкіназу-1 (MST1, або STK4). Активована MST1 фосфорилує Ser207 чинника транскрипції FOXO3, що порушує його взаємодію з білками 14-3-3 в цитоплазмі та сприяє транслокації FOXO3 до ядра, де він посилює транскрипцію проапоптотичних генів. Отже, шлях *RasSF1/MST1/FOXO3* відіграє важливу роль у пригніченні росту пухлини, сприяючи апоптозу [14].

Гіперметилування промотора *RasSF1A* є звичайним явищем і пов'язано з його «мовчанням» у карциномах ЩЗ, яке виражено, хоча й меншою мірою, навіть у доброякісних FA, а це свідчить, що *RasSF1/MST1/FOXO3* бере участь у ранньому генезі пухлин ЩЗ [47]. Активація цього сигнального шляху сприяє апоптозу в карциномах ЩЗ. Дослідження показали, що *B-Raf V600E*, але не *B-Raf wt*, безпосередньо взаємодіє із С-кінцем MST1 та пригнічує його кіназну активність, унаслідок чого знижується трансактивація FOXO3 незалежно від сигналіну MEK/MAPK. Отже, крім класичного зв'язку з MEK/ERK, негативна регуляція *RasSF1/MST1/FOXO3* є механізмом, який бере участь у *B-Raf V600E*-залежному канцерогенезі ЩЗ [14]. *B-Raf V600E* взаємодіє незалежно з трьома основними шляхами: MEK/ERK, *RasSF1/MST1/FOXO3* і NF-κB, тобто є унікальним і потужним онкогенним механізмом розвитку пухлин ЩЗ.

Активація шляху PI3K/Akt, індукована інактивацією PTEN, також може знижувати активність шляху *RasSF1/MST1/FOXO3* у FTC [38]. Це передбачає Akt-опосередковане фосфорилування членів родини FOXO, що призводить до їх транслокації з ядра до цитоплазми, де вони секвеструються білками 14-3-3, що знижує транскрипцію проапоптотичних генів [14].

**Сигналінг *HIF1α*.** Відомо, що гіпоксія стимулює метаболізм раку, ріст і прогресування пухлини. *HIF1α* є ключовим посередником відповіді на гіпоксію. Він зв'язується з *HIF1β*, формуючи чинник транскрипції *HIF1*, який ініціює експресію генів, пов'язаних із метаболізмом клітин та ангиогенезом у пухлинах. Ангиогенез, який є ключовим етапом у прогресії солідних пухлин, є звичайною реакцією на

## Огляди

внутрішньопухлинну гіпоксію. В ангиогенезі бере участь VEGFA, експресія якого регулюється HIF1. HIF1 $\alpha$  не експресується в нормальній тканині ЩЗ, але експресується в пухлинах, надто в агресивних типах, і це узгоджується з його роллю в прогресії туморогенезу. Онкоген Met, що є ще однією мішенню HIF1, також надекспресується з підвищенням вмісту HIF1 $\alpha$  в пухлинах ЩЗ. HIF1 також регулює каскади PI3K/Akt [48] і MAPK [49], що посилює вплив цих двох шляхів на прогресію пухлин ЩЗ.

**TSHR.** Через активацію тиреотропним гормоном (TSH) рецептор TSH відіграє фундаментальну роль у регуляції проліферації, диференціювання та функціонування ЩЗ [14]. TSHR — рецептор, зв'язаний із G-білками, який ініціює два сигнальні шляхи: G $\alpha$ -опосередкований cAMP-сигналінг і G $\beta$ - або G11-опосередкований PLC/ $\beta$ -інозитол-1,4,5-трифосфат/внутрішньоклітинний Ca<sup>2+</sup>-сигналінг. TSH асоціюється з генетичними варіантами, пов'язаними з підвищеним ризиком раку ЩЗ [50]. Отже, спостерігається певна дихотомія щодо ролі системи TSH/TSHR у розвитку раку ЩЗ: вона може супресувати злоякісні перетворення ЩЗ, гальмуючи виникнення раку, але може й підсилювати ріст і прогресування раку ЩЗ, ініційованого онкогенними чинниками.

**Порушення механізму засвоєння йоду.** Унікальною функцією фолікулярних клітин ЩЗ є використання йодиду для синтезу гормонів. Йодид транспортується в клітину за допомогою натрій-йодид симпортера (NIS), який розташований в базальній мембрані. На апікальній мембрані пендрин переносить йодид із клітини в просвіт фолікула залози, де він піддається окисненню за допомогою тиреопероксидази (ТРО) і включається в тирозинові залишки тиреоглобуліну (TG), який потім розщеплюється шляхом протеолізу, утворюючи гормони ЩЗ. Процес регулюється за допомогою TSH-опосередкованої активації TSHR. Це є біологічним підґрунтям для традиційної терапії радіоїодом раку ЩЗ, але механізми засвоєння йодиду часто порушуються, надто в прогресуючих пухлинах, що робить лікування радіоактивним йодом неефективним [51].

