

НЕКОТОРЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ИХ ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**А.К. МУКАНОВА, М.Р. МАДИЕВА, М.Ж. ЕСПЕНБЕТОВА, А.А. КРЫКПАЕВА,
Ж.М. ЖУМАНБАЕВА**

Медицинский университет Семей, Семей, Казахстан

Муканова А. К. – <https://orcid.org/0000-0001-5603-0207>
 Мадиева М. Р. – <https://orcid.org/0000-0001-6431-9713>
 Еспенбетова М.Ж. – <https://orcid.org/0000-0003-2318-4765>
 Крыкпаева А. С. – <https://orcid.org/0000-0001-7701-9832>
 Жуманбаева Ж. М. – <https://orcid.org/0000-0001-8941-862X>

Citation/
библиографиялық сілтеме/
библиографическая ссылка:

Mukanova AK, Madiyeva MR, Espenbetova MZh, Krykpaeva AA, Zhumanbaeva ZhM. Some genetic markers of thyroid cancer and their prognostic significance: literature review. West Kazakhstan Medical Journal. 2020;62(3):112-121.

Муканова КА, Мадиева МР, Еспенбетова МЖ, Крыкпаева АА, Жуманбаева ЖМ. Қалқанша безінің қатерлі ісігіне әкелетін кейбір генетикалық маркерлер және олардың болжаулық маңыздылығы: әдеби шолу. Kazakhstan Medical Journal. 2020;62(3):112-121.

Муканова А.К., Мадиева М.Р., Еспенбетова М.Ж., Крыкпаева А.А., Жуманбаева Ж.М. Некоторые генетические маркеры рака щитовидной железы и их прогностическая значимость: обзор литературы. West Kazakhstan Medical Journal. 2020;62(3):112 – 121.

Some genetic markers of thyroid cancer and their prognostic significance: literature review

A.K. Mukanova, M.R. Madiyeva, M.Zh. Espenbetova, A.A. Krykpaeva, Zh.M. Zhumanbaeva
Semey Medical University, Semey, Kazakhstan

The presented brief review contains up-to-date information about the most common mutation variants presented in thyroid cancer.

The structure of genetic disorders in thyroid cancer is relatively simple. Many somatic point mutations and chromosomal rearrangements at different stages of thyroid cancer are mainly related to BRAF (v-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1), MAPK (mitogen-activated protein kinases) and RAS signaling pathways, as well as TERT (telomerase reverse transcriptase) mutations. However, to date, controversial issues remain in terms of the ratio of “driver” and “silent” mutations at various stages of tumor development and their prognostic role in the development of the most malignant forms of cancer.

Driver mutations and gene fusions identify in most cases of thyroid cancer, suggesting three main cellular signaling pathways: BRAF, MAPK, and PI3K-AKT (phosphatidylinositol-3-kinase - serine/ threonine protein kinase), which are involved in the development of thyroid tumors. In early thyroid cancer, the MAPK pathway is stimulated by mutations in BRAF and RAS, or by RET (REarranged during Transfection)/PTC rearrangements. A key driver mutation for disruption of the MAPK pathway is the BRAF point mutation. In thyroid cancer, RAS mutations are the most important factor in the number of genetic disorders after BRAF mutations. Mutations of the TERT promoter are typically detected in elderly patients and are associated with large tumors. Other genetic changes considered silent mutations include modifications of PI3K (phosphatidylinositol-3-kinase gene), β -catenin (CTNNB1), TP53, citrate dehydrogenase 1 (IDH1), anaplastic lymphoma kinase (ALK) and epidermal growth factor receptor (EGFR).

Keywords: thyroid cancer; genetic predictors; BRAF; MAPK; RAS; TERT.

Қалқанша безінің қатерлі ісігіне әкелетін кейбір генетикалық маркерлер және олардың болжаулық маңыздылығы: әдеби шолу

А.К. Муканова, М.Р. Мадиева, М.Ж. Еспенбетова, А.А. Крыкпаева, Ж.М.Жуманбаева

Семей медицина университеті, Семей, Қазақстан

Бұл шағын әдеби шолуда тиреоидты ісікке әкелетін мутациялардың ең жиі түрлері жайлы заманауи ақпараттар келтірілген.

Қалқанша безінің қатерлі ісігі кезіндегі генетикалық өзгерістердің құрылымы салыстырмалы түрде қарапайым. Қалқанша без қатерлі ісігінің барлық кезеңінде байқалатын соматикалық нүктелік мутациялар мен хромосома құрылымындағы өзгерістер BRAF (v-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1); MAPK



Муканова А.К.
e-mail: mukanova.arai@mail.ru

Received/
Келіп түсті/
Поступила:
24.03.2020.

Accepted/
Басылымға қабылданды/
Принята к публикации:
29.07.2020.

ISSN 2707-6180 (Print)
© 2020 The Authors
Published by West Kazakhstan Marat Ospanov
Medical University

(mitogen-activated protein kinases); RAS; TERT мутацияларына байланысты. Бірақ, ісіктің түрлі кезеңдерінің дамуы мен аса қатерлі формаға өтуін болжауда «драйверлі» және «үңсіз» мутацияларының рөлі бүгінгі күнге дейін толық анықталмаған.

Драйверлі мутациялар және гендердің шағылысуы көп жағдайда қалқанша бездің қатерлі ісігін сипаттайды және қалқанша бездің ісігі кезінде анықталатын негізгі үш сигналды жолдармен байланысын болжатады: BRAF, MAPK және PI3K-AKT (фосфоинозитид-3-киназа ферменті). Қалқанша бездің қатерлі ісігінің ерте кезеңінде MAPK жолы BRAF, RAS және RET/PTC мутацияларымен ынталандырылады. MAPK жолының бұзылуына әкелетін негізгі драйверлі мутациясы BRAF нүктелік мутациясы. Тиреоидты рак кезіндегі генетикалық ақаулардың қатарындағы RAS мутациясы BRAF мутациясынан кейінгі маңызды орынды алады. TERT промоторының мутациялары көбінесе егде тартқан адамдарда кездеседі және үлкен көлемді ісіктермен ассоциацияланады. Басқа үңсіз мутациялар ретінде қарастырылатын генетикалық өзгерістерге PI3K (фосфатидилинозитол-3-киназа гені), β-катенин (CTNNB1), TP53, дегидрогеназ цитраты 1 (IDH1), анапластикалық лимфома киназасы (ALK) және эпидермистің өсу факторының рецепторлары (EGFR).

Негізгі сөздер: қалқанша безінің қатерлі ісігі, генетикалық предикторлар; BRAF; MAPK; RAS; TERT.

Некоторые генетические маркеры рака щитовидной железы и их прогностическая значимость: обзор литературы

А.К. Муканова, М.Р. Мадиева, М.Ж. Еспенбетова, А.А. Крыкпаева,

Ж.М. Жуманбаева

НАО «Медицинский университет Семей», г.Семей

Представленный краткий обзор содержит современные сведения о наиболее частых вариантах мутаций, представленных при тиреоидном раке.

Структура генетических нарушений при раке щитовидной железы относительно проста. Множество соматических точечных мутаций и хромосомных перестроек на разных стадиях рака щитовидной железы в основном относятся к сигнальным путям BRAF (v-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1), MAPK (mitogen-activated protein kinases) и RAS, а также мутациям TERT (telomerase reverse transcriptase). Однако до настоящего времени остаются спорные вопросы в плане соотношения «драйверных» и «молчащих» мутаций на различных этапах развития опухоли и их прогностической роли в развитии наиболее злокачественных форм рака.

