



УДК 616.441-006-091.8-076.5:57.086

**POSSIBILITIES OF LIQUID BIOPSY IN THE DIAGNOSIS OF THYROID
CANCER****ВОЗМОЖНОСТИ ЖИДКОСТНОЙ БИОПСИИ В ДИАГНОСТИКЕ РАКА
ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ****Стариков В.И. / Starikov V.I.***d.m.s., prof. / д.м.н., проф.*

ORCID: 0000-0001-9577-8760

Шевченко Р.С. / Shevchenko R.S.*d.m.s., prof. / д.м.н., профессор*

ORCID: 0000-0002-6535-0939

*Kharkov National Medical University, Kharkov, 4 Nauky Avenue, 61000**Харьковский национальный медицинский университет,**Харьков, проспект Науки 4, 61000***Полион Н.Ю. / Polion M.Y.***s.m.s., as.prof. / к.м.н., доц.*

ORCID: 0000-0001-9307-1411

*Dnipro State Medical University, Dnepr, 9 Volodymyr Vernadsky Str., 49044**Днепровский государственный медицинский университет,**Днепр, ул. Владимира Вернадского 34, 49044*

Аннотация. Рак щитовидной железы – самое распространенное злокачественное новообразование эндокринной системы, охватывающее различные образования с различными гистологическими особенностями и клиникой. Диагностика, терапевтический подход и наблюдение за раком щитовидной железы демонстрируют некоторые противоречивые аспекты. Жидкостная биопсия – это неинвазивный подход, при котором используются различные технологии, при которых, опухолевые клетки, свободные нуклеиновые кислоты и внеклеточные везикулы могут быть извлечены в пунктате больных раком и может быть получена ценная молекулярная информация. В последнее время накапливается все больше данных об использовании жидкой биопсии при раке щитовидной железы, поскольку ее можно использовать для диагностики, оценки его прогноза и мониторинга рецидива опухоли или реакции на лечение. Мы обобщаем имеющиеся в настоящее время данные о жидкостной биопсии при дифференцированном, слабо дифференцированном / анапластическом и медулярном раке щитовидной железы.

Цель исследования – изучить данные о применении жидкостной биопсии при различных гистотипах РЩЖ.

Выводы. Жидкостная биопсия предлагает много преимуществ по сравнению с традиционной биопсией, таких как меньшая инвазивность, небольшое количество побочных эффектов, повторяемость и репрезентативность неоднородности опухоли. Более того, применение жидкой биопсии постоянно расширяется с развитием новых методов. Кроме того, традиционная биопсия часто вызывает проблемы со стандартизацией, воспроизводимостью и достоверностью. Хотя маловероятно, что жидкая биопсия полностью заменит традиционную, вскоре эти два метода могут дополнять друг друга.

Ключевые слова: дифференцированный рак щитовидной железы, анапластический рак щитовидной железы, медулярный рак щитовидной железы, жидкостная биопсия, диагностика, прогноз, терапия.

Вступление.

Рак щитовидной железы (РЩЖ) является наиболее частым эндокринным злокачественным новообразованием, составляющим около 2% от общего числа



раковых заболеваний [1,2]. Во всем мире его заболеваемость увеличилась в три раза за последние 30 лет из-за скрининга и изменений окружающей среды и образа жизни [3]. Подавляющее большинство опухолей имеют эпителиальное происхождение и включают дифференцированные (DTC), малодифференцированные (PDTC) и анапластические (ATC) опухоли [1,4]. Дифференцированные опухоли, которые обычно демонстрируют вялотекущее клиническое поведение и благоприятный прогноз, могут быть дополнительно классифицированы как папиллярные (PTC) (85–90%), фолликулярные (FTC) (5–10%) и клетки Гюртле (НСТС) (3) карциномы [5,6]. Слабо дифференцированные и анапластические опухоли встречаются реже, но они характеризуются агрессивным течением и плохим прогнозом [7]. Наконец, небольшая часть опухолей происходит из нейроэндокринных С-клеток и представляет гистотипы мозгового вещества (MTCs протоонкогена B-Raf); до четверти (25%) этих опухолей сходны [8].

Биологические особенности РЩЖ были подробно изучены. Среди папиллярного рака щитовидной железы (ПРЩЖ) мутации связаны с генами семейства BRAF и RAS или RET [9,10,11,12]. В 98% наследственных и до 45% спорадических медуллярных раков щитовидной железы присутствуют однонуклеотидные замены RET [13]. Недавно выяснилось, что микро-РНК также играют роль в этиологии РЩЖ [14], и различные ее сигнатуры коррелируют со злокачественным потенциалом узлов щитовидной железы и их агрессивностью [15,16].

Несмотря на эти исследования клиническое лечение РЩЖ все еще остается противоречивым. Хотя тонкоигольная аспирационная биопсия является в настоящее время золотым стандартом первичной диагностики РЩЖ, она имеет некоторые ограничения из-за высокой частоты недиагностических результатов, особенно в случае фолликулярных поражений [17]. При послеоперационном наблюдении за РЩЖ мониторинг уровня тиреоглобулина (ТГ) является рутинной практикой. Однако присутствие анти-Тг-антител (ТgAb) может мешать измерению ТГ, что затрудняет его потенциальное использование в качестве опухолевого маркера [18]. Кроме того, если большинство РЩЖ можно вылечить хирургическим путем с последующей гормонозаместительной терапией и радиоактивным йодом [6], то лечение прогрессирующих, плохо дифференцированных и анапластических ТК происходит сложнее [19,20,21].

Преимущества жидкостной биопсии при раке щитовидной железы изучаются. Жидкостная биопсия может стать ценным ресурсом для оказания помощи в лечении РЩЖ, поскольку ее можно использовать для определения правильного диагноза, прогнозирования прогноза опухоли, мониторинга эволюции заболевания и создания новых фармакологических подходов [25]. С помощью жидкостной биопсии можно обнаружить и проанализировать циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК), свободноциркулирующие нуклеиновые кислоты (cf-DNA, cf-RNA и mi-RNA) и опухолевые внеклеточные везикулы (EVs), выделяемые в кровотоки [26].