Аберантна активація шляху MAPK відіграє вирішальну роль у порушенні механізму поглинання йоду. Мутація *B-Raf V600E* пов'язана з втратою можливості поглинання

йоду та відсутністю лікувального ефекту радіоактивного йоду для РТС [51]. Показано, що мутація *B-Raf V600E* превалює (78-95% випадків) у рецидивуючих, радіоїод-рефракторних РТС [51], на відміну від меншої поширеності цієї мутації (45% випадків) у первинних РТС [14]. Численні дослідження свідчать про асоціацію мутації *B-Raf V600E* зі зменшенням або відсутністю експресії генів білків, що обробляють йодид: NIS, TSHR, ТРО, TG, рецепторів гормонів ЩЗ (TR) і пендрину в пухлинах ЩЗ [52]. Мутація *B-Raf V600E* прямо пов'язана зі зниженою регуляцією генів, що беруть участь у синтезі гормонів ЩЗ. Індукована експресія *B-Raf V600E* в клітинах ЩЗ порушувала експресію практично всіх цих генів, яка відновлювалась після зупинки експресії *B-Raf V600E* або шляхом пригнічення MAPK-каскаду інгібітором MEK. Так само в клітинах ЩЗ із перебудовою *RET/PTC1* експресія NIS посилювалась після застосування інгібітора MEK. Супресія *B-Raf V600E* в мишачих моделях раку ЩЗ також відновлювала експресію генів, що обробляють йодид ЩЗ, і поглинання радіоїоду [14].

**NTRK1.** Перестановки в гені *NTRK1* (нейротропної рецепторної тирозинкінази-1) також можуть стати причиною виникнення РТС, хоча трапляються вони рідше, ніж у гені *RET*, а гени, що беруть участь у сполученні, відрізняються від генів-партнерів *RET*. Ген кодує рецептор (TRK) до нейрональних ростових чинників, що містить, як і *RET*, ТК-домен. Унаслідок хромосомної перебудови 3'-кінцевий домен гена TRK зв'язується з 5'-кінцевою ділянкою промотора гена-партнера, що приводить до збільшення активності тирозинкінази. У пухлинах ЩЗ описано 4 типи хромосомних перебудов цього гена: *TPM3-NTRK1*, *TFG-NTRK1*, *PPL-NTRK1* та *ETV6-NTRK3* [53]. Експресію TRK протоонкогена не спостерігали в аденомах і РТС, але її зареєстровано в 10% випадків РТС і АТС [15].

**Mts1.** Ген *Mts1*, продуктами якого є невеликі білки, що зв'язують кальцій, можливо, бере участь в утворенні метастазів папілярними карциномами [54], оскільки він не виявляється в нормальній тканині, а присутній у 86% РТС та віддалених метастазах.

**JNK та епідермальний чинник росту.** Аналіз експресії генів за допомогою ДНК-матричних методів показав також надекспресію



в РТС с-Jun N-термінальної протеїнкінази (JNK) і пов'язаних із цим каскадом чинників, активацію MEK1/2 через каскад, пов'язаний з епідермальним ростовим чинником, і протеаз, що свідчить про перебудову клітин пухлини, спрямовану на міграційні процеси [15].

### Нещодавно виявлені чинники, які беруть участь у патогенезі РТС

Дослідження з використанням повногеномного пошуку асоціацій (GWAS) спорадичних РТС дорослих і випадків у білоруській популяції віком від 0 до 18 років на момент Чорнобильської аварії показали, що спільний SNP-маркер, rs965513, розташований у районі гена *FOXE1* на хромосомі 9q22.33, виявляє сильну кореляцію як зі спорадичними, так і з пов'язаними з опроміненням РТС [55]. Також ідентифіковано соматичні міссенс-мутації в гені *FOXE1* (призводять до заміни амінокислот), які можуть брати участь у канцерогенезі ЩЗ поряд з іншими чинниками злоякісної трансформації [56]. *FOXE1* (ТТФ-2) – чинник, який бере участь у диференціюванні ЩЗ, активує транскрипцію генів *TPO* і *TG*, є найсильнішим маркером ризику РТС [56]. Іншим таким маркером є нейрегулін-1 (*NRG1*) – білок із великою кількістю ізоформ і виконуваних в організмі функцій. Структура білка визначається однойменним геном *NRG1*, розташованим на 8-й хромосомі. Ще кілька маркерів асоціюються лише з ризиком розвитку спорадичного раку ЩЗ – у районі генів *DIRC3* на хромосомі 2q35 і *NKX2-1*, *MBIP* – на 14q13.3 [57, 58].

Кілька однонуклеотидних поліморфізмів (SNP) пов'язано з РТС і FTC, але лише деякі з них відтворюються. Після аналізу SNP у 1129 генах-кандидатах виявили асоціації з ризиком РТС для *SERPINA5*, *FTO*, *HEMGN* (біля *FOXE1*) та інших генів. У результаті великого незалежного дослідження РТС/FTC, проведеного в Німеччині, додатково виявили SNP поруч із генами *FOXE1* і *NKX2-1* як локуси сприйнятливості до раку ЩЗ. Автори генотипували 422 випадки РТС, 130 FTC і 752 контрольних, набраних із трьох німецьких клінічних центрів з оцінкою ефекту індексу маси тіла, статі та віку для всіх SNP. Було підтверджено асоціацію з РТС і SNP для генів *FOXE1/HEMGN*, *SERPINA5* (rs2069974), *FTO* (rs8047395), *EVPL* (rs2071194), *TICAM1* (rs8120) і *SCARB1* (rs11057820). Виявлено асоціацію FTC із SNP

у *FOXE1*, *SERPINA5*, *FTO*, *TICAM1* і *HSPA6*. Виявили також дві вірогідних взаємодій між *FTO* (rs8047395) та IMT і *TICAM1* (rs8120) та *FOXE1* (rs10984377). Було зроблено висновок, що множинні варіанти та чинники господаря можуть взаємодіяти складним чином, збільшуючи ризик РТС і FTC [59, 60].