Драйверные мутации и слияния генов идентифицируют в большинстве случаев тиреоидного рака, что позволяет предположить три основных клеточных сигнальных пути: BRAF, MAPK и PI3K-AKT (фосфатидилинозитол-3-киназа - серин/треонинной протеинкиназы), которые участвуют в развитии опухолей щитовидной железы. При раннем раке щитовидной железы путь MAPK стимулируется мутациями в BRAF и RAS или перестройками RET (REarranged during Transfection)/PTC. Ключевой драйверной мутацией для нарушения пути MAPK является точечная мутация BRAF. При тиреоидном раке мутации RAS являются наиболее важным фактором в числе генетических нарушений после мутаций BRAF. Мутации промотора TERT, как правило, выявляются у пациентов пожилого возраста и ассоциированы с опухолями больших размеров. Другие генетические изменения, рассматриваемые как молчащие мутации, включают модификации PI3K (гена фосфатидилинозитол-3-киназы), β-катенина (CTNNB1), TP53, цитрат-дегидрогеназы 1 (IDH1), киназы анапластической лимфомы (ALK) и рецептора фактора роста эпидермиса (EGFR).

Ключевые слова: рак щитовидной железы, генетические предикторы, BRAF, MAPK, RAS, TERT.

Рак щитовидной железы является наиболее распространенной формой злокачественного новообразования органов эндокринной системы. Наблюдается рост выявляемости этого новообразования во всем мире в течение последних трех десятилетий в связи с внедрением в тиреологическую новейших технологий диагностики [1-5].

Семипалатинский ядерный полигон – одна из наиболее известных локаций, ассоциированных с резким ростом радиоиндуцированных заболеваний, в первую очередь связанных с воздействием радиоактивных изотопов йода (I-131). Имеются две основные причины этого – большая доля этих изотопов в числе образующихся при ядерных взрывах и высокая биодоступ-

ность йода, усугубляемая дефицитом этого элемента в окружающей среде в Восточном Казахстане [6].

В результате взаимодействия этих двух факторов обуславливается резкий рост частоты новообразований щитовидной железы, превышение риска которых над среднереспубликанским прослеживается до настоящего времени [7].

Настоящий обзор включает сведения, опубликованные в зарубежной профессиональной биомедицинской прессе, полученные путем поиска в сети Internet по базам данных Medline (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>), Elsevier (<https://www.elsevier.com/>) и Springer (<https://www.springer.com/>), получение информации из двух последних обеспечивалось с помощью академического доступа. Первичный поиск информации включал запросы: [thyroid & cancer & genetics]; [thyroid & cancer & predictor]; [thyroid & cancer & BRAF OR MAPK OR RET OR TERT]; [thyroid & diseases & genetics]; [thyroid & diseases & predictor]. Первично полученные данные о публикациях сведены в единую базу для исключения повторов. Первичный анализ проводился на основании резюме публикаций, окончательный – полнотекстовых версий статей. При первичном поиске были получены данные о 15178 публикациях, после введения ограничений по срокам поиска (15 лет) и наличию полнотекстовых версий их число сокращено до 3276. Дальнейший анализ включал отбор в полученной выборке наиболее крупных исследований, обзоров и мета-анализов как источников достоверной информации. Окончательно в настоящий обзор включены данные 93 исследований, удовлетворяющих принятым критериям.

Рак щитовидной железы представляет собой гетерогенную группу новообразований с типичными гистопатологическими признаками, сходными с опухолями других локализаций [8].

Следует отметить, что щитовидная железа состоит из эпителиальных клеток двух основных типов: фолликулярных клеток, которые преобразуют йод в тироксин (Т4), и трийодтиронин (Т3). Другим типом эпителиальных клеток является парафолликулярные или С-клетки, которые секретируют кальцитонин.

Первичные злокачественные новообразования щитовидной железы в основном развиваются из фолликулярных клеток органа (эпителиальные опухоли) и включают три основных морфологических типа: папиллярный рак щитовидной железы (ПРЩЖ), фолликулярный рак щитовидной железы (ФРЩЖ) и анапластический рак щитовидной железы (АРЩЖ). Медулярная форма рака щитовидной железы (МРЩЖ) развивается из парафолликулярных клеток [9-11]. Из-за высокой дифференцировки клеток и неинвазивного роста опухолей ПРЩЖ и ФРЩЖ классифицируются как дифференцированный рак щитовидной железы. ПРЩЖ составляет до 85%-90% всех случаев злокачественных опухолей данной локализации, затем следуют ФРЩЖ (5%-10%) и медулярный рак (около 2%), тогда как частота АРЩЖ составляет менее 2% случа-

ев и эта форма чаще встречается в пожилом возрасте [12].

Стандартом лечения рака щитовидной железы является тиреоидэктомия и изотопная терапия радиоактивным йодом. С использованием этого подхода излечивается большинство пациентов, однако рецидивирование опухоли с невозможностью хирургического лечения, рефрактерность к радиоактивному йоду при дифференцированных формах рака, терапия низкодифференцированных форм и анапластического рака остаются нерешенными окончательно проблемами.

Подобно другим солидным злокачественным опухолям, рак щитовидной железы инициируется возникновением генетических изменений и эпигенетических изменений в проонкогенах или генах-супрессорах опухолей [13-15]. Современный уровень развития молекулярных технологий позволяет по-новому взглянуть на диагностику и прогноз опухолей щитовидной железы. Настоящий обзор в основном направлен на анализ генетических особенностей рака щитовидной железы.

Рак щитовидной железы возникает в результате многочисленных генетических и эпигенетических изменений в ДНК клеток, перерождающихся в опухолевые. Существует множество соматических точечных мутаций и хромосомных перестроек на разных стадиях рака щитовидной железы, происходящего из фолликулярных клеток [17,18], которые в основном относятся к сигнальным путям BRAF (v-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1), MAPK (mitogen-activated protein kinases) и перестройкам RET (REarranged during Transfection) / PTC [19].

Следует иметь в виду, что не все соматические аномалии генома в злокачественно трансформированных клетках участвуют в возникновении рака, поскольку некоторые из них являются следствием канцерогенеза. Драйверные мутации являются следствием онкогенеза в стволовых клетках опухоли и подвергаются позитивному отбору в тканевом микроокружении, при этом не требуются для существования и развития опухоли (хотя это часто наблюдается) [20,21].

Мутации «молчащего» типа отбору не подвергаются, не обладают способностью к формированию растущих клонов и, следовательно, не способствуют развитию рака. Так как соматические мутации без функциональных последствий часто происходят во время деления клетки, «молчащие» мутации инициируются в геноме раковых клеток [22]. Одним из проблемных вопросов является дифференцировка драйверных и «молчащих» мутаций. Однако секвенирование всего генома, включающее анализ более 20 000 протеин-кодирующих генов и неизвестного количества функциональных элементов в интронных областях и межгенной ДНК, представляет большую проблему. Исследования биологических последствий предполагаемых драйверных мутаций часто консолидируют данные, свидетельствующие о том, что они участвуют в онкогенезе, и дают представление о

нарушениях в биологических процессах, с помощью которых они способствуют развитию рака. Рак щитовидной железы является с генетической точки зрения «простым» заболеванием, характеризующимся относительно небольшим числом мутаций, характерных для каждой опухоли. Драйверные мутации и слияния генов идентифицируют в большинстве случаев тиреоидного рака, что позволяет предположить три основных клеточных сигнальных пути: BRAF, MAPK и PI3K-AKT (фосфатидилинозитол-3-киназы - серин/треонинкиназы), которые участвуют в развитии опухолей щитовидной железы [23].

