

ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ БЕЛКОВЫЕ МАРКЕРЫ ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ НОВООБРАЗОВАНИЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ



© Т.Н. Аксенова*, Е.В. Бондаренко, В.А. Иоутси, Ф.М. Абдулхабилова, В.Э. Ванушко, П.В. Белоусов, А.В. Дзодзаева, Н.А. Кициловская, Н.Г. Мокрышева

Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия

Опухоли щитовидной железы (ЩЖ) чрезвычайно распространены. Заболеваемость злокачественными новообразованиями ЩЖ быстро возросла за последние десятилетия, хотя неясно, является ли это истинным увеличением или результатом широкого использования скринингового ультразвукового исследования. Стандартизированной диагностической манипуляцией, определяющей риск злокачественного потенциала и показания для оперативного лечения образований ЩЖ, является тонкоигольная аспирационная биопсия (ТАБ) с последующим цитологическим исследованием клеточного аспирата. Несмотря на то, что в преобладающем проценте случаев удается провести дифференциальную диагностику между раком щитовидной железы (РЩЖ) и доброкачественными образованиями ЩЖ, существует проблема диагностики при промежуточных категориях цитологических заключений по Bethesda, что обуславливает необходимость поиска альтернативных решений. Это определяет потребность в расширении предоперационных диагностических возможностей. Одним из ключевых направлений работы по ее реализации является изучение протеомных данных при различных патологиях ЩЖ. Изучение протеома опухолей ЩЖ открывает возможность выявления специфических белковых маркеров или механизмов, которые играют ключевую роль в онкогенезе, метастазировании опухолей ЩЖ, а также определения потенциальных мишеней для новых методов диагностики и лечения этих заболеваний. Все вышеизложенное определяет актуальность и практическую значимость изучения патологии ЩЖ на молекулярном уровне, рассмотрения потенциала белков как маркеров.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: белковые маркеры; рак щитовидной железы; аденома щитовидной железы; диагностика; протеомика.

POTENTIAL PROTEIN MARKERS FOR DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF THYROID NEOPLASMS

© Tatyana N. Aksenova*, Ekaterina V. Bondarenko, Vitaliy A. Ioutsy, Fatima M. Abdulkhabirova, Vladimir E. Vanushko, Pavel V. Belousov, Ariya V. Dzodzaeva, Natalya A. Kitsilovskaya, Natalya G. Mokrysheva

Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia

Tumors of the thyroid gland are extremely common. The incidence of malignant thyroid neoplasms has increased rapidly in recent decades, although it is unclear whether this is a true increase or the result of widespread use of screening ultrasound. The standard diagnostic procedure for determining the risk of malignancy and indications for surgical treatment of thyroid neoplasms is fine-needle aspiration biopsy followed by cytologic examination of the cellular aspirate. Despite the fact that in the majority of cases it is possible to make a differential diagnosis between thyroid cancer and benign thyroid masses, there is a diagnostic problem with intermediate categories of cytologic findings according to Bethesda, which makes it necessary to search for alternative solutions. This determines the need to expand preoperative diagnostic possibilities. One of the key directions of work on its realization is the study of proteomic data in various thyroid pathologies. The study of the proteome of thyroid tumors opens the possibility of identifying specific protein markers or mechanisms that play a key role in the oncogenesis and metastasis of thyroid tumors, as well as potential targets for new methods of diagnosis and treatment of these diseases. All this determines the relevance and practical importance of studying thyroid pathology at the molecular level, taking into account the potential of proteins as markers.

KEYWORDS: protein markers; thyroid cancer; thyroid adenoma; diagnosis; proteomics.

ВВЕДЕНИЕ

РЩЖ является одним из наиболее распространенных эндокринных злокачественных новообразований, частота которого растет во всем мире [1]. По данным от 2020 г., показатели заболеваемости РЩЖ составляли 10,1 на 100 000 женщин и 3,1 на 100 000 мужчин. Несмотря на неуклонный рост заболеваемости, смертность от РЩЖ остается достаточно низкой и составляет 0,5 на 100 000 женщин и 0,3 на 100 000 мужчин [2]. Объяс-

нения роста заболеваемости РЩЖ во всем мире противоречивы. Некоторые исследователи считают, что рост выявляемых заболеваний ЩЖ вызван феноменом гипердиагностики за счет выявления на УЗИ образований размером менее 1 см [3, 4].

Узлы ЩЖ могут быть обнаружены с помощью УЗИ более чем у 67% здорового населения [5]. Учитывая, что в 10–15% случаев узловые образования при морфологической послеоперационной верификации оказываются злокачественными, существует потребность

*Автор, ответственный за переписку/Corresponding author.



в достоверном определении злокачественного потенциала на дооперационном этапе [6]. Система стратификации признаков злокачественного потенциала узлов ЩЖ, по данным УЗИ, TIRADS (Thyroid Imaging Reporting and Data System) предложена впервые в 2009 г. [7]. В 2017 г. Европейская ассоциация ЩЖ создала новую Европейскую систему данных и отчетности по визуализации ЩЖ, названную EU-TIRADS. На оценку EU-TIRADS влияют такие признаки УЗИ, как форма, края, эхогенность, состав, кальцификации и наличие других гиперэхогенных очагов образований. В соответствии с категориями EU-TIRADS, новообразованию присваивается номер от 1 до 5, что отражает возрастающий злокачественный риск [8]. Данная классификация доказала удовлетворительную диагностическую ценность [9]. Но, к сожалению, результаты УЗИ могут отличаться в различных учреждениях или у отдельных лиц, что снижает достоверность метода.

Золотым стандартом диагностики новообразований ЩЖ является тонкоигольная аспирационная биопсия (ТАБ) с последующим цитологическим исследованием, при интерпретации которого используют систему Bethesda. Учитывая пересмотр классификации от 2023 г., к категориям Bethesda относятся: I — недиагностический результат, II — доброкачественная опухоль, III — атипия неопределенного значения (с ядерной или другой атипией), IV — фолликулярное новообразование, V — подозрение на злокачественность, VI — злокачественная опухоль [10].

Несмотря на утвержденную во всем мире классификацию и стандартизацию данного метода, неоднократно сообщалось, что результаты ТАБ могут иметь расхождение с последующим гистологическим диагнозом в 34% случаев [11, 12]. Чаще всего диагностические ошибки возникают в III и IV группах по Bethesda, послеоперационное выявление злокачественных новообразований составляет до 27,6% [13]. Нужно отметить, что новообразования ЩЖ с фолликулярным строением наиболее сложны при цитологической диагностике. Оценка их злокачественного потенциала производится только морфологически по наличию сосудистой или полной капсулярной инвазии.

Приведенные недостатки современных методов диагностики определяют необходимость исследований, направленных на поиск дополнительных уточняющих тестов, способствующих более точному выявлению злокачественных новообразований на дооперационном этапе и выбору адекватного объема оперативного лечения.

На сегодняшний день методам протеомного анализа уделяется все больше внимания, поскольку они могут идентифицировать и количественно определить тысячи белковых компонентов в одном и том же биологическом образце. Многие опубликованные протеомные исследования направлены на поиск потенциальных биомаркеров РЩЖ. Самые ранние попытки протеомики РЩЖ были сосредоточены на том, чтобы отличать рак от доброкачественных поражений. Например, в 2011 г. обнаружили 145 специфичных белков для папиллярного рака (ПР) ЩЖ, и 53 были специфичны для нормальной ЩЖ с помощью метода жидкостной хроматографии, tandemной масс-спектрометрии (ЖХ-МС/МС) [14]. В 2018 г. протеом-

ное исследование, основанное на масс-спектрометрии высокого разрешения без применения изотопных меток, идентифицировало 2788 белков [15]. В ранних исследованиях обычно использовался одномерный или двумерный гель-электрофорез с последующим масс-спектрометрическим анализом [16, 17]. Несмотря на большие объемы данных об открытии различных биомаркеров РЩЖ, лишь немногие из них могут быть применены в клинической лабораторной диагностике. Во многих случаях использование каждой из этих молекул по отдельности может оказаться бесполезным, поэтому комбинация двух или более биомаркеров может внести более существенный вклад в диагностику РЩЖ.

1.1. ОСНОВНЫЕ БЕЛКОВЫЕ МАРКЕРЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ СО ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Определение точного злокачественного потенциала новообразования ЩЖ имеет решающее значение для прогноза и выбора лечения этого злокачественного новообразования. Интерпретация протеомных данных пациентов с РЩЖ открывает возможности для обширного анализа различий в экспрессии и/или численности белков. Таким образом, протеомные методы анализа имеют большой потенциал обнаружения группы белков, связанных с определенным фенотипом.

