



Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας
Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών
ΜΠΣ Βιοϊατρικές μέθοδοι και τεχνολογία στη διάγνωση

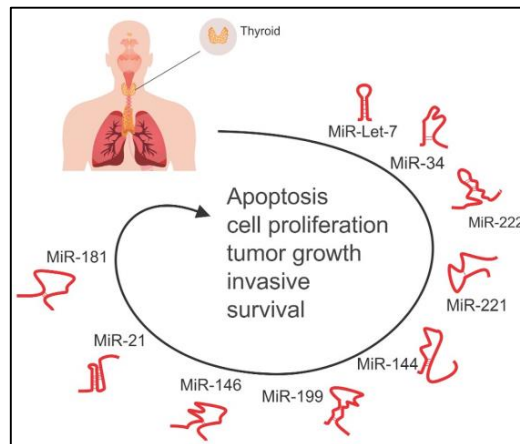


ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Η ΕΚΦΡΑΣΗ ΚΑΙ Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ MicroRNAs ΣΤΗΝ ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΥΣ

POST GRADUATE THESIS

THE EXPRESSION AND ROLE OF MicroRNAs IN THE PATHOGENESIS OF THYROID CANCER



ΟΝΟΜΑ ΦΟΙΤΗΤΗ/NAME OF STUDENT

Σοφία Ιωαννάκη

Sofia Ioannaki

ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ/NAME OF THE SUPERVISOR

Φραγκίσκη Ανθούλη-Αναγνωστοπούλου

Fragkiski Anthouli-Anagnostopoulou

ΑΙΓΑΛΕΩ/ΑΙΓΑΛΕΟ 2023



Faculty of Health and Caring Professions
Department of Biomedical Sciences
Postgraduate program:
Biomedical methods and technology in diagnosis



POST GRADUATE THESIS

The expression and role of MicroRNAs in the pathogenesis of Thyroid Cancer

SOFIA IOANNAKI

DML20033

Sofia. ioannaki@yahoo. gr

FIRST SUPERVISOR

Fragkiski Anthouli-Anagnostopoulou

SECOND SUPERVISOR

Nikolaos Thalassinos

AIGALEO 2023

Επιτροπή εξέτασης

Ημερομηνία εξέτασης: 10/2/2023

	Ονόματα εξεταστών	Υπογραφή
1 ^{ος} Εξεταστής	Φραγκίσκη Ανθούλη- Αναγνωστοπούλου	
2 ^{ος} Εξεταστής	Νικόλαος Θαλασσινός	

Δήλωση συγγραφέα μεταπτυχιακής εργασίας

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Ιωαννάκη Σοφία του Αχιλλέα Ιωαννάκη, με αριθμό μητρώου DML20033 φοιτήτριας του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών Βιοϊατρικές μέθοδοι και Τεχνολογία στη Διάγνωση του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της μεταπτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της, είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Η Δηλούσα

Ιωαννάκη Σοφία

Περίληψη

Ο καρκίνος του θυρεοειδούς αποτελεί τον πιο συχνά εμφανιζόμενο τύπο καρκίνου που προέρχεται από το ενδοκρινικό σύστημα, κατέχοντας την πέμπτη θέση στους συχνότερους τύπους στις γυναίκες. Ο θηλώδης καρκίνος του θυρεοειδούς (PTC) είναι ο πιο κοινός τύπος καρκίνου του θυρεοειδούς και η παγκόσμια επίπτωσή του έχει αυξηθεί ραγδαία τις τελευταίες δεκαετίες. Η έγκαιρη διάγνωση οδηγεί σε καλή κλινική έκβαση σε διαφοροποιημένους τύπους καρκίνου του θυρεοειδούς. Ωστόσο, υπάρχουν λίγες θεραπευτικές επιλογές για ασθενείς με μυελοειδή (MTC) ή αναπλαστικό καρκίνο του θυρεοειδούς (ATC).

Η αναγνώριση μοριακών δεικτών που εξηγούν την παθολογική διαδικασία κατά την εξέλιξη αυτού του τύπου καρκίνου έχει πρακτική σημασία. Τα MicroRNAs (miRNAs) έχουν αποδειχθεί ότι επηρεάζουν τη δραστηριότητα των σηματοδοτικών μονοπατιών που σχετίζονται με τον καρκίνο του θυρεοειδούς, όπως το μονοπάτι MAPK και το γονίδιο RET, ενώ η μετάλλαξη BRAFV600E είναι ενδεικτική υποτροπής και χειρότερης πρόγνωσης. Τα miRNAs όχι μόνο εμπλέκονται στη διαφοροποίηση ανάμεσα σε κακοήθεις ιστούς και μη κακοήθεις ιστούς, αλλά έχουν επίσης διαφορετική έκφραση σε διαφορετικά στάδια του καρκίνου του θυρεοειδούς.

Η αξιολόγηση των επιπέδων των miRNAs στον ορό, καθώς η απορύθμισή τους σχετίζεται με την ανάπτυξη καρκίνου, είναι μια πρακτική μη επεμβατική μέθοδος για την παρακολούθηση ασθενών μετά από θυρεοειδεκτομή. Επιπλέον, τα μόρια αυτά και τα σηματοδοτικά μονοπάτια στα οποία εμπλέκονται διερευνώνται έντονα ως νέοι διαγνωστικοί και θεραπευτικοί στόχοι για πληθώρα ασθενειών. Στην παρούσα διπλωματική εργασία, συνοψίζονται τα δεδομένα σχετικά με το ρόλο των miRNAs στον καρκίνο του θυρεοειδούς.

Λέξεις κλειδιά: καρκινογένεση, θηλώδης καρκίνος θυρεοειδούς, θυλακιώδης καρκίνος θυρεοειδούς, μυελοειδής καρκίνος θυρεοειδούς, αναπλαστικός καρκίνος θυρεοειδούς, microRNAs, ογκογόνα microRNAs, διάγνωση

Abstract

Thyroid cancer is the most common cancer originating from the endocrine system, being the fifth most common type of cancer among women. Papillary thyroid cancer (PTC) is the most common type of thyroid cancer and its global incidence has increased quite rapidly in recent decades. Early diagnosis leads to a good clinical outcome in differentiated types of thyroid cancer. However, there are few treatment options for patients with medullary thyroid cancer (MTC) or anaplastic thyroid cancer (ATC).

The identification of molecular markers which explain the pathological process during the progression of this type of cancer is of practical importance. MicroRNAs (miRNAs) have been shown to affect the activity of signaling pathways associated with thyroid cancer, such as the MAPK pathway and the RET gene, while the BRAFV600E mutation is indicative of recurrence and worse prognosis. miRNAs are not only involved in the differentiation between malignant tissues and non-malignant tissues, but also have differential expression in different stages of thyroid cancer.

Evaluation of serum miRNAs levels, as their deregulation is associated with cancer development, is a practical non-invasive method for monitoring patients after thyroidectomy. Furthermore, these molecules and the signaling pathways that they are involved in, are being explored as new diagnostic and therapeutic targets for a plethora of diseases. In this Master's thesis, data on the role of miRNAs in thyroid cancer are summarized.

Key words: carcinogenesis, PTC, FTC, MTC, ATC, microRNAs, onco-miRNAs, diagnosis

Περιεχόμενα

<u>Δήλωση συγγραφέα μεταπτυχιακής εργασίας.....</u>	<u>iv</u>
<u>Περίληψη.....</u>	<u>v</u>
<u>Abstract</u>	<u>vi</u>
<u>Συνομογραφίες</u>	<u>1</u>
<u>Πρόλογος</u>	<u>4</u>
<u>ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....</u>	<u>6</u>
<u>Κεφάλαιο 1. Καρκίνος του Θυρεοειδούς.....</u>	<u>6</u>
<u>1.1 Θυρεοειδής αδένας.....</u>	<u>6</u>
<u>1.2 Τύποι καρκίνου θυρεοειδούς αδένα</u>	<u>12</u>
<u>1.3 Αιτιοπαθογένεια καρκίνου θυρεοειδούς</u>	<u>15</u>
<u>Κεφάλαιο 2. Τα Micro-RNAs (miRNAs).....</u>	<u>23</u>
<u>2.1 Μηκωδικοποιά RNAs (non-codingRNAs, ncRNAs) και ανακάλυψη των miRNAs</u>	<u>23</u>
<u>2.2 Βιογένεση miRNAs</u>	<u>24</u>
<u>2.2. 1 Κανονικό μονοπάτι σηματοδότησης (canonicalpathway).....</u>	<u>24</u>
<u>2.2.2Μη κανονικό μονοπάτι σηματοδότησης (non-canonicalpathway) .</u>	<u>25</u>
<u>2.3 Μηχανισμοί Δράσης miRNAs - Ρόλος στη γονιδιακή ρύθμιση και αποσιώπιση.....</u>	<u>27</u>
<u>2.4 Κυκλοφορία miRNAs.....</u>	<u>30</u>
<u>2.5 Μέθοδοι αναγνώρισης των miRNAs.....</u>	<u>33</u>
<u>ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....</u>	<u>35</u>
<u>Κεφάλαιο 3. Σκοπός της παρούσας έρευνας</u>	<u>35</u>
<u>Κεφάλαιο 4. Μεθοδολογία και Περιορισμοί.....</u>	<u>35</u>
<u>Κεφάλαιο 5. Micro-RNAs και Καρκινογένεση.....</u>	<u>35</u>
<u>5.1 Αίτια μη φυσιολογικής έκφρασης miRNAs.....</u>	<u>38</u>
<u>5. 1.1 Χρωμοσωμικές Ανωμαλίες</u>	<u>38</u>
<u>5.1.2 Επιγενετικές αλλαγές</u>	<u>39</u>
<u>5.1.3 Μεταλλάξεις και SNPs</u>	<u>39</u>

<u>5.1.4 Βλάβες στη μηχανή βιογένεσης miRNAs</u>	<u>40</u>
<u>5.2 Ρόλος miRNAs ως ογκογονίδια.....</u>	<u>42</u>
<u>5.3 Συμμετοχή miRNAs στη ρύθμιση κυτταρικού κύκλου</u>	<u>44</u>
<u>5.4 Διαμεσολαβούμενη από miRNAs μετάσταση όγκου</u>	<u>46</u>
<u>Κεφάλαιο 6. Ρόλος Micro-RNAs στην παθογένεση καρκίνου θυρεοειδούς</u>	<u>48</u>
<u>6.1 Γονιδιακές μεταλλάξεις στον θηλώδη και θυλακιώδη καρκίνο του θυρεοειδούς</u>	<u>48</u>
<u>6.2 MicroRNAs στον καρκίνο του θυρεοειδούς</u>	<u>51</u>
<u>6.2.1 miRNAs στο θηλώδη καρκίνο θυρεοειδούς-PTC.....</u>	<u>51</u>
<u>6.2.1.1 UpregulatedmiRNAs-oncomiRNAs στο PTC.....</u>	<u>52</u>
<u>6.2.1.2 DownregulatedmiRNAs- ογκοκατασταλτικά miRNAs στο PTC</u>	<u>57</u>
<u>6.2.1.3 DeregulatedmiRNAs στο PTC και χρήση ως βιοδείκτες</u>	<u>62</u>
<u>6.2.2 miRNAs στο θυλακιώδες καρκίνωμα θυρεοειδούς-FTC.....</u>	<u>63</u>
<u>6.2.3 miRNAs στον Αναπλαστικό καρκίνο θυρεοειδούς-ATC</u>	<u>64</u>
<u>6.2.4 miRNAs στο Μυελοειδή καρκίνο του θυρεοειδούς-MTC</u>	<u>66</u>
<u>Συζήτηση- συμπεράσματα</u>	<u>68</u>
<u>Βιβλιογραφικές αναφορές.....</u>	<u>71</u>
<u>Πηγές Εικόνων</u>	<u>87</u>
<u>Πηγές Πινάκων.....</u>	<u>88</u>

Συντομογραφίες

	Αγγλική ορολογία	Ελληνική ορολογία
DTC	Differentiated Thyroid Cancer	Διαφοροποιημένος καρκίνος του θυρεοειδούς
PTC	Papillary Thyroid Cancer	Θηλώδης καρκίνος του θυρεοειδούς
FTC	Follicular Thyroid Cancer	Θυλακώδης καρκίνος του θυρεοειδούς
MTC	Medullary Thyroid Cancer	Μυελοειδής καρκίνος του θυρεοειδούς
ATC	Anaplastic Thyroid Cancer	Αναπλαστικός καρκίνος του θυρεοειδούς
miRNAs	MicroRNAs	Μικρά-RNAs
oncomiRs	Oncogenic miRNAs	Ογκογόνα μικρά-RNAs
T₄	Tetraiodothyronine, Thyroxine	Θυροξίνη ή τετραϊωδοθυρονίνη
T₃	Triiodothyronine	τριιωδοθυρονίνη
TSH	Thyroid Stimulating Hormone	θυρεοειδοτρόπος ορμόνη
TRH	Thyrotropin-Releasing Hormone	θυρεοεκλυτική ορμόνη
BMR	Basal Metabolic Rate	βασικός μεταβολικός ρυθμός
PL	Pyramidal Lobe	Πυραμοειδής λοβός του θυρεοειδούς
MEN2	Multiple Endocrine Neoplasia type 2	πολλαπλή ενδοκρινική νεοπλασία τύπου 2
RTK	Receptor Tyrosine Kinase	Υποδοχέας κινάσης τυροσίνης
ncRNAs	Non coding RNAs	Μη κωδικοποιά RNAs
pri-miRNAs	Primary-miRNA	Πρώμο miRNA
pre-miRNA	Precursor-miRNA	Πρόδρομο miRNA
XPO5	Exportin 5	Εξπορτίνη 5
miRISC	miRNA induced silencing complex	Σύμπλεγμα αποσιώπησης επαγόμενο από RNA
AGO	Argonaute	Πρωτεΐνη Argonaute
dsRNA	Double-stranded RNA	Δίκλωνο RNA
UTR	Untranslated region	Αμετάφραστη περιοχή
MRE	miRNA response element	Στοιχείο απόκρισης σε miRNA
ARE	AU- rich element	Περοχή πλούσια σε Αδενίνη-Ουρακίλη
HDL	High-density lipoprotein	λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας
NPM1	nucleophosmin 1	νουκλεοφωσμίνη τύπου 1
SNAP23	Synaptosomal-associated protein 23	πρωτεΐνη 23 συνδεδεμένη με συναπτόσωμα
IL-4	Interleukin 4	Ιντερλευκίνη τύπου 4
DHA	Docosahexaenoic acid	Εικοσιδιεξαενοϊκό οξύ
SR-BI	scavenger receptor, class B type 1	υποδοχέας σάρωσης κλάσης B
cDNA	complementary DNA	
SNP	Single nucleotide polymorphisms	
hAGO	human Argonaute	

