

Laboratorinė medicina.
2022, t. 24, Nr. 2(92), p. 63–68.

miRNR reikšmė papilinės skydliaukės karcinomos metastazėms kaklo limfmazgiuose diagnozuoti

Romena Laukienė¹
Laima Ambrozaitė¹
Loreta Cimbalistienė¹
Viktorija Sytnikova²
Algirdas E. Tamošiūnas²

Santrauka

Įvadas. Daug mikro ribonukleorūgščių (miRNR) buvo tyrinėjamos kaip perspektyvūs molekuliniai papilinės skydliaukės karcinomos biožymenys. Tačiau duomenų apie miRNR raiškos ir metastazių kaklo limfmazgiuose ryšį yra nedaug. Analizuojant miRNR raiškos duomenis būtų galima pagerinti pacientų, sergančių papiline skydliaukės karcinoma, ikioperacinį ištyrimą, ypač vertinant pakitimus kaklo limfmazgiuose.

Tyrimo tikslas. Nustatyti ir palyginti papilinės skydliaukės karcinomos su metastazėmis kaklo limfmazgiuose ir papilinės skydliaukės karcinomos be metastazių kaklo limfmazgiuose miRNR raiškos profilį.

Tyrimo medžiaga ir metodai. Vilniaus universiteto ligoninėje Santaros klinikose atlikto perspektyviojo tyrimo metu 60-čiai tiriamųjų iš skydliaukės mazgų plonos adatos aspiratų medžiagos išskirtos RNR buvo ištirta miRNR raiška naujos kartos sekoskaitos metodu. Visiems 60 pacientų atlikta tiroidektomija: histologiškai 33 pacientams diagnozuota papilinė skydliaukės karcinoma be metastazių kaklo limfmazgiuose, 15 pacientų – papilinė skydliaukės karcinoma su metastazėmis kaklo limfmazgiuose ir 12 pacientų – nepiktybiniai skydliaukės mazgai.

Rezultatai. Tarp papilinės skydliaukės karcinomos su metastazėmis ir papilinės skydliaukės karcinomos be metastazių grupių dešimties miRNR raiškos skirtumas buvo reikšmingas (pokytis, kai raiška didėja ar mažėja >2 , $p < 0,05$).

Išvados. miRNR raiškos analizė plonos adatos aspiratuose galėtų būti naudojama ikioperaciniam papilinės skydliaukės karcinomos progresavimui nustatyti. Norint šiuos duomenis pritaikyti klinikinėje praktikoje, reikia atlikti didelės imties kohortinius tyrimus, siekiant iširti miRNR prognostinę ir diagnostinę vertę. Patobulinus miRNR tyrimo metodų standartizavimą, būtų galima plačiau taikyti šį metodą nustatant individualias skydliaukės karcinoma sergančių pacientų gydymo strategijas. Tai leistų sumažinti pooperacinių komplikacijų skaičių ir pagerinti pacientų gyvenimo kokybę.

Reikšminiai žodžiai: miRNR, skydliaukės karcinoma, naujos kartos sekoskaita, metastazės, biožymenys.

ĮVADAS

Skydliaukės karcinoma (SK) yra dažniausias endokrininės sistemos piktybinis navikas [1]. Du histologiniai di-

ferencijuotos skydliaukės karcinomos (DSK) tipai – papilinė skydliaukės karcinoma (PSK) ir folikulinė skydliaukės karcinoma (FSK) – išsivysto iš folikulinų skydliaukės epitelio ląste-

¹Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Biomedicinos mokslų instituto Žmogaus ir medicinos genetikos katedra

Department of Human and Medical Genetics, Institute of Biomedical Sciences, Faculty of Medicine, Vilnius University

El. paštas: romena.laukiene@santa.lt

²Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Biomedicinos mokslų instituto Radiologijos, branduolinės medicinos ir medicinos fizikos katedra

Department of Radiology, Nuclear Medicine and Medical Physics, Institute of Biomedical Sciences, Faculty of Medicine

lių ir sudaro apie 94 % visų skydliaukės karcinomų [2]. SK dažnis per pastaruosius 20 metų visame pasaulyje smarkiai išaugo ir tikėtina, kad iki 2030 metų SK bus ketvirta pagal dažnį piktybinių navikų forma [3]. SK dažnio didėjimą išskirtinai lemia daugėjantys PSK atvejai [4, 5].