Хорошо известно, что активирующие мутации в каскаде MAPK (включая мутацию BRAF V600E) приводят к повышенной и неконтролируемой клеточной пролиферации, являющейся условием для развития опухоли [24]. Сильная связь BRAF V600E со злокачественным новообразованием указывает на то, что развитие данной мутации является ведущим событием в онкогенезе тиреоидного рака. Согласно этой модели, оригинальная мутация BRAF V600E должна индуцировать трансформацию одной или нескольких клеток в эпителиальном слое щитовидной железы, приводя к развитию клонального папиллярного рака, в котором все опухолевые клетки должны иметь эту мутацию, по крайней мере, в гетерозиготной форме. Рост количественных подходов генотипирования открыл новые возможности для количественной оценки степени клональности мутации BRAF в биоптатах тканей тиреоидного рака.

Количественный анализ секвенирования, выполненный в двух независимых исследованиях, показал, что мутация BRAF иногда является клональным событием, тогда как в большинстве случаев она может быть обнаружена только в подмножестве опухолевых клеток (в среднем 25% от общего числа аллелей) [25,26]. Эти наблюдения указывают на то, что мутация BRAF при тиреоидном раке у человека обычно происходит как вторичное генетическое событие, в прогрессии уже установленных опухолей. Как следствие, сформированные опухоли должны быть генетически гетерогенными и состоять из смеси клеток с мутациями BRAF и дикого типа. Генетическая гетерогенность мутации BRAF V600E была ранее описана при меланоме и раке толстой кишки, что позволяет предположить, что вторичность является общим свойством этой мутации при опухолях человека [27,28].

Субклональное распределение мутации BRAF в первичной опухоли как оказывает значительное влияние на генетические основы метастазирования, которые могут отличаться от характеристик первичного поражения, так и предоставляет реальную возможность использования фармакологических препаратов – специфических ингибиторов BRAF V600E для лечения пациентов с тиреоидным раком. Один из наиболее актуальных вопросов касается возможности ошибок при выявлении мутантного аллеля методами количественного секвенирования из-за присутствия неопухо-

левых нормальных стромальных клеток. В недавнем исследовании при использовании подхода секвенирования следующего поколения было обнаружено, что процент мутантных аллелей BRAF варьировался от 18 до 44% от общей частоты, и что в большинстве образцов наблюдается частота мутантного аллеля >25%. Однако поскольку образцы опухолей могут иметь определенную степень замещения неопухолевыми клетками, авторы пришли к выводу, что эти показатели соответствуют гипотезе о том, что мутация BRAF является клональным изменением драйверного гена при ПРЩЖ [29]. Однако представляется крайне маловероятным, что это полностью объясняет наблюдаемую большую неоднородность. Герра и соавт. попытались решить эту проблему путем создания отдельных клонов из первичных опухолей щитовидной железы с мутацией BRAF V600E. Секвенирование показало, что мутация BRAF V600E не была равномерно распределена среди всех клонов, но могла быть обнаружена только в подмножествах культивируемых клеток, подтверждая гипотезу субклонального распределения этой мутации в первичной опухоли [30].

MAPK/ERK путь, также известный как Ras-Raf-MEK-ERK путь, является переносчиком сигнала от рецептора на поверхности клетки к ядру (ДНК). Этот сигнальный путь инициируется после связывания сигнальной молекулы с ее рецептором-мишенью на поверхности клетки, и, когда ядерная ДНК экспрессирует белок для обеспечения изменений функционирования клетки, он прерывается [31]. Этот путь содержит много белков, включая MAPK (митоген-активируемые протеинкиназы, первоначально называемые ERK, т.е. внеклеточные сигнальные киназы) и связан с клеточной пролиферацией, дифференцировкой, миграцией и старением. Компоненты регуляции апоптоза путем MAPK/ERK были выявлены, когда они были обнаружены в клетках опухоли [31,32].

При раннем раке щитовидной железы путь MAPK стимулируется мутациями в BRAF и RAS или перестройками RET/PTC. Ключевой драйверной мутацией для нарушения пути MAPK является точечная мутация BRAF, что вызывает экспрессию гена BRAF V600E мутантного белка и, в свою очередь приводит к существенной активации серин-треонинкиназы [33-37]. Фактически результатом мутации V600E является замещение валина в позиции 600 в BRAF на глутаминовую кислоту. Это мутация происходит в пределах сегмента активации киназного домена. Мутации BRAF также часто обнаруживаются в опухолях без драйверных мутаций в NRAS, KIT и других генах. Мутация BRAF V600E обнаруживается примерно у 45% больных с дифференцированными формами тиреоидного рака [38,39]. Тем не менее, некоторые опухоли данного типа демонстрируют внутриопухолевую гетерогенность в генотипе BRAF – меньшая часть клеток имеет BRAFV600E, в то время как большинство имеет «дикий» генотип BRAF [40].

При тиреоидном раке мутации RAS являются наи-

более важным фактором в числе генетических нарушений после мутаций BRAF [41,42]. RAS связан с механизмами ГТФ-ассоциированной регуляции, и когда внутренняя ГТФаза гидролизует ГТФ, RAS преобразуется в неактивное ГТФ-связанное состояние и его сигнальная активность прерывается [43]. Существует три изоформы RAS: HRAS, KRAS и NRAS. В опухолях щитовидной железы преимущественно наблюдаются мутации NRAS, в основном с участием кодонов 12 и 61 [44]. Точечные мутации продуцируют онкогенные аллели RAS, которые проявляют либо повышенное сродство к ГТФ (кодоны 12 и 13), либо ингибирование автокаталитической функции ГТФазы (кодон 61). Оба механизма приводят к конститутивной, абберрантной активации нижестоящих сигнальных путей MAPK и PI3 / AKT, что является пусковым событием в генезе тиреоидного рака [45,46].

Новообразования щитовидной железы уникальны тем, что они связаны со всеми тремя мутантными изоформами гена RAS, хотя большинство исследований демонстрируют преобладание NRAS61 [47-52]. Кроме того, в литературе приводятся общие частоты мутаций RAS в 48% доброкачественных фолликулярных аденом, 57% - при фолликулярном и 21% - при папиллярном раке [47-50,53-56]. Тем не менее, общая распространенность и характер частоты конкретных изоформ значительно варьируются. Частично это связано с тем, что представленные данные состоят в основном из небольших исследований, которые часто различаются по методологии. Например, распространенность RAS обычно ниже, когда анализ ограничивается исследованиями, в которых используется прямое секвенирование. Это было продемонстрировано Vasko et al., которые отметили значительно более высокий общий уровень выявления мутаций (17% против 12%, $p < 0,01$), особенно в отношении HRAS61, когда прямое секвенирование не использовалось [48].