CRC	Colorectal Cancer	τύπου 1
EMT	Epithelial-to-Mesenchymal Transition	Συμπληρωματικό DNA Πολυμορφισμός νουκλεοτιδίου
TSG	Tumor suppressor gene	Ανθρώπινη Argonaute
TCV	Tall cell variant	Καρκίνος παχέως εντέρου
RAI	Radioactive iodine	Επιθηλιακή προς Μεσεγχυματική
HIF1a	Hypoxia-inducible factor 1-alpha	μετάβαση Ογκοκατασταλτικό γονίδιο
LSD1	Lysine-specific demethylase 1	Παραλλαγή «ψηλών κυττάρων»
GABPA	GA-binding protein alpha	Ραδιενεργό ιώδιο επαγόμενος από την υποξία
GSKK	glycogen synthase kinase	παράγοντας 1-άλφα
SPHK1	Sphingosine Kinase 1	Ειδική για τη λυσιίνη απομεθυλάση
LNM	Lymph node metastasis	1
HNRNPF	Heterogeneous Nuclear Ribonucleoprotein F	πρωτεΐνη που δεσμεύει α υπομονάδα G πρωτεϊνών
FOXO1	Forkhead box protein type 1	κινάση συνθετάσης γλυκογόνου
MMP	Matrix met alloproteinase	Κινάση σφιγγοσίνης 1
TIMP3	Tissue inhibitor of met alloproteinase 3	Μετάσταση λεμφαδένων Ετερογενής πυρηνική
PTEN		ριβονουκλεοπρωτεΐνη F
RET	Phosphatase and tensin homolog	Forkhead box πρωτεΐνη τύπου 1
BRAF	Rearranged During Transfection gene v-raf murine sarcoma viral oncogene	Μεταλλοπρωτεϊνάση Ιστικός αναστολέας της
THRβ	homolog B1 thyroid hormone receptor beta	μεταλλοπρωτεϊνάσης 3 ομόλογη της τενσίνης, φωσφατάση
RB1		RET 'γονίδιο
PDCD4	Retinoblastoma gene 1 Programmed Cell Death 4 gene	BRAF γονίδιο
CHL1		υποδοχέας θυρεοειδικής ορμόνης
CYLD	Cell Adhesion Molecule L1 Like gene	τύπου βήτα
AKT (AKT1)	Cylindromatosis gene	γονίδιο ρετινοβλαστώματος τύπου
PI3K	Ak strain transforming	1
MAPK	Phosphoinositide 3-kinase mitogen-activated protein kinase	γονίδιο προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου τύπου 4
TGF	Trandforming growth factor	γονίδιο L1 κυτταρικής προσκόλλησης
IRAK1		γονίδιο CYLD
ZNRF3	Interleukin-1 receptor-associated kinase 1	γονίδιο Akt1 Φωσφοϊνοσιτιδική 3-κινάση
CCD6	zinc/RING finger protein 3	Επαγόμενη από μιτογόνο ερέθισμα
RARβ		πρωτεϊνική κινάση
NF2	Coiled-Coil Domain Containing 6	Αυξητικός παράγοντας
NKG2D	Retinoic acid receptor beta Neurofibromatosis type 2 gene	μετασχηματισμού Κινάση τύπου 1 που συνδέεται με
RAGE	receptor the natural killer group 2	τον υποδοχέα ιντερλευκίνης τύπου 1

HMGB1	member D	Πρωτεΐνη τύπου 3 με δομή
PPP2R2A	receptor for advanced glycation endproducts	δακτυλίου ψευδαργύρου
CDK	high-mobility group box protein 1	Περιοχή υπερελικωμένης έλικας
COL4A1 (c- Myc)	Protein Phosphatase 2 Regulatory Subunit alpha	Υποδοχέας τύπου β ρετινοϊκού οξέος
E2F	Cyclin-dependent kinase	Γονίδιο νευροινωμάτωσης τύπου 2
CKS2	type IV collagen alpha 1 chain protein	Υποδοχέας φυσικών φονικών κυττάρων NK, NKG2D
WWTR1	E2 factor transcription factor	Υποδοχέας τελικών προιόντων προηγμένης γλυκοζυλίωσης
BAG5	cyclin-dependent kinase regulatory subunit 2	Πρωτεΐνη HMGB1
FN1	WW Domain Containing Transcription Regulator 1	Ρυθμιστική Υπομονάδα Άλφα της Πρωτεϊνικής Φωσφατάσης 2
FGFR2	BAG Cochaperone 5	Κυκλινοεξαρτώμενη κινάση
ZEB2	Fibrillin 1	Γονίδιο c-Myc
PDPK1	Fibroblast Growth Factor 2	Μεταγραφικός παράγοντας E2F
LRP6	Zinc Finger E-Box Binding Homeobox 2 protein	Ρυθμιστική υπομονάδα κινάσης εξαρτώμενης από κυκλίνη τύπου 2
VEGF	3-Phosphoinositide Dependent Protein Kinase 1	Ρυθμιστής μεταγραφής τύπου 1 με περιοχή WW
TNRRSF12A	Low-density lipoprotein receptor-related protein 6	Γονίδιο BAG5
CTGF	Vascular endothelial growth factor	Φιμπριλίνη 1, συνδετικού ιστού
EGFR	Tumor necrosis factor receptor superfamily member 12A	Αυξητικός παράγοντας ινοβλαστών 2
TNM	Connective tissue growth factor	Πρωτεΐνη ZEB2
NFkB	Epidermal growth factor receptor	Πρωτεϊνική κινάση 1 εξαρτώμενη από φωσφατιδυλοϊνοσιδικής-3 κινάσης
SNAI1	Tumor node metastasis	Λιποπρωτεϊνική λιπάση τύπου 6
TPO	Nuclear factor kappa-light-chain- enhancer	Αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας
	Snail Family Transcriptional Repressor 1	Υποδοχέας υπεροικογένειας 12A παράγοντα νέκρωσης όγκου
	Thyroid peroxidase	Αυξητικός παράγοντας συνδετικού ιστού
		Υποδοχέας επιδερμικού αυξητικού παράγοντα
		Μετάσταση σε καρκινικούς αδένες
		Πυρηνικός παράγοντας-Κάππα Β
		Πρωτεΐνη SNAI1
		Θυρεοειδική υπεροξειδάση

Πρόλογος

Ο καρκίνος του θυρεοειδούς περιλαμβάνει την πλειοψηφία των όγκων που προέρχονται από το ενδοκρινικό σύστημα (Grande et al., 2012; Xing, 2013). Με βάση τα ιστολογικά χαρακτηριστικά, οι καρκίνοι του θυρεοειδούς μπορούν να ταξινομηθούν σε διαφοροποιημένο καρκίνο του θυρεοειδούς (differentiated thyroid cancer ή DTC) που προέρχεται από επιθηλιακά κύτταρα των θυρεοειδικών ωοθυλακίων, μυελοειδή καρκίνο του θυρεοειδούς (medullary thyroid cancer ή MTC), ο οποίος προκύπτει από τα κύτταρα C (παραθυλακικά κύτταρα) και αποτελεί λιγότερο από το 5% όλων των καρκίνων του θυρεοειδούς, και αναπλαστικό (μη διαφοροποιημένο) καρκίνο θυρεοειδούς (anaplastic thyroid cancer ή ATC) (Asa, 2019). Οι θηλώδεις καρκίνοι του θυρεοειδούς (Papillary thyroid cancers ή PTC) περιλαμβάνουν την πληθώρα καρκινωμάτων DTC (de la Chapelle et al., 2011). Άλλοι ιστολογικοί τύποι DTC είναι ο θυλακιώδης καρκίνος του θυρεοειδούς (follicular thyroid cancer ή FTC) και ο καρκίνος από κύτταρα Hürthle, που αποτελεί ιδιαίτερο τύπο θυλακιώδους καρκίνου (Grande et al., 2012). Τόσο οι PTC όσο και οι FTC μπορεί να εξελιχθούν σε μέτριας κυτταρικής διαφοροποίησης καρκίνωμα ή μπορεί να χάσουν εντελώς τη διαφοροποίηση και να προχωρήσουν σε αναπλαστικό καρκίνο (de la Chapelle et al., 2011).

Η έγκαιρη ανίχνευση των DTC και η κατάλληλη χειρουργική θεραπεία και χορήγηση ραδιενεργού ιωδίου έχουν βελτιώσει την πρόγνωση τους. Ωστόσο, η αντίσταση στο ραδιενεργό ιώδιο είναι ένα σημαντικό εμπόδιο στη διαχείριση ενός

ποσοστού ασθενών με DTC. Επιπλέον, υπάρχουν λίγες θεραπευτικές επιλογές για ασθενείς με MTC ή ATC (Grande et al., 2012). Έτσι, η αναγνώριση των μοριακών μηχανισμών και των εμπλεκόμενων σηματοδοτικών οδών για την εξέλιξη του καρκίνου του θυρεοειδούς αποτελεί αναγκαία έρευνα, ιδιαίτερα όσον αφορά στη διαχείριση ιστολογικών υποκατηγοριών με μικρότερη ευαισθησία στις συνήθεις θεραπευτικές επιλογές (Ghafouri-Fard et al., 2020). Αυτός είναι και ο σκοπός της παρούσας Διπλωματικής Εργασίας.

Τα τελευταία χρόνια έχει λάβει χώρα συναρπαστική πρόοδος στην κατανόηση της μοριακής παθογένεσής του καρκίνου του θυρεοειδούς, όπως αποδεικνύεται καλύτερα από την αποσαφήνιση του θεμελιώδους ρόλου πολλών κύριων οδών σηματοδότησης και σχετικών μοριακών διαταραχών (Xing, 2013). Κεντρική θέση σε αυτούς τους μηχανισμούς είναι οι γενετικές και επιγενετικές αλλοιώσεις σε αυτές τις οδούς (Xing, 2013). Πολλές από αυτές τις μοριακές αλλοιώσεις αντιπροσωπεύουν νέους διαγνωστικούς και προγνωστικούς μοριακούς δείκτες καθώς και θεραπευτικούς στόχους για τον καρκίνο του θυρεοειδούς, οι οποίοι παρέχουν ευκαιρίες για περαιτέρω έρευνα και κλινική ανάπτυξη νέων στρατηγικών θεραπειών για αυτόν τον τύπο καρκίνου (Xing, 2013).

Τα MicroRNA (miRNAs) διερευνώνται προσφάτως σε ιδιαίτερα μεγάλο βαθμό για το ρόλο τους ως βιοδείκτες όγκου και τη συμμετοχή τους στην δημιουργία καρκίνου (Ghafouri-Fard et al., 2020). Πρόκειται για μια κατηγορία μη κωδικοποιών μορίων RNA που έχουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης και αλληλεπιδρούν δυναμικά με τα γονίδια-στόχους (O'Brien et al., 2018). Πληθώρα μελετών έχουν αξιολογήσει τα προφίλ έκφρασης αυτών των ~20 μεταγραφών νουκλεοτιδίων σε κυτταρικές σειρές καρκίνου του θυρεοειδούς και κλινικά δείγματα (Ghafouri-Fard et al., 2020). Με βάση το πρότυπο έκφρασής τους σε αυτούς τους ιστούς σε σύγκριση με τους μη κακοήθεις ιστούς και τις επιδράσεις τους στον πολλαπλασιασμό και την απόπτωση των κυττάρων, τα miRNAs έχουν ταξινομηθεί σε ογκογόνα (oncomiRNAs) και ογκοκατασταλτικά miRNAs (Lu et al., 2005).

Στην τρέχουσα διπλωματική, διερευνάται η έκφραση και η εμπλοκή αυτών των μορίων στην καρκινογένεση και ειδικότερα ο ρόλος τους στην παθογένεση του καρκίνου του θυρεοειδούς.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Κεφάλαιο 1. Καρκίνος του Θυρεοειδούς

Ο καρκίνος του θυρεοειδούς αποτελεί μια κακοήθεια που προκύπτει από τα παρεγχυματικά κύτταρα του θυρεοειδούς. Η επίπτωσή του έχει σταθερά αυξανόμενο ρυθμό σε παγκόσμιο επίπεδο ενώ το ποσοστό θνησιμότητας έχει παραμείνει σχετικά σταθερό τα τελευταία χρόνια. Αποτελεί την πιο συχνή ενδοκρινική κακοήθεια, ενώ είναι 4^{ος} σε συχνότητα καρκίνος στο γυναικείο φύλο. Η κλινική συμπεριφορά του καρκίνου του θυρεοειδούς παρουσιάζει μεταβολές, από νωθρούς, αργά εξελισσόμενους όγκους έως εξαιρετικά επιθετικούς όγκους με αρκετά υψηλά ποσοστά θνησιμότητας (Lee et al., 2021). Υπάρχει μια ποικιλία νέων πρωτοποριακών επιλογών θεραπείας για τον προχωρημένο ή μη καρκίνο του θυρεοειδούς. Ως εκ τούτου, η πλήρης κατανόηση των τύπων του καρκίνου του θυρεοειδούς, της αιτιοπαθογένειάς του και των μεθόδων αντιμετώπισής του είναι υψίστης σημασίας για την παροχή της κατάλληλης θεραπείας στον ασθενή (Lee et al., 2021).