Nors sergamumas PSK nuolat auga, mirtingumas nuo skydliaukės karcinomos per pastaruosius penkis dešimtmečius pasikeitė minimaliai [6]. Paprastai PSK prognozė yra gera, mirtingumas santykinai mažas, tačiau nedidelei daliai pacientų pasireiškia agresyvi ligos forma su naviko invazija į aplinkinius audinius, metastazėmis [7]. Metastazės kaklo limfmazgiuose (MKLM) dažnai pastebimos jau esant ankstyvai ligos stadijai. Paprastai PSK metastazuoja į centrinius kaklo limfmazgius (CKLM), rečiau – į lateralinius kaklo limfmazgius (LKLM). MKLM lemia dažnesnį lokalų SK recidyvą, kas yra blogesnės ligos prognozės rodiklis [8–10]. Tiek ultragarsinis kaklo limfmazgių ištyrimas, tiek daugiasluoksni kompiuterinė tomografija (DKT) ar magnetinio rezonanso tomografija (MRT) nepadeda iki galo nustatyti navikinio proceso išplitimo iki operacijos [11]. Aiškūs limfmazgių struktūriniai ir dydžio pokyčiai dažniausiai diagnostinių sunkumų nesukelia. Labiau komplikauta situacija esant mažoms iki 1 cm dydžio MKLM. Neretai dėl specifinių požymių nebuvimo net ir preciziškais DKT ir MRT tyrimais vertinant limfmazgio trumpąją ašį, jo struktūrą, ribas, kontrastinio preparato kaupimo pobūdį bei šalia naviko esančius audinių struktūras tiksliai įvertinti mažų MKLM nepavyksta. Tai trukdo iki

operacijos tiksliai nustatyti ligos stadiją.

Kinijos tyrėjų atliktos metaanalizės duomenys parodė, kad ultragarsinio tyrimo specifiskumas diagnozuojant CKLM metastazes yra 93 %, jautrumas tik 33 %, o diagnozuojant LKLM metastazes – atitinkamai 84 % ir 70 % [12]. Daugiausia diagnostinių problemų kelia retrofaringinių ir mediastinalinių CKLM verifikavimas. Histologiškai diagnozuojama net iki 60 % MKLM, kurios iki operacijos nebuvo nustatytos vaizdinimo tyrimais [13].

Amerikos skydliaukės asociacijos tarptautinės gairės [14] pacientams, kuriems iki operacijos yra nustatomi pakitimai kaklo limfmazgiuose, rekomenduoja atlikti CKLM šalinimą. Tačiau profilaktinės CKLM šalinimo operacijos svarba kelia prieštaravimų [15]. Nors profilaktinė CKLM limfadenektomija sumažina lokalaus PSK recidyvo riziką, tačiau padidina pooperacinių komplikacijų – praeinančio ar nuolatinio gerklų grįžtamojo nervo pažeidimo, nuolatinės ar pastovios hipokalcemijos tikimybę [16].

Todėl labai svarbu iki operacijos identifikuoti onkologinio proceso išplitimą, kas leistų parinkti optimalų ir individualų PSK gydymą, lemiantį mažesnę skydliaukės karcinomos recidyvo riziką. Kadangi turimais vaizdinimo tyrimais tiksliai diagnozuoti PSK išplitimo nepavyksta, ieškoma kitų klinikinių pataloginių rizikos veiksnių. Atliktų metaanalizių duomenys parodė, kad vyriškoji lytis, jaunas amžius (<45 metų), pirminio naviko dydis, daugiažidiniškumas bei plitimas už skydliaukės ribų galėtų būti nepriklausomi metastazavimo į kaklo limfmazgius rizikos veiksniai [17, 18].

Tačiau ir to nepakanka – svarbu ieškoti naujų biožymenų, leidžiančių nustatyti ligos progresavimą ir tinkamą gydymo parinkimą.

Mikro ribonukleorūgštis (miRNR) yra nekoduojančių nukleorūgščių molekulės, reguliuojančios genų transliaciją ar produktų degradavimą ir dalyvaujančios įvairiuose ląstelių funkcijose reguliuojančiuose procesuose [19]. Mokslinių tyrimų duomenimis, miRNR raiškos pokyčiai nustatomi įvairių ligų, taip pat ir vėžio, patogenezės mechanizmuose [20]. Todėl svarbu identifikuoti miRNR reikšmę diferencijuotos skydliaukės karcinomos diagnozei ir metastazėms kaklo limfmazgiuose nustatyti [21].

TYRIMO TIKSLAS

Nustatyti ir palyginti papildinės skydliaukės karcinomos su metastazėmis limfmazgiuose ir papildinės skydliaukės karcinomos be metastazių limfmazgiuose miRNR raiškos profilius.

TYRIMO MEDŽIAGA IR METODAI

Tiriamieji

Biomedicininiam tyrimui atlikti 2017-03-07 gautas Vilniaus regioninio biomedicininių tyrimų Etikos komiteto leidimas Nr. 158200-17-905-414.

Tyrimo dalyvauti pakviesti Vilniaus universiteto ligoninėje Santaros klinikose tirti ir gydyti pacientai, atitinkantys įtraukimo į tyrimą kriterijus (1 lentelė).

Šešiasdešimčiai pacientų, pasirašiusių informuoto asmens sutikimo formą, miRNR raiška buvo tiriama naujos kartos sekoskaitos metodu. Šie tiriamieji buvo suskirstyti į tris grupes pagal po operacijos gautus galutinius histologinius rezultatus: 12 tiriamųjų priskirti nepiktybinių skydliaukės mazgų (NSM) grupei, 33 tiriamieji – PSK be MKLM grupei, 15 tiriamųjų – PSK su MKLM grupei.