В настоящее время наиболее изученные и значимые белковые маркеры — матриксные металлопротеиназы (MMP: MMP-1, 2, 7, 9), тканевые ингибиторы металлопротеиназ (TIMP: TIMP-1, 2), фактор роста эндотелия сосудов типа C (VEGF-C), основной фактор роста фибробластов (bFGF), Е-кадгерин, дизаггерин, галектин-3, рецептор хемокинов (chemokine receptor type 4, CXCR4), хемокин подсемейства CXC (stromal cell-derived factor-1, CXCL12), моноклональные антитела, направленные против поверхностного белка мезотелиальных клеток (hector battiforamesothelial epitope-1, HBME-1), прототипный маркер естественных киллеров (CD56).

MMP-1, -2, -9 являются внеклеточными цинкозависимыми протеолитическими ферментами, относящимися к группе катепсинов, способными разрушать белки и гликопротеины внеклеточного матрикса, регулировать цитокины и факторы роста [18]. Матриксные металлопротеиназы обеспечивают проникновение сосудов в опухоль, впоследствии опухолевые клетки способны растворять базальные мембраны путем протеолитической деградаци. Это, в свою очередь, увеличивает риск инвазии опухолевых клеток [19]. Повышенный уровень экспрессии белков MMP-2 и MMP-9 является предиктором неблагоприятного прогноза в отношении метастазирования. Наблюдается положительная корреляция между сверхэкспрессией MMP-2 и MMP-9 и более высокими показателями опухолевой инвазии, ангиогенеза и метастазирования опухоли [20, 21].

Е-кадгерин. Этот белок представляет собой однопроходный трансмембранный гликопротеин, который играет ключевую роль в клеточной адгезии в эпителиальных тканях. Он является членом семейства белков кадгеринов, которые опосредуют межклеточную адгезию посредством гомофильных взаимодействий. Снижение экспрессии Е-кадгерина в значительной степени

коррелирует с предрасположенностью к развитию ПР ЩЖ, низкой степенью его дифференцировки и высоким уровнем метастазирования в лимфатические узлы. Это может рассматриваться в качестве потенциальных факторов неблагоприятного прогноза течения РЩЖ [22].

CXCR4 и CXCL12. CXCL12 представляет собой небольшой цитокин, принадлежащий к семейству хемокинов CXС, также известный как SDF-1 (фактор 1, полученный из стромальных клеток). CXCR4 представляет собой семитрансмембранный рецептор, связанный с G-белком (GPCR), кодируемый геном *CXCR4*. При связывании с CXCL12 CXCR4 запускает нижестоящие сигнальные каскады через гетеротримерные G-белки, что приводит к активации нескольких внутриклеточных сигнальных путей, включая фосфатидилинозитол-3-киназу (PI3K)/Akt, митоген-активируемую протеинкиназу (MAPK) и кальциевые пути. Вероятно, при РЩЖ сигнальная ось CXCL12 / CXCR4 путем активации сигнальных путей способствует метастазированию опухоли за счет усиления миграции и инвазии раковых клеток в отдаленные участки [23].

Согласно исследованию, совместная экспрессия CXCR4/CXCL12 положительно коррелирует с метастазами ПР ЩЖ в лимфатические узлы, тогда как высокая экспрессия CXCR4 или CXCR7 сочетается с прогрессивным ростом узла как при ПР ЩЖ, так и фолликулярном раке (ФР) ЩЖ [24].

TIMP-1, -2 являются секреторными белками, специфическими ингибиторами MMP. Механизм ингибирования осуществляется как на уровне активации проферментов, так и на моменте активации MMP. Предполагается, что функцией TIMP является подавление всех изменений, вызываемых MMP (увеличение размера, числа опухолей, активация ангиогенеза). Однако информация о роли TIMP в онкогенезе неоднозначна. В некоторых исследованиях отмечена сверхэкспрессия белков TIMP-1, TIMP-2, что было ассоциировано с повышенным риском рецидива опухоли [25]. Также наблюдается значимая корреляция белков группы TIMP с большим размером опухоли, поздней клинической стадией, а также повышенной интратиреоидной и сосудистой инвазиями [26].

HBME-1. Представляет собой моноклональное антитело, которое первоначально было предназначено для идентификации мезотелиальных клеток. Недавние исследования доказали, что высокая экспрессия HBME-1 имеет наиболее важное диагностическое значение в определении агрессивного течения ПР ЩЖ [27, 28]. Однако роль экспрессии HBME-1 в контексте ФР ЩЖ остается дискуссионной темой в научной литературе. В ряде исследований отмечается диагностическая значимость данного белка, в то время как в других она отрицается [29, 30].

CD56. CD56 или молекула адгезии нервных клеток представляет собой гомофильный мембранный гликопротеин. Эта молекула адгезии из суперсемейства иммуноглобулинов, которая обычно экспрессируется на поверхности нейронов, глии, клеток скелетных мышц и естественных клеток-киллеров. Также экспрессия CD56 присутствует в нормальных фолликулярных клетках ЩЖ и теряется при злокачественных поражениях ЩЖ. Считается, что CD56 участвует в регуляции клеточной подвижности, гомофильной связи между нейронами, а его экспрессия может влиять на миграционную способность опухолевых клеток. Согласно результатам недавних ис-

следований, сниженная экспрессия CD56 коррелирует со злокачественным потенциалом новообразований ЩЖ, что может иметь диагностическую ценность при дифференциальной диагностике ПР ЩЖ и ее доброкачественных поражений, при которых экспрессия этого белка нормальная или высокая [31, 32].

Галектин-3. Галектин-3 представляет собой белок, принадлежащий к семейству галектинов, которые представляют собой β -галактозидсвязывающие лектины, участвующие в биологических процессах клетки (адгезия, пролиферация, дифференцировка, апоптоз); он способен экспрессироваться как внутриклеточно, так и во внеклеточном матриксе. Аберрантная экспрессия галектина-3 в нормальных клетках ЩЖ блокирует программу апоптоза, в результате позволяет накапливать мутации ДНК и молекулярные изменения, которые, в свою очередь, способствуют развитию рака [33]. Наиболее изучены у человека галектин-1, -3 и -9. В литературе описана роль галектинов при различных аутоиммунных заболеваниях, патологии почек, опухолевых процессах, включая онкогематологические заболевания и солидные опухоли. В нескольких исследованиях было зафиксировано, что галектин-3 является потенциальным маркером РЩЖ [34]. Чаще экспрессия данного маркера наблюдается при ПР ЩЖ, возможность использования экспрессии галектина-3 в диагностике ФР ЩЖ на сегодняшний день неоднозначна [28]. К примеру, по данным проведенного иммуногистохимического исследования, между тканями фолликулярных новообразований ЩЖ обнаружено, что галектин-3 определялся в 100% случаев при ФР ЩЖ и в 22,5% случаев при фолликулярной аденоме (ФА). Вероятно, выявление галектина-3 в ткани ФА с выраженным полиморфизмом при отсутствии инвазии коррелирует с его выявлением в ткани фолликулярной опухоли неопределенного злокачественного потенциала [76].

VEGF-C. Белки, относящиеся к семейству VEGF, представляют собой гликопротеины, основными функциями которых являются стимуляция ангиогенеза и лимфогенеза, что увеличивает способность злокачественных новообразований к метастазированию в лимфатические узлы [35, 36, 37].

bFGF. Является многофункциональным регуляторным пептидом, который играет важную роль в стимуляции роста новых капилляров (ангиогенезе), а также в пролиферации и митозе клеток. bFGF активирует пролиферацию в клетках эндотелия с другими ангиостимулирующими факторами за счет связывания со специфическими трансмембранными и внутрицитоплазматическими рецепторами. Данное взаимодействие стимулирует выброс опухолевыми клетками различных протеолитических ферментов и коллагеназ, что способствует метастазированию и инфильтрации. По некоторым данным, наблюдается, что высокая экспрессия bFGF коррелирует с более агрессивным течением карцином ЩЖ [38]. Этот белок играет решающую роль в росте, пролиферации и дифференцировке клеток.

Существует постоянно увеличивающийся список потенциальных биомаркеров, которые могут стать определяющими в дополнительной дифференциальной диагностике новообразований щитовидной железы (табл. 1), однако еще нет указаний на конкретные диагностические панели.