В данной статье мы представляем обзор применения жидкой биопсии при



различных гистотипах РЩЖ, уделяя особое внимание ее использованию в диагностике и прогностическом определении, лечении этих заболеваний.

Жидкостная биопсия в диагностике дифференцированного рака щитовидной железы.

В предоперационном периоде экспрессия генов, связанных с CTCs, может помочь отличить доброкачественные и злокачественные узлы щитовидной железы с фолликулярным признаком.

Оценка мутационного профиля и уровня метилирования ДНК может быть полезной для диагностического определения РЩЖ [60,61]. Действительно, количество и целостность ДНК у пациентов с цитологическим диагнозом ПРЩЗ выше, чем у здоровых пациентов [36,37]. И наоборот, количество митохондриальной ДНК ниже в той же подгруппе пациентов [37]. Результаты о целесообразности и значимости обнаружения BRAF-V600E у пациентов с РЩЖ остаются противоречивыми [62,63,64,65,66,67]. Хотя эта мутация может быть обнаружена у пациентов как с ФРЩЗ, так и с ПРЩЗ, но чаще встречается во втором гистотипе [38]. В ретроспективном исследовании измерение уровня метилирования кальцитонина, E-кадгерина, тканевого ингибитора металлопротеиназы 3 играют ключевую роль в определении подтипов РЩЗ [14, 15, 16].

Оценка количества, целостности, мутационного профиля и уровня метилирования cf-ДНК может быть полезной для диагностического определения РЩЖ [60,61]. Действительно, количество и целостность кф-ДНК у пациентов с цитологическим диагнозом ПРЩЗ выше, чем у непораженных людей [36,37]. И наоборот, количество митохондриальной cf-ДНК (mcf-ДНК) ниже в той же подгруппе пациентов [37]. Результаты о целесообразности и значимости обнаружения BRAF-V600E в cf-ДНК пациентов с РЩЖ остаются противоречивыми [62,63,64,65,66,67]. Хотя эта мутация может быть обнаружена в кф-ДНК пациентов как с ФТК, так и с ПТК, она чаще встречается во втором гистотипе [38]. В ретроспективном исследовании измерение уровня метилирования пяти генов на кф-ДНК (кальцитонин, E-кадгерин, тканевой ингибитор металлопротеиназы 3, киназа ассоциированного со смертью протеина и рецептор ретиноевой кислоты-β2) показало 77% точность в дифференциальной диагностике между ПРЩЗ и доброкачественными узлами [39].

Жидкостная биопсия для прогноза дифференцированного рака щитовидной железы.

Жидкостная биопсия также может использоваться для прогнозирования клинического течения ДРЩЖ путем оценки ЦКО, микроРНК. Используя отрицательную обогащающую иммунофлуоресцентную гибридизацию *in situ* (NE-iFISH), Qiu et al. показали потенциальное прогностическое значение количества ЦКО у пациентов с ДРЩЖ. В их исследовании идентификация пяти или более ЦКО коррелировала с наличием метастазов, в то время как выделение семи или более ЦКО предсказывало плохой ответ на радиойодтерапию [51]. В другом исследовании количество ЦКО было значительно выше у субъектов с ранее выявленным ДРЩЖ по сравнению со



здоровыми пациентами, а количество выделенных клеток было пропорционально стадии опухоли на момент постановки диагноза. Кроме того, пациенты без признаков рецидива заболевания, получавшие радиойодтерапию > 8 лет назад, имели больше ЦКО по сравнению с пациентами с более коротким интервалом без лечения [52]. В когорте из 57 пациентов с ПРЦЖ 24 содержали BRAF-V600E в ct-ДНК. Наличие этой мутации было связано с агрессивностью заболевания, поскольку она коррелировала с размером опухоли, мультифокальным ростом, экстра tiroидным распространением и микрометастазами [53]. Точно так же повышение уровня микроРНК-222 и микроРНК-146 в плазме является предиктором плохого прогноза у пациентов с ДРЦЖ [54].

Жидкостная биопсия для лечения дифференцированного рака щитовидной железы.

Жидкостная биопсия также может использоваться для мониторинга ответа на лечение у пациентов с дифференцированным РЦЖ. Подсчет ct-ДНК и cf-РНК могут потенциально превзойти измерение сывороточного ТГ или радиологическую визуализацию в качестве методов оценки лечения.

В исследовании раннее снижение количества ЦИК после радиойодтерапии коррелирует с реакцией заболевания у пациентов с ДРЦЖ [55]. Zheng и его коллеги исследовали экспрессию натрий / йодидного симпортера в ЦКО от пациентов с ДРЦЖ и обнаружили корреляцию между уменьшенным или неизменным количеством общих NIS + ЦКО и эффективностью радиойодтерапии [56].

Согласно исследованию Allin et al., изменения в уровнях ct-ДНК могут предвосхищать прогрессирование опухоли по сравнению с ТГ у пациентов, получающих таргетную терапию по поводу ДРЦЖ [57]. Используя коамплификацию при более низкой температуре денатурации-ПЦР (COLD-PCR) в сочетании с цифровой капельной полимеразной цепной реакцией (ddPCR), Jensen et al. идентифицировали мутацию cf-ДНК BRAF-V600E у 57 пациентов с ПРЦЖ. Согласно их результатам, пациенты с мутацией BRAF-V600E демонстрируют почти в пять раз более высокие шансы достижения неполного ответа на RAI [53]. Измерение мутантной ct-ДНК BRAF-V600E также может указывать на наличие минимальной остаточной болезни. В когорте пациентов с ПРЦЖ с мутацией BRAF-V600E уровни мутантной ct-ДНК BRAF-V600E были выше в случае персистенции заболевания (0–2,07%) по сравнению с отсутствием признаков заболевания (0–0,04%). Точно так же количество копий ct-ДНК было выше у пациентов с метастазами (20 копий / мл), чем у пациентов без остаточной болезни после тиреоидэктомии (1 копия / мл) [58].

Кроме того, уровни cf-РНК BRAF-V600E снижаются после хирургического вмешательства и во время системного лечения с помощью радиойодтерапии у пациентов с ранним, рецидивирующим или распространенным ПРЦЖ [59].

Жидкая биопсия при плохо дифференцированном и анапластическом раке щитовидной железы.