Tiriamųjų asmenų grupės:

1. Tiriamieji asmenys, kuriems citologiškai įtarta (III–VI *Bethesda* citopatologinė kategorija) ir po tiroidektomijos histologiškai patvirtinta papildinė skydliaukės karcinoma be metastazių limfmazgiuose.

2. Tiriamieji asmenys, kuriems citologiškai įtarta (III–VI *Bethesda* citopatologinė kategorija) ir po tiroidektomijos histologiškai patvirtinta papildinė skydliaukės karcinoma su metastazėmis limfmazgiuose.

1 lentelė. Tiriamųjų asmenų įtraukimo ir atmetimo į tyrimą kriterijai
Table 1. Inclusion and exclusion criteria for subjects

	Tiriamoji grupė	Kontrolinė grupė
Įtraukimo kriterijai	- Informuoto asmens sutikimo davimas prieš pradedant bet kokią su tyrimu susijusią veiklą - Vyrai ir moterys, kurių amžius 18 metų - Asmenys, kuriems citologiškai įtarta skydliaukės karcinoma (III–VI <i>Bethesda</i> citopatologinė kategorija) - Asmenys, kuriems atlikta tiroidektomija ar skydliaukės rezekcija - Asmenys, kuriems po operacijos histologiškai patvirtinta papildinė skydliaukės karcinoma	- Informuoto asmens sutikimo davimas prieš pradedant bet kokią su tyrimu susijusią veiklą - Vyrai ir moterys, kurių amžius 18 metų - Asmenys, kuriems citologiškai įtarta skydliaukės karcinoma (III–VI <i>Bethesda</i> citopatologinė kategorija) - Asmenys, kuriems atlikta tiroidektomija ar skydliaukės rezekcija - Asmenys, kuriems po operacijos histologiškai bus patvirtinti nepiktybiniai pakitimai – adenoma ar mazginė hiperplazija
Atmetimo kriterijai	• Nėra	• Nėra

2 lentelė. Bendri demografiniai ir klinikiniai PSK sergančių asmenų požymiai
Table 2. General demographic and clinical features of PTC patients

Požymis	Tiriamieji (n)	Procentai
Lytis		
Vyrai / Moterys	4/44	8,3 / 91,7
Amžius		
55 metai / >55 metai	32/16	66,7 / 33,3
Naviko dydis mm (mediana, IQR)	10 (7)	
Naviko dydis		
10 mm (mikrokarcinoma)	25	52,1
>10 mm (makrokarcinoma)	23	47,9
Daugiažidiniškumas		
Vienas židiny / 2 židiniai	31/17	64,6 / 35,4
MTS kaklo limfmazgiuose		
Ne / Taip	33/15	68,75 / 31,25
Plitimas už skydliaukės kapsulės		
Ne / Taip	26/22	54,2 / 45,8
Haimoto tiroiditas		
Ne / Taip	27/21	56,25 / 43,75
Histologiniai potipiai		
Klasikinė PSK	43	89,5
Folikulinis PSK variantas	3	6,3
Onkocitinė PSK	1	2,1
Aukštų ląstelių	1	2,1
T kategorija (TNM)		
T1	32	66,7
T2	4	8,3
T3	12	25
T4	0	0
N kategorija (TNM)		
N0	33	68,75
N1a	13	27,08
N1b	2	4,17
M kategorija (TNM)		
M0	47	97,9
M1	1	2,1
Operacija		
Skydliaukės rezekcija / Tiroidektomija	5/43	10,4 / 89,6
Limfadenektomija n = 43		
Profilaktinė CKLM	37	86,0
Terapinė CKLM	4	9,3
Terapinė CKLM ir LKLM	2	4,7

3. Kontrolinė grupė – tiriamieji asmenys, kuriems citologiškai įtarta (III–VI *Bethesda* citopatologinė kategorija), bet po tiroidektomijos ar skydliaukės rezekcijos histologiškai diagnozuoti gerybiniai pakitimai – adenoma ar mazginė hiperplazija [22].

Procedūros

Skydliaukės mazgų citologinių mėginių paėmimas ir ištyrimas

Medžiaga citologiniam tyrimui gauta atliekant perkutaninę skydliaukės mazgo punkciją plonomis steriliomis adatomis. Procedūra atlikta kontroliuojant ultragarsu. Aspiratas gautas švirkšte sudarant vakuumą, stūmoklis atleistas praėjus 2–3 sekundėms nuo aspiracijos pradžios. Dalis gautos

skydliaukės audinio medžiagos sušvirkšta į pažymėtą buteliuką su skystąja terpe. Visi skydliaukės mazgų mėginių aspiratai įvertinti dažytuose *Papanicolaou* tepinėliuose ir automatizuota *BD Prep Stain* sistema paruoštuose tepinėliuose. Citologinė diagnozė skirstoma į šešias kategorijas naudojant *Bethesda* sistemą [22].

miRNR raiškos skydliaukės mazgų mėginiuose nustatymas naujos kartos sekoskaitos metodu