Чтобы устранить эти методологические ограничения, Liu et al. выполнили метаанализ 86 работ, посвященных определению мутаций RAS при тиреоидном раке. Во всех выбранных исследованиях ткани опухоли подвергались прямому секвенированию для выявления мутаций и регулярно подвергались скринингу на наличие всех трех мутантных изоформ (H-, K- и NRAS) в одной и той же опухоли. Исследование показало, что мутации с участием NRAS в кодоне 61 были самыми многочисленными, составляя 67% всех мутаций данной группы [49]. Этот результат был подтвержден другим объединенным анализом 22 исследований с аналогичными критериями включения, в которых NRAS61 составлял 88% мутаций RAS. Оба объединенных анализа далее пришли к выводу, что мутации RAS были более распространенными при ФРЩЖ, чем в доброкачественных узлах и были относительно редкими при папиллярном раке. Liu et al. указывали на частоты 27%, 15% и 6% для ФРЩЖ, фолликулярных аденомах, и ПРЩЖ, соответственно, и Vasko et al. сообщили о частоте 25%, 14% и 5% в тех

же группах [48,49].

Почти исключительное возникновение мутаций RAS в фолликулярных опухолях и их редкое появление при папиллярном раке также предполагалось в других исследованиях; тем не менее, появляется все больше доказательств того, что RAS-положительный ПРЩЖ может быть ограничен подтипом фолликулярного варианта (ФВ ПРЩЖ), который обладает паттерном фолликулярного роста и гистологической структурой, типичной для фолликулярных опухолей [51]. Например, исследование, проведенное для изучения распространенности мутаций RAS в случаях ФВ ПРЩЖ и не-ФВ ПРЩЖ, продемонстрировало, что ни один из не-ФВ ПРЩЖ не был положительным по RAS-мутации, но около половины ФВ ПРЩЖ были положительными по мутации RAS [54]. Это говорит о том, что частота мутаций RAS при папиллярном раке может быть занижена в исследуемых образцах, которые не включают подтип фолликулярного варианта.

Узловые образования щитовидной железы встречаются часто, и клиническая задача состоит в том, чтобы выявить те случаи, в которые имеется повышенный риск развития злокачественной опухоли [57]. Тонкоигольная аспирационная биопсия является рекомендуемой диагностической процедурой выбора, но может давать неопределенный цитологический результат до 30% случаев [58,59]. Пациентам с неопределенной цитологией в конечном итоге может потребоваться диагностическая операция, чтобы исключить злокачественную опухоль; однако это дает риск осложнений при операциях и вносит вклад в расходы на здравоохранение [60]. В последнее время было сосредоточено на повышении диагностической точности тонкоигольной биопсии посредством использования дополнительного молекулярного тестирования для пациентов с неопределенной цитологической картиной [61].

Молекулярное тестирование должно проводиться как часть комплекса исследований в рамках эффективной стратегии диагностики, потому что наиболее часто описываемые мутации BRAF, RAS, RET / PTC и PAX8-PPAR γ определяются с частотой до 70%-80% от числа случаев тиреоидного рака [45,62]. Три исследования, в которых изучалась полезность одновременного тестирования биопсийных образцов для вышеупомянутых изменений, показали, что наличие любой мутации является важным предиктором рака, с гистологическим подтверждением злокачественности в 89%-97% случаев [63-65]. Тем не менее, в отличие от BRAF и RET/PTC, которые почти всегда соответствуют наличию злокачественного образования, прогностическая ценность обнаруженной мутации RAS менее определена [64-66]. Это связано с тем, что мутации RAS постоянно обнаруживаются при доброкачественных узлах, что приводит к тому, что некоторые даже предполагают, что RAS-позитивные случаи следует классифицировать как «ложноположительные» молекулярные результаты. Однако это контрастирует

с преобладающим представлением о том, что RAS-положительная фолликулярная аденома, вероятно, является предшественником RAS-положительного фолликулярного рака [47,51,52,67].

В опухолях фолликулярного клеточного происхождения мутации RAS по существу ограничены фолликулярными аденомами, ФРЦЖ и ФВ ПРЦЖ, которые трудно дифференцировать как доброкачественные или злокачественные на основании только цитологического исследования. Именно в этой группе результатов определение мутации RAS может быть наиболее клинически полезным. Фактически, в недавней серии из 67 проспективно идентифицированных RAS-положительных узлов щитовидной железы результаты цитологического исследования позволили определить злокачественное новообразование у 3%, доброкачественное - у 3%, а неопределенный результат - в 94% [52]. Точно так же Nikiforov YE. et al. оценили большую серию образцов тонкоигольной аспирационной биопсии с неопределенной цитологией и обнаружили, что RAS была самой распространенной обнаруженной мутацией (72%), за которой следовали BRAF (21%), PAX8-PPAR (6%) и RET / PTC (1%) [63]. Кроме того, в этом исследовании вероятность рака, связанного с положительным мутационным статусом RAS, составила 85%, что согласуется с другими сообщениями в литературе, которые представляют показатели от 74% до 88% [61,63,64].

Хотя выявление мутации RAS в биоптате не является на 100% предиктором рака, оно, безусловно, свидетельствует в пользу более высокой вероятности наличия ФРЦЖ или ФВ ПРЦЖ и, таким образом, имеет значительную диагностическую ценность. Заметно повышенный риск развития рака (85%) при наличии мутации RAS потенциально модифицирует показания к хирургическому лечению в группе пациентов с неопределенной цитологией [63]. Даже если гистологически подтверждено наличие положительного по RAS «сомнительного» узла как доброкачественного, некоторые авторы утверждают, что в данном случае имеется повышенный риск развития злокачественного роста, соответствующий показаниям к радикальному вмешательству.

Мутации RAS при фолликулярной аденоме щитовидной железы, которая является предполагаемой формой предрака, позволяют сформулировать гипотезу о том, что активированный RAS может играть роль в раннем генезе опухоли фолликулярных клеток щитовидной железы и более агрессивном поведении опухоли [68]. Экспрессия мутировавшей формы HRAS индуцировалась и приводила к возникновению дифференцированных колоний [69,70]. Более того, в исследованиях на трансгенных мышцах с физиологической экспрессией KRAS в щитовидной железе трансформация тканей в опухолевые отсутствовала, но одновременная экспрессия мутантной KRAS и наличие делеции PTEN индуцировали быстрое возникновение прогрессирующего тиреоидного рака [71-73].

В значительном числе исследований была также показана патогенетическая роль мутаций промотора гена TERT (telomerase reverse transcriptase), которые, возможно, связаны с плохим прогнозом и исходами рака щитовидной железы в соответствии с его высокой распространенностью при низкодифференцированном и анапластическом раке. Были осуществлены попытки проанализировать их связь с некоторыми специфическими клинико-патологическими особенностями. Исследуемые характеристики включали возраст, пол, размер опухоли, распространение опухоли вне щитовидной железы, метастазы в лимфатические узлы, мультифокальность, отдаленное метастазирование, стадию по TNM, рецидивы и связь с мутацией BRAF [74-82].

При анализе было выявлено, что мутации промотора TERT, как правило, выявляются у пациентов пожилого возраста. В среднем возраст пациентов, имеющих мутации TERT составил $57,41 \pm 8,95$ против $44,40 \pm 10,32$ года у отрицательных по мутации пациентов ($P=0,02$).

Во всех исследованиях анализировали связь между мутацией TERT и полом больного [74-82]. Однако при мета-анализе статистически значимой разницы между ними не было обнаружено [83].

В нескольких исследованиях, оценивавших связь размеров опухоли с мутациями промотора TERT, было выявлено их наличие в опухолях большего размера ($P<0,01$ во всех работах).

Несколько исследований предоставили данные о связи между мутациями промотора TERT и экстра-тироидным распространением процесса [74-79,81,82]. Это свидетельствует о значимости мутаций промотора TERT для прогноза тиреоидного рака.