1.1 Θυρεοειδής αδέννας

Ο θυρεοειδής είναι ένας ενδοκρινής αδέννας. Εντοπίζεται στον κάτω, πρόσθιο αυχένα και συμμετέχει στην παραγωγή και την έκκριση των θυρεοειδικών ορμονών καθώς και την ομοιοστάση του ιωδίου στο ανθρώπινο σώμα. Ο θυρεοειδής παράγει περίπου 90% ανενεργή θυρεοειδική ορμόνη ή θυροξίνη (T₄) και 10% ενεργή θυρεοειδική ορμόνη ή τριιωδοθυρονίνη (T₃). Η ανενεργή θυρεοειδική ορμόνη μετατρέπεται περιφερειακά είτε σε ενεργοποιημένη θυρεοειδική ορμόνη είτε σε εναλλακτική μορφή ανενεργούς ορμόνης του θυρεοειδούς (Armstrong et al., 2019).

1. 1. 1 Εμβρυολογία Θυρεοειδούς αδέννα

Ο θυρεοειδής αδέννας προέρχεται από τους φαρυγγικούς θύλακες, οι οποίοι αποτελούνται από ενδόδεσμα. Βρίσκεται μεταξύ του πρώτου και του δεύτερου φαρυγγικού θύλακα κοντά στη βάση της γλώσσας. Η ανάπτυξη του θυρεοειδούς αδέννα ξεκινά ως εκκολπωματική έκφυση από τον αρχέγονο φάρυγγα. Συγκεκριμένα, την τρίτη εβδομάδα της κύησης, γύρω στην ημέρα 20-24, τα ενδοδερμικά κύτταρα του προγονικού φάρυγγα πολλαπλασιάζονται, δημιουργώντας το εκκόλπωμα του θυρεοειδούς. Το εκκόλπωμα στη συνέχεια, από την πέμπτη εβδομάδα κύησης, μεταναστεύει ουραίως μεταξύ των εμβρυϊκών καταβολών της γλώσσας, κατά μήκος μιας νοητής γραμμής από

το τυφλό τρήμα (foramen cecum) της γλώσσας μέχρι το λάρυγγα, για να φτάσει στον τελικό προορισμό του στον αυχένα. Κατά τη μετανάστευση, ο θυρεοειδής παραμένει προσκολλημένος στη γλώσσα μέσω του θυρεογλωσσικού πόρου. Στην πρώιμη κάθοδο, ο θυρεοειδής εμφανίζει κοιλότητα αλλά στη συνέχεια στερεοποιείται κατά τη μετανάστευση σχηματίζοντας τα θυλακιώδη κύτταρα του θυρεοειδούς. Την 5^η εβδομάδα κύησης διαχωρίζεται σε δεξιό και αριστερό λοβό, στο ύψος του θυρεοειδούς χόνδρου, όπου και αυξάνει σε μέγεθος. Παραδοσιακά, ο θυρεοειδής εντοπίζεται κάτω από τον χόνδρο, περίπου στο επίπεδο των σπονδύλων A5-Θ1 (Rosen et al., 2019).

Επίσης, κατά την πέμπτη εβδομάδα, προκύπτουν τα παραθυλακιώδη C-κύτταρα, τα οποία παίζουν ουσιαστικό ρόλο στην ομοιόσταση του ασβεστίου. Παραδοσιακά, τα παραθυλακιώδη C-κύτταρα θεωρούνταν ότι προέρχονται από κύτταρα νευρικής ακρολοφίας, αλλά πρόσφατες εργασίες αμφισβήτησαν αυτή τη θεωρία υποδηλώνοντας ότι προέρχονται από το ενδόδερμα (Nilsson et al., 2016). Τα παραθυλακιώδη C-κύτταρα, επακόλουθα, διαχέονται στον θυρεοειδή, παραμένοντας κυρίως εντοπισμένα στις υπερπλάγιες πλευρές του θυρεοειδούς αδένου, ενώ το κατώτερο ένα τρίτο του θυρεοειδούς δεν φέρει C-κύτταρα. Καλσιτονίνη εκκρίνεται από τα πλήρως ανεπτυγμένα C-κύτταρα. Η καλσιτονίνη ελαττώνει το ασβέστιο του ορού αναστέλλοντας τη λειτουργία των οστεοκλαστών (Armstrong et al., 2019).

Μέχρι την 7^η εβδομάδα κύησης, ο θυρεοειδής εντοπίζεται στον αυχένα. Φυσιολογικά, ο θυρεογλωσσικός πόρος εκφυλίζεται μέχρι τη δέκατη εβδομάδα κύησης με μόνο το τυφλό τρήμα να φανερώνει την προηγούμενη ύπαρξή του. Σε ορισμένες περιπτώσεις, η ατελής εξάλειψη του πόρου μπορεί να οδηγήσει σε ανωμαλίες, συμπεριλαμβανομένων των κύστεων του θυρεογλωσσικού πόρου, του γλωσσικού θυρεοειδούς ή ενός πυραμιδικού λοβού. Στη συνέχεια, η κυτταρική διαφοροποίηση και ωρίμανση συνεχίζεται έως ότου ο θυρεοειδής ωριμάσει λειτουργικά τη δωδέκατη εβδομάδα κύησης (Rosen et al., 2019).

1.1.2 Φυσιολογία Θυρεοειδούς αδένου και ρόλος Θυρεοειδικής ορμόνης

Ο θυρεοειδής αδένου παράγει και εκκρίνει τρεις ορμόνες (Armstrong et al., 2019):

- τη θυροξίνη ή τετραϊωδοθυρονίνη (Tetraiodothyronine, Thyroxine ή T₄), ανενεργή θυρεοειδική ορμόνη,
- την τριιωδοθυρονίνη (Triiodothyronine ή T₃), ενεργή θυρεοειδική ορμόνη

- ο την καλσιτονίνη,

Οι δύο πρώτες ρυθμίζουν το μεταβολισμό όλων των ιστών, ενώ η καλσιτονίνη από τα παραθυλακίωδη C-κύτταρα, είναι υπεύθυνη για την μείωση επιπέδων ασβεστίου του αίματος (Maradonna et al., 2018).

Η σύνθεση και η έκκριση των θυρεοειδικών ορμονών T_3 και T_4 ρυθμίζεται από τη θυρεοειδοτρόπο ορμόνη (Thyroid Stimulating Hormone ή TSH) που παράγεται από την υπόφυση, η οποία, με τη σειρά της, εξαρτάται από την έκκριση της θυρεοεκλυτικής ορμόνης (Thyrotropin-Releasing Hormone ή TRH) που παράγεται στον υποθάλαμο. Απαραίτητο για τη σύνθεση των θυρεοειδικών ορμονών είναι **το ιώδιο**, το οποίο βρίσκεται συγκεντρωμένο στο θυρεοειδή αδένα. Εισέρχεται μέσα στον αδένα αντίθετα με την ηλεκτροχημική του κλίση, μέσω του συμμεταφορέα NIS (Sodium Iodine Symporter), ο οποίος συμμεταφέρει ένα ιόν ιωδίου μαζί με δύο ιόντα νατρίου στο εσωτερικό των θυλακιδίων κυττάρων του οργάνου. Αυτές οι ιωδοθυρονίνες αποτελούνται από θυρεοσφαιρίνη και ιώδιο. Η θυρεοσφαιρίνη σχηματίζεται εντός των θυρεοειδικών κυττάρων. Στη συνέχεια, η θυρεοσφαιρίνη εκκρίνεται στον θυλακιδώδη αυλό του θυρεοειδικού θυλακίου, όπου συνδυάζεται ενζυματικά με ιώδιο για να σχηματίσει ιωδιούχο θυρεοσφαιρίνη. Τα ενδοσώματα που περιέχουν αυτήν την ιωδιωμένη θυρεοσφαιρίνη στη συνέχεια συντήκονται με λυσοσώματα, τα οποία απελευθερώνουν ενζυματικά τη θυρεοσφαιρίνη από την προκύπτουσα θυρεοειδική ορμόνη. Οι ορμόνες του θυρεοειδούς στη συνέχεια απελευθερώνονται από το κύτταρο ενώ η υπόλοιπη θυρεοσφαιρίνη αποϊωδώνεται και ανακυκλώνεται για περαιτέρω χρήση (Cioffi et al., 2018; Benvenega et al., 2019; Khakisahneh et al., 2019).

Η TRH είναι υπεύθυνη για τη διέγερση του θυρεοειδούς να παράγει περισσότερες ιωδοθυρονίνες. Επομένως, τα επίπεδα συσχετίζονται αντιστρόφως με τις συγκεντρώσεις ενεργών θυρεοειδικών ορμονών. καθώς αυξάνεται η T_3 , η TSH μειώνεται και αντίστροφα. Τα ελεύθερα επίπεδα θυροξίνης μετρώνται στον ορό αντί για τα ολικά επίπεδα T_4 , τα οποία θα περιλαμβάνουν την συνδεδεμένη με πρωτεΐνη T_4 , η οποία δεν είναι διαθέσιμη για να εισέλθει στους ιστούς. Η ελεύθερη T_4 , από την άλλη πλευρά, μπορεί να είναι ένας αντιπρόσωπος για τα επίπεδα T_3 στον ορό. Τις περισσότερες φορές, τα επίπεδα θυροξίνης είναι τα τελευταία που καθίστανται μη φυσιολογικά σε διαταραχές του θυρεοειδούς, καθώς τα ανοδικά προϊόντα, TSH και T_4 , διατηρούν τη διαθέσιμη T_3 (Wang et al., 2019).

Ο θυρεοειδής αδένας απελευθερώνει δύο κύριες ορμόνες, τη θυροξίνη (T₄) και την τριιωδοθυρονίνη (T₃). Συχνά αναφέρονται ως «θυρεοειδική ορμόνη» επειδή η T₄ είναι σε μεγάλο βαθμό ανενεργή, που σημαίνει ότι δεν επηρεάζει τα κύτταρά, ενώ η T₃ είναι ενεργή. Η θυρεοειδική ορμόνη προκαλεί επιδράσεις σε όλα σχεδόν τα εμπύρνηνα κύτταρα του ανθρώπινου σώματος, αυξάνοντας γενικά τη λειτουργία και το μεταβολισμό τους. Η καρδιακή παροχή, ο εγκεφαλικός όγκος και ο καρδιακός ρυθμός ηρεμίας αυξάνονται μέσω θετικών χρονότροπων (καρδιακή συχνότητα) και ινότροπων (συσταλτικότητα) επιδράσεων. Η ενεργή θυρεοειδική ορμόνη T₃ αυξάνει το ενδοκυτταρικό ασβέστιο του μυοκαρδίου για να αυξήσει τη δύναμη και την ταχύτητα συστολής. Ταυτόχρονα, τα αγγεία στο δέρμα, οι μυς και η καρδιά διαστέλλονται, με αποτέλεσμα μειωμένη περιφερική αγγειακή αντίσταση ενώ ο όγκος του αίματος αυξάνεται μέσω της ενεργοποίησης του συστήματος ρενίνης-αγγειοτασίνης-αλδοστερόνης. Ο βασικός μεταβολικός ρυθμός (Basal Metabolic Rate ή BMR), η παραγωγή θερμότητας και η κατανάλωση οξυγόνου αυξάνονται μέσω της ενεργοποίησης της θυρεοειδικής ορμόνης. Η πρόσληψη γλυκόζης και λιπαρών οξέων και η οξείδωση επίσης αυξάνονται με αποτέλεσμα αυξημένη θερμογένεση και αναγκαιότητα αυξημένης διάχυσης θερμότητας (Armstrong et al., 2019).

Ο αναπνευστικός ρυθμός ηρεμίας υποβάλλεται σε διέγερση από την ενεργό θυρεοειδική ορμόνη, την τριιωδοθυρονίνη (T₃), για την σταθεροποίηση της συγκέντρωσης οξυγόνου στην αρτηρία ως αντιστάθμιση στους αυξημένους οξειδωτικούς ρυθμούς. Η T₃ προάγει επίσης την παροχή οξυγόνου στους ιστούς προσομοιώνοντας την παραγωγή ερυθροποιητίνης και αιμοσφαιρίνης και προάγοντας την απορρόφηση φυλλικού οξέος και κοβαλαμίνης μέσω του γαστρεντερικού σωλήνα. Η T₃ είναι υπεύθυνη για την ανάπτυξη των κέντρων ανάπτυξης του εμβρύου και τη γραμμική ανάπτυξη των οστών, την ενδοχόνδρια οστεοποίηση και την ωρίμανση του κέντρου οστού της επιφυσίας μετά τη γέννηση. Επιπλέον, η T₃ προσομοιώνει την αναδιαμόρφωση των οστών ενηλίκων και την αποικοδόμηση των βλεννοπολυσακχαριτών και της φιβρονεκτίνης στον εξωκυτταρικό συνδετικό ιστό. Η T₃ διεγείρει το νευρικό σύστημα με αποτέλεσμα αυξημένη ανταπόκριση σε εξωτερικά ερεθίσματα (εγρήγορηση). Η θυρεοειδική ορμόνη διεγείρει επιπλέον το περιφερικό νευρικό σύστημα, με αποτέλεσμα την αύξηση των περιφερικών αντανακλαστικών και του γαστρεντερικού τόνου. Η συγκεκριμένη ορμόνη επίσης συμμετέχει στην

αναπαραγωγική υγεία και στη λειτουργία άλλων ενδοκρινικών οργάνων. Επιτρέπει τη ρύθμιση της φυσιολογικής αναπαραγωγικής λειτουργίας τόσο σε άνδρες όσο και σε γυναίκες ρυθμίζοντας τόσο τον κύκλο της ωορρηξίας όσο και τη σπερματογένεση (Armstrong et al., 2019).