Помітний прогрес у генетичному аналізі сприйнятливості до раку ЩЗ привів до ідентифікації декількох хромосомних локусів, що демонструють вірогідні асоціативні сигнали. Із них найбільш відтворюваними є rs966423 (*DIRC3*), rs2439302 (*NRG1*), rs965513 (*PTCSC2/FOXE1*), rs944289 (*PTCSC3/NKX2-1*) і rs116909374 (*MBIP1*). Хоча точні біологічні механізми ефектів всіх генетичних варіантів не є цілком зрозумілими, висока статистична значущість сигналів асоціації свідчить про їх участь у канцерогенезі ЩЗ [61].

Отже, як частина діагностики має проводитися молекулярне тестування. Воно є ефективною стратегією, адже найчастіше описані генетичні зміни – *B-Raf*, *Ras*, *RET/PTC* і *PAX8/PPARγ* є взаємовиключними, з одного боку, та спостерігаються в 70-80% пухлин ЩЗ – з іншого [62]. Останні праці, в яких вивчали важливість одночасного тестування FNAВ-зразків щодо вищезгаданих мутацій і перебудов, показали, що наявність будь-якої мутації є сильним предиктором раку, причому злоякісність підтверджується гістологічно майже в 100% зразків [63]. Проте, на відміну від *B-Raf* та *RET/PTC*, які майже завжди визначають злоякісний діагноз, прогностична цінність виявлених мутацій *Ras* дискутується [63, 64]. Це відбувається тому, що мутації *Ras* часто виявляються в доброякісних FA. У пухлинах, що походять із фолікулярних клітин, мутації *Ras* суттєво обмежено FA, FTC і FVPTC, які важко диференціювати як доброякісні або злоякісні лише цитологічними методами, і вони часто залишаються невизначеними методами FNAВ [65].

### Роль іонізуючої радіації в патогенезі папілярної карциноми ЩЗ

Чітких, однозначних доказів на користь IP-індукованої природи раку ЩЗ отримано небагато. Дія радіації спочатку асоціювалася головним чином із перебудовами в гені *RET*. На користь цього припущення свідчать декілька фактів [28]. 1. Двониткові розриви є харак-

## Огляди

терним наслідком опромінення тканини IP. Зростання ж частоти таких розривів уможливує різні перебудови в межах гена [66]. 2. Дослідження *in vitro* ефектів опромінення свідчать про посилення характерної для репарації ДНК після двониткових розривів ферментативної активності, яка свідчить на користь IP-специфічної відповіді, пов'язаної з перебудовою генів у клітинах ЩЗ [58]. 3. Опромінення клітин, експлантів ЩЗ або тварин призводить до розвитку *RET/PTC* перебудов вже протягом декількох годин [67]. 4. Пухлини ЩЗ, індуковані в дітей після Чорнобильської аварії, також переважно містять *RET/PTC3* перебудови [18]. 5. Отримані дані, що свідчать про підвищену чутливість до IP ділянки геному, яка містить ген *RET* [68].

Проте, як уже зазначалося, *RET/PTC* перебудови в постчорнобильських РТС не можуть слугувати маркерами РТС, пов'язаними з опроміненням.

Непрямими доказами IP-індукованої РТС можна вважати такі дані.

1. Через 5 років після аварії зросла кількість випадків дитячого раку ЩЗ — надто помітно серед дітей віком до чотирьох років. Серед дітей, народжених після 1986 року, рівень захворюваності на рак ЩЗ знизився майже до фонового. Цей факт свідчить, що значне збільшення числа випадків захворювання пов'язано з внутрішнім впливом радіоактивного йоду [69].
2. У ранніх випадках майже всі РТС були солідного типу, що було унікальною особливістю канцерогенезу після аварії на ЧАЕС. Надалі спостерігалось зміщення до класичного, менш агресивного, типу РТС, який є поширеним підтипом у дитячих спорадичних карциномах.
3. Дуже високим є відсоток *RET/PTC3* перебудов у ранніх РТС і відбувається подальший зсув до перебудов *RET/PTC1* у міру зростання латентного періоду [27, 70].

Крім непрямих, існують і прямі докази залежності канцерогенезу ЩЗ від опромінення. Пошук змін геному, які корелюють із впливом радіації, показав, що ампліфікація ДНК на хромосомі 7 (7p14.1-q11.23) мала місце виключно в пацієнтів, які зазнали впливу радіації після Чорнобильської аварії. Зміни були відсутні в усіх випадках із неопроміненої гру-

пи і спостерігалися в 13 з 33 випадків з опроміненої групи. Ампліфікацію в 7q11 може бути визнано першим потенційним маркером опромінення. Дев'ять генів, ідентифікованих на цій хромосомі, було, за даними аналізу, пов'язано з розвитком пухлини [71].

Методом aCGH (array comparative genomic hybridization) ми визначили поодинокі CNA (copy number alterations) у РТС з Українсько-Американської когорти (UkrAm), яку було значною мірою пов'язано з латентністю, статтю, дозою опромінення та статусом *B-Raf 600E* мутації. Раніше виявлене IP-асоційоване подвоєння ділянок хромосоми 7q11.22-11.23 було присутнє у 29% випадків. Крім того, порівняння наших даних щодо IP-зв'язаних РТС із даними щодо спорадичних РТС показало зміну числа копій генів *NF2* і *CHEK2*, що беруть участь у розвитку пухлини [72, 73].