Таблица 1. Потенциальные белковые биомаркеры рака щитовидной железы, выявленные с помощью протеомного анализа

Белковый маркер	Сопоставление уровня экспрессии с клинико-патологическими характеристиками	Группы исследования	Материал исследования	Метод исследования	Количество	Ref.
ISG15, PLXNB2	Уровни были значительно повышены у пациентов с ПР ЩЖ или ФА по сравнению со здоровой группой и пациентами с многоузловой гиперплазией	ПР ЩЖ/ многоузловая гиперплазия/ФА	плазма	MS	58	[63]
S100A6	Более высокая экспрессия ПР ЩЖ по сравнению с другими группами опухолей или нормальной тканью	ПР ЩЖ/ФР ЩЖ/ ФА	ткань	SELDI-TOF-MS	29	[64]
C3, KRT10, C4A и APOH	У ПР ЩЖ по сравнению со здоровыми субъектами наблюдалась повышенная экспрессия	ПР ЩЖ	плазма	2D-гель-электрофорез, MALDI-TOF-TOF	37	[51]
C3, KRT10, C4A и AHSB	В группе ПР ЩЖ по сравнению с многоузловой гиперплазией наблюдалась повышенная экспрессия	ПР ЩЖ/ многоузловая гиперплазия	плазма	2D-гель-электрофорез, MALDI-TOF-TOF	37	[51]
CFHR1	CFHR1 имел более высокую диагностическую эффективность при различии пациентов с медуллярным раком ЩЖ и пациентов с ПР ЩЖ	ПР ЩЖ/ медуллярный рак ЩЖ	плазма	DIA-MS	54	[65]
PDLIM5	Сообщается, что он может способствовать развитию ПР ЩЖ за счет усиления сигнального каскада Ras/ERK	ПР ЩЖ	ткань	ВЭЖХ-МС/МС	6	[15]
MT4-MMP, MT6-MMP	Более высокие уровни как у ПР ЩЖ, так и у многоузловой гиперплазии по сравнению со здоровой группой	ПР ЩЖ/ многоузловая гиперплазия/ здоровая группа	плазма	ИФА	82	[66]
LCAT, GPX3 and leukotriene B4	Более высокие уровни у ПР ЩЖ в отличие от многоузловой гиперплазии	ПР ЩЖ/ многоузловая гиперплазия	плазма	DIA-MS	35	[67]
FN1 (CHI3L1)	Сверхэкспрессированы в опухолевых тканях по сравнению со здоровой группой	ПР ЩЖ	ткань	ВЭЖХ-МС/МС	10	[41]
galectin-3, cytokeratin 19, and cathepsin B, peroxiredoxin 2, HSP 70	Сверхэкспрессируются в ПР ЩЖ в сравнении со здоровой группой	ПР ЩЖ	ткань	2D-гель-электрофорез	5	[68]
A1AT, A1B, APOA4, AHSB	Более высокие уровни A1AT и A1B были обнаружены у ПР ЩЖ без зоба в сравнении с зобом, тогда как ПР ЩЖ с зобом в сравнении с зобом был связан с повышенным содержанием APOA4 и AHSB	ПР ЩЖ с зобом/ ПР ЩЖ без зоба/ зоб	Плазма ткань	2D-гель-электрофорез	34	[69]

Продолжение таблицы 1

Белковый маркер	Сопоставление уровня экспрессии с клинико-патологическими характеристиками	Группы исследования	Материал исследования	Метод исследования	Количество	Ref.
complement C4A/B	В результате комплемент C4A/B идентифицирован как потенциальный маркер для диагностики ПР ЩЖ	ПР ЩЖ	плазма	MALDI-TOF-MS	168	[48]
CHCHD2, SUCLG2, STOML2, C21orf33, FH, HSD17B10 и ETFB	Могут являться потенциальными кандидатами в биомаркеры для дифференциальной диагностики ФА с ФР ЩЖ	ФА/ФР ЩЖ	ткань	ВЭЖХ-МС/МС	-	[57]
ANXA1	Количественные результаты экспрессии ANXA1 показали, что он может являться многообещающим биомаркером для различения фолликулярного подтипа ПР ЩЖ от ФА и ФР ЩЖ	Фолликулярный подтип ПР ЩЖ/ФА/ФР ЩЖ	ткань	DIA-MS	34	[58]
E-cadherin	Снижение экспрессии E-cadherin в ПР ЩЖ по сравнению с нормальными тканями и тканями ФА	ПР ЩЖ/ФА	ткань	ВЭЖХ-МС/МС	32	[70]
GC, HP, APOH, ORM2, TTR	У ПР ЩЖ по сравнению со здоровыми субъектами наблюдалась сниженная экспрессия	ПР ЩЖ	плазма	2D-гель-электрофорез, MALDI-TOF-TOF	37	[51]
GC, HP, APOA4, IGKV3-20, IGKC	В группе ПР ЩЖ по сравнению с многоузловой гиперплазией было обнаружено снижение белков	ПР ЩЖ/многоузловая гиперплазия	плазма	2D-гель-электрофорез, MALDI-TOF-TOF	37	[51]
Cathepsin B, ATP synthase D chain, prohibitin	При ПР ЩЖ наблюдалась сверхэкспрессия D-цепи АТФ-синтазы и прогибина, что позволяет дифференцировать от ФР ЩЖ	ФА/ФР ЩЖ/ПР ЩЖ	ткань	2D гель-электрофорез	-	[71]
14-3-3 protein beta/alpha, epsilon, and zeta/delta, peroxiredoxin 6, selenium-binding protein 1, protein disulfide-isomerase precursor, annexin A5, tubulin alpha-1B chain, α1-antitrypsin precursor	Результаты обладали прогностической способностью между ФР ЩЖ и ФА или ФР ЩЖ и ПР ЩЖ	ФА/ФР ЩЖ/ПР ЩЖ	ткань	2D гель-электрофорез	39	[72]

Окончание таблицы 1

Белковый маркер	Сопоставление уровня экспрессии с клинико-патологическими характеристиками	Группы исследования	Материал исследования	Метод исследования	Количество	Ref.
S100-A6, vimentin, cytoplasmic actin 1, prelamin A/C, 60S ribosomal protein L6 and L8	Анализ позволил дифференцировать НИФТП от нормальной ткани ЩЖ. Пептидные профили НИФТП и фолликулярного подтипа ПР ЩЖ оказались схожими	Фолликулярный подтип ПР ЩЖ/НИФТП	ткань	MALDI MSI	21	[73]
TGFβ-induced protein ig-h3	TGFBI часто сверхэкспрессируется при ФР ЩЖ по сравнению с ФА	ФР ЩЖ/ФА/ПР ЩЖ	ткань	ВЭЖХ-МС/МС	32	[70]
Члены комплекса Arp2/3, IQGAP1	Белок IQGAP1 значительно увеличивается при ПР ЩЖ, тогда как белок IQGAP2 высоко экспрессируется при поражениях фолликулярного подтипа ПР ЩЖ	Фолликулярный подтип ПР ЩЖ/ПР ЩЖ	ткань	ВЭЖХ-МС/МС	18	[74]
SRC, TLN1, ITGB2, CAPNS1	Результаты выявили сверхэкспрессию специфических белков у пациентов с ПР ЩЖ с метастазами в лимфатические узлы	ПР ЩЖ с/без метастазами в лимфатические узлы	Экзосомы, полученные из сыворотки	ВЭЖХ-МС/МС	49	[75]

Комментарии. Компонент комплемента 3 (C3), компонент комплемента C4a (C4A), цитокератин 10 (KRT10), бета-2-гликопротеин 1 (APOH), витамин D-связывающий белок (GC), гаптоглобин (HP), транстиретин (TTR), аполипопротеин A4 (APOA4), альфа-1-кислый гликопротеин 2 (ORM2), альфа-2-HS-гликопротеин (AHSG), переменная каппа иммуноглобулина 3–20 (IGKV3-20) и константа каппа иммуноглобулина (IGKC). Убиквитиноподобный белок 15 (ISG15), плексин-B2 (PLXNB2). TGFβ-индуцированный белок ig-h3 (TGFBI). Белок 1, родственный фактору H комплемента (CFHR1), фибронектин (FNC), цитоплазматический актин 1 (ACTB1), преламин-A/C (LMNA), родственный белок теплового шока 71kDa (HSP7C) и изофермент 1 аденилатциклазы (KAD1), галектин-3, цитокератин 19 и катепсин В, пероксиредоксин 2. Матриксная металлопротеиназа-2 (MMP-2). Альфа-1-антитрипсин (A1AT), аполипопротеин A-IV и альфа-2-HS-гликопротеин (AHSG). Альфа-1- бета-гликопротеин (A1B), аполипопротеин A-IV (APOA4). Фибронектина 1 (FN1), гелзолина (GSN) и UDP-глюкозо-4-эпимеразы (GALE). Митохондриальный белок CHCHD2, бета-субъединица сукцинил-КоА лигазы (SUCLG2), митохондриальный стоматин-подобный белок-2 (STOML2), митохондриальный гомолог белка E51 (C21orf33), митохондриальная фумарат-гидратаза (FH), 3-гидроксацил-КоА дегидрогеназа типа-2 (HSD17B10) и флавопротеин (ETFB). Аннексин A1 (ANXA1). 14–3-3 белки бета/альфа, эпсилон и зета/дельта, пероксиредоксин 6, селенсвязывающий белок 1, предшественник протеиндисульфид-изомеразы, аннексин A5, цепь тубулина альфа-1B, предшественник α1-антитрипсина. S100-A6, виментин, цитоплазматический актин 1, преламин A/C, 60S рибосомальный белок L6 и L8. TGFβ-индуцированный белок ig-h3 (TGFBI).