Плохо дифференцированные и анапластические опухоли щитовидной



железы представляют собой редкие и агрессивные образования, и мало что известно о роли жидкостной биопсии в их лечении.

В некоторых реальных опытах cf-ДНК использовалась у пациентов с АРЦЗ для идентификации действенных мутаций (например, BRAF-V600E) [68,69] и для прогнозирования реакции или прогрессирования заболевания [70].

Qin et al. исследовали соответствие связанных с АРЦЖ мутаций в cf-ДНК с мутациями, обнаруженными в опухолевой ткани, пытаясь определить прогностическое значение мутаций cf-ДНК. Как и ожидалось, наиболее часто мутировали гены TP53, BRAF и PIK3CA. У 28 пациентов с АРЦЖ, не получавших лечения, частота совпадения обнаруженных мутаций в TP53, BRAF и PIK3CA между cf-ДНК и подобранной тканью составила 82,1%, 92,9% и 92,9% соответственно. Более того, пациенты с мутацией PIK3CA, обнаруженной на cf-ДНК, имели худшую общую выживаемость (ОС) [71]. Та же группа оценила использование ddPCR для идентификации мутации BRAF-V600E на cf-ДНК у 44 пациентов с АРЦЖ, обнаружив 93%-ную степень соответствия с секвенированием ДНК на опухолевой ткани. Кроме того, у 16 пациентов было доступно динамическое измерение уровней BRAF-V600E с помощью ddPCR во время лечения. Независимо от того, коррелировало ли снижение уровней циркулирующих биомаркеров с уменьшением опухоли, их увеличение было слабо связано с прогрессированием заболевания [72]. Однако другие исследования показали, что увеличение количества мутаций в циркулирующих NRAS и TP53 в ПРЦЖ и АРЦЖ на несколько месяцев опережает радиологическое прогрессирование [57].

Жидкостная цитология в медулярном раке щитовидной железы.

Накапливаются результаты исследований об использовании жидкой биопсии у пациентов с медулярным РЦЖ для обнаружения и анализа ЦОК, cf-ДНК и микроРНК.

Цркулирующие опухолевые клетки показали прогностическую роль в этой подгруппе пациентов. В недавнем сообщении, положительные по кальцитонину (Ctn +) ЦКО были идентифицированы в сыворотке крови 15 пациентов с хирургическим удалением ЦКО в течение 12 лет после первоначального диагноза. Следует отметить, что высокие уровни ЦКО были обнаружены в сыворотке трех пациентов с МРЦЖ. По мнению авторов, у этой группы пациентов может быть худший прогноз; необходима дальнейшая проверка этих результатов на более крупных когортах [76]. Более старые сообщения предполагают, что экспрессия цитокератина 20 (СК20) и гастрин-высвобождающего пептида (GRP) также может быть использована для идентификации ЦОК, происходящих из МРЦЖ, с хорошей чувствительностью и специфичностью [82]. Согласно другим данным, обнаружение и подсчет ЦОК с помощью одобренной технологии CellSerch на основе EpSAM может прогнозировать осложнения и риск смертности у пациентов с поздней стадией МРЦЖ [77,78]. Идентификация пяти или более ЦОК у пациентов с метастатическим поражением, по-видимому, предсказывает более короткую выживаемость [79].

Роль cf-ДНК как маркера диагностики опухолей, прогноза и ответа на



лечение сообщается при медуллярном РЩЖ. Например, уровни кальцитонина в сыворотке и наличие мутации RET обратнo коррелировали с количеством cf-ДНК у 58 пациентов с МТС. Следовательно, cf-ДНК может служить диагностическим маркером МРЩЖ, когда обычные параметры, такие как кальцитонин были отрицательны [42]. Точно так же обнаружение RET-M918T в cf-ДНК, по-видимому, предсказывает результаты МРЩЖ более точно, чем кальцитонин, что сильно коррелирует с худшим прогнозом [80]. В исследовании Allin и др. Мутации RET и BRAF были идентифицированы в когорте из 15 МТС, при этом частота обнаружения cf-ДНК составила 79%, что выше, чем у пациентов с ПРЩЖ и ФРЩЖ. Мутации чаще выявлялись у пациентов с МРЩЖ и метастазами, высокой опухолевой нагрузкой и прогрессирующим заболеванием, что предсказывало неблагоприятный прогноз [57]. Совсем недавно мутации RET были идентифицированы в cf-ДНК пациентов с МТС, у которых развивалось прогрессирование заболевания после первоначального ответа на терапию. В этом исследовании мутация RET-V804M, обнаруженная у двух пациентов до начала лечения, уменьшилась во время терапии и снова появилась вместе с мутациями RET-G810 в начале прогрессирования заболевания. Поскольку обнаружение этих мутаций связано с устойчивостью к терапии, мониторинг ЦТ-ДНК может облегчить раннее выявление пациентов, которым необходимы альтернативные методы лечения [81].

Циркулирующие микроРНК могут быть легко получены от пациентов с МРЩЖ, и их уровни коррелируют с клинико-патологическими особенностями и прогнозом заболевания [83]. Zhang et al. проанализировали экспрессию сывороточной ми-РНК у 15 пациентов с агрессивным МРЩЖ. Циркулирующие ми-РНК-222-3p и ми-РНК-17-5p были значительно активированы у пациентов с МРЩЖ и различались между субъектами с МРЩЖ и пациентами с доброкачественными или здоровыми узелками [73]. Romeo et al. идентифицировали 51 ми-РНК, дифференциально экспрессирующуюся в когорте пациентов с местнораспространенным и метастатическим МРК. Среди них уровни ми-РНК-375 были значительно выше у пациентов с активным заболеванием, чем у здоровых или вылеченных. Следует отметить, что повышенные уровни ми-РНК-375 коррелировали с отдаленными метастазами, но не с ответом болезни на вандетаниб [74]. В другом исследовании оценивали уровни ми-РНК-144 и ми-РНК-34a в плазме у 25 RET-мутантных и 25 RET-диких пациентов с МТС и сравнивали их со здоровыми людьми из контрольной группы. Согласно их результатам, уровни ми-РНК-144 и ми-РНК-34a в крови были выше у онкологических больных, особенно у мутантов RET, чем в контрольной группе. Однако эти данные не были достоверно связаны с прогнозом МРЩЖ [75].