Оскільки в опроміненій групі спостерігалась ампліфікація ДНК у хромосомі 7q11.22-11.23, цілком імовірно, що існують інші молекулярні підгрупи та шляхи IP-індуваного канцерогенезу. Так, ми виявили, що ген *CLIP2* (Cap-Gly domain containing linker protein 2) надекспресується в опроміненій групі. Крім того, експресія генів *PMS2L11*, *PMS2L3* (репарація ДНК) і *STAG3L3* корелює з ампліфікацією в 7q11.22-11.23. Отже, специфічна ампліфікація ділянки хромосоми 7q11 і надлишкова експресія гена *CLIP2* можуть вважатися IP-залежними молекулярними маркерами [71]. До регуляторної мережі гена *CLIP2* входять гени *BAG2*, *CHST3*, *KIF3C*, *NEURL1*, *PPIL3* і *RGS4*, що передбачає участь *CLIP2* у фундаментальних процесах канцерогенезу, включаючи апоптоз, MAPK-сигналінг і генетичну нестабільність [73].

За результатами вивчення поліморфізму гена *TP53* (кодон 72) ми виявили, що гомозиготи Arg/Arg траплялися значно рідше в дорослих пацієнтів, ніж у дітей і підлітків [74]. Алельна комбінація Arg72Pro корелює з підвищеним ризиком IP-залежної РТС у дітей, підлітків і молодих дорослих. За даними аналізу сполучень *ATM/TP53* (rs1801516/rs664677/rs609429/rs1042522) показано, що генотип GG/GC/CG/GC тісно пов'язано з IP-індукованими РТС [75].

Вивчення залежності транскриптому від дози радіації виявило багато генів, рівень екс-

пресії яких вірогідно різнився в пухлинах і нормальній тканині ЩЗ. Експресія 11 із цих генів залежала від отриманої дози. Дев'ять генів контролюють: клітинну адгезію (*AJAP1*, *FAM38A*), енергетичний обмін (*CA12*), транскрипцію або метилювання ДНК (*LMO3*, *ZNF493*, *MTA1*, *SLC19A1*), ріст/диференціацію (*CDK12*, *ACVR2A*). Ці шляхи визначають клітинну відповідь на ІР. Важливість п'яти генів (*CA12*, *GENT7*, *LMO3*, *SLC43A3* і *FAM38A*) підтверджено іншими дослідниками в післячорнобильських та інших радіаційно індуктованих пухлинах ЩЗ у дітей [76].

Виявлено невеликі, але вірогідні відмінності в профілі експресії генів між постчорнобильськими та контрольними РТС, що відповідали 239 генам. Багатофакторний дисперсійний аналіз показав, що, крім радіаційного опромінення, мутації *B-Raf* справляли незалежний вплив на профіль експресії РТС, тоді як гістологічна підгрупа та вік пацієнта характеризувалися незначними ефектами. Дев'ять генів (*PPME1*, *HDAC11*, *SOC37*, *CIC*, *THRA*, *ERBB2*, *PPP1R9A*, *HDGF*, *RAD51AP1* і *CDK1*) із 19 досліджених методом кількісної ПЛР було пов'язано з радіаційним впливом [77].

Із використанням ЗТ-ПЛР, мас-спектрометрії та методів нового покоління секвенування послідовності РНК (NGS) продемонстровано, що більшість РТС (22 з 26 пухлин, 84%), які виникли в пацієнтів віком до 10 років на час аварії в Чорнобилі та мешкали на забруднених територіях, мають злиті онкогени. Було виявлено 15 випадків із *RET/PTC*, 1 — із *TPR/NTRK1* (translocated protein region/*NTRK1*), 2 — з *ETV6/NTRK3* (Ets variant 6/*NTRK3*), 1 — з *AKAP9/B-Raf/B-Raf* (A kinase anchor protein 9/*B-Raf*), 1 — з *AGK/B-Raf* (acylglycerol kinase/*B-Raf*), 1 — з CREB3L2-PPAR $\gamma$ -подібним 2-PPAR $\gamma$  (cAMP-responsive element binding protein 3 — like 2 / PPAR $\gamma$ ) і 1 — із *PAX8/PPAR $\gamma$*  [78]. Ці злиття генів часто виникають унаслідок внутрішньохромосомних перебудов у межах хромосоми 10 (*RET/PTC1*, *RET/PTC3*, *RET/PTC $\Delta$ -3*), хромосоми 1 (*TPR/NTRK1*) і хромосоми 7 (*AKAP9/B-Raf*, *AGK/B-Raf*). Значно менше постчорнобильських РТС характеризуються точковими мутаціями або вставками у *B-Raf* чи рецепторах тиреотропного гормону (TSHR). І навпаки, рак ЩЗ у пацієнтів того самого віку без радіаційного опромінення в анамнезі характеризувався мен-

шою кількістю злитих онкогенів і більшою — точкових мутацій порівняно з асоційованими з ІР карциномами [78].

Загалом ці дослідження показують, що радіаційне опромінення викликало селективне збільшення подій, пов'язаних з онкогенними драйверами, спричиненими перебудовами генів, порівняно з точковими мутаціями [78]. Також виявлено два нові онкогенні злиття генів, які беруть участь у канцерогенезі ЩЗ, а саме — *ETV6/NTRK3* та *AGK/B-Raf*. Випадки злиття *ETV6/NTRK3* раніше було ідентифіковано, хоч і з різними точками розриву, у різних нетиреоїдних пухлинах [79], що підтверджує онкогенний потенціал конститутивної активації *NTRK3*. Злиття *AGK/B-Raf* є унікальною рекомбінацією, хоча перебудова *B-Raf* із генами, відмінними від *AGK*, є встановленим механізмом онкогенного перетворення *B-Raf* в інших типах раку людини [19].