Mažųjų RNR praturtinimas ir mažųjų RNR fragmentų bibliotekų paruošimas buvo atliktas naudojant *Ion Total RNA-Seq Kit v2 for Small RNA Libraries* rinkinį (*Thermo Fisher Scientific*, JAV). Pagal gamintojo protokolą, kiekvienam mėginiui naudota 1 g RNR, atliktas RNR 3' adapterio ligavi-

mas, RNR 5' adapterio ligavimas, komplementarios DNR (kDNR) sintezė, PGR amplifikacija, naudojant universalias kiekvieno mėginio barkodų sekas, ir mažųjų RNR bibliotekos dydžio atranka. Sekoskaita atlikta naudojant naujos kartos sekoskaitos platformą *Ion Torrent PGM* (*Thermo Fisher Scientific*, JAV).

miRNR sekoskaitos bioinformacinė duomenų analizė buvo vykdoma *Partek® Flow®* (*Partek incorporated*, JAV) kompiuterinės bioinformatinės analizės programa. Į analizę buvo įtrauktos miRNA, kurių vidutinis skaitinių skaičius mėginyje buvo didesnis nei 20, o statistiškai reikšmingas raiškos padidėjimo / sumažėjimo kartais pokytis >2 , $p < 0,05$.

TYRIMO REZULTATAI

Bendrieji demografiniai ir klinikiniai pacientų duomenys

Šešiasdešimčiai tiriamųjų asmenų iš skydliaukės plonos adatos aspiratų medžiagos išskirtos RNR buvo ištirta miRNR raiška naujos kartos sekoskaitos metodu. Šiame etape į tyrimą buvo įtraukti 5 (8,3 %) vyrai ir 55 (91,7 %) moterys. Bendras tiriamųjų amžiaus vidurkis $50,3 \pm 14,5$ metų. 46 (76,7 %) tiriamiesiems buvo atlikta tiroidektomija, 14 (23,3 %) tiriamųjų – skydliaukės rezekcija (lobektomija arba lobistmektomija); 16 (26,7 %) tiriamųjų kaklo limfmazgiai nebuvo šalinti, 38 (63,3 %) tiriamiesiems atlikta profilaktinė limfadenektomija, 4 (6,7 %) tiriamiesiems – terapinė centrinė limfadenektomija ir 2 (3,3 %) tiriamiesiems – terapinė centrinė bei radikali modifikuota šoninių kaklo limfmazgių limfadenektomija. Naviko mediana 12 (7) mm. Nepiktybiniai skydliaukės mazgai diagnozuoti 12 (20 %) tiriamųjų, papilinė skydliaukės karcinoma – 48 (80 %) tiriamiesiems.

Skydliaukės karcinoma sergančių pacientų grupę sudarė 4 (8,3 %) vyrai ir 44 (91,7 %) moterys. Tiroidektomija atlikta 43 (89,6 %) tiriamiesiems, skydliaukės rezekcija (lobektomija arba lobistmektomija) – 5 (10,4 %) tiriamiesiems. Penkiems (10,4 %) tiriamiesiems kaklo limfmazgiai nebuvo šalinti, 37 (77,1 %) tiriamiesiems atlikta profilaktinė limfadenektomija, 4 (8,3 %) tiriamiesiems – terapinė centrinė limfadenektomija ir 2 (4,2 %) tiriamiesiems – terapinė centrinė bei radikali modifikuota šoninių kaklo limfmazgių limfadenektomija. Klasikinė PSK buvo diagnozuota 43 (89,5 %) tiriamiesiems, PSK foliku-

linis variantas – 3 (6,3 %) tiriamiesiems, aukštų ląstelių PSK – 1 (2,1 %) tiriamajam ir onkocitinė PSK – 1 (2,1 %) tiriamajam. Bendri PSK sergančių pacientų demografiniai ir klinikiniai požymiai pateikiami 2 lentelėje.

miRNR raiškos ištyrimo naujos kartos sekoskaitos metodu rezultatai

Lyginant miRNR raiškos skirtumus, buvo atliktos dvi analizės:

1) pacientų (n=33), sergančių PSK be metastazių kaklo limfmazgiuose, ir pacientų (n=15), sergančių PSK su metastazėmis kaklo limfmazgiuose, grupių;

2) pacientų (n = 12), sergančių nepiktybiniais skydliaukės mazgais, ir pacientų (n = 48), kuriems diagnozuota PSK, grupių. PSK grupė suformuota sujungus abi PSK grupes: PSK su MKLM ir PSK be MKLM.

Lyginant PSK su MKLM ir PSK be MKLM grupes, į analizę buvo įtrauktos tos miRNR, kurių vidutinis sekų skaičius mėginyje buvo didesnis nei 20, statistiškai patikimu laikytas pokytis, kai raiška didėja / mažėja >2 , $p < 0,05$. Nustatytos 10 miRNR, kurių pokytis kartais skyrėsi reikšmingai (1 pav.). Labiausiai tarp tiriamų grupių skyrėsi miR4324 ir miR200B raiška (3 lentelė).