MALDI-MSI — масс-спектрометрическая визуализация с использованием матричной лазерной десорбции/ионизации. 2D-гель-электрофорез, двумерный гель-электрофорез. ЖХ-МС/МС, tandemная масс-спектрометрия, связанная с жидкостной хроматографией. SELDI-TOF MS, времяпролетная масс-спектрометрия с лазерной десорбцией/ионизацией с усиленной поверхностью. Масс-спектрометрия с независимым сбором данных (DIA-MS).

1.2. МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ПРОТЕОМНОГО АНАЛИЗА

Одним из основных методов протеомного анализа является масс-спектрометрия, которая позволяет установить качественный и количественный состав белков в исследуемом образце. Этот метод может использоваться автономно либо в сочетании с жидкостной хроматографией (ЖХ) или капиллярным электрофорезом (КЭ). Одним из ключевых процессов масс-спектрометрического анализа является ионизация образца — получение заряженных частиц анализируемого вещества для дальнейшего разделения их по отношению массы к заряду в масс-анализаторе. Для этого используются источники ионизации, которые различаются по конструкции и дают на выходе разные типы ионов.

Матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация (MALDI) — один из автономных методов в масс-спектрометрии, основанный на ионизации веществ в образце под действием лазерного излучения при содействии легко ионизируемого вещества — матрицы, которая берется в избытке. Это один из немногих масс-спектрометрических методов, который в сочетании с времяпролетным масс-анализатором (Time-of-Flight, TOF) позволяет анализировать белки в нативном виде и получать их однозарядные молекулярные ионы и, следовательно, определять непосредственно молекулярную массу. Существует разновидность этого метода, в которой для специфического связывания белков используется модифицированная поверхность. Сопутствующие компоненты образца при этом могут быть удалены промывкой. Такая разновидность называется

лазерная десорбция/ионизация, усиленная поверхностью (Surface-enhanced laser desorption/ionization, SELDI). Еще один вариант десорбционных методов ионизации использует пучок быстрых ионов, направленных на поверхность с нанесенным образцом. Ионы образуются в результате переноса заряда с направленных на поверхность ионов к анализируемым веществам в образце. Такой метод называется масс-спектрометрия вторичных ионов (Secondary Ion Mass Spectrometry, SIMS). Несмотря на высокое пространственное разрешение, этот метод не получил широкого распространения ввиду высокого уровня фрагментации образующихся ионов и некоторых технических особенностей.

Принципиально другой подход для получения ионов основан на распылении раствора анализируемых веществ в электрическом поле или в область с большой концентрацией заряженных частиц. Один из наиболее распространенных таких методов — ионизация электрораспылением (Electrospray Ionization, ESI) — основан на получении заряженных частиц в растворе, который распыляется из тонкого капилляра, находящегося под высоким напряжением (1–5,5 кВ), при содействии нескольких потоков инертного газа.

Этот метод хорошо сочетается с высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ) и капиллярным электрофорезом, но также может быть использован автономно без дополнительных технических приспособлений. При этом анализируемый образец подают в источник ESI в виде раствора. Такой вариант использования масс-спектрометрии называют регистрацией спектра с прямым вводом образца (Direct Injection Acquisition, DIA). В результате ионизации электрораспылением белковые молекулы способны образовывать многозарядные ионы, благодаря чему их наблюдаемая масса уменьшается кратно заряду иона, поскольку масс-анализаторы определяют отношение массы к заряду. В итоге ионизированные молекулы могут быть зафиксированы на достаточно низких массах, однако из-за образования большого количества многозарядных ионов интенсивность каждого из них будет крайне низкой, что связано с распределением исходного количества анализируемого вещества на большое количество ионов с разным зарядом. Тем не менее ионизация электрораспылением находит применение для анализа белковых фрагментов. Для того чтобы зафиксировать и идентифицировать белковую молекулу, образец подвергается протеолизу при помощи протеиназ — ферментов, селективно разрушающих пептидные связи. Обычно в этом процессе используют трипсин, пепсин, химотрипсин и т.д. Наибольшее распространение получил трипсин, так как он селективно разрушает пептидные связи, образованные лизином или аргинином в качестве карбоксильной компоненты. При этом образуются так называемые триптические пептиды, имеющие массу до 3 кДа. Наличие в аминокислотной последовательности лизина или аргинина приводит к тому, что при ионизации электрораспылением происходит образование двузарядных ионов за счет протонирования основных центров в голове пептида и в боковой цепи вышеуказанных аминокислот. При этом наблюдаемая масса оказывается вдвое ниже и может быть зафиксирована стандартными tandemными масс-спектрометрами высокого разрешения. Проведение принудительной

фрагментации ионов триптических пептидов позволяет получить спектр фрагментных ионов, который используется для установления их аминокислотной последовательности. Она же в свою очередь может быть применена для восстановления сиквенса исходного белка. Характеристичные триптические пептиды также могут быть использованы для абсолютного количественного анализа целевых белков, даже если они находятся в очень сложной по составу смеси. Для этого применяются методы высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС) и капиллярного электрофореза с масс-спектрометрией (КЭ-МС/МС) с источником ионизации ESI, которые позволяют разделить между собой триптические пептиды и провести количественный анализ.

Кроме этого, ионизация электрораспылением может выступать в качестве основы десорбционного метода: при направлении спрея, несущего заряженные частицы, на поверхность может происходить вторичная ионизация, аналогично методу SIMS, однако в данном случае не наблюдается существенной фрагментации образующихся ионов. Такой метод получил название «десорбционная электрораспылительная ионизация» (Desorption Electrospray Ionization, DESI).

Описанные выше масс-спектрометрические методы могут применяться не только для анализа индивидуальных белков или их смесей, но и для анализа более сложных объектов. Масс-спектрометрическая визуализация (Mass spectrometry imaging, MSI) — это эффективный инструмент для построения поверхностной картины образца по его масс-спектрам, полученным в точках по всей его площади. Он основан на точечной ионизации образца с шагом 10–50 мкм одним из трех методов: MALDI, DESI или SIMS. При этом ионизации точечно пошагово подвергается вся поверхность образца, которым может выступать тонкий срез опухолевой ткани. Особым преимуществом MSI в исследованиях опухолевых тканей является выделение молекулярных профилей для определенных типов клеток, то есть молекулярно-клеточное типирование. Такой подход является весомым дополнением к иммуногистохимическим методам и позволяет в совокупности с ними получать существенно больше информации об образцах исследуемых тканей и, следовательно, о происходящих в них патологических процессах.

2.1. ПАПИЛЛЯРНЫЙ РАК ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

ПР ЩЖ является наиболее распространенной формой злокачественного новообразования ЩЖ [39].

В имеющихся исследованиях выявляли белковые биомаркеры в тканях или клеточных линиях, применяя SELDI-TOF-MS для анализа различий в уровнях белка между РЩЖ и контрольными образцами тканей. Они показали, что различия в профилях экспрессии белка в тканях не эквивалентны таковым в сыворотке, что указывает на то, что протеомные исследования ткани не репрезентативны для поиска маркеров ранней диагностики [40].

Многочисленные работы по анализу экспрессии генов в тканях ПР ЩЖ указывают на потенциально ценные в диагностике этого заболевания белки-маркеры. Так, в качестве маркера ПР ЩЖ интерес может представлять

фибронектин-1 (продукт гена FN1) и хитиназо-3-подобный белок 1 (продукт гена CHI3L1). Они были значительно сверхэкспрессированы в опухолевых тканях по сравнению с уровнями, наблюдаемыми в нормальных тканях ЩЖ [41, 42, 43]. Ростовой фактор дифференциации 15 (продукт гена *GDF15*) не только сверхпродуцируется в тканях ПР ЩЖ, но и циркулирует в плазме крови пациентов с раком в большей концентрации по сравнению со здоровыми пациентами. Экспрессия *GDF15* связана с активацией ответа митохондриального интегрированного пути на стресс у пациентов с ПР ЩЖ. При этом активация *STAT3*, индуцированная *GDF15*, определяет прогрессирование опухоли при РЩЖ и сигнальная ось *GDF15*-*STAT3* рассматривается как мишень агрессивности [44].