Мутации промотора TERT могут увеличить риск метастазирования в лимфатические узлы с отношением шансов 1,85; $P = 0,0004$. Однако в анализируемых исследованиях только часть из них [74,75] указывали на положительную связь между мутациями и LNM ($P<0,05$).

В нескольких исследованиях [78-80] утверждается, что многоузловые формы злокачественных опухолей щитовидной железы чаще встречаются у пациентов с наличием мутаций промотора TERT ($P<0,05$). Однако при объединении данных не было выявлено существенной разницы между группами с наличием и отсутствием мутаций по данному признаку.

Отдаленные метастазы всегда являются важным прогностическим показателем. Наиболее распространенными локализациями метастазов при раке щитовидной железы были костный мозг и легкие [84]. Согласно результатам мета-анализа, мутации промотора TERT определяют превышение частоты отдаленных метастазов с показателем = 7,67 ($P= 0,001$) [82,85-87].

Часть исследований [74-80,82] показали значительную связь между мутациями промотора TERT и наличием более поздней стадии рака по TNM. В мета-анализе получили аналогичный вывод о том, что эти

мутации имеют отношение к более отдаленной стадии TNM (отношение шансов составило 8,24 ($P < 0,001$)).

В исследованиях [76,79,80] были получены подробные данные о рецидивах при наличии и отсутствии мутации TERT. При объединении данных обнаружили, что рак щитовидной железы чаще рецидивировал при наличии мутаций промотора TERT. Кроме того, в 5 исследованиях [75,76,79,80,82] наблюдали пациентов с тиреоидным раком в течение многих лет, и все они сообщили, что эти мутации снижают выживаемость пациентов и/или выживаемость без прогрессирования.

В ряде недавних исследований определяли прямую взаимосвязь мутаций BRAF V600E и промотора TERT [75-77,80,82], а в других анализировали комбинированный положительный уровень мутаций BRAF и промотора TERT [75,76,79,81,82]. В некоторых соответствующих исследованиях было определено, что мутация BRAF не имеет отношения к мутациям промотора TERT [75-77,82], однако в метаанализе был получен другой результат. Выявлено, что мутации промотора TERT, вероятно, чаще встречаются при BRAF V600E – положительном тиреоидном раке. В нескольких исследованиях была проанализирована совокупная положительная частота мутаций BRAF и промоторов TERT, и все они определяют, что у пациентов с этими комбинированными мутациями был более вероятен плохой прогноз (отдаленное метастазирование, метастазы в региональные лимфатические узлы и т. д.) и негативные исходы заболевания (рецидив, онкосмертность) [75,76,79,81,88].

Поскольку из всего вышесказанного следует важность мутаций промотора TERT в диагностике и прогнозе тиреоидного рака [89], следующим шагом может быть его применение на предоперационном этапе. Liu R. et Xing M. выявляли мутации промотора TERT вместе с мутацией BRAF V600E путем прямого секвенирования ДНК на 308 FNAB. В этих исследованиях авторы обнаружили 100% специфичность диагностики (9/9) и 7% чувствительности (9/129). Чувствительность была ниже, чем при исследовании операционного материала. Это может произойти из-за разного количества клеток в образцах аспирации и ткани, полученной при удалении железы [90]. При использовании комбинированного анализа с мутацией BRAF V600E чувствительность увеличилась до 38,0% (49/129). Они также подробно описали клиническую картину у 9 пациентов с мутациями промотора TERT и обнаружили, что около 80% узловых образований щитовидной железы у них являлись агрессивными формами рака щитовидной железы, что проявлялось экстратиреоидной инвазией, развитием метастазов в лимфатические узлы, отдаленных метастазов, прогрессирования заболевания или смертью пациента. Nikiforov YE et al. [91] исследовали 143 образца FNA с цитологическим диагнозом фолликулярного или онкоцитарного новообразования / подозрительного на фолликулярное или онкоцитарное новообразование.

Общая чувствительность составила 90%, а специфичность – 93%. Были обнаружены четыре случая положительных по мутации промотора TERT и обнаружено 39 злокачественных узлов. Эти 4 образца представляли собой рак щитовидной железы, подтвержденный интраоперационно, с чувствительностью 10,3% и специфичностью 100%. Высокая чувствительность может быть результатом выбора только случаев с наличием мутации. Позже в 2016 году Lee et al. [92] сообщили об аналогичном исследовании, проведенном на 242 пациентах с тиреоидным раком, и проанализировали связь между мутацией TERT C228T и клинико-патологическими особенностями пациентов с ПТК. Они сообщили о 16,5% чувствительности (39/236) и 97,5% специфичности (39/40). Также имелись указания, что среди всех клинико-патологических признаков была обнаружена мутация TERT C228T, связанная только с рецидивом ($P = 0,03$). Сосуществование мутаций TERT C228T и BRAF V600E было обнаружено в 13,0% случаев папиллярной формы рака и было достоверно связано со старшим возрастом и поздней стадией новообразования. При метаанализе этих 3 исследований обнаружили, что общая чувствительность и специфичность составляли 11,41% и 99,66%, что выше, чем при анализе тканей из удаленных опухолей. В 2018 году Nikiforova MN et al. [93] усовершенствовали панель NGS ThyroSeq v2 в панель NGS ThyroSeq v3. Они использовали 175 образцов FNA с неопределенной цитологией. Последняя панель включала 112 генов (включая 2 основные мутации промотора TERT), целенаправленный анализ NGS на основе ДНК и РНК, который тестирует 5 классов генетических изменений: точечные мутации, вставки / делеции, слияния генов, изменения количества копий и аномальную экспрессию гена. Общая чувствительность составила 98%, специфичность – 81,1%. Такая высокая чувствительность и специфичность показывают отличные перспективы генной панельной пробы в предоперационной диагностике рака щитовидной железы. Поскольку общая частота мутаций промотора TERT сравнительно низка, лучшим способом их применения в предоперационной диагностике должен быть совместный анализ генов.

Другие генетические изменения, рассматриваемые как молчащие мутации, включают модификации PI3K (гена фосфатидилинозитол-3-киназы), β -катенина (CTNNB1), TP53, цитрат-дегидрогеназы 1 (IDH1), киназы анапластической лимфомы (ALK) и рецептора фактора роста эпидермиса (EGFR) [94-100]. Распространенность этих мутаций при ПРЦЖ и АРЦЖ, которые являются наиболее агрессивными видами тиреоидного рака, указывает на тот факт, что они могут играть роль в прогрессировании и агрессивности этого злокачественного новообразования.

Выводы

Таким образом, в то время как разнообразные онкогены участвуют в генезе опухоли щитовидной желе-

зы, мутации BRAF и RAS, а также перестройки RET / PTC чаще всего выступают в качестве «драйверных» изменений. Несмотря на все эти наблюдения, никакие доказательные подтверждающие данные все еще не показывают классическую прогностическую роль для мутаций BRAF и RAS и перестроек RET / PTC

в отношении развития рака. Однако доказано, что перестройки RET / PTC могут вызываться внешним облучением и соответствуют большему риску рецидива у пациентов с радиоиндуцированным папиллярным раком щитовидной железы.