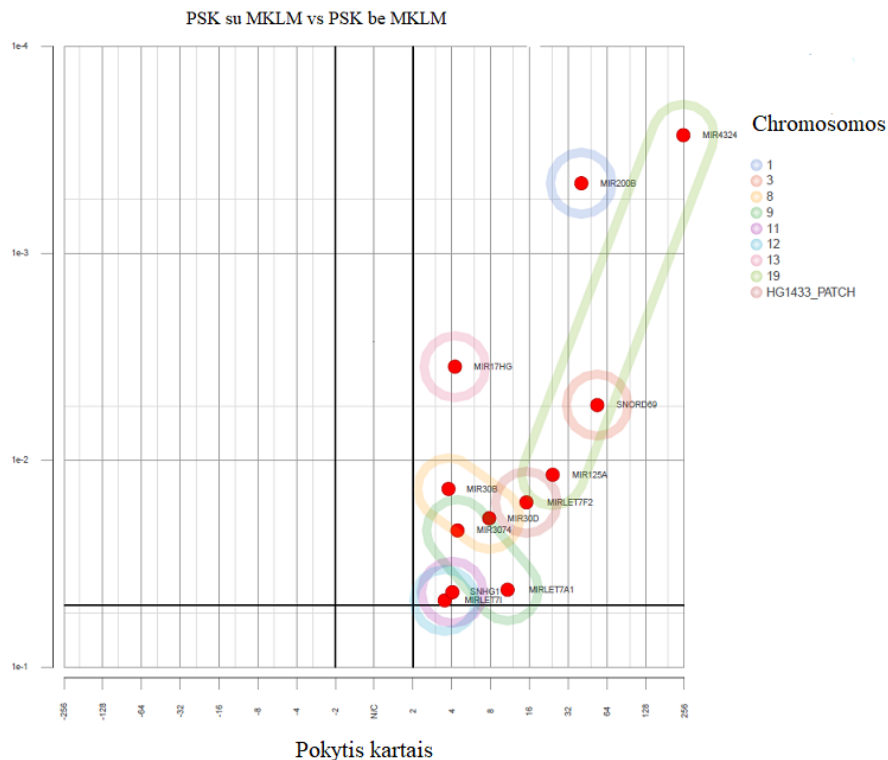
3 lentelė. miRNR, kurių raiška pakitusi PSK su MKLM mėginiuose, palyginti su PSK be MKLM

Table 3. miRNAs with altered expression in PTC with LNM compared to PTC without LNM

miRNR	Pokytis kartais	p reikšmė
miR4324	250,87	$<0,001$
miR200B	40,54	$<0,001$
miR125A	24,29	0,01
miR31	8,13	0,01
miR30B	3,78	0,01
miRLET7F2	15,17	0,02
miR30D	7,80	0,02
miR3074	4,43	0,02
miR125B	4,24	0,04
miRLET7A1	10,84	0,04

PSK – papilinė skydliaukės karcinoma; MKLM – metastazės kaklo limfmazgiuose

Lyginant PSK su nepiktybinių mazgų grupe, į analizę buvo įtrauktos tos miRNR, kurių vidutinis sekų skaičius mėginyje buvo didesnis nei 20, statistiškai patikimu laikytas pokytis, kai raiška didėja >2 , $p < 0,05$. Nustatytos 12 miRNR, kurių pokytis kartais skyrėsi reikšmingai (2 pav.). Labiau-

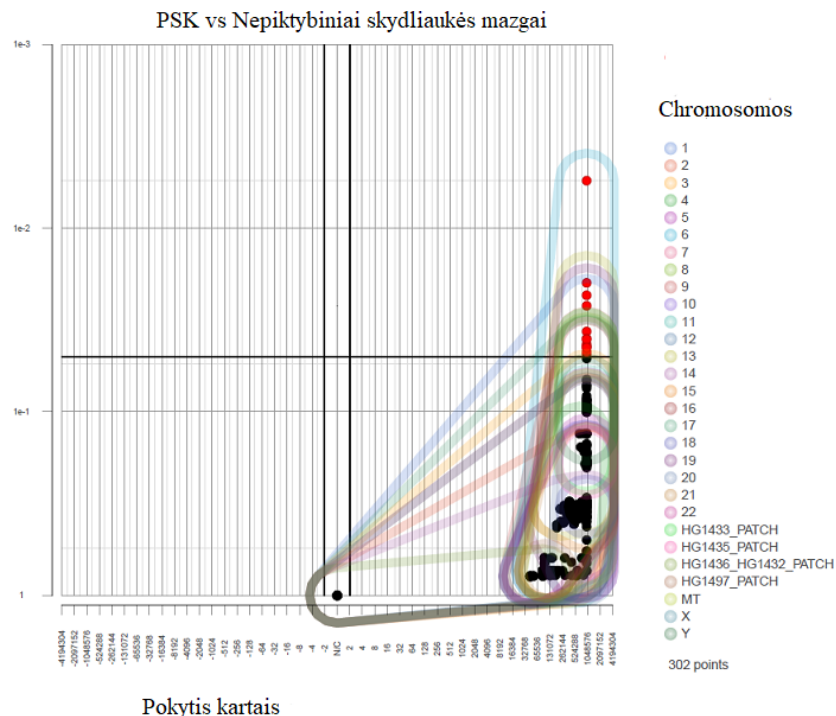


1 pav. miRNR raiškos naujos kartos sekoskaitos metodu rezultatai.