Ингибитор сериновой протеазы (*SERPINE2*) и секреторный ингибитор протеазы лейкоцитов (*SLPI*) могут играть значительную роль в развитии ПР ЩЖ, оценка их концентрации в сыворотке крови рассматривается как маркер для дифференциации новообразований во время предоперационной диагностики с опухолью ЩЖ [45]. В некоторых исследованиях представлены данные по уровням *MMP2*, *MMP9*, *TIMP1* и *TIMP2*, которые достоверно выше в периферической крови пациентов с РЩЖ, чем у пациентов с доброкачественными образованиями в ЩЖ [46]. *MMP 2* и *MMP 9* могут специфически разрушать коллаген типа IV (основной компонент внеклеточного матрикса, который является основным барьером на пути метастазирования опухоли). Более того, они считаются наиболее непосредственными и важными *MMP* в процессе инвазии и метастазирования опухоли. *TIMP2* предотвращает самоактивацию *MMP2* главным образом за счет образования стабильных комплексов с предшественником *MMP2* или напрямую ингибирует каталитическую активность *MMP2* путем объединения с ним. *TIMP1* в свою очередь является специфическим ингибитором *MMP9*.

Группа ученых провела комплексный анализ тканевых и сывороточных протеомов пациентов с ПР ЩЖ и здоровой контрольной группой, по результатам которого более высокая экспрессия наблюдалась у FN1, гельзолина (*GSN*) и UDP-глюкозо-4-эпимеразы (*GALE*). FN1 — гликопротеин, который является важным компонентом внеклеточного матрикса, участвует в прогрессировании и метастазировании рака, резистентности к терапии. *GALE* представляет собой гликозилтрансферазу. *GSN* — цитоскелетный белок, который может индуцировать передачу сигналов эпителиально-мезенхимального перехода и последующей инвазии опухоли [47]. В другом исследовании были взяты образцы сыворотки пациентов с ПР ЩЖ и сыворотки контрольной группы (без ПР ЩЖ). В результате комплемент C4A/B был идентифицирован как потенциальный маркер для диагностики ПР ЩЖ [48]. Также обнаружили, что CFHR1 демонстрировал высокую диагностическую эффективность при дифференциальной диагностике медуллярного и папиллярного рака ЩЖ [49]. Белок CFHR1 блокирует активность конвертазы C5 и препятствует поверхностной ассоциации C5b, регулируя систему комплемента [50].

В ряде случаев при ПР ЩЖ может выявляться сопутствующая патология, такая как многоузловой или одноузловой зоб. По данным исследования, наблюдается, что

при таком сочетании прослеживается различия в наборе белков, выявляемых как в ткани, так и в сыворотке. Более высокие уровни альфа-1 антитрипсина (A1AT) и белка теплового шока 70 кДа или содержание A1AT и альфа-1-бета-гликопротеина были связаны с ПР ЩЖ без зоба, более низкие уровни A1AT, протеиндисульфидизомеразы и убиквитин-конъюгирующего фермента E2n или повышенное содержание аполипопротеина A-IV (APOA4) и альфа-2-HS гликопротеина (AHSG) казались очевидными при ПР ЩЖ с зобом [40].

Эти отличия лежат в основе предположения о том, что ПР ЩЖ с зобом и без имеют абсолютно разную белковую природу. Однако следует отметить, что содержание этих белков может зависеть от различных физиологических условий. Например, уровни белков острой фазы вариабельны в ответ на инфекцию, воспаление или повреждение тканей.

Нельзя не отметить, что в нескольких исследованиях наблюдалось снижение уровня APOA4 у пациентов с ПР ЩЖ по сравнению с людьми, имеющими доброкачественные новообразования, а также со здоровыми участниками из контрольной группы. Среди других потенциальных белковых маркеров представляет интерес компонент комплемента 3 (C3), компонент комплемента C4a (C4A), согласно результатам, наблюдалась сверхэкспрессия белков в группе пациентов с ПР ЩЖ по сравнению как с многоузловой гиперплазией, так и со здоровыми пациентами. [47, 51]. Предполагается, что иммунная система комплемента активируется при раке и в ответ на экспрессию опухолеассоциированных антигенов. Белки комплемента, секретируемые опухолевыми клетками, стимулируют рост раковых клеток посредством активации аутокринных путей, таких как передача сигналов PI3K/Akt. Они также участвуют в ангиогенезе, межклеточных коммуникациях, миграции клеток и эпителиально-мезенхимальном переходе [51].

Белок сосудистой адгезии-1 (VAP-1) представляет собой гликопротеин, который опосредует адгезию и перенос лейкоцитов к местам воспаления. По данным уровня VAP-1, в сыворотке у пациентов с РЩЖ и доброкачественными аденомами ЩЖ было обнаружено, что уровни VAP-1 в сыворотке крови в группе РЩЖ были значительно ниже, чем в здоровой контрольной группе и группе доброкачественных узлов. И это отрицательно коррелировало с концентрацией тиреоглобулина в сыворотке крови у пациентов с РЩЖ [52]. Стоит отметить, что исследование, проведенное в 2019 г., также подтвердило его ценность в качестве потенциального маркера [53].

В последнее время особое внимание уделяется экзосомам — небольшим эндосомальным мембранным микровезикулам, они содержат функциональные биомолекулы (включая белки, РНК, ДНК и липиды), которые могут быть горизонтально перенесены в клетки-реципиенты с сохранением их функции [54]. Кроме того, вероятно, экзосомы, выделяемые опухолью, участвуют в метастазировании рака, но каким образом они опосредуют метастазирование ПР ЩЖ, остается неизвестным. Учитывая, что результаты микрочипов не могут полностью отражать изменения белка в результате посттранскрипционной и посттрансляционной

регуляции, используются протеомные подходы для изучения дифференциально экспрессируемых очищенных белков из сыворотки крови пациентов с ПР ЩЖ. В исследовании проведен протеомный анализ между группами с ПР ЩЖ и метастазами в лимфатические узлы и без них. В результате наблюдалась сверхэкспрессия белков в сывороточных экзосомах (нерецепторная тирозинпротеинкиназа (SRC), талин-1 (TLN1), интегрин бета-2 (ITGB2) и малая субъединица 1 кальпаина (CAPNS1) у пациентов с ПР ЩЖ и метастазами в лимфатические узлы [55]. Также сообщалось, что ингибиторы SRC уменьшают инвазию и пролиферацию клеток ПР ЩЖ [56]. Возможно, SRC играет центральную роль в экзосомальном метастазировании ПР ЩЖ и может считаться потенциальной мишенью для лечения ПР ЩЖ.

Большинство из вышеперечисленных молекул соответствуют нескольким заболеваниям одновременно, поэтому нельзя полагаться на один из них для диагностики ПР ЩЖ, но, возможно, в сочетании можно достовернее дифференцировать новообразования. Наиболее многообещающими маркерами являются MMP, CFHR1, GDF15, FN1.

2.2. Фолликулярные новообразования щитовидной железы

Гораздо меньше исследований проводится по дифференциальной диагностике ФА и ФР ЩЖ. ФР ЩЖ возникает из фолликулярных клеток, имеющих капсулярную и сосудистую инвазию, в отличие от ФА, которая имеет доброкачественные характеристики. Таким образом, отличить эти образования на основании цитологических исследований сложно.

Недавно, в проведенном исследовании состояла задача обнаружения белковых биомаркеров-кандидатов, позволяющих отличить ФА от ФР ЩЖ. В результате было выявлено 7 потенциальных кандидатов в биомаркеры: митохондриальный белок *CHCHD2*, бета-субъединица сукцинил-КоА лигазы (*SUCLG2*), митохондриальный стоматин-подобный белок-2 (*STOML2*), митохондриальный гомолог белка *E51 (C21orf33)*, митохондриальная фумарат-гидратаза (*FH*), 3-гидроксиацил-КоА дегидрогеназа типа-2 (*HSD17B10*) и флавопротеин (*ETFB*). Помимо использования жидкостной хроматографии-тандемной масс-спектрометрии, проведено иммуногистохимическое окрашивание, по данным которого *SUCLG2* и *ETFB* успешно коррелирует с данными протеомного анализа, показывая, что *SUCLG2* обладает чувствительностью 75% и специфичностью 80% для дифференциации ФА и ФР ЩЖ. Однако требуется дополнительная валидация на более крупных выборках [57].

Также диагностика узлов ЩЖ с фолликулярными морфологическими характеристиками, таких как ФА, ФР ЩЖ, фолликулярного подтипа ПР ЩЖ, всегда представляла собой сложную задачу; в исследовании количественные результаты экспрессии *ANXA1* показали, что он может являться репрезентативным биомаркером для дифференциальной диагностики фолликулярной карциномы, аденомы и фолликулярного подтипа ПР ЩЖ [58]. По вопросу о различиях пептидных профилей у неинвазивной фолликулярной опухоли щитовидной железы с папиллярно-ядерными признаками (НИФТП), инкапсулирован-

ного и фолликулярного подтипа ПР ЩЖ, проведено исследование с помощью MALDI MSI, в результате которого их нельзя было отличить, но применение этого метода позволило дифференцировать НИФТП от нормальной ткани ЩЖ [59].