Заключения и выводы.

Поскольку заболеваемость раком щитовидной железы со временем увеличивается, необходимы более эффективные инструменты для лечения этих опухолей. В этом контексте жидкостная биопсия является многообещающей альтернативой во время диагностического обследования, определения



прогноза, выбора лечения и последующего наблюдения за пациентами с раком щитовидной железы. Жидкостная биопсия предлагает много преимуществ по сравнению с традиционной биопсией, таких как меньшая инвазивность, небольшое количество побочных эффектов, повторяемость и репрезентативность неоднородности опухоли. Более того, применение жидкой биопсии постоянно расширяется с развитием новых методов. Кроме того, традиционная биопсия часто вызывает проблемы со стандартизацией, воспроизводимостью и достоверностью. Хотя маловероятно, что жидкая биопсия полностью заменит традиционную, вскоре эти два метода могут дополнять друг друга.

Литература

1. Brown R.L., De Souza J.A., Cohen E.E. Thyroid cancer: Burden of illness and management of disease. *J. Cancer*. 2011;2:193–199. doi: 10.7150/jca.2.193.
2. Siegel R.L., Miller K.D., Fuchs H.E., Jemal A. Cancer statistics, 2021. *CA Cancer J. Clin.* 2021;71:7–33. doi: 10.3322/caac.21654.
3. Olson E., Wintheiser G., Wolfe K.M., Droessler J., Silberstein P.T. Epidemiology of thyroid cancer: A review of the national cancer database, 2000–2013. *Cureus*. 2019;11:e4127. doi: 10.7759/cureus.4127.
4. Lloyd R.V. WHO classification of tumours of endocrine organs. *IARC*. 2017;10:354.
5. Kure S., Ohashi R. Thyroid hürthle cell carcinoma: Clinical, pathological, and molecular features. *Cancers*. 2020;13:26. doi: 10.3390/cancers13010026.
6. Schlumberger M., Leboulleux S. Current practice in patients with differentiated thyroid cancer. *Nat. Rev. Endocrinol.* 2021;17:176–188. doi: 10.1038/s41574-020-00448-z.
7. Volante M., Lam A.K., Papotti M., Tallini G. Molecular pathology of poorly differentiated and anaplastic thyroid cancer: What do pathologists need to know? *Endocr. Pathol.* 2021;32:63–76. doi: 10.1007/s12022-021-09665-2.
8. Barletta J.A., Nosé V., Sadow P.M. Genomics and epigenomics of medullary thyroid carcinoma: From sporadic disease to familial manifestations. *Endocr. Pathol.* 2021;32:35–43. doi: 10.1007/s12022-021-09664-3
9. Manzella L., Stella S., Pennisi M.S., Tirrò E., Massimino M., Romano C., Puma A., Tavarelli M., Vigneri P. New insights in thyroid cancer and p53 family proteins. *Int. J. Mol. Sci.* 2017;18:1325. doi: 10.3390/ijms18061325.
10. Tirrò E., Martorana F., Romano C., Vitale S.R., Motta G., Di Gregorio S., Massimino M., Pennisi M.S., Stella S., Puma A., et al. Molecular alterations in thyroid cancer: From bench to clinical practice. *Genes*. 2019;10:709. doi: 10.3390/genes10090709.
11. Massimino M., Vigneri P., Fallica M., Fidilio A., Aloisi A., Frasca F., Manzella L. IRF5 promotes the proliferation of human thyroid cancer cells. *Mol. Cancer*. 2012;11:21. doi: 10.1186/1476-4598-11-21.
12. Messina R.L., Sanfilippo M., Vella V., Pandini G., Vigneri P., Nicolosi M.L., Gianì F., Vigneri R., Frasca F. Reactivation of p53 mutants by p53 reactivation and induction of massive apoptosis in thyroid cancer cells. *Int. J. Cancer*.



2011;130:2259–2270. doi: 10.1002/ijc.26228.

13. Prete A., De Souza P.B., Censi S., Muzza M., Nucci N., Sponziello M. Update on fundamental mechanisms of thyroid cancer. *Front. Endocrinol.* 2020;11:102. doi: 10.3389/fendo.2020.00102.

14. Ghafouri-Fard S., Shirvani-Farsani Z., Taheri M. The role of microRNAs in the pathogenesis of thyroid cancer. *Non-Coding RNA Res.* 2020;5:88–98. doi: 10.1016/j.ncrna.2020.06.001.

15. Mazeh H., Deutch T., Karas A., Bogardus K.A., Mizrahi I., Gur-Wahnon D., Ben-Dov I.Z. Next-generation sequencing identifies a highly accurate miRNA panel that distinguishes well-differentiated thyroid cancer from benign thyroid nodules. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* 2018;27:858–863. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-18-0055.

16. Santiago K., Wongworawat Y.C., Khan S. Differential MicroRNA-signatures in thyroid cancer subtypes. *J. Oncol.* 2020;2020:2052396. doi: 10.1155/2020/2052396.

17. Cañadas-Garre M., Becerra-Massare P., Casares M.L.D.L.T., Moral J.V.-D., Céspedes-Mas S., Vilchez-Joya R., Fuentes T.M.-D., García-Calvente C., Piédrola-Maroto G., López-Nevot M.A., et al. Reduction of false-negative papillary thyroid carcinomas by the routine analysis of BRAFT1799A mutation on fine-needle aspiration biopsy specimens. *Ann. Surg.* 2012;255:986–992. doi: 10.1097/SLA.0b013e31824e8d70.

18. Filetti S., Durante C., Hartl D., Leboulleux S., Locati L., Newbold K., Papotti M., Berruti A. Thyroid cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann. Oncol.* 2019;30:1856–1883. doi: 10.1093/annonc/mdz400.

19. Massimino M., Tirrò E., Stella S., Frasca F., Vella V., Sciacca L., Pennisi M.S., Vitale S.R., Puma A., Romano C., et al. Effect of combined epigenetic treatments and ectopic nis expression on undifferentiated thyroid cancer cells. *Anticancer Res.* 2018;38:6653–6662. doi: 10.21873/anticancer.13032.