Reikšmingai besiskiriančios miRNR tarp PSK su MKLM ir PSK be MKLM. Statistiškai patikimu laikytas pokytis, kai raiška didėja >2 , $p < 0,05$.

Fig. 1. Results of miRNA expression by next-generation sequencing.

Significantly different miRNAs between PTC with LNM and PTC without LNM. A fold change with an increase in expression >2 , $p < 0,05$, was considered statistically significant.



2 pav. miRNR raiškos naujos kartos sekoskaitos metodu rezultatai.

miRNR raiškos skirtumai tarp PSK ir nepiktybinių mazgų. Raudona spalva pavaizduotos miRNR tarp tiriamųjų grupių skiriasi reikšmingai, juoda spalva – raiškos skirtumas nereikšmingas. Statistiškai patikimu laikytas pokytis, kai raiška didėja >2 , $p < 0,05$.

Fig. 2. Results of miRNA expression by next-generation sequencing

Differences in miRNA expression between PTC and non-malignant nodules. The miRNAs shown in red are significantly different between the treatment groups, the difference in expression in black is not significant. A fold change with an increase in expression >2 , $p < 0,05$, was considered statistically significant.

siai tarp tiriamų grupių skyrėsi miR4324 ($p < 0,02$), miR200B ($p < 0,02$) ir miR125A ($p < 0,03$) raiška.

REZULTATŲ APITARIMAS

Amerikos skydliaukės asociacijos tarp-tautinės gairės [14] pacientams, kuriems iki operacijos nustatomi pakitimai kaklo limfmazgiuose, rekomenduojama atlikti CKLM šalinimą. Tačiau profilaktinės CKLM šalinimo operacijos svarba dėl padidėjusios pooperacinių komplikacijų tikimybės kelia prieštaravimų. Esami vaizdinimo diagnostiniai tyrimai nepadedą tiksliai nustatyti navikinio proceso išplitimo iki operacijos [11]. Kaklo limfmazgiuose histologiškai diagnozuojama net iki 60 % metastazių, kurios iki operacijos nenustatomos vaizdinimo tyrimais [13].

Kadangi šiuo metu turimais tiek vaizdinimo, tiek citologiniais tyrimais tiksliai diagnozuoti skydliaukės karcinomos, jos išplitimo į kaklo limfmazgius nepavyksta, svarbu ieškoti naujų biožymenų, padedančių tiksliau nustatyti diagnozę ir įvertinti ligos išplitimą.

Pastarąjį dešimtmetį daug tyrimų buvo atlikta siekiant nustatyti miRNR kaip diagnostinį PSK biožymenį. Kelios miRNR yra siejamos ir su PSK metastazėmis [23, 24].

Su miR221/222 yra atlikta daugiausia tyrimų, įrodančių jų raiškos pokyčio sąsają su tokiais klinikiniais patologiniais PSK požymiais, kaip MKLM. Nemažai tyrėjų nustatė, kad PSK su MKLM turi didesnę miR221/222 raišką audiniuose, palyginti su PSK be MKLM [25–30]. K. Jiang ir kolegų duomenimis, reikšmingai didesnė miR222 ir miR221 raiška serume randama PSK pacientams, kuriems yra diagnozuotos MKLM [31].

Funkcinė miR146 analizė parodė, kad ji susijusi su įvairiomis ląstelių funkcijomis, įskaitant proliferaciją, migraciją ir invaziją [32, 33]. C. K. Chou su bendraautoriais įrodė, kad miR146B raiška yra nepriklausomas PSK blogos prognozės rizikos veiksnys [34].

Mūsų gauti tyrimo rezultatai neat-skleidė reikšmingo miR146B ir miR221/222 skirtumo tiek tarp nepiktybinių ir PSK grupių, tiek tarp PSK su MKLM ir PSK be MKLM grupių. Lyginant PSK su MKLM ir PSK be MKLM grupes, labiausiai tarp tiriamų grupių skyrėsi miR4324 ir miR200B raiška. Lyginant PSK su nepiktybinių mazgų grupe, labiausiai tarp tiriamų grupių skyrėsi miR4324 ($p < 0,02$), miR200B ($p < 0,02$) ir miR125A ($p < 0,03$) raiška.

Mūsų žiniomis, iki šiol miR125A, miR200B ir miR4324 nebuvo tirtos ir siejamos su papilinė skydliaukės karcinoma.