В одном из исследований определили аутоантитела TCP-1 ζ как потенциальный биомаркер для дооперационной диагностики доброкачественных и злокачественных инкапсулированных фолликулярных новообразований ЩЖ [60]. TCP-1 ζ — повсеместно экспрессируемая субъединица кольцевого комплекса TCP-1, способствующая сворачиванию цитозольных белков. В нескольких отчетах TCP-1 ζ был вовлечен в канцерогенез [61].

Аутоантитела, специфичные к опухлеассоциированным антигенам, в настоящее время являются интенсивно изучаемым классом биомаркеров злокачественных опухолей. В целях поиска дополнительных индикаторов в предоперационной дифференциальной диагностике опухолей ЩЖ исследован диагностический потенциал панели из трех рекомбинантных аутоантигенов — ANKRD30A/NY BR 1, RGS5 и KIAA1864/HYDIN. В результате показатель диагностической чувствительности составил 100%, специфичности — 65% и точности — 80%. Была продемонстрирована возможность улучшения диагностических характеристик между пациентами с ФА и дифференцированным раком ЩЖ [62].

В заключение отметим, что фолликулярные новообразования ЩЖ остаются диагностической дилеммой для патологоанатомов и клиницистов, наиболее потенциальным биомаркером может являться *SUCLG2*, но требуется проведение дополнительных исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Широкая распространенность заболеваний ЩЖ, в частности высокодифференцированного РЩЖ, обуславливает необходимость поиска дополнительных методов диагностики, обладающих высокой эффективностью. Учитывая сложности дооперационной дифференциальной диагностики некоторых новообразований ЩЖ, недостоверность полученных данных до 34%, является крайне важным поиск новых биомаркеров. Сегодня активно выявляются новые специфичные белковые маркеры, что позволит в последующем создать валидированные панели для внедрения в обязательное предоперационное исследование пациентов с новообразованиями ЩЖ.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источники финансирования. Работа выполнена при финансировании гранта Минобрнауки, соглашение 075–15–2022–310 от 20.04.2022.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с содержанием настоящей статьи.

Вклад авторов. Авторы декларируют соответствие своего авторства международным критериям ICMJE. Все авторы в равной степени участвовали в подготовке публикации: разработка концепции статьи, получение и анализ фактических данных, написание и редактирование текста статьи, проверка и утверждение текста статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Siegel RL, Miller KD, Wagle NS, Jemal A. Cancer statistics, 2023. *CA Cancer J Clin*. 2023;73(1):17-48. doi: <https://doi.org/10.3322/caac.21763>
2. Pizzato M, Li M, Vignat J, et al. The epidemiological landscape of thyroid cancer worldwide: GLOBOCAN estimates for incidence and mortality rates in 2020. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2022;10(4):264-272. doi: [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(22\)00035-3](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(22)00035-3)
3. Li M, Maso LD, Vaccarella S. Global trends in thyroid cancer incidence and the impact of overdiagnosis. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2020;8(6):468-470. doi: [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(20\)30115-7](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(20)30115-7)
4. Kim J, Gosnell JE, Roman SA. Geographic influences in the global rise of thyroid cancer. *Nat Rev Endocrinol*. 2020;16(1):17-29. doi: <https://doi.org/10.1038/s41574-019-0263-x>
5. Uppal N, Collins R, James B. Thyroid nodules: Global, economic, and personal burdens. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023;14. doi: <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1113977>
6. Alexander EK, Cibas ES. Diagnosis of thyroid nodules. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2022;10(7):533-539. doi: [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(22\)00101-2](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(22)00101-2)
7. Horvath E, Majlis S, Rossi R, et al. An ultrasonogram reporting system for thyroid nodules stratifying cancer risk for clinical management. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2008-1724>
8. Russ G, Bonnema SJ, Erdogan MF, Durante C, Ngu R, Leenhardt L. European Thyroid Association Guidelines for Ultrasound Malignancy Risk Stratification of Thyroid Nodules in Adults: The EU-TIRADS. *Eur Thyroid J*. 2017;6(5):225-237. doi: <https://doi.org/10.1159/000478927>
9. Trimboli P, Ngu R, Royer B, et al. A multicentre validation study for the EU-TIRADS using histological diagnosis as a gold standard. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2019;91(2):340-347. doi: <https://doi.org/10.1111/cen.13997>
10. Ali SZ, Baloch ZW, Cochand-Priollet B, Schmitt FC, Vielh P, VanderLaan PA. The 2023 Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology. *Thyroid*. July 2023. doi: <https://doi.org/10.1089/thy.2023.0141>
11. Medina Chamorro FM, Calle JA, Stein JE, Merchancano L, Mendoza Briñez AM, Pulido Wilches AA. Experience of the Implementation of Rapid On-Site Evaluation in Ultrasound-Guided Fine-Needle Aspiration Biopsy of Thyroid Nodules. *Curr Probl Diagn Radiol*. 2018;47(4):220-224. doi: <https://doi.org/10.1067/j.cpradiol.2017.06.009>
12. Haugen BR, Alexander EK, Bible KC, et al. 2015 American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer: The American Thyroid Association Guidelines Task Force on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer. *Thyroid*. 2016;26(1):1-133. doi: <https://doi.org/10.1089/thy.2015.0020>
13. Yaprak Bayrak B, Eruyar AT. Malignancy rates for Bethesda III and IV thyroid nodules: a retrospective study of the correlation between fine-needle aspiration cytology and histopathology. *BMC Endocr Disord*. 2020;20(1):48. doi: <https://doi.org/10.1186/s12902-020-0530-9>
14. Ban Y, Yamamoto G, Takada M, et al. Proteomic Profiling of Thyroid Papillary Carcinoma. *J Thyroid Res*. 2012;2012:1-7. doi: <https://doi.org/10.1155/2012/815079>
15. Wei X, Zhang Y, Yu S, et al. PDLIM5 identified by label-free quantitative proteomics as a potential novel biomarker of papillary thyroid carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018;499(2):338-344. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.03.159>
16. Farrokhi Yekta R, Arefi Oskouie A, Rezaei Tavirani M, Mohajeri-Tehrani MR, Soroush AR. Decreased apolipoprotein A4 and increased complement component 3 as potential markers for papillary thyroid carcinoma: A proteomic study. *Int J Biol Markers*. 2018;33(4):455-462. doi: <https://doi.org/10.1177/1724600818787752>
17. Sofiadis A, Becker S, Hellman U, et al. Proteomic profiling of follicular and papillary thyroid tumors. *Eur J Endocrinol*. 2012;166(4):657-667. doi: <https://doi.org/10.1530/EJE-11-0856>
18. Wen J, Qin X, Zhang J, et al. Clinical significance of matrix metalloproteinase-9 expression in papillary thyroid carcinoma: a meta-analysis. *World J Surg Oncol*. 2023. doi: <https://doi.org/10.1186/s12957-023-03101-x>
19. Guan H, Guo Y, Liu L, et al. INAVA promotes aggressiveness of papillary thyroid cancer by upregulating MMP9 expression. *Cell Biosci*. 2018;8(1):26. doi: <https://doi.org/10.1186/s13578-018-0224-4>
20. Marečko I, Cvejić D, Šelemetjev S, et al. Enhanced activation of matrix metalloproteinase-9 correlates with the degree of papillary thyroid carcinoma infiltration. *Croat Med J*. 2014. doi: <https://doi.org/10.3325/cmj.2014.55.128>
21. Shi Y, Su C, Hu H, et al. Serum MMP-2 as a potential predictive marker for papillary thyroid carcinoma. Ahmad A, ed. *PLoS One*. 2018;13(6):e0198896. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198896>
22. Ali KM, Awany S, Ibrahim DA, et al. Role of P53, E-cadherin and BRAF as predictors of regional nodal recurrence for papillary thyroid cancer. *Ann Diagn Pathol*. 2019. doi: <https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2019.04.005>
23. Zhu X, Bai Q, Lu Y, et al. Expression and function of CXCL12/CXCR4/CXCR7 in thyroid cancer. *Int J Oncol*. 2016. doi: <https://doi.org/10.3892/ijo.2016.3485>
24. Werner TA, Forster CM, Dizdar L, et al. CXCR4/CXCR7/CXCL12-Axis in follicular thyroid carcinoma. *J Cancer*. 2018. doi: <https://doi.org/10.7150/jca.23042>
25. Zhang W, Song B, Yang T. MMP-2, MMP-9, TIMP-1, and TIMP-2 in the Peripheral Blood of Patients with Differentiated Thyroid Carcinoma. *Cancer Manag Res*. 2019;Volume 11:10675-10681. doi: <https://doi.org/10.2147/CMAR.S233776>
26. Bumber B, Marjanovic Kavanagh M, Jakovcic A, Sincic N, Prstacic R, Prgommet D. Role of matrix metalloproteinases and their inhibitors in the development of cervical metastases in papillary thyroid cancer. *Clin Otolaryngol*. 2020;45(1):55-62. doi: <https://doi.org/10.1111/coa.13466>
27. Cho H, Kim J, Oh YL. Diagnostic value of HBME-1, CK19, Galectin 3, and CD56 in the subtypes of follicular variant of papillary thyroid carcinoma. *Pathol Int*. 2018;68(11):605-613. doi: <https://doi.org/10.1111/pin.12729>
28. Xin Y, Guan D, Meng K, Lv Z, Chen B. Diagnostic accuracy of CK-19, Galectin-3 and HBME-1 on papillary thyroid carcinoma: A meta-analysis. *Int J Clin Exp Pathol*. 2017. Available: <https://doi.org/10.7150/ijcep.69654>
29. Arcolia V, Journe F, Renaud F, et al. Combination of galectin-3, CK19 and HBME-1 immunostaining improves the diagnosis of thyroid cancer. *Oncol Lett*. 2017. doi: <https://doi.org/10.3892/ol.2017.6719>
30. Palo S, Biligi DS. Differential diagnostic significance of HBME-1, CK19 and S100 in various thyroid lesions. *Malays J Pathol*. 2017.
31. Muthusamy S, Azhar Shah S, Abdullah Suhaimi SN, et al. CD56 expression in benign and malignant thyroid lesions. *Malays J Pathol*. 2018.
32. Erdogan-Durmus S, Ozcan D, Yarikaya E, Kurt A, Arslan A. CD56, HBME-1 and cytokeratin 19 expressions in papillary thyroid carcinoma and nodular thyroid lesions. *J Res Med Sci*. 2016. doi: <https://doi.org/10.4103/1735-1995.183986>
33. Bartolazzi A, Sciacchitano S, D'Alessandria C. Galectin-3: The Impact on the Clinical Management of Patients with Thyroid Nodules and Future Perspectives. *Int J Mol Sci*. 2018;19(2):445. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms19020445>
34. Li J, Vasilyeva E, Wiseman SM. Beyond immunohistochemistry and immunocytochemistry: a current perspective on galectin-3 and thyroid cancer. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2019;19(12):1017-1027. doi: <https://doi.org/10.1080/14737140.2019.1693270>
35. Wang C-A, Tsai S-J. The non-canonical role of vascular endothelial growth factor-C axis in cancer progression. *Exp Biol Med*. 2015;240(6):718-724. doi: <https://doi.org/10.1177/1535370215583802>
36. Šelemetjev S, Đorić I, Paunović I, Tatić S, Cvejić D. Coexpressed High Levels of VEGF-C and Active MMP-9 Are Associated With Lymphatic Spreading and Local Invasiveness of Papillary Thyroid Carcinoma. *Am J Clin Pathol*. 2016;146(5):594-602. doi: <https://doi.org/10.1093/ajcp/aqw184>
37. Jang JY, Kim DS, Park HY, et al. Preoperative serum VEGF-C but not VEGF-A level is correlated with lateral neck metastasis in papillary thyroid carcinoma. *Head Neck*. 2019. doi: <https://doi.org/10.1002/hed.25729>
38. Jia ZY, Wu XL, Zhang YH, Ma BL, Ma FC. The correlation between ultrasonographic features, bFGF, and the local invasiveness of thyroid papillary carcinoma. *Med (United States)*. 2020. doi: <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000020644>
39. Kitahara CM, Schneider AB. Epidemiology of Thyroid Cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2022;31(7):1284-1297. doi: <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-21-1440>