20. Rao S.N., Zafereo M., Dadu R., Busaidy N.L., Hess K., Cote G.J., Williams M.D., William W.N., Sandulache V., Gross N., et al. Patterns of treatment failure in anaplastic thyroid carcinoma. *Thyroid.* 2017;27:672–681. doi: 10.1089/thy.2016.0395.

21. Manzella L., Massimino M., Stella S., Tirrò E., Pennisi M.S., Martorana F., Motta G., Vitale S.R., Puma A., Romano C., et al. Activation of the IGF axis in thyroid cancer: Implications for tumorigenesis and treatment. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20:3258. doi: 10.3390/ijms20133258.

22. Krajewska J., Gawlik T., Jarzab B. Advances in small molecule therapy for treating metastatic thyroid cancer. *Expert Opin. Pharmacother.* 2017;18:1049–1060. doi: 10.1080/14656566.2017.1340939.

23. Porter A., Wong D.J. Perspectives on the treatment of advanced thyroid cancer: Approved therapies, resistance mechanisms, and future directions. *Front. Oncol.* 2021;10:592202. doi: 10.3389/fonc.2020.592202.

24. Priya S.R., Dravid C.S., Digumarti R., Dandekar M. Targeted therapy for medullary thyroid cancer: A review. *Front. Oncol.* 2017;7:238.



doi: 10.3389/fonc.2017.00238.

25. De Rubis G., Krishnan S.R., Bebawy M. Liquid biopsies in cancer diagnosis, monitoring, and prognosis. *Trends Pharmacol. Sci.* 2019;40:172–186. doi: 10.1016/j.tips.2019.01.006.

26. Alix-Panabières C., Pantel K. Liquid biopsy: From discovery to clinical application. *Cancer Discov.* 2021;11:858–873. doi: 10.1158/2159-8290.CD-20-1311.

27. Ignatiadis M., Lee M., Jeffrey S.S. Circulating tumor cells and circulating tumor DNA: Challenges and opportunities on the path to clinical utility. *Clin. Cancer Res.* 2015;21:4786–4800. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-1190.

28. Gold B., Cankovic M., Furtado L.V., Meier F., Gocke C.D. Do circulating tumor cells, exosomes, and circulating tumor nucleic acids have clinical utility? *J. Mol. Diagn.* 2015;17:209–224. doi: 10.1016/j.jmoldx.2015.02.001.

29. Von Bubnoff N. Liquid biopsy: Approaches to dynamic genotyping in cancer. *Oncol. Res. Treat.* 2017;40:409–416. doi: 10.1159/000478864. 30. Van Dessel L.F., Vitale S.R., Helmijr J.C.A., Wilting S.M., Vlugt-Daane M., Hoop E.O.-D., Sleijfer S., Martens J.W.M., Jansen M.P.H.M., Lolkema M.P., et al. High-throughput isolation of circulating tumor DNA: A comparison of automated platforms. *Mol. Oncol.* 2018;13:392–402. doi: 10.1002/1878-0261.12415.

31. Pös O., Biró O., Szemes T., Nagy B. Circulating cell-free nucleic acids: Characteristics and applications. *Eur. J. Hum. Genet.* 2018;26:937–945. doi: 10.1038/s41431-018-0132-4.

32. Vitale S.R., Helmijr J.A., Gerritsen M., Coban H., van Dessel L.F., Beije N., van der Vlugt-Daane M., Vigneri P., Sieuwerts A.M., Dits N., et al. Detection of tumor-derived extracellular vesicles in plasma from patients with solid cancer. *BMC Cancer.* 2021;21:1–17. doi: 10.1186/s12885-021-08007-z.

33. Xu R., Rai A., Chen M., Suwakulsiri W., Greening D., Simpson R.J. Extracellular vesicles in cancer—Implications for future improvements in cancer care. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 2018;15:617–638. doi: 10.1038/s41571-018-0036-9.

34. Jee H.-G., Kim B.-A., Kim M., Yu H.W., Choi J.Y., Kim S.-J., Lee K.E. Expression of SLC5A5 in circulating tumor cells may distinguish follicular thyroid carcinomas from adenomas: Implications for blood-based preoperative diagnosis. *J. Clin. Med.* 2019;8:257. doi: 10.3390/jcm8020257.

35. Li Y.-R., Tseng C.-P., Hsu H.-L., Lin H.-C., Chen Y.-A., Chen S.-T., Liou M.-J., Lin J.-D. Circulating epithelial cells as potential biomarkers for detection of recurrence in patients of papillary thyroid carcinoma with positive serum anti-thyroglobulin antibody. *Clin. Chim. Acta.* 2018;477:74–80. doi: 10.1016/j.cca.2017.12.011.

36. Salvianti F., Giuliani C., Petrone L., Mancini I., Vezzosi V., Pupilli C., Pinzani P. Integrity and quantity of total cell-free DNA in the diagnosis of thyroid cancer: Correlation with cytological classification. *Int. J. Mol. Sci.* 2017;18:1350. doi: 10.3390/ijms18071350.

37. Perdas E., Stawski R., Kaczka K., Nowak D., Zubrzycka M. Altered levels of circulating nuclear and mitochondrial DNA in patients with Papillary Thyroid Cancer. *Sci. Rep.* 2019;9:1–7. doi: 10.1038/s41598-019-51000-7.

38. Pupilli C., Pinzani P., Salvianti F., Fibbi B., Rossi M., Petrone L., Perigli G.,



De Feo M.L., Vezzosi V., Pazzagli M., et al. Circulating BRAFV600E in the diagnosis and follow-up of differentiated papillary thyroid carcinoma. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2013;98:3359–3365. doi: 10.1210/jc.2013-1072.

39. Hu S., Ewertz M., Tufano R.P., Brait M., Carvalho A.L., Liu D., Tufaro A.P., Basaria S., Cooper D.S., Sidransky D., et al. Detection of serum deoxyribonucleic acid methylation markers: A novel diagnostic tool for thyroid cancer. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2006;91:98–104. doi: 10.1210/jc.2005-1810.