### Список використаної літератури

1. Romei C, Ciampi R, Elisei R. A comprehensive overview of the role of the RET proto-oncogene in thyroid carcinoma. *Nat Rev Endocrinol.* 2016 Apr;12(4):192-202.
2. Tronko M, Bogdanova T, Voskoboinyk L, Zurnadzhy L, Shpak V, Gulak L. Radiation induced thyroid cancer: fundamental and applied aspects. *Exp Oncol.* 2010 Sep;32(3):200-4.
3. Pellegriti G, Frasca F, Regalbuto C, Squatrito S, Vigneri R. World wide increasing incidence of thyroid cancer: update on epidemiology and risk factors. *J Cancer Epidemiol.* 2013;2013:965212.
4. Brito JP, Davies L. Is there really an increased incidence of thyroid cancer? *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2014 Oct;21(5):405-8.
5. Reiners C. Thyroid cancer in 2013: Advances in our understanding of differentiated thyroid cancer. *Nat Rev Endocrinol.* 2014 Feb;10(2):69-70.
6. Hoang JK, Nguyen XV, Davies L. Overdiagnosis of thyroid cancer: answers to five key questions. *Acad Radiol.* 2015 Aug;22(8):1024-9.
7. Elisei R, Pinchera A. Advances in the follow-up of differentiated or medullary thyroid cancer. *Nat Rev Endocrinol.* 2012 Apr 3;8(8):466-75.
8. Haugen BR, Sawka AM, Alexander EK, Bible KC, Caturegli P, Doherty GM, et al. American Thyroid Association guidelines on the management of thyroid nodules and differentiated thyroid cancer task force review and recommendation on the proposed renaming of encapsulated follicular variant papillary thyroid carcinoma without invasion to noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features. *Thyroid.* 2017 Apr;27(4):481-3.
9. Воскобойник ЛГ. Молекулярно-генетичні аспекти розвитку папілярних карцином щитоподібної залози (огляд літератури та власних досліджень). *Журнал Академії Медичних Наук України.* 2010;16(4):605-29. (Voscoboinyk LG. Molecular-genetic aspects of thyroid papillary carcinomas development. *Zhurnal Akademiyi Medychnykh Nauk Ukrainy.* 2010;16(4):605-29).
10. Bauer AJ. Molecular genetics of thyroid cancer in children and adolescents. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2017 Jun;46(2):389-403.
11. Haugen BR, Alexander EK, Bible KC, Doherty GM, Mandel SJ, Nikiforov YE, et al. 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 Jan;26(1):1-133.
12. Goffredo P, Jillard C, Thomas S, Scheri RP, Sosa JA, Roman S. Minimally invasive follicular carcinoma: predictors of vascular invasion and impact on patterns of care. *Endocrine.* 2016 Jan;51(1):123-30.