Η θυρεοειδική ορμόνη ρυθμίζει επίσης τη λειτουργία της υπόφυσης. Η παραγωγή και η απελευθέρωση της αυξητικής ορμόνης διεγείρονται από τη θυρεοειδική ορμόνη ενώ αναστέλλουν την παραγωγή και την απελευθέρωση προλακτίνης. Επιπρόσθετα, η νεφρική κάθαρση πολλών ουσιών, συμπεριλαμβανομένων ορισμένων φαρμάκων, μπορεί να αυξηθεί λόγω της διεγέρσεως της νεφρικής αιματικής ροής με ενεργοποιημένη ορμόνη του θυρεοειδούς και του ρυθμού σπειραματικής διήθησης (Choi et al., 2018; Yasoda et al., 2018)

1.1.3 Παθοφυσιολογία θυρεοειδούς αδένος

Οι διαταραχές στον θυρεοειδή αδένος δύναται να χωριστούν σε ανατομικές ή λειτουργικές. Οι ανατομικές είναι εκείνες που σχετίζονται με το μέγεθος, τη σύσταση, τις τοπικές διογκώσεις, τα καλοήθη και τα κακοήθη νεοπλασμάτα του οργάνου, ενώ οι λειτουργικές σχετίζονται με τον τρόπο λειτουργίας του θυρεοειδούς, αν δηλαδή ο θυρεοειδής υπερλειτουργεί (υπερθυρεοειδισμός) ή υπολειτουργεί (υποθυρεοειδισμός). Ο υποθυρεοειδισμός είναι μια ενδοκρινική διαταραχή με αποτέλεσμα την υποπαραγωγή θυρεοειδικών ορμονών, ενώ ο υπερθυρεοειδισμός περιλαμβάνει υπερβολική παραγωγή θυρεοειδικών ορμονών και αυξημένο βασικό μεταβολισμό (Merson et al., 2018; Davis et al., 2019).

Άλλες ανατομικές διαταραχές μπορεί να περιλαμβάνουν:

- **Πυραμοειδή λοβό του θυρεοειδούς (Pyramidal Lobe ή PL):** εμφανίζονται όταν το περιφερικό τμήμα του θυρεογλωσσικού πόρου διαφοροποιείται σε θυρεοειδή ιστό. Οι πυραμοειδείς λοβοί προέρχονται συνήθως από τον ισθμό, αλλά μπορούν να προέλθουν και από τους δύο λοβούς (πιο συχνά τον αριστερό). Θεωρείται φυσιολογική ανατομική παραλλαγή και δεν εμφανίζει συμπτώματα (Kaklamanos et al., 2017).

- **Διπλός πυραμοειδής λοβός (DoublePyramidal Lobe ή DPL):** Εξαιρετικά σπάνια παραλλαγή. Περιλαμβάνει δύο πυραμοειδείς λοβούς (προερχόμενους από το θυρεοειδή), που συχνά εντοπίζονται στη συμβολή του ισθμού και του δεξιού και αριστερού λοβού, αντίστοιχα (Gürleyik et al., 2018).
- **Απουσία Ισθμού:** Ένας φυσιολογικός ισθμός του θυρεοειδούς, μεταξύ δεξιού και αριστερού λοβού, εντοπίζεται συνήθως στον δεύτερο και τον τρίτο τραχειακό δακτύλιο, αλλά μπορεί να ποικίλλει από τον κρικοειδές χόνδρο έως τον τέταρτο τραχειακό δακτύλιο. Σε σπάνιες περιπτώσεις, ο ισθμός απουσιάζει. Παρά το γεγονός πως ο δεξιός και ο αριστερός λοβός διαχωρίζονται, εμφανίζουν κανονικά λειτουργικότητα (Taty-Anna et al., 2012).
- **Έκτοπος ιστός θυρεοειδούς:** Θυρεοειδικός ιστός που βρίσκεται εκτός της φυσιολογικής ανατομικής θέσης στον πρόσθιο αυχένα, πιθανά λόγω αποτυχίας κατά την εμβρυολογική μετανάστευση. Η πιο κοινή εντόπιση του έκτοπου θυρεοειδούς ιστού είναι η βάση της γλώσσας, αλλά εντοπίζεται και κατά μήκος του θυρεογλωσσικού πόρου. Λιγότερο συχνά παρουσιάζεται στα επινεφρίδια/υπόφυση μαζί με το γαστρεντερικό σύστημα, στο γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα και ακόμη και στην ίριδα του ματιού. (Alanazi et al., 2021).
- **Γλωσσικός θυρεοειδής:** Σπάνια, ο θυρεοειδής αποτυγχάνει να μεταναστεύσει σωστά στον θυρεογλωσσικό πόρο στην τελική ανατομική θέση, γεγονός που οδηγεί σε κατακράτηση του θυρεοειδούς ιστού στο τυφλό τρήμα, στη βάση της γλώσσας, και είναι πιο συχνό σε γυναίκες ασθενείς. Ο γλωσσικός θυρεοειδής μπορεί να οδηγήσει, σε ακραίες περιπτώσεις, ως και στη μερική απόφραξη των αεραγωγών. Εάν είναι συμπτωματικός, γίνεται χειρουργική αφαίρεση, με κίνδυνο υποθυρεοειδισμού εφόσον παραμείνει ανεπαρκής θυρεοειδικός ιστός (Marina et al., 2007).
- **Κύστη θυρογλωσσικού πόρου:** Παρατηρούνται περίπου στο 7% του πληθυσμού παγκοσμίως και έχει ως αίτιο την αποτυχία συρρίκνωσης τμήματος θυρεογλωσσικού πόρου. Οι εκκρίσεις από την επένδυση του επιθηλίου έχουν ως αποτέλεσμα φλεγμονή και σχηματισμό κύστεων. Οι θυρογλωσσικές κύστεις εντοπίζονται στη μέση γραμμή και συνδέονται στενά με το υοειδές οστό (20 έως

25% να εντοπίζονται υπερουοειδές και 25-65% υποθυροειδές). Οι κύστεις συνήθως είναι συχνά ασυμπτωματικές (Amos et al., 2021).

- **Γλωσσική κύστη:** κύστη του θυρεογλωσσικού πόρου που εμφανίζεται στη βάση της γλώσσας. Αυτά μπορεί να εμφανιστούν με δυσκολία στην κατάποση ή στην αναπνοή (Karam et al., 2007).

1.2 Τύποι καρκίνου θυροειδούς αδένου

Ο καρκίνος του θυροειδούς είναι μια κακοήθεια των παρεγχυματικών κυττάρων του θυροειδούς. Το παρέγχυμα του θυροειδούς αποτελείται από δύο κύριους τύπους κυττάρων, τα θυλακιώδη κύτταρα του θυροειδούς (υπεύθυνα για παραγωγή θυροειδικής ορμόνης) που προκαλούν διαφοροποιημένο καρκίνο του θυροειδούς (Differentiated Thyroid Cancer ή DTC) και τα παραθυλακιώδη ή C-κύτταρα (παράγουν καλσιονίνη) που προκαλούν μυελοειδές καρκίνωμα θυροειδούς (Medullary Thyroid Carcinoma ή MTC). Ο τύπος DTC περιλαμβάνει τον θηλώδη καρκίνο του θυροειδούς (Papillary Thyroid Cancer ή PTC), το θυλακιώδη καρκίνο θυροειδούς (Follicular Thyroid Cancer ή FTC) και τον καρκίνο των κυττάρων Hurthle που ευθύνονται για το 90-95% του συνόλου των κακοηθειών του θυροειδούς. Ο τύπος MTC αντιπροσωπεύει περίπου το 1-2%, και το αναπλαστικό καρκίνωμα του θυροειδούς αντιπροσωπεύει <1% όλων των καρκίνων του θυροειδούς (Noone et al., 2017).

Θηλώδης καρκίνος θυροειδούς (PTC)

Πρόκειται για κακοήγη επιθηλιακό όγκο, που αποτελείται από διαφοροποιημένα θυλακιώδη κύτταρα με διακριτά παθολογικά χαρακτηριστικά των πυρήνων (ινοαγγειακός άξονας με κενούς πυρήνες). Αποτελεί το πιο συχνό, ταχέως αναπτυσσόμενο νεόπλασμα του θυροειδούς (80-85% κακοηθειών θυροειδούς), ωστόσο έχει την καλύτερη συνολική πρόγνωση, ιδιαίτερα σε ασθενείς κάτω των 45 ετών. Τα θυροειδικά θυλάκια συνήθως απουσιάζουν στον κλασικό PTC. Η τυπική κυτταρική ιστομορφολογία περιλαμβάνει κύτταρα με μεγάλους και διαυγείς πυρήνες με λεπτή κοκκώδη χρωματίνη, με πυρηνικές αυλακώσεις και σώματα ενδοπυρηνικού εγκλεισμού (Means et al., 2019). Ο όγκος εμφανίζεται συνήθως ως ακανόνιστη συμπαγής μάζα αλλά σε σπάνιες περιπτώσεις μπορεί να έχει κυστικά χαρακτηριστικά. Ένα βασικό

χαρακτηριστικό του PTC είναι η ικανότητά του να εισβάλλει σε παρακείμενες δομές όπως τα λεμφαγγεία. Περίπου το 10% των ασθενών μπορεί να παρουσιάσει μεταστατική νόσο στην αρχική εμφάνιση (Limaiem et al., 2019).

Ορισμένες παραλλαγές του PTC δεν σχηματίζουν θηλώματα και ονομάζονται θυλακιώδεις παραλλαγές του PTC. Ωστόσο οφείλουν να εξακολουθούν να εμφανίζουν τα πυρηνικά χαρακτηριστικά του PTC για να αποτελέσουν αυτές τις παραλλαγές. Παραλλαγές του PTC όπως διάχυτη σκληρυντική μορφή (diffuse sclerosing), η μορφή με υψηλά κύτταρα (tall cell variant), η μορφή με κυλινδρικά κύτταρα (columnar cell variant), η ποικιλία με κάψα (encapsulated), το μικροκαρκίνωμα (occult η κρυφό κλινικά) με μέγεθος <1 εκ., είναι πιο επιθετικές από το κλασικό PTC και ονομάζονται καρκίνοι του θυρεοειδούς με ενδιάμεση διαφοροποίηση (Carling et al., 2007). Η ιονίζουσα ακτινοβολία έχει επιβεβαιωθεί πως δύναται να προκαλέσει καρκίνο θυρεοειδούς και συνήθως θηλώδους τύπου (Sherman, 2003).

Θυλακιώδες καρκίνωμα θυρεοειδούς (FTC)

Αποτελεί τον δεύτερο κύριο τύπο καλά διαφοροποιημένων καρκίνων θυρεοειδούς, και τον δεύτερο συχνά εμφανιζόμενο καρκίνο του θυρεοειδούς (10-15% συνολικών καρκίνων θυρεοειδούς). Σπανίως εξαπλώνεται στους λεμφαδένες και είναι πολύ συχνά ιάσιμος, ειδικά όταν εντοπίζεται νωρίς ιδιαίτερα σε άτομα ηλικίας κάτω των 50 ετών (Shah et al., 2015).

Τα ιστολογικά χαρακτηριστικά του FTC μπορεί να ποικίλλουν σε μεγάλο βαθμό από ένα καλά διαφοροποιημένο μοτίβο θυλακίων σε ένα ανεπαρκώς διαφοροποιημένο μοτίβο με έντονη πυρηνική ατυπία, απουσία θυλακίων, εκτεταμένη διήθηση με κάψα ή αγγεία και συμπαγή ανάπτυξη. Οι μεταβολές αυτές οδηγούν συνήθως σε κακή πρόγνωση. Η διαφοροποίηση ενός θυλακιώδους καρκινώματος από ένα καλοήθες θυλακιώδες αδένωμα μπορεί να γίνει μόνο με βάση την εξωκαψική ή/και αγγειακή διήθηση. Αν και η χειρουργική αφαίρεση του αδένα παραμένει η βάση της DTC(διαφοροποιημένος καρκίνος) θεραπείας, ο ρόλος της στενής παρακολούθησης έχει διερευνηθεί. Επιπλέον, οι πλέον πρόσφατες οδηγίες του Συνδέσμου Θυρεοειδούς της Αμερικής (ATA) δίνουν ευελιξία μεταξύ λοβεκτομής και ολικής θυρεοειδεκτομής για

θυρεοειδικούς όζους μεταξύ 1 cm και 4 cm σε απουσία εξωθυρεοειδικής επέκτασης ή λεμφαδενικής μετάστασης.

Καρκίνωμα κυττάρων Hurthle

Πρόκειται για ένα σπάνιο καρκίνο που προκύπτει από έναν ορισμένο τύπο θυλακιώδους κυττάρου. Οι καρκίνοι των κυττάρων Hurthle είναι πολύ πιο πιθανό να εξαπλωθούν στους λεμφαδένες συγκριτικά με άλλους θυλακιώδεις καρκίνους του θυρεοειδούς (κακή πρόγνωση λόγω εμπλοκής λεμφαδένων). Χαρακτηρίζεται από ιδιαίτερα ιστολογικά χαρακτηριστικά με την εμφάνιση ηωσινόφιλων οξυφιλικών κυττάρων με άφθονο κυτταρόπλασμα (ογκοκύτταρα) και προεξέχοντες πυρήνες (Cibas et al., 2009). Εμφανίζεται συνήθως σε ηλικίες μεγαλύτερες των 60 ετών. Κορηγεί μεταστάσεις κυρίως αιματογενώς αλλά υπάρχει πρόβλημα στη θεραπευτική του αντιμετώπιση, καθότι παρόλο που παράγει θυρεοσφαιρίνη δεν προσλαμβάνει το ραδιενεργό ιώδιο ως θεραπεία και επομένως η πρόγνωσή του είναι χειρότερη από το θηλώδες και θυλακιώδες καρκίνωμα (συνδυαστικά αναφέρονται ως «ογκοκυτταρικό καρκίνωμα») (Fariduddin et al., 2022).