40. Li W., Zhang X., Lu X., You L., Song Y., Luo Z., Zhang J., Nie J., Zheng W., Xu D., et al. 5-Hydroxymethylcytosine signatures in circulating cell-free DNA as diagnostic biomarkers for human cancers. *Cell Res.* 2017;27:1243–1257. doi: 10.1038/cr.2017.121.

41. Khatami F., Teimoori-Toolabi L., Heshmat R., Nasiri S., Saffar H., Mohammadamoli M., Aghdam M.H., Larijani B., Tavangar S.M. Circulating ctDNA methylation quantification of two DNA methyl transferases in papillary thyroid carcinoma. *J. Cell. Biochem.* 2019;120:17422–17437. doi: 10.1002/jcb.29007.

42. Zane M., Agostini M., Enzo M.V., Ide E.C., Del Bianco P., Torresan F., Boschini I.M., Pennelli G., Saccani A., Rubello D., et al. Circulating cell-free DNA, SLC5A8 and SLC26A4 hypermethylation, BRAFV600E: A non-invasive tool panel for early detection of thyroid cancer. *Biomed. Pharmacother.* 2013;67:723–730. doi: 10.1016/j.biopha.2013.06.007.

43. Sato T., Harao M., Nakano S., Jotsuka T., Suda N., Yamashita J.-I. Circulating tumor cells detected by reverse transcription-polymerase chain reaction for carcinoembryonic antigen mRNA: Distinguishing follicular thyroid carcinoma from adenoma. *Surgery.* 2005;137:552–558. doi: 10.1016/j.surg.2004.11.006.

44. Chia S.-Y., Milas M., Reddy S.K., Siperstein A., Skugor M., Brainard J., Gupta M.K. Thyroid-stimulating hormone receptor messenger ribonucleic acid measurement in blood as a marker for circulating thyroid cancer cells and its role in the preoperative diagnosis of thyroid cancer. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2006;92:468–475. doi: 10.1210/jc.2006-2088.

45. Mahmoudian-Sani M.-R., Mehri-Ghahfarrokhi A., Asadi-Samani M., Mobini G.-R. Serum miRNAs as biomarkers for the diagnosis and prognosis of thyroid cancer: A comprehensive review of the literature. *Eur. Thyroid. J.* 2017;6:171–177. doi: 10.1159/000468520.

46. Kondrotienė A., Daukša A., Pamedytė D., Kazokaitė M., Žvirblienė A., Daukšienė D., Simanavičienė V., Klimaitė R., Golubickaitė I., Stakaitis R., et al. Plasma-derived miRNA-222 as a candidate marker for papillary thyroid cancer. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21:6445. doi: 10.3390/ijms21176445.

47. Perdas E., Stawski R., Kaczka K., Zubrzycka M. Analysis of let-7 family miRNA in plasma as potential predictive biomarkers of diagnosis for papillary thyroid cancer. *Diagnostics.* 2020;10:130. doi: 10.3390/diagnostics10030130.

48. Rosignolo F., Sponziello M., Giacomelli L., Russo D., Pecce V., Biffoni M., Bellantone R., Lombardi C.P., Lamartina L., Grani G., et al. Identification of thyroid-associated serum microRNA profiles and their potential use in thyroid cancer follow-up. *J. Endocr. Soc.* 2017;1:3–13. doi: 10.1210/js.2016-1032.

49. Samsonov R., Burdakov V., Shtam T., Radzhabova Z., Vasilyev D., Tsyrlina



E., Titov S., Ivanov M., Berstein L., Filatov M., et al. Plasma exosomal miR-21 and miR-181a differentiates follicular from papillary thyroid cancer. *Tumor Biol.* 2016;37:12011–12021. doi: 10.1007/s13277-016-5065-3.

50. Zabegina L., Nazarova I., Knyazeva M., Nikiforova N., Slyusarenko M., Titov S., Vasilyev D., Sleptzov I., Malek A. MiRNA let-7 from TPO(+) extracellular vesicles is a potential marker for a differential diagnosis of follicular thyroid nodules. *Cells.* 2020;9:1917. doi: 10.3390/cells9081917.

51. Qiu Z.-L., Wei W.-J., Sun Z.-K., Shen C.-T., Song H.-J., Zhang X.-Y., Zhang G.-Q., Chen X.-Y., Luo Q.-Y. Circulating tumor cells correlate with clinicopathological features and outcomes in differentiated thyroid cancer. *Cell. Physiol. Biochem.* 2018;48:718–730. doi: 10.1159/000491898.

52. Ehlers M., Allelein S., Schwarz F., Hautzel H., Kuebart A., Schmidt M., Haase M., Dringenberg T., Schott M. Increased numbers of circulating tumor cells in thyroid cancer patients. *Horm. Metab. Res.* 2018;50:602–608. doi: 10.1055/a-0651-4913.

53. Jensen K., Thakur S., Patel A., Mendonca-Torres M.C., Costello J., Gomes-Lima C.J., Walter M., Wartofsky L., Burman K.D., Bikas A., et al. Detection of BRAFV600E in liquid biopsy from patients with papillary thyroid cancer is associated with tumor aggressiveness and response to therapy. *J. Clin. Med.* 2020;9:2481. doi: 10.3390/jcm9082481.

54. Gómez-Pérez A.M., Pareja I.M.C., Alemán J.G., Aragüez L.C., Ochoa A.S., Torres J.A., Vega M.M., Fernández C.C., Doblaz I.M., Tinahones F.J. New molecular biomarkers in differentiated thyroid carcinoma: Impact of miR-146, miR-221 and miR-222 levels in the evolution of the disease. *Clin. Endocrinol.* 2019;91:187–194. doi: 10.1111/cen.13972.

55. Winkens T., Pachmann K., Freesmeyer M. The influence of radioiodine therapy on the number of circulating epithelial cells (CEC) in patients with differentiated thyroid carcinoma—A pilot study. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.* 2014;122:246–253. doi: 10.1055/s-0034-1370921.

56. Zheng L., Wang G., Guo W., Pan D., Xie L., He S., Luo C., Li H., Ran Y., Wu S., et al. NIS and epithelial-mesenchymal transition marker expression of circulating tumor cells for predicting and monitoring the radioactive iodine-131 therapy effect in differentiated thyroid cancers. *Mol. Biol. Rep.* 2019;46:4201–4212. doi: 10.1007/s11033-019-04873-w.