Список литературы / References:

- Curado M-P, Edwards B, Shin HR, et al. Cancer incidence in five continents. Vol 4. Lyon: IARC Press, International Agency for Research on Cancer. 2007.
- Pellegriti G, Frasca F, Regalbuto C, et al. Worldwide increasing incidence of thyroid cancer: update on epidemiology and risk factors. *J Cancer Epidemiol*. 2013; 965212. doi: 10.1155/2013/965212.
- Larijani B, Shirzad M, Mohagheghi M, et al. Epidemiologic analysis of the Tehran cancer institute data system registry (TCIDSR) *Asian Pac J Cancer Prev*. 2004;5(1):36–9.
- Haghpahan V, Solimanpour B, Heshmat R, et al. Endocrine cancer in Iran: based on cancer registry system. *Indian J Cancer*. 2006;43(2):80–5.
- Larijani B, Mohagheghi MA, Bastanagh MH, et al. Primary thyroid malignancies in Tehran, Iran. *Med Princ Pract*. 2005;14(6):396–400.
- Schwerin M, Schonfeld S, Drozdovitch V, Akimzhanov K, Aldyngurov D, Bouville A, Land C, Luckyanov N, Mabuchi K, Semenova Y, Simon S, Tokaeva A, Zhumadilov Z, Potischman N. The utility of focus group interviews to capture dietary consumption data in the distant past: dairy consumption in Kazakhstan villages 50 years ago. *J Dev Orig Health Dis*. 2010 Jun;1(3):192–202.
- Drozdovitch V, Schonfeld S, Akimzhanov K, Aldyngurov D, Land CE, Luckyanov N, Mabuchi K, Potischman N, Schwerin MJ, Semenova Y, Tokaeva A, Zhumadilov Z, Bouville A, Simon SL. Behavior and food consumption pattern of the population exposed in 1949–1962 to fallout from Semipalatinsk nuclear test site in Kazakhstan. *Radiat Environ Biophys*. 2011 Mar;50(1):91–103.
- Nasseri-Moghaddam S, Malekzadeh R, Sotoudeh M, et al. Lower esophagus in dyspeptic Iranian patients: a prospective study. *J Gastroenterol Hepatol*. 2003;18(3):315–21.
- Ciampi R, Romei C, Pieruzzi L, et al. Classical point mutations of RET, BRAF and RAS oncogenes are not shared in papillary and medullary thyroid cancer occurring simultaneously in the same gland. *J Endocrinol Invest*. 2017;40(1):55–62. doi: 10.1007/s40618-016-0526-5.
- Nikiforov YE, Biddinger PW, Thompson LD. Diagnostic pathology and molecular genetics of the thyroid: a comprehensive guide for practicing thyroid pathology. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2012.
- Sanii S, Saffar H, Tabriz HM, et al. Expression of matrix metalloproteinase-2, but not caspase-3, facilitates distinction between benign and malignant thyroid follicular neoplasms. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2012;13(5):2175–8.
- Colonna M, Bossard N, Guizard AV, et al; le réseau FRANCIM. Descriptive epidemiology of thyroid cancer in France: incidence, mortality and survival. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2010;71(2):95–101. doi: 10.1016/j.ando.2009.11.006.
- Rashid S. Hallmarks of Cancer Cell. *Cancer and Chemoprevention: An Overview*. Vol. 13. New York: Springer; 2017:3.
- Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011; 144(5):646–74. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013.
- Amoli MM, Yazdani N, Amiri P, et al. HLA-DR association in papillary thyroid carcinoma. *Dis Markers*. 2010;28(1):49–53. doi: 10.3233/DMA-2010-0683.
- Khatami F, Tavangar SM. Current Diagnostic Status of Pheochromocytoma and Future Perspective: A Mini Review. *Iran J Pathol*. 2017;12(3):313–22.
- Rossing M. Classification of follicular cell-derived thyroid cancer by global RNA profiling. *J Mol Endocrinol*. 2013;50(2):R39–51. doi: 10.1530/JME-12-0170.
- Katoh H, Yamashita K, Enomoto T, Watanabe M. Classification and general considerations of thyroid cancer. *Ann Clin Pathol*. 2015;3(1):1045–54.
- Nikiforov YE. Molecular analysis of thyroid tumors. *Mod Pathol*. 2011;24(S2):S34–43. doi: 10.1038/modpathol.2010.167.
- Pon JR, Marra MA. Driver and passenger mutations in cancer. *Annu Rev Pathol*. 2015;10:25–50. doi: 10.1146/annurev-pathol-012414-040312.
- Bozic I, Antal T, Ohtsuki H, et al. Accumulation of driver and passenger mutations during tumor progression. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(43):18545–50. doi: 10.1073/pnas.1010978107.
- Matsumoto T, Shimizu T, Takai A, Marusawa H. Exploring the mechanisms of gastrointestinal cancer development using deep sequencing analysis. *Cancers*. 2015;7(2):1037–51. doi: 10.3390/cancers7020823.
- Landa I, Ibrahimasic T, Boucai L et al. Genomic and transcriptomic hallmarks of poorly differentiated and anaplastic thyroid cancers. *J Clin Invest*. 2016 Mar 1;126(3):1052–66. doi: 10.1172/JCI85271.
- Kandil E, Tsumagari K, Ma J et al. Synergistic inhibition of thyroid cancer by suppressing MAPK/PI3K/AKT pathways. *J Surg Res*. 2013;184(2):898–906. doi: 10.1016/j.jss.2013.03.052.
- Guerra A, Fugazzola L, Marotta V, et al. A high percentage of BRAFV600E alleles in papillary thyroid carcinoma predicts a poorer outcome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97:2333–40.
- De Biase D, Cesari V, Visani M, et al. High sensitivity BRAF mutation analysis: BRAF V600E is acquired early during tumor development but is heterogeneously distributed in a subset of papillary thyroid carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014. doi:29:jc20134389.
- Wilmott JS, Tembe V, Howle JR, et al. Intratumoral molecular heterogeneity in a BRAF-mutant, BRAF inhibitor-resistant melanoma: a case illustrating the challenges for personalized medicine. *Mol Cancer Ther*. 2012;11:2704–08.
- Yancovitz M, Litterman A, Yoon J, et al. Intra- and inter-tumor heterogeneity of BRAF(V600E) mutations in primary and metastatic melanoma. *PLoS One* 2012;7:e29336.
- Nikiforova MN, Wald AI, Roy S, et al. Targeted next-generation sequencing panel (ThyroSeq) for detection of mutations in thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98:E1852–60.
- Guerra A, Sapio MR, Marotta V, et al. The primary occurrence of BRAF(V600E) is a rare clonal event in papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97:517–24.
- Sun Y, Liu W-Z, Liu T, et al. Signaling pathway of MAPK/ERK in cell proliferation, differentiation, migration, senescence and apoptosis. *J Recept Signal Transduct Res*. 2015;35(6):600–4. doi: 10.3109/10799893.2015.1030412.
- Milosevic Z, Pesic M, Stankovic T et al. Targeting RAS-MAPK-ERK and PI3K-AKT-mTOR signal transduction pathways to chemosensitize anaplastic thyroid carcinoma. *Transl Res*. 2014 Nov;164(5):411–23. doi: 10.1016/j.trsl.2014.06.005.
- Mondragón-Terán P, López-Hernández LB, Gutiérrez-Salinas J et al. Intracellular signaling mechanisms in thyroid cancer. *Cir Cir*. 2016 Sep-Oct;84(5):434–43. doi: 10.1016/j.circir.2016.05.017.
- Li DD, Zhang YF, Xu HX, Zhang XP. The role of BRAF in the pathogenesis of thyroid carcinoma. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2015;20:1068–78.
- Fuziwarra CS, Saito KC, Kimura ET. Interplay of TGFβ signaling and microRNA in thyroid cell loss of differentiation and cancer progression. *Arch Endocrinol Metab*. 2019 Sep 2;63(5):536–544.
- Song YS, Yoo SK, Kim HH. et al. Interaction of BRAF-induced ETS