Μυελοειδές καρκίνωμα θυρεοειδούς (MTC)

Έχει προέλθει από τα παραθυλακιώδη κύτταρα C, ενώ μερικές φορές είναι το αποτέλεσμα ενός γενετικού συνδρόμου που ονομάζεται πολλαπλή ενδοκρινική νεοπλασία τύπου 2 (Multiple Endocrine Neoplasia type 2 ή MEN2) και σχετίζεται με μετάλλαξη στο ογκογονίδιο RET. Τα ιστολογικά χαρακτηριστικά του, δεδομένης της προέλευσής του είναι η παρουσία ατρακτοειδών κυττάρων χωρίς σχηματισμό θυλακιωδών κυττάρων, με παρούσα εναπόθεση αμυλοειδούς (Lee et al., 2022).

Αυτός ο όγκος έχει πολύ μικρή, έως καθόλου, ομοιότητα με τον φυσιολογικό θυρεοειδή ιστό. Ο τύπος MTC μπορεί συχνά να ελεγχθεί εάν διαγνωστεί και αντιμετωπιστεί πριν εξαπλωθεί σε άλλα μέρη του σώματος. Αντιπροσωπεύει περίπου το 3% όλων των καρκίνων του θυρεοειδούς. Περίπου το 25% όλων των MTC είναι κληρονομικές. Αυτό σημαίνει ότι τα μέλη της οικογένειας του ασθενούς θα έχουν πιθανότητα παρόμοιας διάγνωσης (Master et al., 2021).

Αδιαφοροποίητο-Αναπλαστικό καρκίνωμα θυρεοειδούς (ATC)

Αποτελεί την πιο επιθετική μορφή καρκίνου του θυρεοειδούς και έχει συχνότητα εμφάνισης περίπου 1% του συνόλου των καρκινωμάτων. Εντοπίζεται κυρίως σε άτομα ηλικίας μεγαλύτερης των 60 ετών, συχνότερα σε περιοχές με ενδημική βρογχοκήλη σαν ταχέως αναπτυσσόμενη σκληρή μάζα με επέκταση στον τράχηλο, με δύσπνοια, δυσφαγία και τοπική ευαισθησία. Η απώλεια της ογκοκατασταλτικής πρωτεΐνης P53 αποτελεί ένα μηχανισμό που οδηγεί σε αδιαφοροποίηση των κυττάρων και μπορεί να προκαλέσει μετάπτωση των καλώς διαφοροποιημένων όγκων σε αναπλαστικό καρκίνωμα. Επίσης, η ιωδοπενία έχει συσχετιστεί με το αναπλαστικό καρκίνωμα (Zimmermann et al., 2015).

Οι συνήθεις ιστολογικές παραλλαγές είναι ατρακτοκυτταρικές, πλειομορφικές γιγαντοκυτταρικές και πλακώδεις κατηγορίες. Οι περισσότεροι από αυτούς τους καρκίνους μπορεί να εμφανίζουν μορφολογικά στοιχεία 2 ή 3 παραλλαγών. Επειδή αυτός ο τύπος καρκίνου του θυρεοειδούς αναπτύσσεται τόσο γρήγορα με πληθώρα μεταστάσεων, είναι πιο δύσκολο να αντιμετωπιστεί με επιτυχία καθώς δεν είναι αποτελεσματική η θεραπεία με ραδιενεργό ιώδιο, λόγω μη παραγωγής θυρεοσφαιρίνης από τα αδιαφοροποίητα κύτταρα (Cornett et al., 2007).

1.3 Αιτιοπαθογένεια καρκίνου θυρεοειδούς

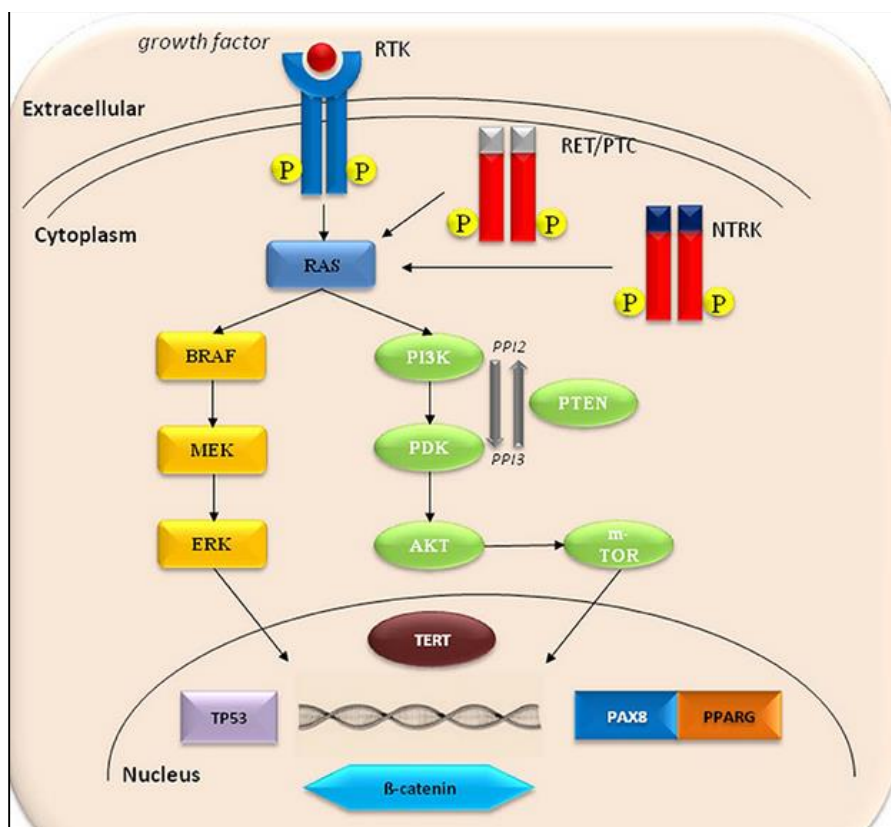
Η συμβατική χειρουργική θυρεοειδεκτομή με επικουρική αφαίρεση με θεραπεία με ραδιενεργό ιώδιο ήταν η βάση της θεραπείας για τον καρκίνο που προέρχεται από θυλακιώδη κύτταρα του θυρεοειδούς, αλλά συχνά δεν είναι θεραπευτική. Η πρόσφατη πρόοδος στην κατανόηση της μοριακής παθογένειας του καρκίνου του θυρεοειδούς έχει δείξει μεγάλη υπόσχεση για την ανάπτυξη πιο αποτελεσματικών στρατηγικών θεραπείας για τον καρκίνο του θυρεοειδούς. Αυτό έχει προκύψει κυρίως από τον εντοπισμό μοριακών αλλαγών, συμπεριλαμβανομένων των γενετικών και επιγενετικών αλλαγών των μονοπατιών σηματοδότησης, όπως η οδός RAS–RAF–MEK–MAPK–ERK (οδός MAPK) και η οδός PI3K–AKT, η οποία αναδιαμορφώνει τη θεραπευτική προσέγγιση του καρκίνου του θυρεοειδούς (Xing et al., 2013).

Έχουν εντοπιστεί πληθώρα γενετικών αλλοιώσεων με θεμελιώδη ρόλο στην δημιουργία διαφόρων όγκων του θυρεοειδούς. Κυρίως εμπλέκονται γονίδια που

προκαλούν απορρύθμιση στη λειτουργία των MAP κινασών και της PI3 κινάσης, με επακόλουθη διαταραχή κυτταρικών λειτουργιών όπως η απόπτωση, ο πολλαπλασιασμός και η διαφοροποίηση.

MAPK μονοπάτι σηματοδότησης

Η οδός MAPK (Mitogen-activated protein kinase ή MAPK) έχει θεμελιώδη ρόλο στη ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και επιβίωσης καθώς και στην ανθρώπινη ογκογένεση. Η σημασία αυτής της σηματοδοτικής οδού έχει αποδειχθεί ιδιαίτερα για το PTC τύπο (Kondo et al., 2006; Xing et al., 2008). Στον καρκίνο του θυρεοειδούς, η οδός MAPK βασίζεται στην παρουσία μεταλλάξεων (άρα ενεργοποίηση της οδού), συμπεριλαμβανομένων των μεταλλάξεων γονιδίων BRAF και RAS, από το RET-PTC καθώς και ALK (Εικόνα 1).

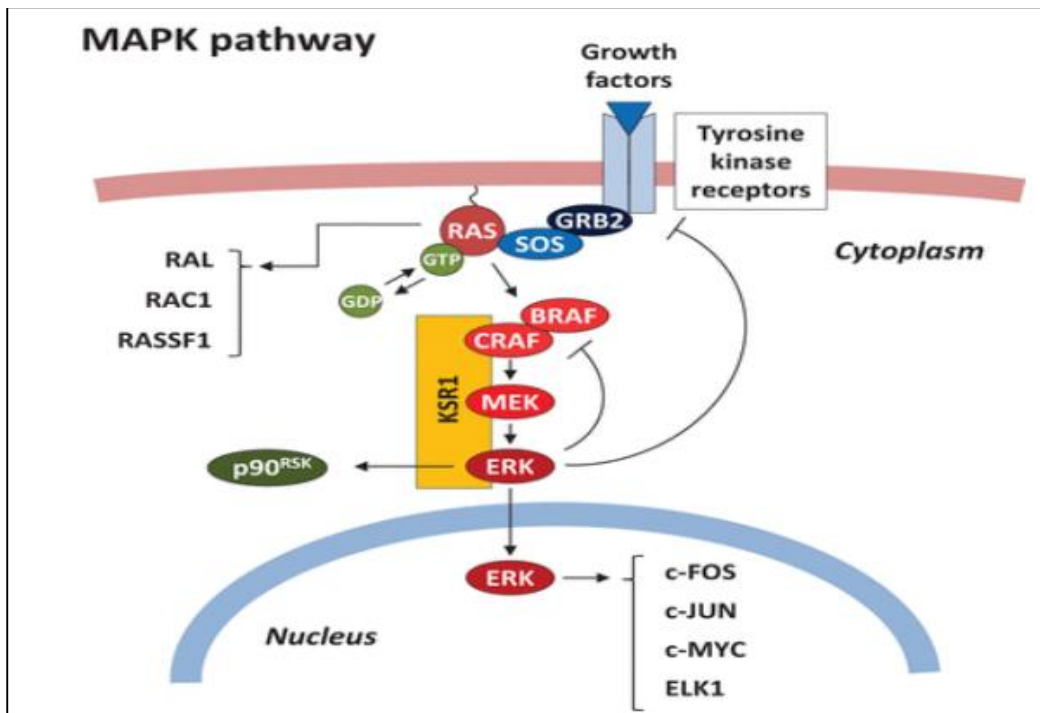


Εικόνα 1 Εμπλοκή οδών MAPK και PI3K/AKT στη μοριακή παθογένεση του καρκίνου του θυρεοειδούς

Η μοριακή παθογένεση του καρκίνου του θυρεοειδούς περιλαμβάνει απορρύθμιση των μονοπατιών MAPK και (PI3K)/AKT. Οι κοινές μεταλλάξεις που ενεργοποιούνται στο μονοπάτι MAPK περιλαμβάνουν ανασυνδυασμούς RET-PTC και μεταλλάξεις RAS και BRAF. Οι κοινές γενετικές αλλοιώσεις στην οδό PI3K περιλαμβάνουν μεταλλάξεις RAS, μεταλλάξεις ή διαγραφές PTEN, μεταλλάξεις ή ενισχύσεις PI3K και μεταλλάξεις AKT1. Οι ανασυνδυασμοί PAX8-PPARG

είναι κοινοί στον τύπο FTC. Η ενεργοποίηση της οδού Wnt/b-κατενίνης, η αδρανοποίηση μεταλλάξεων στο TP53 και η ενεργοποίηση μεταλλάξεων στον εκκινητή TERT είναι συχνές στον αναπλαστικό καρκίνο του θυρεοειδούς (Preteet et al., 2020).

Στο μονοπάτι των MAP κινασών ένα εξωκυτταρικό μιτογόνο ερέθισμα ενεργοποιεί έναν μεμβρανικό υποδοχέα κινάσης τυροσίνης (Receptor Tyrosine Kinase ή RTK υποδοχέας) ή έναν ειδικό υποδοχέα G πρωτεϊνών (Xing et al., 2013). Οι υποδοχείς διμερίζονται, φωσφορυλιώνονται και συνδέονται με ειδικούς υποδοχείς (SHC1 και GRB2). Ακολούθως με πρόσληψη του υδρολυτικού ενζύμου GTPάση προάγεται η ενεργοποίηση των RAS πρωτεϊνών, οι οποίες στρατολογούν καθοδικά τις RAF πρωτεΐνες που είναι υπεύθυνες για την ενεργοποίηση των κινασών MEK και ERK. Από την ενεργοποίηση της ERK ξεκινά η μεταγραφή γονιδίων και η απελευθέρωση πρωτεϊνών σε διάφορα μέρη του κυττάρου όπως τα μιτοχόνδρια, το κυτταρόπλασμα, το Golgi και ειδικά στο πυρήνα των κυττάρων, όπως η c-FOS, η c-JUN, η c-MYC, και η ELK1 (Εικόνα 2). Σε διαφορετικά σημεία στην οδό παρατηρείται παλίνδρομος μηχανισμός ρύθμισης. Το MAPK μονοπάτι στο θυρεοειδικό καρκίνο συνήθως ενεργοποιείται από σημειακές μεταλλάξεις στα γονίδια BRAF και RAS καθώς και από ανασυνδυασμούς των RET/PTC και TRK (Nikiforov et al., 2013; Xing et al., 2013 ; Zaballos and Santisteban, 2017).