## Огляди

13. Ciampi R, Nikiforov YE. RET/PTC rearrangements and BRAF mutations in thyroid tumorigenesis. *Endocrinology*. 2007 Mar;148(3):936-41.
14. Xing M. Molecular pathogenesis and mechanisms of thyroid cancer. *Nat Rev Cancer*. 2013 Mar;13(3):184-99.
15. Пушкар'ов ВМ, Ковзун ОІ, Тронько МД. Молекулярно-генетичні механізми утворення злоякісних пухлин щитовидної залози: (огляд л-ри). *Журнал Академії Медичних Наук України*. 2009;15(1):116-27. (Pushkar'ov VM, Kovzun OI, Tronko MD. Molecular-genetic mechanisms of malignant thyroid tumors formation. *Zhurnal Akademiyi Medychnykh Nauk Ukrainy*. 2009;15(1):116-27).
16. Takano T. Fetal cell carcinogenesis of the thyroid: a modified theory based on recent evidence. *Endocr J*. 2014;61(4):311-20.
17. Saji M, Ringel MD. The PI3K-Akt-mTOR pathway in initiation and progression of thyroid tumors. *Mol Cell Endocrinol*. 2010 May 28;321(1):20-8.
18. Воскобойник ЛГ. Онкогени RET/PTC та механізми їхнього залучення до тиреоїдного канцерогенезу: (огляд). *Укр біохім журн*. 2009;81(6):17-25. (Voscoboynuk LG. Oncogenes Ret/Ptc and mechanisms of their involvement in thyroid carcinogenesis (review). *Ukr biohim zhurn*. 2009;81(6):17-25).
19. Santoro M, Carlomagno F. Central role of RET in thyroid cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2013 Dec;5(12):a009233.
20. The Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic characterization of papillary thyroid carcinoma. *Cell*. 2014 Oct 23;159(3):676-90.
21. Karunamurthy A, Panebianco F, Hsiao S, Vorhauer J, Nikiforova MN, Chiosea S, et al. Prevalence and phenotypic characteristics of EIF1AX mutations in thyroid nodules. *Endocr Relat Cancer*. 2016 April; 23(4):295-301.
22. Kelly LM, Barila G, Liu P, Evdokimova VN, Trivedi S, Panebianco F, et al. Identification of the transforming STRN-ALK fusion as a potential therapeutic target in the aggressive forms of thyroid cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014 Mar;111(11):4233-8.
23. Asa SL. The evolution of differentiated thyroid cancer. *Pathology*. 2017 Apr;49(3):229-37.
24. Papp S, Asa SL. When thyroid carcinoma goes bad: a morphological and molecular analysis. *Head Neck Pathol*. 2015 Mar;9(1):16-23.
25. De Falco V, Carlomagno F, Li HY, Santoro M. The molecular basis for RET tyrosine-kinase inhibitors in thyroid cancer. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2017 Jun;31(3):307-18.
26. Mehlen P, Bredsen DE. Dependence receptors: from basic research to drug development. *Sci Signal*. 2011 Jan 25;4(157):mr2.
27. Schoetz U, Saenko V, Yamashita S, Thomas GA. Molecular biology studies of Ukrainian thyroid cancer after Chernobyl. In: *Thyroid Cancer in Ukraine after Chernobyl. Dosimetry, epidemiology, pathology, molecular biology*. Nagasaki: NASHIM, 2014; 175 p.
28. Тронько НД, Пушкарев ВМ. 30 лет аварии на Чернобыльской АЭС. Молекулярно-генетические механизмы канцерогенеза в щитовидной железе. *Цитология и генетика*. 2016;50(6):15-22. (Tronko ND, Pushkarev VM. Thirty years after the Chernobyl accident: Molecular genetic mechanisms of carcinogenesis of the thyroid gland. *Cytol Genet*. 2016;50(6):15-22).
29. Lake D, Corrêa SA, Müller J. Negative feedback regulation of the ERK1/2 MAPK pathway. *Cell Mol Life Sci*. 2016 Dec;73(23):4397-413.
30. Caronia LM, Phay JE, Shah MH. Role of BRAF in thyroid oncogenesis. *Clin Cancer Res*. 2011 Dec 15;17(24):7511-7.
31. Xing M, Alzahrani AS, Carson KA, Shong YK, Kim TY, Viola D, et al. Association between BRAF V600E mutation and recurrence of papillary thyroid cancer. *J Clin Oncol*. 2015 Jan 1;33(1):42-50.
32. Sobrinho-Simões M, Eloy C, Magalhães J, Lobo C, Amaro T. Follicular thyroid carcinoma. *Mod Pathol*. 2011 Apr; 24(Suppl 2):S10-8.
33. Pstrag N, Ziennicka K, Bluyssenand H, Wesoly J. Thyroid cancers of follicular origin in a genomic light: in-depth overview of common and unique molecular marker candidates. *Molecular Cancer*. 2018 May;17:116.
34. Dom G, Frank S, Floor S, Kehagias P, Libert F, Hoang C, et al. Thyroid follicular adenomas and carcinomas: molecular profiling provides evidence for a continuous evolution. *Oncotarget*. 2018 Feb 13; 9(12):10343-59.
35. Ferrari SM, Fallahi P, Ruffilli I, Elia G, Ragusa F, Paparo SR, et al. Molecular testing in the diagnosis of differentiated thyroid carcinomas. *Gland Surg*. 2018 Aug;7(Suppl 1):S19-S29.
36. Raman P, Koenig J. Pax-8-PPAR-γ fusion protein in thyroid carcinoma. *Nat Rev Endocrinol*. 2014 Oct;10(10):616-23.
37. Samuels Y, Ericson K. Oncogenic PI3K and its role in cancer. *Curr Opin Oncol*. 2006;18(1):77-82.
38. Guigon CJ, Zhao L, Willingham MC, Cheng SY. PTEN deficiency accelerates tumour progression in a mouse model of thyroid cancer. *Oncogene*. 2009 Jan;28(4):509-17.
39. Kim CS, Vasko VV, Kato Y, Kruhlik M, Saji M, Cheng SY, et al. AKT activation promotes metastasis in a mouse model of follicular thyroid carcinoma. *Endocrinology*. 2005 Oct;146(10):4456-63.
40. Younes MN, Yigitbasi OG, Park YW, Kim SJ, Jasser SA, Hawthorne VS, et al. Antivascular therapy of human follicular thyroid cancer experimental bone metastasis by blockade of epidermal growth factor receptor and vascular growth factor receptor phosphorylation. *Cancer Res*. 2005 Jun;65(11):4716-27.
41. Xie J, Fan Y, Zhang X. Molecular mechanisms in differentiated thyroid cancer. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2016 Jan;21:119-29.
42. Xing M, Liu R, Liu X, Murugan AK, Zhu G, Zeiger MA, et al. BRAF V600E and TERT promoter mutations cooperatively identify the most aggressive papillary thyroid cancer with highest recurrence. *J Clin Oncol*. 2014 Sep;32(25):2718-26.
43. Jin A, Xu J, Wang Y. The role of TERT promoter mutations in postoperative and preoperative diagnosis and prognosis in thyroid cancer. *Medicine (Baltimore)*. 2018 Jul;97(29):e11548.
44. Kim TH, Ki CS, Hahn SY, Oh YL, Jang HW, Kim SW, et al. Ultrasonographic prediction of highly aggressive telomerase reverse transcriptase (TERT) promoter-mutated papillary thyroid cancer. *Endocrine*. 2017 Aug;57(2):234-40.
45. Shi X, Liu R, Qu S, Zhu G, Bishop J, Liu X, et al. Association of TERT promoter mutation 1,295,228 C>T with BRAF V600E mutation, older patient age, and distant metastasis in anaplastic thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015 Apr;100(4):E632-7.
46. Jiang J, Tian G-L, Chen S-J, Xu L, Wang H-Q. Promoter methylation of p16 and RASSF1A genes may contribute to the risk of papillary thyroid cancer: A meta-analysis. *Exp Ther Med*. 2015 Oct;10(4):1549-55.
47. Ngeow J, Ni Y, Tohme R, Song Chen F, Bebek G, Eng C. Germline alterations in RASAL1 in Cowden syndrome patients presenting with follicular thyroid cancer and in individuals with apparently sporadic epithelial thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014 Jul;99(7):E1316-21.
48. Burrows N, Babur M, Resch J, Ridsdale S, Mejin M, Rowling EJ, et al. ODG-0941 inhibits metastatic characteristics of thyroid carcinomas by targeting both the phosphoinositide-3 kinase (PI3K) and hypoxia-inducible factor-1α (HIF-1α) pathways. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011 Dec;96(12):E1934-43.
49. Zerilli M, Zito G, Martorana A, Pitrone M, Cabibi D, Cappello F, et al. BRAF (V600E) mutation influences hypoxia-inducible factor-1α expression levels in papillary thyroid cancer. *Mod Pathol*. 2010 Aug;23(8):1052-60.
50. Gudmundsson J, Sulem P, Gudbjartsson DF, Jonasson JG, Masson G, He H, et al. Discovery of common variants associated with low TSH levels and thyroid cancer risk. *Nat Genet*. 2012 Jan;44(3):319-22.
51. Barollo S, Pennelli G, Vianello F, Watutantrige Fernando S, Negro I, et al. BRAF in primary and recurrent papillary thyroid cancers: the relationship with 131 I and 2-[18 F]fluoro-2-deoxy-D-glucose uptake ability. *Eur J Endocrinol*. 2010 Oct;163(4):659-63.
52. Morari EC, Marcello MA, Guilhen AC, Cunha LL, Latuff P, Soares FA, et al. Use of sodium iodide symporter expression in differentiated thyroid carcinomas. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2011 Aug;75(2):247-54.
53. Leeman-Neill RJ, Kelly LM, Liu P, Brenner AV, Little MP, Bogdanova TI, et al. ETV6-NTRK3 is a common chromosomal rearrangement in radiation-associated thyroid cancer. *Cancer*. 2014 Mar;120(6):799-807.
54. Zou M, Al-Baradie RS, Al-Hindi H, Farid NR, Shi Y. S100A4 (Mts1) gene overexpression is associated with invasion and metastasis of papillary thyroid carcinoma. 2005 Nov;93(11):1277-84.
55. Kimmel RR, Zhao LP, Nguyen D, Lee S, Aronszajn M, Cheng C, et al. Microarray comparative genomic hybridization reveals genome-wide patterns of DNA gains and losses in post-herbonyl thyroid cancer. *Rad Res*. 2006 Sep;166(3):519-31.
56. Mond M, Bullock M, Yao Y, Clifton-Bligh RJ, Gilfillan C, Fuller PJ. Somatic mutations of FOXE1 in papillary thyroid cancer. *Thyroid*. 2015 Aug;25(8):904-10.
57. Suzuki K, Mitsutake N, Saenko V, Yamashita S. Radiation signatures in childhood thyroid cancers after the Chernobyl accident: possible roles of radiation in carcinogenesis. *Cancer Sci*. 2015 Feb;106(2):127-33.