- factors with mutant TERT promoter in papillary thyroid cancer. *Endocr Relat Cancer*. 2019 Jun;26(6):629-641. doi: 10.1530/ERC-17-0562.
37. Khatami F, Larijani B, Tavangar SM. Circulating Tumor BRAF Mutation and Personalized Thyroid Cancer Treatment. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2017;18(2):293-4.
 38. Yarchoan M, LiVolsi VA, Brose MS. BRAF Mutation and Thyroid Cancer Recurrence. *J Clin Oncol*. 2015;33(1):7-8. doi: 10.1200/JCO.2014.59.3657.
 39. Xing M, Alzahrani AS, Carson KA et al. Association between BRAF V600E mutation and mortality in patients with papillary thyroid cancer. *JAMA*. 2013 Apr 10;309(14):1493-501. doi: 10.1001/jama.2013.3190.
 40. Nagayama Y, Mishima H. Heterogenous nature of gene expression patterns in BRAF-like papillary thyroid carcinomas with BRAF(V600E). *Endocrine*. 2019 Dec;66(3):607-613. doi: 10.1007/s12020-019-02063-z.
 41. Howell GM, Hodak SP, Yip L. RAS mutations in thyroid cancer. *Oncologist*. 2013;18(8):926-32. doi: 10.1634/theoncologist.2013-0072.
 42. Mohammadi-asl J, Larijani B, Khorgami Z, et al. Qualitative and quantitative promoter hypermethylation patterns of the P16, TSHR, RASSF1A and RARβ2 genes in papillary thyroid carcinoma. *Med Oncol*. 2011;28(4):1123-8. doi: 10.1007/s12032-010-9587-z.
 43. Xing M. Molecular pathogenesis and mechanisms of thyroid cancer. *Nat Rev Cancer*. 2013;13(3):184-99. doi: 10.1038/nrc3431.
 44. Xing M. Clinical utility of RAS mutations in thyroid cancer: a blurred picture now emerging clearer. *BMC Med*. 2016;14(1):12. doi: 10.1186/s12916-016-0559-9.
 45. Nikiforov YE, Nikiforova MN. Molecular genetics and diagnosis of thyroid cancer. *Nat Rev Endocrinol*. 2011;7:569-580. doi: 10.1038/nrendo.2011.142.
 46. Xing M. Genetic-guided Risk Assessment and Management of Thyroid Cancer. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2019 Mar;48(1):109-124. doi: 10.1016/j.ecl.2018.11.007.
 47. Gullo I, Batista R, Rodrigues-Pereira P et al. Multinodular Goiter Progression Toward Malignancy in a Case of DICER1 Syndrome: Histologic and Molecular Alterations. *Am J Clin Pathol*. 2018; 149(5):379-386. doi: 10.1093/ajcp/aqy004.
 48. Guerra A, Carrano M, Angrisani E et al. Detection of RAS mutation by pyrosequencing in thyroid cytology samples. *Int J Surg*. 2014;12 Suppl 1:91-4. doi: 10.1016/j.ijvs.2014.05.045.
 49. Jang EK, Kim WG, Kim EY et al. Usefulness of NRAS codon 61 mutation analysis and core needle biopsy for the diagnosis of thyroid nodules previously diagnosed as atypia of undetermined significance. *Endocrine*. 2016 May;52(2):305-12. doi: 10.1007/s12020-015-0773-9.
 50. Radkay LA, Chiosea SI, Seethala RR et al. Thyroid nodules with KRAS mutations are different from nodules with NRAS and HRAS mutations with regard to cytopathologic and histopathologic outcome characteristics. *Cancer Cytopathol*. 2014 Dec;122(12):873-82. doi: 10.1002/cncy.21474.
 51. Puzziello A, Guerra A, Murino A et al. Benign thyroid nodules with RAS mutation grow faster. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2016; 84(5):736-40. doi: 10.1111/cen.12875.
 52. Gupta N, Dasyam A, Carty SE, et al. RAS mutations in thyroid FNA specimens are highly predictive of predominantly low risk follicular-pattern cancers. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98:E914-E922. doi: 10.1210/jc.2012-3396.
 53. Chmielik E, Rusinek D, Oczko-Wojciechowska M et al. Heterogeneity of Thyroid Cancer. *Pathobiology*. 2018; 85(1-2):117-129. doi: 10.1159/000486422.
 54. An JH, Song KH, Kim SK et al. RAS mutations in indeterminate thyroid nodules are predictive of the follicular variant of papillary thyroid carcinoma. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2015; 82(5):760-6. doi: 10.1111/cen.12579.
 55. Park JY, Kim WY, Hwang TS et al. BRAF and RAS mutations in follicular variants of papillary thyroid carcinoma. *Endocr Pathol*. 2013; 24(2):69-76. doi: 10.1007/s12022-013-9244-0.
 56. Fukahori M, Yoshida A, Hayashi H, et al. The associations between RAS mutations and clinical characteristics in follicular thyroid tumors: New insights from a single center and a large patient cohort. *Thyroid*. 2012;22:683-689. doi: 10.1089/thy.2011.0261.
 57. American Thyroid Association (ATA) Guidelines Taskforce on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer. Cooper DS, Doherty GM, et al. Revised American Thyroid Association management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid*. 2009;19:1167-1214.
 58. Hegedus L. Clinical practice. The thyroid nodule. *N Engl J Med*. 2004;351:1764-1771.
 59. Baloch ZW, LiVoisi VA. Fine-needle aspiration of thyroid nodules: Past, present, and future. *Endocr Pract*. 2004;10:234-241.
 60. Baloch ZW, Cibas ES, Clark DP, et al. The National Cancer Institute Thyroid fine needle aspiration state of the science conference: A summation. *Cytojournal*. 2008;5:6. doi: 10.1186/1742-6413-5-6.
 61. Moses W, Weng J, Sansano I, et al. Molecular testing for somatic mutations improves the accuracy of thyroid fine-needle aspiration biopsy. *World J Surg*. 2010;34:2589-2594. doi: 10.1007/s00268-010-0720-0.
 62. Song YS, Park YJ. Genomic Characterization of Differentiated Thyroid Carcinoma. *Endocrinol Metab (Seoul)*. 2019 Mar;34(1):1-10. doi: 10.3803/EnM.2019.34.1.1.
 63. Nikiforov YE, Ohori NP, Hodak SP, 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; 96:3390-3397. doi: 10.1210/jc.2011-1469.
 64. Yoo SK, Lee S, Kim SJ, et al. Comprehensive Analysis of the Transcriptional and Mutational Landscape of Follicular and Papillary Thyroid Cancers. *PLoS Genet*. 2016; 12(8):e1006239. doi: 10.1371/journal.pgen.1006239.
 65. Cantara S, Capezzone M, Marchisotta S, et al. Impact of proto-oncogene mutation detection in cytological specimens from thyroid nodules improves diagnostic accuracy of cytology. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95:1365-1369. doi: 10.1210/jc.2009-2103.
 66. Ohori NP, Nikiforova MN, Schoedel KE, 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;118:17-23. doi: 10.1002/cncy.20063.
 67. Angell TE. RAS-positive thyroid nodules. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2017; 24(5):372-376. doi: 10.1097/MED.0000000000000354.
 68. Puzziello A, Guerra A, Murino A. et al. Benign thyroid nodules with RAS mutation grow faster. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2016;84(5):736-40. doi: 10.1111/cen.12875.
 69. Chai L, Li J, Lv Z. An integrated analysis of cancer genes in thyroid cancer. *Oncol Rep*. 2016 Feb;35(2):962-70. doi: 10.3892/or.2015.4466.
 70. Schulten HJ, Al-Maghrabi J, Al-Ghamdi K, et al. Mutational screening of RET, HRAS, KRAS, NRAS, BRAF, AKT1, and CTNNB1 in medullary thyroid carcinoma. *Anticancer Res*. 2011; 31(12):4179-83.
 71. Zou M, Baitei EY, Al-Rijjal RA et al. KRAS(G12D)-mediated oncogenic transformation of thyroid follicular cells requires long-term TSH stimulation and is regulated by SPRY1. *Lab Invest*. 2015 Nov;95(11):1269-77. doi: 10.1038/labinvest.2015.90.
 72. Schweppe RE, Haugen BR. Thyroid targeted Kras(G12D)/Pten(-/-) mice and their cell lines: new tools to study thyroid cancer biology. *Thyroid*. 2011 Sep;21(9):941-4. doi: 10.1089/thy.2011.2109.ed.
 73. Razavi SA, Modarressi MH, Yaghmaei P et al. Circulating levels of PTEN and KLLN in papillary thyroid carcinoma: can they be considered as novel diagnostic biomarkers? *Endocrine*. 2017;57(3):428-35. doi: 10.1007/s12020-017-1368-4.
 74. Bae JS, Kim Y, Jeon S et al. Clinical utility of TERT promoter mutations and ALK rearrangement in thyroid cancer patients with a high prevalence of the BRAF V600E mutation. *Diagn Pathol*. 2016;11:21.
 75. Kim TH, Kim YE, Ahn S, et al. TERT promoter mutations and long-term survival in patients with thyroid cancer. *Endocr Relat Cancer*. 2016;23:813-23.
 76. Song YS, Lim JA, Choi H, et al. Prognostic effects of TERT promoter