40. Abdullah MI, Lee CC, Mat Junit S, Ng KL, Hashim OH. Tissue and serum samples of patients with papillary thyroid cancer with and without benign background demonstrate different altered expression of proteins. *PeerJ*. 2016;4:e2450. doi: <https://doi.org/10.7717/peerj.2450>
41. Wei W, Wu Y, Chen DD, et al. Proteomics profiling for the global and acetylated proteins of papillary thyroid cancers. *Proteome Sci*. 2023. doi: <https://doi.org/10.1186/s12953-023-00207-8>
42. Cheng S, Lee J, Chang Y, Lin C, Li Y, Liu C. Overexpression of chitinase-3-like protein 1 is associated with structural recurrence in patients with differentiated thyroid cancer. *J Pathol*. 2020;252(2):114-124. doi: <https://doi.org/10.1002/path.5503>
43. Sponziello M, Rosignolo F, Celano M, et al. Fibronectin-1 expression is increased in aggressive thyroid cancer and favors the migration and invasion of cancer cells. *Mol Cell Endocrinol*. 2016;431:123-132. doi: <https://doi.org/10.1016/j.mce.2016.05.007>
44. Kang YE, Kim JM, Lim MA, et al. Growth Differentiation Factor 15 is a Cancer Cell-Induced Mitokine That Primes Thyroid Cancer Cells for Invasiveness. *Thyroid*. 2021. doi: <https://doi.org/10.1089/thy.2020.0034>
45. Stępień T, Brożyna M, Kuzdak K, et al. Elevated Concentrations of SERPINE2/Protease Nexin-1 and Secretory Leukocyte Protease Inhibitor in the Serum of Patients with Papillary Thyroid Cancer. *Dis Markers*. 2017;2017:1-5. doi: <https://doi.org/10.1155/2017/4962137>
46. Zhang W, Song B, Yang T. MMP-2, MMP-9, TIMP-1, and TIMP-2 in the Peripheral Blood of Patients with Differentiated Thyroid Carcinoma. *Cancer Manag Res*. 2019;Volume 11:10675-10681. doi: <https://doi.org/10.2147/CMAR.S233776>
47. Ye G, Zhang X, Li M, et al. Integrated analysis of circulating and tissue proteomes reveals that fibronectin 1 is a potential biomarker in papillary thyroid cancer. *BMC Cancer*. 2023;23(1):412. doi: <https://doi.org/10.1186/s12885-023-10839-w>
48. Lu ZL, Chen YJ, Jing XY, Wang NN, Zhang T, Hu CJ. Detection and identification of serum peptides biomarker in papillary thyroid cancer. *Med Sci Monit*. 2018. doi: <https://doi.org/10.12659/MSM.907768>
49. Li D, Wu J, Liu Z, Qiu L, Zhang Y. Novel circulating protein biomarkers for thyroid cancer determined through data-independent acquisition mass spectrometry. *PeerJ*. 2020;8:e9507. doi: <https://doi.org/10.7717/peerj.9507>
50. Hannan JP, Laskowski J, Thurman JM, Hageman GS, Holers VM. Mapping the Complement Factor H-Related Protein 1 (CFHR1):C3b/C3d Interactions. Rooijakkers SH, ed. *PLoS One*. 2016;11(11):e0166200. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0166200>
51. Farrokhi Yekta R, Arefi Oskouie A, Rezaei Tavarani M, Mohajeri-Tehrani MR, Soroush AR. Decreased apolipoprotein A4 and increased complement component 3 as potential markers for papillary thyroid carcinoma: A proteomic study. *Int J Biol Markers*. 2018;33(4):455-462. doi: <https://doi.org/10.1177/11724600818787752>
52. Hu Z, Zhao P, Zhang K, Zang L, Liao H, Ma W. Evaluation of Serum Vascular Adhesion Protein-1 as a Potential Biomarker in Thyroid Cancer. *Int J Endocrinol*. 2016;2016:1-7. doi: <https://doi.org/10.1155/2016/6312529>
53. Baki A, Tosun I, Yıldız M. Can VAP-1 Protein be used as a Biomarker in Thyroid Cancer? *Istanbul Med J*. 2019;20(6):535-540. doi: <https://doi.org/10.4274/imj.galenos.2019.26817>
54. Colombo M, Raposo G, Théry C. Biogenesis, Secretion, and Intercellular Interactions of Exosomes and Other Extracellular Vesicles. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2014;30(1):255-289. doi: <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-101512-122326>
55. Luo D, Zhan S, Xia W, Huang L, Ge W, Wang T. Proteomics study of serum exosomes from papillary thyroid cancer patients. *Endocr Relat Cancer*. 2018;25(10):879-891. doi: <https://doi.org/10.1530/ERC-17-0547>
56. Henderson YC, Toro-Serra R, Chen Y, et al. Src inhibitors in suppression of papillary thyroid carcinoma growth. *Head Neck*. 2014;36(3):375-384. doi: <https://doi.org/10.1002/hed.23316>
57. Lai X, Umbricht CB, Fisher K, Bishop J, Shi Q, Chen S. Identification of novel biomarker and therapeutic target candidates for diagnosis and treatment of follicular carcinoma. *J Proteomics*. 2017. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2017.07.003>
58. Huang D, Zhang H, Li L, et al. Proteotypic Differences of Follicular-Patterned Thyroid Neoplasms. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022. doi: <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.854611>
59. Ucal Y, Tokat F, Duren M, Ince U, Ozpinar A. Peptide Profile Differences of Noninvasive Follicular Thyroid Neoplasm with Papillary-Like Nuclear Features, Encapsulated Follicular Variant, and Classical Papillary Thyroid Carcinoma: An Application of Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry Imaging. *Thyroid*. 2019. doi: <https://doi.org/10.1089/thy.2018.0392>
60. Belousov P V, Bogolyubova A V, Kim YS, et al. Serum immunoproteomics combined with pathological reassessment of surgical specimens identifies TCP-1 ζ autoantibody as a potential biomarker in thyroid neoplasia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2014-4260>
61. Zhu QL, Wang TF, Cao QF, Zheng MH, Lu AG. Inhibition of cytosolic chaperonin CCT ζ -1 expression depletes proliferation of colorectal carcinoma in vitro. *J Surg Oncol*. 2010. doi: <https://doi.org/10.1002/jso.21625>
62. Lashchakov K V, Belousov P V, Vanushko VE, Abrosimov AY, Kuprash D V, Kuznetsov NS. Autoantibody profiling of benign and malignant thyroid tumors and design of a prototype diagnostic array. *Endocr Surg*. 2012;(2):15. doi: <https://doi.org/10.14341/2306-3513-2012-2-15-20>
63. Lu H, Pan Y, Ruan Y, et al. Biomarker Discovery for Early Diagnosis of Papillary Thyroid Carcinoma Using High-Throughput Enhanced Quantitative Plasma Proteomics. *J Proteome Res*. 2023. doi: <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.3c00187>
64. Sofiadis A, Dinets A, Orre LM, et al. Proteomic Study of Thyroid Tumors Reveals Frequent Up-Regulation of the Ca²⁺-Binding Protein S100A6 in Papillary Thyroid Carcinoma. *Thyroid*. 2010;20(10):1067-1076. doi: <https://doi.org/10.1089/thy.2009.0400>
65. Li D, Wu J, Liu Z, Qiu L, Zhang Y. Novel circulating protein biomarkers for thyroid cancer determined through data-independent acquisition mass spectrometry. *PeerJ*. 2020;8:e9507. doi: <https://doi.org/10.7717/peerj.9507>
66. Shirazkeytabar K, Razavi SA, Abooshahab R, et al. Elevated Plasma Levels of MT4-MMP and MT6-MMP; A New Observation in Patients with Thyroid Nodules. *Arch Iran Med*. 2023;26(6):338-345. doi: <https://doi.org/10.34172/aim.2023.51>
67. Sun Z, Feng D, Jiang L, Tian J, Wang J, Zhu W. Integrated proteomic and metabolomic analysis of plasma reveals regulatory pathways and key elements in thyroid cancer. *Mol Omi*. 2023. doi: <https://doi.org/10.1039/d3mo00142c>
68. Brown LM, Helmke SM, Hunsucker SW, et al. Quantitative and qualitative differences in protein expression between papillary thyroid carcinoma and normal thyroid tissue. *Mol Carcinog*. 2006;45(8):613-626. doi: <https://doi.org/10.1002/mc.20193>
69. Abdullah MI, Lee CC, Mat Junit S, Ng KL, Hashim OH. Tissue and serum samples of patients with papillary thyroid cancer with and without benign background demonstrate different altered expression of proteins. *PeerJ*. 2016;4:e2450. doi: <https://doi.org/10.7717/peerj.2450>
70. Martínez-Aguilar J, Clifton-Bligh R, Molloy MP. Proteomics of thyroid tumours provides new insights into their molecular composition and changes associated with malignancy. *Sci Rep*. 2016. doi: <https://doi.org/10.1038/srep23660>
71. Detection of cathepsin B up-regulation in neoplastic thyroid tissues by proteomic analysis — Srisomsap — 2002 — PROTEOMICS — Wiley Online Library. Accessed: 2024. [Online]. Available: [https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1615-9861\(200206\)2:6%3C706::AID-PROT706%3E3.0.CO;2-E](https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1615-9861(200206)2:6%3C706::AID-PROT706%3E3.0.CO;2-E)
72. Sofiadis A, Becker S, Hellman U, et al. Proteomic profiling of follicular and papillary thyroid tumors. *Eur J Endocrinol*. 2012;166(4):657-667. doi: <https://doi.org/10.1530/EJE-11-0856>
73. Ucal Y, Tokat F, Duren M, Ince U, Ozpinar A. Peptide Profile Differences of Noninvasive Follicular Thyroid Neoplasm with Papillary-Like Nuclear Features, Encapsulated Follicular Variant, and Classical Papillary Thyroid Carcinoma: An Application of Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spe. *Thyroid*. 2019;29(8):1125-1137. doi: <https://doi.org/10.1089/thy.2018.0392>
74. Ucal Y, Eravci M, Tokat F, Duren M, Ince U, Ozpinar A. Proteomic analysis reveals differential protein expression in variants of papillary thyroid carcinoma. *EuPA Open Proteomics*. 2017;17:1-6. doi: <https://doi.org/10.1016/j.euprot.2017.09.001>
75. Luo D, Zhan S, Xia W, Huang L, Ge W, Wang T. Proteomics study of serum exosomes from papillary thyroid cancer patients. *Endocr Relat Cancer*. 2018;25(10):879-891. doi: <https://doi.org/10.1530/ERC-17-0547>
76. Трошина Е.А., Юшков П.В., Абесадзе И.А., Орджоникидзе М.К. Клинические, морфологические и иммуногистохимические особенности фолликулярных опухолей щитовидной железы: результаты ретроспективного исследования // II научная конференция Клиническая 30 морфология новообразований эндокринных желез. Москва. — 2007. — С. 153