IŠVADOS

miRNR raiškos analizė plonos adatos aspiratuose gali būti naudojama ikio-peraciniam papilinės skydliaukės karcinomos progresavimui nustatyti. Norint šiuos duomenis pritaikyti klinikinėje praktikoje, reikia atlikti didelės imties kohortinius tyrimus, siekiant ištirti miRNR prognostinę ir diagnostinę vertę. Patobulinus miRNR tyrimo metodų standartizavimą, būtų galima plačiau taikyti šį metodą nustatant individualias skydliaukės karcinoma sergančių pacientų gydymo strategijas. Tai leistų sumažinti pooperacinių komplikacijų skaičių ir pagerinti pacientų gyvenimo kokybę. ◆

Gauta: 2022 05 16
Priimta spaudai: 2022 06 29

LITERATŪRA

1. Pellegriti G, Frasca F, Regalbuto C, Squatrito S, Vigneri R. Worldwide increasing incidence of thyroid cancer: update on epidemiology and risk factors. *J Cancer Epidemiol* 2013; 2013: 965212.
2. Sherman SI. Thyroid carcinoma. *Lancet* 2003; 361(9356): 501–11.
3. Rahib L, Smith BD, Aizenberg R, Rosenzweig AB, Fleshman JM, Matrisian LM. Projecting cancer incidence and deaths to 2030: the unexpected burden of thyroid, liver, and pancreas cancers in the United States. *Cancer Res* 2014; 74(11): 2913–21.
4. Vaccarella S, Franceschi S, Bray F, Wild CP, Plummer M, Dal Maso L. Worldwide thyroid-cancer epidemic? The increasing impact of overdiagnosis at NEJM.org. *N Engl J Med* 2016; 375(7): 614–7.
5. Dean DS, Gharib H. Epidemiology of thyroid nodules. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2008; 22(6): 901–11.
6. Cabanillas ME, McFadden DG, Durante C. Thyroid cancer. *Lancet* 2016; 388(10061): 2783–95.
7. Cho SW, Choi HS, Yeom GJ, Lim JA, Moon JH, Park DJ, et al. Long-term prognosis of differentiated thyroid cancer with lung metastasis in Korea and its prognostic factors. *Thyroid* 2014; 24(2): 277–86.
8. Guo K, Wang Z. Risk factors influencing the recurrence of papillary thyroid carcinoma: a systematic review and

Summary

THE ROLE OF miRNA IN PAPILLARY THYROID CARCINOMA METASTASES IN CERVICAL LYMPH NODES DIAGNOSIS

Romėna Laukienė,
Laima Ambrozaitytė,
Loreta Cimbalistienė,
Viktorija Sytnikova,
Algirdas E. Tamošiūnas

Many miRNAs have been proposed as promising molecular markers of papillary thyroid carcinoma (PTC). However, there are limited data on the correlation between miRNA expression, and neck lymph node metastasis. Analysis of miRNAs expression data may improve perioperative decision making for patients with PTC, specifically in identifying patients harboring neck lymph node metastases (LNM).

Aim of the study. To determine and compare miRNA expression profiles of papillary thyroid carcinoma with lymph node metastases and papillary thyroid carcinoma without lymph node metastases and to determine the diagnostic utility of the detection of specific miRNAs in the preoperative assessment of thyroid nodules.

Material and methods. Sixty thyroid fine needle aspiration samples with suspected thyroid carcinoma were collected in the prospective molecular study at Vilnius University hospital “Santaros klinika”. Next generation sequencing was performed to characterize miRNA and gene expression profiles in these FNA samples. All 60 patients underwent thyroidectomy: 33 papillary carcinomas without lymph node metastases, 15 papillary carcinomas with lymph node metastases and 12 benign thyroid nodules were diagnosed histologically.

Results. 10 miRNAs were significantly differentially expressed between papillary thyroid carcinoma with metastases compared with papillary thyroid carcinoma without metastases (p value < 0.05 ; fold change -2.0 or 2.0).

Conclusions. Analysis of miRNAs expression levels and detection of FNA miRNAs can be used for the preoperative diagnosis of thyroid cancer cervical lymph node metastasis. To translate these data into clinical application, large cohort studies are required to examine the prognostic and diagnostic value of miRNAs panels.

Keywords: miRNA, thyroid carcinoma, next-generation sequencing, metastasis, biomarkers.