57. Allin D., Shaikh R., Carter P., Thway K., Sharabiani M., Gonzales-De-Castro D., O’Leary B., Garcia-Murillas I., Bhide S., Hubank M., et al. Circulating tumour DNA is a potential biomarker for disease progression and response to targeted therapy in advanced thyroid cancer. *Eur. J. Cancer.* 2018;103:165–175. doi: 10.1016/j.ejca.2018.08.013.

58. Almubarak H., Qassem E., Alghofaili L., Alzahrani A.S., Karakas B. Non-invasive molecular detection of minimal residual disease in papillary thyroid cancer patients. *Front. Oncol.* 2020;9:1510. doi: 10.3389/fonc.2019.01510.

59. Lubitz C.C., Zhan T., Gunda V., Amin S., Gigliotti B.J., Fingeret A.L., Holm T.M., Wachtel H., Sadow P.M., Wirth L.J., et al. Circulating BRAFV600E Levels correlate with treatment in patients with thyroid carcinoma. *Thyroid.*



2018;28:328–339. doi: 10.1089/thy.2017.0322.

60. Fussey J.M., Bryant J.L., Batis N., Spruce R.J., Hartley A., Good J.S., McCabe C.J., Boelaert K., Sharma N., Mehanna H. The clinical utility of cell-free DNA measurement in differentiated thyroid cancer: A systematic review. *Front. Oncol.* 2018;8:132. doi: 10.3389/fonc.2018.00132.

61. Wan J.C.M., Massie C., Garcia-Corbacho J., Mouliere F., Brenton J.D., Caldas C., Pacey S., Baird R., Rosenfeld N. Liquid biopsies come of age: Towards implementation of circulating tumour DNA. *Nat. Rev. Cancer.* 2017;17:223–238. doi: 10.1038/nrc.2017.7.

62. Cao S., Yu S., Yin Y., Su L., Hong S., Gong Y., Lv W., Li Y., Xiao H. Genetic alterations in cfDNA of benign and malignant thyroid nodules based on amplicon-based next-generation sequencing. *Ann. Transl. Med.* 2020;8:1225. doi: 10.21037/atm-20-4544.

63. Chuang T.C.Y., Chuang A.Y.C., Poeta L., Koch W.M., Califano J.A., Tufano R.P. Detectable BRAF mutation in serum DNA samples from patients with papillary thyroid carcinomas. *Head Neck.* 2009;32:229–234. doi: 10.1002/hed.21178.

64. Condello V., Macerola E., Ugolini C., De Napoli L., Romei C., Materazzi G., Elisei R., Basolo F. Analysis of circulating tumor DNA does not improve the clinical management of patients with locally advanced and metastatic papillary thyroid carcinoma. *Head Neck.* 2018;40:1752–1758. doi: 10.1002/hed.25155.

65. Cradic K.W., Milosevic A., Rosenberg A.M., Erickson L.A., McIver B., Grebe S.K.G. Mutant BRAFT1799A can be detected in the blood of papillary thyroid carcinoma patients and correlates with disease status. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2009;94:5001–5009. doi: 10.1210/jc.2009-1349

66. Kim B.H., Kim I.J., Lee B.J., Lee J.C., Kim S.-J., Kim W.J., Jeon Y.K., Kim S.S., Kim Y.K., Kim I.S. Detection of plasma BRAFV600E mutation is associated with lung metastasis in papillary thyroid carcinomas. *Yonsei Med. J.* 2015;56:634–640. doi: 10.3349/ymj.2015.56.3.634.

67. Kwak J.Y., Jeong J.J., Kang S.-W., Park S., Choi J.R., Park S.-J., Kim E.K., Chung W.Y. Study of peripheral BRAFV600E mutation as a possible novel marker for papillary thyroid carcinomas. *Head Neck.* 2012;35:1630–1633. doi: 10.1002/hed.23195.

68. Cabanillas M.E., Dadu R., Iyer P.C., Wanland K.B., Busaidy N.L., Ying A.K., Gule-Monroe M., Wang J.R., Zafereo M., Hofmann M.-C. Acquired secondary RAS mutation in BRAFV600E-mutated thyroid cancer patients treated with BRAF inhibitors. *Thyroid.* 2020;30:1288–1296. doi: 10.1089/thy.2019.0514

69. Wang J.R., Zafereo M.E., Dadu R., Ferrarotto R., Busaidy N.L., Lu C., Ahmed S., Gule-Monroe M.K., Williams M.D., Sturgis E.M., et al. Complete surgical resection following neoadjuvant dabrafenib plus trametinib in BRAFV600E-mutated anaplastic thyroid carcinoma. *Thyroid.* 2019;29:1036–1043. doi: 10.1089/thy.2019.0133.

70. Iyer P.C., Dadu R., Ferrarotto R., Busaidy N.L., Habra M.A., Zafereo M., Gross N., Hess K.R., Gule-Monroe M., Williams M.D., et al. Real-world experience with targeted therapy for the treatment of anaplastic thyroid carcinoma. *Thyroid.* 2018;28:79–87. doi: 10.1089/thy.2017.0285.



71. Qin Y., Wang J.R., Wang Y., Iyer P.C., Cote G.J., Busaidy N.L., Dadu R., Zafereo M., Williams M.D., Ferrarotto R., et al. Clinical utility of circulating cell-free DNA mutations in anaplastic thyroid carcinoma. *Thyroid*. 2021 doi: 10.1089/thy.2020.0296.

72. Iyer P.C., Cote G.J., Hai T., Gule-Monroe M., Bui-Griffith J., Williams M.D., Hess K., Hofmann M.-C., Dadu R., Zafereo M., et al. Circulating BRAF V600E cell-free DNA as a biomarker in the management of anaplastic thyroid carcinoma. *JCO Precis. Oncol.* 2018;2 doi: 10.1200/PO.18.00173.