58. Schoetz U, Saenko V, Yamashita S, Thomas GA. Molecular biology studies of Ukrainian thyroid cancer after Chernobyl. In: Thyroid Cancer in Ukraine after Chernobyl. Dosimetry, epidemiology, pathology, molecular biology, Nagasaki: NASHIM, 2014; 175 p.
59. Sigurdson AJ, Brenner AV, Roach JA, Goudeva L, Müller JA, Nerlich K, et al. Selected single-nucleotide polymorphisms in FOXE1, SERPINA5, FTO, EVPL, TICAM1 and SCARB1 are associated with papillary and follicular thyroid cancer risk: replication study in a German population. *Carcinogenesis*. 2016 Jul;37(7):677-84.
60. Gudmundsson J, Thorleifsson G, Sigurdsson JK, Stefansdottir L, Jonasson JG, Gudjonsson SA, et al. A genome-wide association study yields five novel thyroid cancer risk loci. *Nat Commun* 2017 Feb;8:14517.
61. Saenko VA, Rogounovitch TI. Genetic polymorphism predisposing to differentiated thyroid cancer: a review of major findings of the genome-wide association studies. *Endocrinol Metab (Seoul)*. 2018 Jun; 33(2):164-74.
62. Nikiforov YE, Nikiforova MN. Molecular genetics and diagnosis of thyroid cancer. *Nat Rev Endocrinol*. 2011 Aug 30;7(10):569-80.
63. Nikiforov YE, Ohori NP, Hodak SP, Carty SE, LeBeau SO, Ferris RL, et al. Impact of mutational testing on the diagnosis and management of patients with cytologically indeterminate thyroid nodules: A prospective analysis of 1056 FNA samples. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011 Nov;96(11):3390-7.
64. Ohori NP, Nikiforova MN, Schoedel KE, LeBeau SO, Hodak SP, Seethala RR, et al. Contribution of molecular testing to thyroid fine-needle aspiration cytology of «follicular lesion of undetermined significance/atypia of undetermined significance» / *Cancer Cytopathol*. 2010 Feb 25;118(1):17-23.
65. Howell GM, Hodak SP, Yip L. RAS mutations in thyroid cancer. *Oncologist*. 2013 Aug;8(8):926-32.
66. Gandhi M, Dillon LW, Pramanik S, Nikiforov YE, Wang YH. DNA breaks at fragile sites generate oncogenic RET/PTC rearrangements in human thyroid cells. *Oncogene*. 2010 Apr;29(15):2272-80.
67. Knostman KAB, Jhiani SM, Capen CC. Genetic alterations in thyroid cancer: the role of mouse models. *Vet Pathol*. 2007 Jan;44(1):1-14.
68. Volpato CB, Martínez-Alfaro M, Corvi R, Gabus C, Sauvaigo S, Ferrari P, et al. Enhanced sensitivity of the RET proto-oncogene to ionizing radiation in vitro. *Cancer Res*. 2008 Nov;68(21):8986-92.
69. Tronko MD, Howe GR, Bogdanova TI, Bouville AC, Epstein OV, Brill AB, et al. A cohort study of thyroid cancer and other thyroid diseases after the Chernobyl accident: thyroid cancer in Ukraine detected during first screening. *J Natl Cancer Inst*. 2006 Jul;98(13):897-903.
70. Воскобойник ЛГ, Костюченко НМ, Пушкарьов ВМ, Богданова ТІ, Тронько МД. Аналіз експресії онкогенів RET/PTC у післячорнобильських папілярних карциномах щитовидної залози у хворих різних вікових груп. *Укр біохім журн*. 2010;82(5):79-84. (Voscobounyk LH, Kostyuchenko NM, Pushkarev VM, Bogdanova TI, Tronko MD. Analysis of the expression of RET/PTC oncogenes in postchernobyl papillary thyroid carcinomas of patients from different age groups. *Ukr Biokhim zhurn*. 2010;82(5):79-84).
71. Hess J, Thomas G, Braselmann H, Bauer V, Bogdanova T, Wienberg J, et al. Gain of chromosome band 7q11 in papillary thyroid carcinomas of young patients is associated with exposure to low-dose irradiation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 Jun;108(23):9595-600.
72. Selmsberger M, Braselmann H, Hess J, Bogdanova T, Abend M, Tronko M, et al. Genomic copy number analysis of Chernobyl papillary thyroid carcinoma in the Ukrainian-American Cohort. *Carcinogenesis*. 2015 Nov;36(11):1381-7.
73. Selmsberger M, Feuchtinger A, Zurnadzhy L, Michna A, Kaiser JC, Abend M, et al. CLIP2 as radiation biomarker in papillary thyroid carcinoma. *Oncogene*. 2015 Jul;34(30):3917-25.
74. Rogounovitch TI, Saenko VA, Ashizawa K, Sedliarou IA, Namba H, Abrosimov AY, et al. TP53 codon 72 polymorphism in radiation-associated human papillary thyroid cancer. *Oncol Rep*. 2006 Apr;15(4):949-56.
75. Akulevich NM, Saenko VA, Rogounovitch TI, Drozd VM, Lushnikov EF, Ivanov VK, et al. Polymorphisms of DNA damage response genes in radiation-related and sporadic papillary thyroid carcinoma. *Endocr Relat Cancer*. 2009 Jun;16(2):491-503.
76. Ory C, Ugolin N, Levalois C, Lacroix L, Caillou B, Bidart JM, et al. Gene expression signature discriminates sporadic from post-radiotherapy-induced thyroid tumors. *Endocr Relat Cancer*. 2011 Feb;18(1):193-206.
77. Handkiewicz-Junak D, Swierniak M, Rusinek D, Oczko-Wojciechowska M, Dom G, Maenhaut C, et al. Gene signature of the post-Chernobyl papillary thyroid cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2016 Jul;43(7):1267-77.
78. Ricarte-Filho JC, Li S, Garcia-Rendueles ME, Montero-Conde C, Voza F, Knauf JA, et al. Identification of kinase fusion oncogenes in Nov;123(11):4935-44.
79. Cetinbas N, Huang-Hobbs H, Tognon C, Leprivier G, An J, McKinney S, et al. Mutation of the salt bridge-forming residues in the ETV6 SAM domain interface blocks ETV6-NTRK3 induced cellular transformation. *J Biol Chem*. 2013 Sep;288(39):27940-50.