- meta-analysis. *Int J Clin Exp Pathol* 2014; 7(9): 5393–403.
9. Chéreau N, Buffet C, Trésallet C, Tissier F, Leenhardt L, Menegaux F. Recurrence of papillary thyroid carcinoma with lateral cervical node metastases: predictive factors and operative management. *Surgery* 2016; 159(3): 755–62.
10. Lan X, Sun W, Zhang H, Dong W, Wang Z, Zhang T. A meta-analysis of central lymph node metastasis for predicting lateral involvement in papillary thyroid carcinoma. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2015; 153(5): 731–8.
11. Tao Y, Wang C, Li L, Xing H, Bai Y, Han B, et al. Clinicopathological features for predicting central and lateral lymph node metastasis in papillary thyroid microcarcinoma: analysis of 66 cases that underwent central and lateral lymph node dissection. *Mol Clin Oncol* 2017; 6(1): 49–55.
12. Zhao H, Li H. Meta-analysis of ultrasound for cervical lymph nodes in papillary thyroid cancer: diagnosis of central and lateral compartment nodal metastases. *Eur J Radiol* 2019; 112: 14–21.
13. Wada N, Duh QY, Sugino K, Iwasaki H, Kameyama K, Mimura T, et al. Lymph node metastasis from 259 papillary thyroid microcarcinomas: frequency, pattern of occurrence and recurrence, and optimal strategy for neck dissection. *Ann Surg* 2003; 237(3): 399–407.
14. Haugen BR, Alexander EK, Bible KC, Doherty GM, Mandel SJ, Nikiforov YE, 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.
15. Haugen BR. 2015 American Thyroid Association management guidelines for adult patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer: what is new and what has changed? *Cancer* 2017; 123(3): 372–81.
16. Chen L, Wu YH, Lee CH, Chen HA, Loh EW, Tam KW. Prophylactic central neck dissection for papillary thyroid carcinoma with clinically uninvolved central neck lymph nodes: a systematic review and meta-analysis. *World J Surg* 2018; 42(9): 2846–57.
17. Qu N, Zhang L, Ji QH, Chen JY, Zhu YX, Cao YM, et al. Risk factors for central compartment lymph node metastasis in papillary thyroid microcarcinoma: a meta-analysis. *World J Surg* 2015; 39(10): 2459–70.
18. Mao J, Zhang Q, Zhang H, Zheng K, Wang R, Wang G. Risk factors for lymph node metastasis in papillary thyroid carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2020; 11: 265.
19. Karlsen TA, Aae TF, Brinchmann JE. Robust profiling of microRNAs and isomiRs in human plasma exosomes across 46 individuals. *Sci Rep* 2019; 9(1): 19999.
20. Condrat CE, Thompson DC, Barbu MG, Bugnar OL, Boboc A, Cretoiu D, et al. miRNAs as biomarkers in disease: latest findings regarding their role in diagnosis and prognosis. *Cells* 2020; 9(2): 276.
21. Xu SL, Tian YY, Zhou Y, Liu LQ. Diagnostic value of circulating microRNAs in thyroid carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2020; 93(4): 489–98.
22. Cibas ES, Ali SZ. The 2017 Bethesda system for reporting thyroid cytopathology. *Thyroid* 2017; 27(11): 1341–46.
23. Ab Mutalib NS, Othman SN, Mohamad Yusof A, Abdullah Suhaimi SN, Muhammad R, Jamal R. Integrated microRNA, gene expression and transcription factors signature in papillary thyroid cancer with lymph node metastasis. *PeerJ* 2016; 4: e2119.
24. Laukiene R, Jakubkevicius V, Ambrozaityte L, Cimbališienė L, Utkus A. Dysregulation of microRNAs as the risk factor of lymph node metastasis in papillary thyroid carcinoma: systematic review. *Endokrynol Pol* 2021; 72(2): 145–52.
25. Zhou YL, Liu C, Dai XX, Zhang XH, Wang OC. Overexpression of miR-221 is associated with aggressive clinicopathologic characteristics and the BRAF mutation in papillary thyroid carcinomas. *Med Oncol* 2012; 29(5): 3360–6.
26. Sun Y, Yu S, Liu Y, Wang F, Liu Y, Xiao H. Expression of miRNAs in papillary thyroid carcinomas is associated with BRAF mutation and clinicopathological features in Chinese patients. *Int J Endocrinol* 2013; 2013: 128735.
27. Acibucu F, Dökmetaş HS, Tutar Y, Elagoz S, Kilicli F. Correlations between the expression levels of microRNA146b, 221, 222 and p27Kip1 protein mRNA and the clinicopathologic parameters in papillary thyroid cancers. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2014; 122(3): 137–43.
28. Han PA, Kim HS, Cho S, Fazeli R, Najafian A, Khawaja H, et al. Association of BRAF V600E mutation and microRNA expression with central lymph node metastases in papillary thyroid cancer: a prospective study from four endocrine surgery centers. *Thyroid* 2016; 26(4): 532–42.
29. Xiang D, Tian B, Yang T, Li Z. miR-222 expression is correlated with the ATA risk stratifications in papillary thyroid carcinomas. *Medicine (Baltimore)* 2019; 98(25): e16050.
30. Pamedytyte D, Simanaviciene V, Dauksiene D, Leipute E, Zvirbliene A, Sarauskas V, et al. Association of microRNA expression and BRAF^{V600E} mutation with recurrence of thyroid cancer. *Biomolecules* 2020; 10(4): 625.
31. Jiang K, Li G, Chen W, Song L, Wei T, Li Z, et al. Plasma exosomal miR-146b-5p and miR-222-3p are potential biomarkers for lymph node metastasis in papillary thyroid carcinomas. *Onco Targets Ther* 2020; 13: 1311–9.
32. Qiu Z, Li H, Wang J, Sun C. miR-146a and miR-146b in the diagnosis and prognosis of papillary thyroid carcinoma. *Oncol Rep* 2017; 38(5): 2735–40.
33. Lima CR, Geraldo MV, Fuziwara CS, Kimura ET, Santos MF. MiRNA-146b-5p upregulates migration and invasion of different papillary thyroid carcinoma cells. *BMC Cancer* 2016; 16: 108.
34. Chou CK, Yang KD, Chou FF, Huang CC, Lan YW, Lee YF, et al. Prognostic implications of miR-146b expression and its functional role in papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98(2): E196–205.