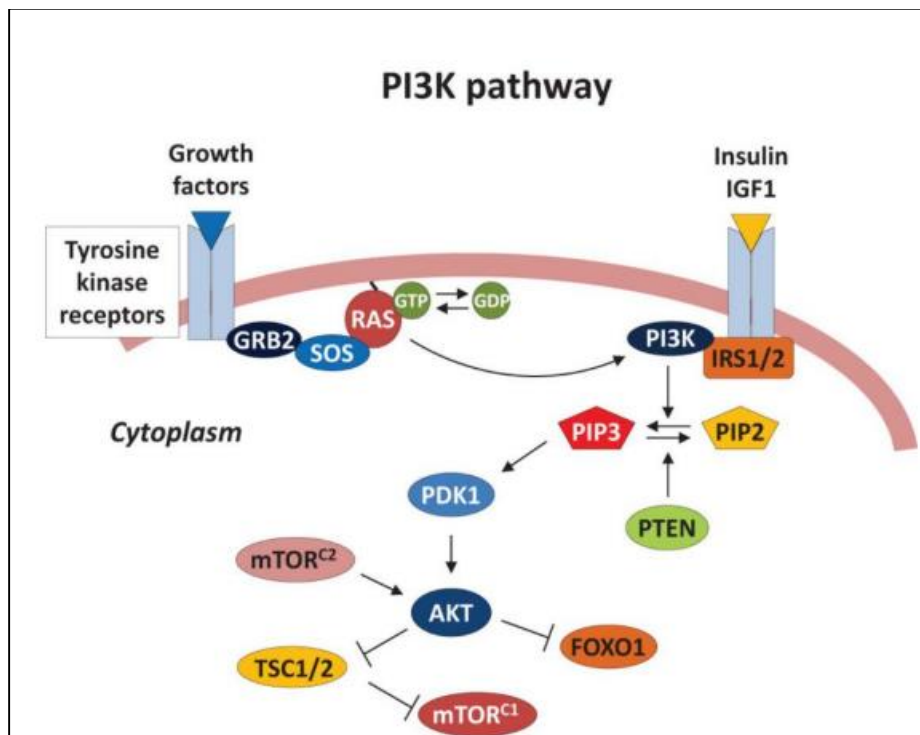


Εικόνα 2 Μονοπάτι σηματοδότησης MAPK

PI3K μονοπάτι σηματοδότησης

Το PI3K μονοπάτι σηματοδότησης ξεκινά είτε μέσω της ενεργοποίησης της RAS πρωτεΐνης είτε με σύνδεση υποδοχέων με ενεργοποιητές (ινσουλίνη, αυξητικούς παράγοντες) και δευτερογενή δημιουργία του αγγελιοφόρου PIP3. Η AKT πρωτεΐνη φωσφορυλιώνεται και άρα ενεργοποιείται και στη συνέχεια με τη σειρά της ενεργοποιεί τους παράγοντες mTORC1 και FOXO1 (Vara et al., 2004) (**Εικόνα 3**). Η φωσφατάση PTEN δρα ανασταλτικά.

Η οδός PI3K-AKT έχει θεμελιώδη ρόλο στην ογκογένεση στο θυρεοειδή αδένω (Saji et al., 2010). Τα πρώιμα στοιχεία για την υποστήριξη του ρόλου αυτής της οδού στην ογκογένεση του θυρεοειδούς προήλθαν από το εύρημα ότι το σύνδρομο Cowden (προκαλούμενο από μεταλλάξεις PTEN) συσχετίστηκε με FTC (Danielset al., 2018). Ακόμα, βρέθηκε πως η έκφραση της AKT είναι αυξημένη σε καρκίνους του θυρεοειδούς, ιδιαίτερα στον τύπο FTC (Ringel et al., 2001; Vasko et al., 2004). Γενικότερα, μεταλλάξεις σε αυτή την αλληλουχία σημάτων μπορεί να οδηγήσουν σε καρκινογένεση. Επίσης, οι μεταλλάξεις σε PTEN και PI3KCA είναι συχνότερες σε ATC συγκριτικά με τους DTC (Zaballos et al., 2020).



Εικόνα 3 Μονοπάτι σηματοδότησης PI3K

BRAF μεταλλάξεις

Η πρωτεΐνη BRAF, ένα μέλος της οικογένειας των πρωτεϊνικών κινασών σερίνης/θρεονίνης RAF, έχει αποδειχθεί ότι μεταλλάσσεται και ενεργοποιείται συστατικά στο ~ 7% όλων των καρκίνων. Οι μεταλλάξεις αυτές είναι συχνές στα θηλώδη νεοπλάσματα αλλά σπάνια στη θυλακιώδη καρκινώματα (Nikiforova et al., 2003; Zatelli et al., 2009). Διαφορετικές γενετικές αλλοιώσεις έχουν εντοπιστεί σε αυτό το γονίδιο, ωστόσο, η πλειονότητα των κλασικών PTC διαθέτει την παραλλαγή BRAFV^{600E} (αντικατάσταση της βαλίνης με γλουταμίνη στη υπολειμματική περιοχή 600 (V600E) (Tronisco et al., 2004). Η μετάλλαξη του BRAF συμβάλλει στην κυτταρική διαφοροποίηση, πολλαπλασιασμό, ανάπτυξη και απόπτωση, ενεργοποιώντας οδούς καθοδικά. Αρκετές μελέτες ανέφεραν συσχέτιση μεταξύ της παραλλαγής V600E και των χαρακτηριστικών της επιθετικής νόσου, συμπεριλαμβανομένων των μεταστάσεων στους λεμφαδένες, της διήθησης και της υποτροπής (Carpola et al., 2013).

Ανασυνδυασμοί RET/PTC

Το πρωτο-ογκογονίδιο RET κωδικοποιεί έναν υποδοχέα RTK και η ενεργοποίησή του ρυθμίζει ενδοκυτταρικά μονοπάτια σηματοδότησης. Στο θυρεοειδή αδένα το γονίδιο αυτό εκφράζεται έντονα στα παραθυλακιώδη κύτταρα C, αλλά όχι στα θυλακικά κύτταρα. Η πρωτεΐνη σύντηξης RET/PTC διατηρεί ανέπαφη την περιοχή κινάσης τυροσίνης επιτρέποντας τη συνεχή ενεργοποίηση της σηματοδοτικής οδού MAPK (Knauf et al., 2003). Ο ανασυνδυασμός RET/PTC αναφέρθηκε αρχικά από τους Fusco et al. (Fusco et al., 2003), και τα επόμενα χρόνια, εντοπίστηκαν διαφορετικοί τύποι ανασυνδυασμών RET/PTC (Romei et al., 2016) με τα RET/PTC1 και RET/PTC3 να είναι τα πιο κοινά (The Cancer Genome Research Network, 2014). Ορισμένες αναφορές έχουν δείξει ότι το RET/PTC1 σχετίζεται με πιο ευνοϊκή πρόγνωση, ενώ το RET/PTC3 συσχετίστηκε με έναν πιο επιθετικό και κακοήθη φαινότυπο. Ωστόσο, η ανταπόκριση στη θεραπεία με RAI είναι καλή (Paulson et al., 2019).

Επιπλέον, φαίνεται πως η κατανομή του ογκογονιδίου στα κύτταρα παρουσιάζει διακυμάνσεις, με παρουσία όγκων όπου όλα τα κύτταρα φέρουν τον ανασυνδυασμό, αλλά και με όγκους όπου μόνο ένας μικρός πληθυσμός κυττάρων τον φέρει. Αυτό έχει σημασία στη στοχευόμενη θεραπεία για τον RET υποδοχέα όπου μπορεί να μην υπάρχει

ανταπόκριση στους όγκους με μη κλωνικά RET/PTC διότι φαίνεται να ενέχονται διαφορετικοί μηχανισμοί στη καρκινογένεση (Unger et al., 2004).

RAS μεταλλάξεις

Οι πρωτεΐνες RAS είναι μια οικογένεια πρωτεϊνών που δεσμεύουν το GTP, ανοδικά του BRAF, που δρα μέσω των οδών σηματοδότησης MAPK και PI3K-AKT. Τα γονίδια H-RAS, K-RAS και N-RAS κωδικοποιούν τέσσερις διαφορετικές αλλά συγγενείς πρωτεΐνες (H-Ras, N-Ras, K-Ras4A και K-Ras4B). Αυτές οι πρωτεΐνες συμμετέχουν σε μεγάλο βαθμό στον έλεγχο της κυτταρικής ανάπτυξης, διαφοροποίησης και επιβίωσης. Μεταλλάξεις στα κωδικόνια 12, 13 και 61 οδηγούν σε ενεργοποίηση της σηματοδοτικής οδού RAS. Η οδός αυτή παρουσιάζει μεταλλάξεις σε >30% όλων των όγκων, συμπεριλαμβανομένων των καλοηθών όσο και κακοηθών θυρεοειδικών καρκινωμάτων (Pylayeva-Gurta et al., 2011). Στην πραγματικότητα, μεταλλάξεις RAS μπορεί να βρεθούν σε FTC (28–68%), σε PTC με θυλακιώδη παραλλαγή [FVPTC, έως 43% (Kimura et al., 2003)], και στο μη διηθητικό θυλακιώδες νεόπλασμα του θυρεοειδούς με θηλώδη πυρηνικά χαρακτηριστικά (noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features) FVPTC /[NIFTP, έως και 47%, καθώς και σε θυλακιώδη αδενώματα (20–25%) (Xing et al., 2016). Η υιοθέτηση της NIFTP ορολογίας αντί της NI-EFVPC συνδέεται με συντηρητική λοβεκτομή χωρίς θεραπεία με ραδιενεργό ιώδιο στις περισσότερες περιπτώσεις.

Στον τύπο FTC, οι πιο συχνές μεταλλάξεις βρίσκονται στην οικογένεια γονιδίων RAS (HRAS, KRAS και NRAS) και το γονίδιο NRAS βρέθηκε μεταλλαγμένο στο 17% (Vuong et al., 2016) έως το 57% (Fukahori et al., 2012) των περιπτώσεων. Στον τύπο ATC, οι μεταλλάξεις H-, K- και N-RAS, μαζί με τις μεταλλάξεις BRAF έχουν συχνότητα 19-45% και 9, 5-27%, αντίστοιχα (Pozdeyev et al., 2018), χαμηλότερη από αυτή του DTC.

RET μεταλλάξεις

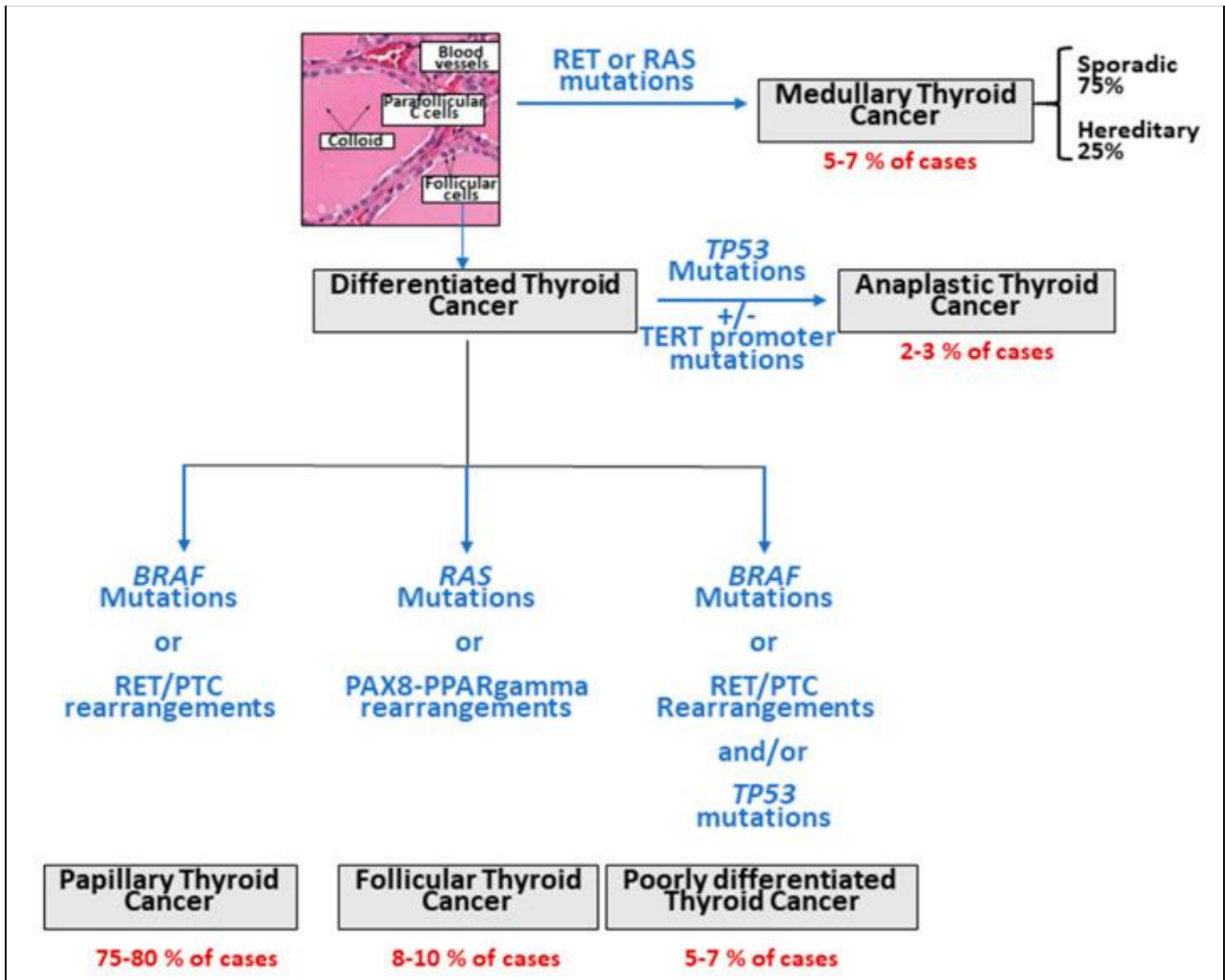
Στον τύπο MTC, το γονίδιο RET συνήθως φέρει σημειακές μεταλλάξεις, ενώ οι διαγραφές ή οι προσθήκες είναι σπάνιες. Οι μεταλλάξεις σημείου ενεργοποίησης του RET μπορεί να επηρεάσουν τόσο τις εξωκυτταρικές όσο και τις ενδοκυτταρικές περιοχές, προκαλώντας διαφορετικά αποτελέσματα: η περιοχή ενδοκυτταρικών μεταλλάξεων επάγει έναν διμερισμό ανεξάρτητο από συνδέτη, προάγοντας την ενεργοποίηση του υποδοχέα κινάσης τυροσίνης, όπως περιγράφηκε και παραπάνω. Διαφορετικά, οι περιοχές

εξωκυτταρικής μετάλλαξης προκαλούν επανενεργοποίηση, η οποία είναι ανεξάρτητη από τον συνδέτη και τον διμερισμό (Romei et al., 2016).