- mutations are enhanced by coexistence with BRAF or RAS mutations and strengthen the risk prediction by the ATA or TNM staging system in differentiated thyroid cancer patients. *Cancer*. 2016;122:1370–9.
77. Jin L, Chen E, Dong S, et al. BRAF and TERT promoter mutations in the aggressiveness of papillary thyroid carcinoma: a study of 653 patients. *Oncotarget*. 2016;7:18346–55.
78. Myung JK, Kwak BK, Lim JA, et al. TERT promoter mutations and tumor persistence/recurrence in papillary thyroid cancer. *Cancer Res Treat*. 2016;48:942–7.
79. Nasirden A, Saito T, Fukumura Y, et al. In Japanese patients with papillary thyroid carcinoma, TERT promoter mutation is associated with poor prognosis, in contrast to BRAF V600E mutation. *Virchows Archiv*. 2016;469:687–96.
80. Sun J, Zhang J, Lu J, et al. BRAF V600E and TERT promoter mutations in papillary thyroid carcinoma in Chinese patients. *PLoS One*. 2016;11:e0153319.
81. Gandolfi G, Ragazzi M, Frasoldati A, et al. TERT promoter mutations are associated with distant metastases in papillary thyroid carcinoma. *Eur J Endocrinol*. 2015;172:403–13.
82. Bullock M, Ren Y, O'Neill C, et al. TERT promoter mutations are a major indicator of recurrence and death due to papillary thyroid carcinomas. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2016;85:283–90.
83. 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.
84. Schmid KW. Lymph node and distant metastases of thyroid gland cancer. *Metastases in the thyroid glands*. *Der Pathologe* 2015; 36 suppl 2:171–5.
85. Gunes C, Rudolph KL. The role of telomeres in stem cells and cancer. *Cell*. 2013;152:390–3.
86. Tiedje V, Ting S, Herold T, et al. NGS based identification of mutational hotspots for targeted therapy in anaplastic thyroid carcinoma. *Oncotarget*. 2017;8:42613–20.
87. Shen X, Liu R, Xing M. A six-genotype genetic prognostic model for papillary thyroid cancer. *Endocr Relat Cancer*. 2017;24:41–52.
88. Xing M, Liu R, Liu X, et al. BRAF V600E and TERT promoter mutations cooperatively identify the most aggressive papillary thyroid cancer with highest recurrence. *J Clin Oncol*. 2014;32:2718–26.
89. Liu X, Bishop J, Shan Y, et al. Highly prevalent TERT promoter mutations in aggressive thyroid cancers. *Endocr Relat Cancer*. 2013;20:603–10.
90. Liu R., Xing M. Diagnostic and prognostic TERT promoter mutations in thyroid fine-needle aspiration biopsy. *Endocr Relat Cancer*. 2014;21:825–30.
91. Nikiforov YE, Carty SE, Chiosea SI, et al. Highly accurate diagnosis of cancer in thyroid nodules with follicular neoplasm/suspicious for a follicular neoplasm cytology by ThyroSeq v2 next-generation sequencing assay. *Cancer*. 2014;120:3627–34.
92. Lee SE, Hwang TS, Choi YL, et al. Prognostic significance of TERT promoter mutations in papillary thyroid carcinomas in a BRAF(V600E) mutation-prevalent population. *Thyroid*. 2016;26:901–10.
93. Nikiforova MN, Mercurio S, Wald AI, et al. Analytical performance of the ThyroSeq v3 genomic classifier for cancer diagnosis in thyroid nodules. *Cancer*. 2018;124:1682–90.
94. Perrone F, Bertolotti A, Montemurro G, et al. Frequent mutation and nuclear localization of β -catenin in Sertoli cell tumors of the testis. *Am J Surg Pathol*. 2014;38(1):66–71. doi: 10.1097/PAS.0b013e31829cdbc6.
95. Murugan AK, Bojdani E, Xing M. Identification and functional characterization of isocitrate dehydrogenase 1 (IDH1) mutations in thyroid cancer. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010;393(3):555–9. doi: 10.1016/j.bbrc.2010.02.095.
96. Hemerly JP, Bastos AU, Cerutti JM. Identification of several novel non-p R132 IDH1 variants in thyroid carcinomas. *Eur J Endocrinol*. 2010;163(5):747–55. doi: 10.1530/EJE-10-0473.
97. Jing C, Qu X, Li Z et al. EGFRwt/vIII-PKM2- β -catenin cascade affects proliferation and chemo-sensitivity in head and neck squamous cell carcinoma. *Am J Cancer Res*. 2017; 7(12):2491-2502.
98. Mahmoudian-Sani MR, Alghasi A, Saeedi-Boroujeni A et al. Survivin as a diagnostic and therapeutic marker for thyroid cancer. *Pathol Res Pract*. 2019 Apr;215(4):619-625. doi: 10.1016/j.prp.2019.01.025.
99. Shahebrahimi K, Madani SH, Fazaeli AR et al. Diagnostic value of CD56 and nm23 markers in papillary thyroid carcinoma. *Indian J Pathol Microbiol*. 2013 Jan-Mar;56(1):2–5. doi: 10.4103/0377-4929.116139.
100. Panebianco F, Nikitski AV, Nikiforova MN et al. Characterization of thyroid cancer driven by known and novel ALK fusions. *Endocr Relat Cancer*. 2019 Nov;26(11):803–814. doi: 10.1530/ERC-19-0325.