73. Zhang A., Wang C., Lu H., Chen X., Ba Y., Zhang C., Zhang C.-Y. Altered serum MicroRNA profile may serve as an auxiliary tool for discriminating aggressive thyroid carcinoma from nonaggressive thyroid cancer and benign thyroid nodules. *Dis. Markers*. 2019;2019:3717683. doi: 10.1155/2019/3717683.

74. Romeo P., Colombo C., Granata R., Calareso G., Gualeni A.V., Dugo M., de Cecco L., Rizzetti M.G., Zanframundo A., Aiello A., et al. Circulating miR-375 as a novel prognostic marker for metastatic medullary thyroid cancer patients. *Endocr. Relat. Cancer*. 2018;25:217–231. doi: 10.1530/ERC-17-0389.

75. Shabani N., Sheikholeslami S., Paryan M., Yeganeh M.Z., Tavangar S.M., Azizi F., Mohammadi-Yeganeh S., Hedayati M. An investigation on the expression of miRNAs including miR-144 and miR-34a in plasma samples of RET -positive and RET -negative medullary thyroid carcinoma patients. *J. Cell. Physiol.* 2020;235:1366–1373. doi: 10.1002/jcp.29055.

76. Sriramareddy S.N., Hamoir E., Chavez M., Louis R., Beckers A., Willems L. Tumor cells may circulate in medullary thyroid cancer patients independently of serum calcitonin. *Endocr. Relat. Cancer*. 2018;25:L59–L63. doi: 10.1530/ERC-18-0180.

77. Baeuerle P.A., Gires O. EpCAM (CD326) finding its role in cancer. *Br. J. Cancer*. 2007;96:417–423. doi: 10.1038/sj.bjc.6603494.

78. Rao C.G., Chianese D., Doyle G.V., Miller M.C., Russell T., Sanders R.A., Jr., Terstappen L.W. Expression of epithelial cell adhesion molecule in carcinoma cells present in blood and primary and metastatic tumors. *Int. J. Oncol.* 2005;27:49–57. doi: 10.3892/ijo.27.1.49.

79. Xu J.Y., Handy B., Michaelis C.L., Waguespack S.G., Hu M.I., Busaidy N., Jimenez C., Cabanillas M.E., Fritsche H.A., Cote G.J., et al. Detection and prognostic significance of circulating tumor cells in patients with metastatic thyroid cancer. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2016;101:4461–4467. doi: 10.1210/jc.2016-2567.

80. Cote G.J., Evers C., Hu M.I., Grubbs E.G., Williams M.D., Hai T., Duose D.Y., Houston M.R., Bui J.H., Mehrotra M., et al. Prognostic significance of circulating RET M918T mutated tumor DNA in patients with advanced medullary thyroid carcinoma. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2017;102:3591–3599. doi: 10.1210/jc.2017-01039.

81. Solomon B.J., Tan L., Lin J.J., Wong S.Q., Hollizeck S., Ebata K., Tuch B.B., Yoda S., Gainor J.F., Sequist L.V., et al. RET solvent front mutations mediate acquired resistance to selective RET inhibition in RET-driven malignancies. *J. Thorac. Oncol.* 2020;15:541–549. doi: 10.1016/j.jtho.2020.01.006.

82. Weber T., Lacroix J., Wörner S., Weckauf H., Winkler S., Hinz U., Schilling



T., Frank-Raue K., Klar E., Doeberitz M.V.K. Detection of hematogenic and lymphogenic tumor cell dissemination in patients with medullary thyroid carcinoma by cytokeratin 20 and preprogastrin-releasing peptide RT-PCR. *Int. J. Cancer.* 2003;103:126–131. doi: 10.1002/ijc.10804.

83. Chiacchiarini M., Trocchianesi S., Besharat Z.M., Po A., Ferretti E. Role of tissue and circulating microRNAs and DNA as biomarkers in medullary thyroid cancer. *Pharmacol. Ther.* 2021;219:107708. doi: 10.1016/j.pharmthera.2020.107708.

84. Kilgour E., Rothwell D., Brady G., Dive C. Liquid biopsy-based biomarkers of treatment response and resistance. *Cancer Cell.* 2020;37:485–495. doi: 10.1016/j.ccell.2020.03.012.

85. Geurickx E., Hendrix A. Targets, pitfalls and reference materials for liquid biopsy tests in cancer diagnostics. *Mol. Asp. Med.* 2020;72:100828. doi: 10.1016/j.mam.2019.10.005.

86. Rolfo C., Mack P.C., Scagliotti G.V., Baas P., Barlesi F., Bivona T.G., Herbst R.S., Mok T., Peled N., Pirker R., et al. Liquid biopsy for advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): A statement paper from the IASLC. *J. Thorac. Oncol.* 2018;13:1248–1268. doi: 10.1016/j.jtho.2018.05.030.

Abstract. *Thyroid cancer is the most common malignancy of the endocrine system, encompassing a variety of entities with different histologic features and clinics. The diagnosis, therapeutic approach, and follow-up of thyroid cancer demonstrate some controversial aspects. Liquid biopsy is a noninvasive approach using a variety of techniques in which, tumor cells, free nucleic acids, and extracellular vesicles can be extracted from a cancer patient's item and valuable molecular information can be obtained. Recently, more and more data have been accumulated on the use of liquid biopsy in thyroid cancer because it can be used for diagnosis, assessment of its prognosis, and monitoring of tumor recurrence or response to treatment. We summarize the currently available data on liquid biopsy in differentiated, poorly differentiated/anaplastic, and medullary thyroid cancer.*

The aim of the research is to study the data on the use of liquid biopsy in various histotypes of thyroid cancer.

Conclusions. *Liquid biopsy offers many advantages over conventional biopsy, such as less invasiveness, few side effects, repeatability and representativeness of tumor heterogeneity. Moreover, the use of liquid biopsy is constantly expanding with the development of new techniques. In addition, traditional biopsy often causes problems with standardization, reproducibility and validity. Although it is unlikely that liquid biopsy will completely replace traditional biopsy, the two methods may soon complement each other.*

Key words: *differentiated thyroid cancer, anaplastic thyroid cancer, medullary thyroid cancer, liquid biopsy, diagnosis, prognosis, therapy.*

Статья отправлена: 17.09.2021 г.

© Стариков В.В.