Ανασυνδυασμοί PAX8-PPAR γ

Ο ανασυνδυασμός PAX8-PPAR γ αναγνωρίστηκε στο ένα τρίτο των περιπτώσεων FTC, κυμαινόμενο από 12% (Boos et al., 2013) έως 53% (Nikiforova et al., 2002). Το γονίδιο PAX8 είναι μεταγραφικός παράγοντας απαραίτητος για τη φυσιολογική ανάπτυξη του θυρεοειδούς, προάγοντας την επιβίωση των αρχέγονων θυρεοειδών κυττάρων και καθοδηγώντας την έκφραση γονιδίων ειδικών για τον θυρεοειδή. Το PPAR γ , επίσης μεταγραφικός παράγοντας μέλος της οικογένειας των πυρηνικών υποδοχέων, εκτός από τον ρόλο του κύριου της λιπογένεσης, φαίνεται να είναι ένα ογκοκατασταλτικό γονίδιο (Patel et al., 2001). Η πρωτεΐνη σύντηξης PAX8-PPAR γ μπορεί να δράσει ως αρνητικός αναστολέας της ογκοκατασταλτικής δραστηριότητας PPAR γ ή ως νέος μεταγραφικός παράγοντας με πρωτοογκογονική δραστηριότητα (Raman et al., 2014). Ωστόσο, φαίνεται να μην επηρεάζει την πρόγνωση του FTC (Boos et al., 2013). Οι ασθενείς με όγκους στο θυρεοειδή με τη συγκεκριμένη μετάλλαξη είναι συνήθως σε νεαρή ηλικία, τα νεοπλάσματα είναι μικρά σε μέγεθος και εμφανίζουν διήθηση αγγείων (Nikiforov, 2008). Στην πληθώρα πληθυσμού με θυλακιώδη αδενώματα οι συγκεκριμένοι όγκοι δεν υπερβαίνουν σε ποσοστό 2-13% (Castro et al., 2006).

Συμπερασματικά, πληθώρα γενετικών αλλοιώσεων δύναται να λάβουν χώρα συμβάλλοντας στην εμφάνιση καρκινώματος του θυρεοειδούς. Ανάλογα με τη γενετική αλλοίωση προκύπτουν ιστολογικά χαρακτηριστικά που περιγράφουν τους διάφορους τύπους καρκινώματος θυρεοειδούς **[Εικόνα 4]**.



Εικόνα 4 Διαφορετικοί ιστολογικοί τύποι καρκινωμάτων του θυρεοειδούς και οι πιο σχετικές μοριακές αλλοιώσεις.

Ανακτήθηκε από: Romei C et al., 2021

Κεφάλαιο 2. Τα Micro-RNAs (miRNAs)

2.1 Μη κωδικοποιά RNAs (non-coding RNAs ή ncRNAs) και ανακάλυψη των miRNAs

Τα μη κωδικοποιητικά RNAs περιλαμβάνουν μια κατηγορία μορίων χωρίς ή με πολύ χαμηλή ικανότητα κωδικοποίησης πρωτεΐνης. Τα περισσότερα από τα ανθρώπινα γονίδια μεταγράφονται σε RNA, χωρίς στη συνέχεια να μεταφράζονται σε πρωτεΐνη (Li and Liu, 2019). Τα τελευταία χρόνια, η πρόοδος στις τεχνολογίες υψηλής απόδοσης και οι διεπιστημονικές και πολυεπιστημονικές προσεγγίσεις έχουν βελτιώσει τις γνώσεις στον τομέα των μη κωδικοποιημένων RNA και του πολύπλοκου δικτύου σηματοδότησής τους σε ανθρώπινα κύτταρα.

Τα MicroRNA (miRNAs) αποτελούν μια οικογένεια μικρών μη κωδικοποιών RNA 20-22 νουκλεοτιδίων που ρυθμίζουν ένα ευρύ φάσμα βιολογικών διεργασιών συμπεριλαμβανομένης της καρκινογένεσης. Στα καρκινικά κύτταρα, τα miRNAs βρίσκονται σε μεγάλο βαθμό απορρυθμισμένα. Το πρώτο miRNA, το *lin-4*, ανακαλύφθηκε στο *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) (Esquela-Kerscher et al., 2014). Ταυτοποιήθηκε ως ένα μικρό μη κωδικοποιό RNA που επηρεάζει την ανάπτυξη μέσω της ρύθμισης της έκφρασης της πρωτεΐνης *lin-14*. Μετά από 7 χρόνια, οι Reinhart et al. ανέφεραν ένα άλλο miRNA στο *C. elegans*, το *let-7*, το οποίο ρυθμίζει αρνητικά την έκφραση του γονιδίου *lin-41* μέσω αλληλεπιδράσεων ειδικών για την αλληλουχία RNA-RNA με τις 3'-αμετάφραστες περιοχές του mRNA (Reinhart et al., 2000). Στη συνέχεια, τα miRNAs βρέθηκαν σε αφθονία τόσο σε ασπόνδυλα όσο και σε σπονδυλωτά από τρεις ανεξάρτητες ομάδες το 2001, και ορισμένα από τα miRNAs είναι εξαιρετικά διατηρημένα, γεγονός που υποδηλώνει ότι η μεσολαβούμενη από miRNA μετα-μεταγραφική ρύθμιση είναι μια γενική ρυθμιστική λειτουργία στα είδη (Lagos-Quintana et al., 2001; Lau et al., 2001; Lee et al., 2001)

Επί του παρόντος, υπάρχουν συνολικά περισσότερα από 2000 μελετημένα ανθρώπινα πρόδρομα γονίδια miRNA που υποβάλλονται σε επεξεργασία (<http://www.mirbase.org>), ενώ οι λειτουργίες πολλών miRNA είναι ακόμα άγνωστες.

2. 2 Βιογένεση miRNAs

Η βιογένεση των miRNAs ξεκινά με τη μεταγραφή γονιδιωματικών περιοχών που βρίσκονται εντός ή μεταξύ των γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, με αποτέλεσμα τη σύνθεση των πρόδρομων μορίων miRNA (primary miRNAs ή pri-miRNAs). Τα pri-miRNAs μεταγράφονται κυρίως από την RNA πολυμεράση II και σπανιότερα από την RNA πολυμεράση III. Ειδικότερα η βιογένεση των miRNA ταξινομείται σε κανονικό και μη κανονικό μονοπάτι (Visone et al., 2009).

2. 2. 1 Κανονικό μονοπάτι σηματοδότησης (canonical pathway)

Η κανονική οδός βιογένεσης είναι η κυρίαρχη οδός με την οποία υποβάλλονται σε επεξεργασία τα miRNA (**Εικόνα 5**). Σε αυτό το μονοπάτι, τα pri-miRNAs μεταγράφονται και ακολούθως υποβάλλονται σε επεξεργασία από το σύμπλεγμα «μικροεπεξεργαστή», που αποτελείται από μια πρωτεΐνη δέσμευσης RNA, την DiGeorge Syndrome Critical Region 8 (DGCR8) και ένα ειδικό ένζυμο ριβονουκλεάσης της οικογένειας ενδονουκλεασών RNase III, την Drosha, ώστε να γίνουν προ- miRNAs (Denli et al., 2004). Το DGCR8 αναγνωρίζει ένα N6-μεθυλαδενυλιωμένο GGAC και άλλα μοτίβα εντός του pri-miRNA (Alarcon et al., 2015), ενώ η Drosha κόβει ενζυματικά το μεταγραφόμενο pri-miRNA στη βάση της χαρακτηριστικής δομής φουρκέτας του pri-miRNA. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό μιας προεξοχής 2 nt 3' στο pre-miRNA (Han et al., 2004).

Μόλις δημιουργηθούν τα προ-miRNA, εξάγονται στο κυτταρόπλασμα από ένα σύμπλεγμα πρωτεϊνών Exportin5 (XPO5)/RanGTP και στη συνέχεια το δίκλωνο RNA (doublestranded RNA-dsRNA) υποβάλλεται σε επεξεργασία από το ένζυμο Dicer, που αποτελεί ενδονουκλεάση RNase III (Okada et al., 2009). Έχει διαπιστωθεί ότι η ανθρώπινη Dicer αλληλεπιδρά με δύο στενά συνδεδεμένες πρωτεΐνες, την TRBP (trans activator RNA (TaR) binding protein) και την PACT (protein activator of PKR) οι οποίες συμβάλλουν στο σχηματισμό του συμπλέγματος αποσιώπησης RISC που επάγεται από RNA. Αυτή η επεξεργασία περιλαμβάνει την αφαίρεση του τερματικού βρόχου, με αποτέλεσμα ένα ώριμο διπλό miRNA (miRNA-miRNA*) (Zhang et al., 2004).

Η κατεύθυνση του κλώνου miRNA καθορίζει την ονομασία της ώριμης μορφής miRNA. Έτσι, ο κλώνος 5p προκύπτει από το 5' άκρο της φουρκέτας pre-miRNA ενώ ο κλώνος 3p από το άκρο 3'. Στη συνέχεια, και οι δύο κλώνοι που προέρχονται από το ώριμο διπλό miRNA μπορούν να δεσμευτούν στην οικογένεια πρωτεϊνών Argonaute

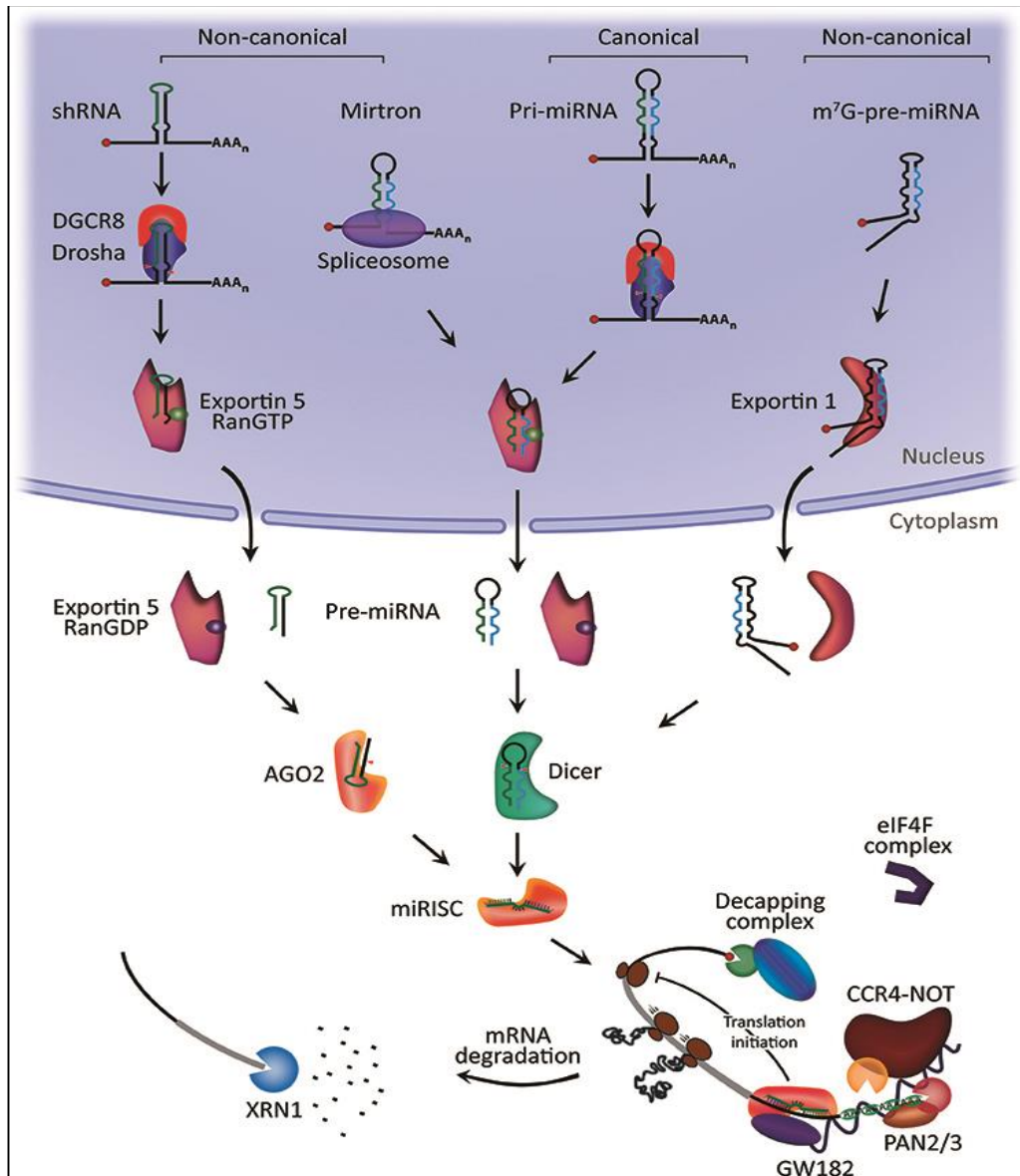
(AGO) (AGO1-4 στους ανθρώπους) με τρόπο εξαρτώμενο από το ATP (Yoda et al., 2010; Meijer et al., 2014).