(Надійшло до редакції 31.01.2019 р.)

## Молекулярно-генетические механизмы патогенеза злокачественных опухолей щитовидной железы (обзор литературы и собственные данные, часть 1)

**Б.Б. Гуда, В.М. Пушкарев, А.Е. Коваленко, В.В. Пушкарев, Е.И. Ковзун, Н.Д. Тронько**

ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко НАМН Украины»

**Резюме.** В 1-й части обзора проанализированы новые данные научной литературы относительно молекулярно-генетических механизмов образования папиллярной и фолликулярной карцином щитовидной железы. Отмечена роль мутаций и перестроек генов, продукты которых формируют MAPK- и PI3K-сигнальные каскады. Анализируются недавно открытые с помощью современных генетических методов факторы, влияющие на патогенез папиллярной карциномы щитовидной железы. Особое внимание уделено доказательству влияния ионизирующей радиации на канцерогенез. Обсуждается значимость новых диагностических и прогностических маркеров рака щитовидной железы.

**Ключевые слова:** щитовидная железа, папиллярная и фолликулярная карциномы, онкогены, ионизирующая радиация.

## Molecular genetic mechanisms of the pathogenesis of thyroid malignant tumors (review of literature and own data, part 1)

**B.B. Guda, V.M. Pushkarev, A.E. Kovalenko, V.V. Pushkarev, O.I. Kovzun, M.D. Tronko**

State Institution «V. P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, NAMS of Ukraine»

**Abstract.** In the first part of the review, new scientific literature data on the molecular genetic mechanisms of papillary and follicular thyroid carcinomas formation are analyzed. The role of mutations and rearrangements of genes whose products form MAPK- and PI3K-signaling cascades is noted. New factors affecting the pathogenesis of thyroid papillary carcinoma, discovered with the use of modern genetic methods, are analyzed. Particular attention is paid to the evidence of the effect of ionizing radiation on carcinogenesis. The importance of new diagnostic and prognostic markers of thyroid cancer is discussed.

**Keywords:** thyroid gland, papillary and follicular carcinomas, oncogenes, ionizing radiation.