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

***Аксенова Татьяна Николаевна**, аспирант [**Tatyana N. Aksenova**, postgraduate student]; адрес: Россия, 117292, Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11 [address: 11 Dmitriya Ulyanova street, 117292, Moscow, Russia]; ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-2208-0986>; eLibrary SPIN: 9430-1541; e-mail: tanya.ak.1997@mail.ru

Бондаренко Екатерина Владимировна, к.м.н. [**Ekaterina V. Bondarenko**, MD, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2122-2297>; eLibrary SPIN: 3564-7654; e-mail: bondarenko.ekaterina@endocrincentr.ru

Иоутси Виталий Алексеевич, к.х.н. [**Vitaliy A. Ioutsi**, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9002-1662>; SPIN-код: 9734-0997; e-mail: vitalik_org@mail.ru

Абдулхабилова Фатима Магомедовна, к.м.н. [**Fatima M. Abdulhabirova**, MD, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8580-2421>; SPIN-код: 2462-1115; e-mail: Abdulkhabirova@endocrincentr.ru

Ванушко Владимир Эдуардович, д.м.н. [**Vladimir E. Vanushko**, MD, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6338-7490>; eLibrary SPIN: 6097-8990; e-mail: vanushko@gmail.com

Белоусов Павел Владимирович [**Pavel Vladimirovich Belousov**]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8216-517X>; eLibrary SPIN: 5531-6435; e-mail: belousov.pavel@endocrincentr.ru

Дзодзаева Ария Валерьевна [**Aria Valeryevna Dzodzaeva**, MD]; e-mail: Dzodzaeva.Ariya@endocrincentr.ru

Кициловская Наталья Алексеевна [**Natalia A. Kitsilovskaya**]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9464-4402>; eLibrary SPIN: 5165-3995; e-mail: n.kitsilovskaya@sysbiomed.ru

Мокрышева Наталья Георгиевна, д.м.н., профессор [**Natalia G. Mokrysheva**, MD, PhD, Professor]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9717-9742>; eLibrary SPIN: 5624-3875; e-mail: mokrisheva.natalia@endocrincentr.ru

*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author.

ИНФОРМАЦИЯ:

Рукопись получена 24.05.2024. Рукопись одобрена: 10.06.2024. Received: 24.05.2024. Accepted: 10.06.2024.

ЦИТИРОВАТЬ:

Аксенова Т.Н., Бондаренко Е.В., Иоутси В.А., Абдулхабилова Ф.М., Ванушко В.Э., Белоусов П.В., Дзодзаева А.В., Кициловская Н.А., Мокрышева Н.Г. Потенциальные белковые маркеры для дифференциальной диагностики новообразований щитовидной железы // *Клиническая и экспериментальная тиреоидология*. — 2024. — Т. 20. — №1. — С. 56-67. doi: <https://doi.org/10.14341/ket12786>

TO CITE THIS ARTICLE:

Aksenova TN, Bondarenko EV, Ioutsi VA, Abdulkhabirova FM, Vanushko VE, Belousov PV, Dzodzaeva AV, Kitsilovskaya NA, Mokrysheva NG. Potential protein markers for differential diagnosis of thyroid neoplasms. *Clinical and experimental thyroidology*. 2024;20(1):56-67. doi: <https://doi.org/10.14341/ket12786>