Η επιλογή του κλώνου 5p ή 3p βασίζεται εν μέρει στη θερμοδυναμική σταθερότητα στα 5' άκρα του διπλού miRNA ή ενός 5' U στη θέση νουκλεοτιδίου 1 (Khnorova et al., 2003). Γενικά, ο κλώνος με χαμηλότερη σταθερότητα 5' ή ουρακίλη 5' δεσμεύεται κατά προτίμηση στο AGO και θεωρείται ο οδηγός κλώνος (guide strand). Ο κλώνος χωρίς φορτίο ονομάζεται κλώνος επιβάτης (passenger strand), ο οποίος θα ξετυλιχθεί από τον οδηγό κλώνο μέσω διαφόρων μηχανισμών βάσει του βαθμού συμπληρωματικότητας. Οι κλώνοι επιβάτη του miRNA που δεν περιέχουν αναντιστοιχίες διασπώνται από το AGO2 και αποδιατάσσονται από την κυτταρική μηχανή δημιουργώντας κλώνο δίχως σφάλματα. Διαφορετικά, τα διπλά μόρια miRNA με κεντρικές αναντιστοιχίες ή μη δεσμευμένο miRNA με AGO2 ξετυλίγονται παθητικά και αποδιατάσσονται (Ha et al., 2014).

2.2.2 Μη κανονικό μονοπάτι σηματοδότησης (non-canonical pathway)

Μέχρι σήμερα, έχουν διευκρινιστεί πολλαπλά μη κανονικά μονοπάτια βιογένεσης miRNA. Αυτές οι οδοί χρησιμοποιούν διαφορετικούς συνδυασμούς των πρωτεϊνών που εμπλέκονται στην κανονική οδό, κυρίως των Drosha, Dicer, Exportin 5 και AGO2 (**Εικόνα 5**). Γενικά, η μη κανονική βιογένεση του miRNA μπορεί να ομαδοποιηθεί σε μονοπάτια ανεξάρτητα από το Drosha/DGCR8 και σε ανεξάρτητα από Dicer μονοπάτια. Τα προ-miRNA που παράγονται από την ανεξάρτητη από το Drosha/DGCR8 μονοπάτι μοιάζουν με υποστρώματα Dicer. (Rubye et al., 2007; Babiarz et al., 2008).

Ένα παράδειγμα είναι το pre-miRNA που καλύπτεται από 7-μεθυλγουανοσίνη (m7G). Αυτά τα RNA εξάγονται απευθείας στο κυτταρόπλασμα μέσω της Exportin1 χωρίς την ανάγκη διάσπασης του Drosha. Υπάρχει μια ισχυρή επιλογή ως προς τον κλώνο 3p πιθανότατα λόγω του καπακιού 7-methylguanine, m7G που εμποδίζει τη δέσμευση κλώνου 5p στο Argonaute (Xie et al., 2013). Από την άλλη πλευρά, τα ανεξάρτητα από το Dicer miRNAs επεξεργάζονται από τον Drosha από ενδογενή μεταγραφήματα RNA κοντής φουρκέτας (shRNA) (Yang et al., 2010). Απαιτείται AGO2 από τα προ-miRNAs ώστε να ολοκληρωθεί η διαδικασία της ωρίμανσης στο κυτταρόπλασμα. Ολόκληρο pre-miRNA δεσμεύεται σε AGO2, όπου κόβεται ο κλώνος 3p, και στη συνέχεια το μάτισμα 3'-5' του κλώνου 5p ολοκληρώνει την ωρίμανση τους (Cheloufi et al., 2010).



Εικόνα 5. Βιογένεση MicroRNA και μηχανισμός δράσης

Η βιογένεση miRNA στο κανονικό μονοπάτι σηματοδότησης ξεκινά με τη δημιουργία του μεταγραφήματος pri-miRNA. Το σύμπλεγμα από Drosha και DGCR8, διασπά το pri-miRNA για να παράγει τον πρόδρομο-miRNA (προ-miRNA). Το προ-miRNA εξάγεται στο κυτταρόπλασμα με τρόπο που εξαρτάται από το Exportin5/RanGTP και υποβάλλεται σε επεξεργασία για να παραχθεί το ώριμο διπλό miRNA. Τέλος, είτε οι κλώνοι 5p είτε 3p του ώριμου διπλού miRNA δεσμεύονται στην οικογένεια πρωτεϊνών Argonaute (AGO) για να σχηματίσουν το σύμπλοκο αποσιώπισης επαγόμενο από miRNA, το miRISC (miRNA-induced silencing complex- miRISC). Στις μη κανονικές οδούς, το μικρό RNA φουρκέτας (small hairpin RNA -shRNA) αρχικά διασπάται από το σύμπλεγμα Drosha / DGCR8 και εξάγεται στο κυτταρόπλασμα μέσω Exportin5/RanGTP. Υπάρχει επακόλουθη επεξεργασία και διάσπαση από το AGO2, αλλά είναι ανεξάρτητη από το Dicer. Τα Mirtron και το 7-μεθυλγουανίνη (m⁷G)-pre-miRNA εξαρτώνται από το Dicer για την ολοκλήρωση της κυτταροπλασματικής τους ωρίμανσης, αλλά διαφέρουν ως προς την νουκλεοκυτταροπλασματική τους μετακίνηση. Τα Mirtron εξάγονται μέσω Exportin5/RanGTP ενώ το m⁷G-pre-miRNA εξάγονται μέσω Exportin1. Όλες οι οδοί οδηγούν τελικά σε ένα λειτουργικό σύμπλεγμα miRISC. Στις περισσότερες περιπτώσεις, το miRISC συνδέεται με τα mRNA-στόχους για να προκαλέσει μεταφραστική αναστολή, πιθανότατα παρεμβαίνοντας στο σύμπλεγμα eIF4F. Στη συνέχεια, οι

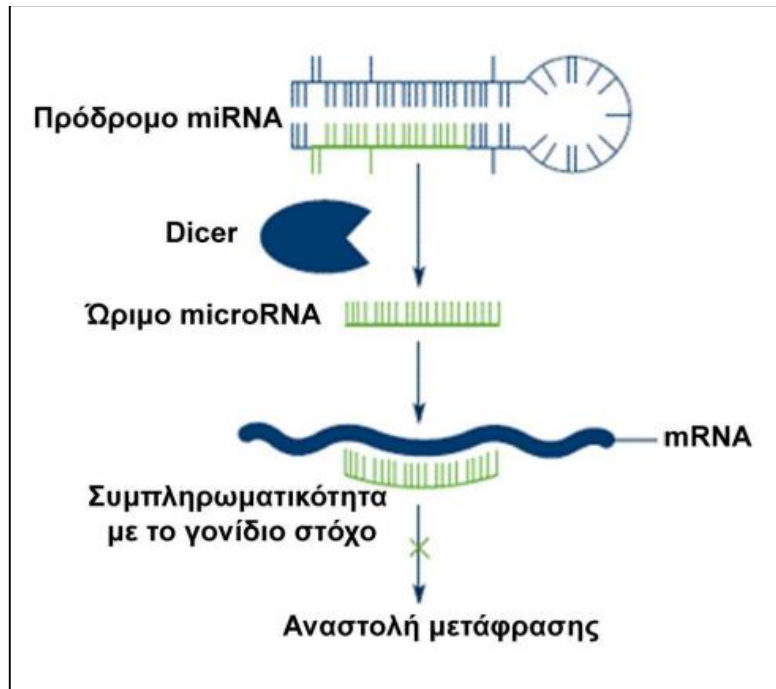
πρωτεΐνες της οικογένειας GW182 που συνδέονται με το Argonaute προσλαμβάνουν τις πολυ (A)-δεαδενυλάσες PAN2/3 και CCR4-NOT. Το PAN2/3 ξεκινά την αποαδενυλίωση ενώ το σύμπλεγμα CCR4-NOT ολοκληρώνει τη διαδικασία, οδηγώντας στην αφαίρεση του καλύμματος m7G στο mRNA στόχο από το σύμπλοκο αποκάλυψης. Το αποκαλυμμένο mRNA μπορεί στη συνέχεια να υποστεί αποικοδόμηση 5'-3' μέσω της εξοριβονουκλεάσης XRN1. Ανακτήθηκε από Hayder et al. (2018).

2.3 Μηχανισμοί Δράσης miRNAs - Ρόλος στη γονιδιακή ρύθμιση και αποσιώπιση

Οι περισσότερες μελέτες μέχρι σήμερα έχουν δείξει ότι τα miRNA συνδέονται σε μια συγκεκριμένη αλληλουχία στο 3' UTR των mRNA-στόχων τους για να προκαλέσουν μεταφραστική καταστολή και αποαδενυλίωση και αποκάλυψη του mRNA (Ipsaro et al., 2015). Θέσεις δέσμησης miRNA έχουν επίσης ανιχνευθεί σε άλλες περιοχές mRNA συμπεριλαμβανομένου του 5' UTR (αμετάφραστη περιοχή, untranslated region ή UTR) και της κωδικής αλληλουχίας, καθώς και εντός των περιοχών υποκινητή (Xu et al., 2014; Dharap et al., 2013).

Αποσιώπιση μέσω miRISC

Το miRISC αποτελείται από τον οδηγό κλώνο και το AGO (Kawamata et al., 2010). Η εξειδίκευση στόχου του miRISC οφείλεται στην αλληλεπίδρασή του με συμπληρωματικές αλληλουχίες στο mRNA στόχο, που ονομάζονται στοιχεία απόκρισης miRNA (miRNA response elements ή MREs). Ο βαθμός συμπληρωματικότητας των MREs καθορίζει εάν υπάρχει εξαρτώμενος από το AGO2 τεμαχισμός (slicing) του mRNA στόχου ή μεσολαβούμενη από miRISC αναστολή μετάφρασης και διάσπαση του mRNA στόχου (**Εικόνα 5**). Μια πλήρως συμπληρωματική αλληλεπίδραση miRNA:MRE επάγει δραστηριότητα ενδονουκλεάσης AGO2 και στοχεύει τη διάσπαση του mRNA (Jo et al., 2015). Ωστόσο, αυτή η αλληλεπίδραση αποσταθεροποιεί τη σύνδεση μεταξύ του AGO και του 3' άκρου του miRNA προάγοντας την αποδόμησή του (Ameres et al., 2010).



Εικόνα 6 Αναστολή της μετάφρασης μέσω των miRNAs

Απόλυτη συμπληρωματικότητα στην αλληλεπίδραση του miRNA:mRNA* οδηγεί στη διάσπαση του mRNA στόχου από την ενδονουκλεοτιδική δράση των Argonaute πρωτεϊνών. Ωστόσο στην πλειοψηφία των προβλεπόμενων στόχων στα θηλαστικά παρατηρείται μερική συμπληρωματικότητα με αποτέλεσμα αναστολή της μετάφρασης (Jonaset al., 2015).

Στα κύτταρα, η πλειονότητα των αλληλεπιδράσεων miRNA:MRE δεν είναι πλήρως συμπληρωματικές (Jonas et al., 2015) (Εικόνα 6). Τα περισσότερα MRE περιέχουν τουλάχιστον κεντρικές συμπληρωματικές αλληλουχίες με το miRNA, αποτρέποντας τη δραστηριότητα της AGO2. Κατά συνέπεια, η AGO2 δρα ως μεσολαβητής της παρεμβολής RNA, παρόμοια με τα μη-ενδονουκλεοτυπικά μέλη της οικογένειας AGO (AGO1, 3 και 4 στους ανθρώπους). Σε πολλές περιπτώσεις, μια λειτουργική αλληλεπίδραση miRNA:MRE λαμβάνει χώρα μέσω της περιοχής 5' (νουκλεοτίδια 2-8) (Ellwanger et al., 2011). Ωστόσο, η πρόσθετη ανάλυση στο άκρο 3' βοηθά στη σταθερότητα και την ειδικότητα της αλληλεπίδρασης miRNA-στόχου. Ο σχηματισμός ενός συμπλέγματος αποσιώπησης miRISC ξεκινά με τη στρατολόγηση της οικογένειας πρωτεϊνών GW182 από το miRISC. Οι GW182 παρέχουν το καλούπι που απαιτείται για τη στρατολόγηση άλλων πρωτεϊνών τελεστών, όπως τα σύμπλοκα πολυ(A)-δεαδενυλάσης PAN2-PAN3 και CCR4-NOT, μετά την αλληλεπίδραση miRNA: mRNA στόχου (Christie et al., 2013). Η πολυ (A)-αποαδενυλίωση του mRNA στόχου ξεκινά με το PAN2/3 και ολοκληρώνεται από το

σύμπλοκο CCR4-NOT. Η αλληλεπίδραση μεταξύ των επαναλήψεων τρυπτοφάνης (W) του GW182 και της πρωτεΐνης C που δεσμεύει πολυ (A) (PABPC) προάγει την αποτελεσματική αποαδενυλίωση (Braun et al., 2012).

Μεταφραστική ενεργοποίηση διαμεσολαβούμενη από MicroRNA

Αν και οι περισσότερες μελέτες επικεντρώνονται στον τρόπο με τον οποίο τα miRNA αναστέλλουν την έκφραση γονιδίων, ορισμένες έχουν επίσης αναφέρει αυξημένη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης από τα miRNA. Σε κύτταρα καλλιέργειας σε θρεπικό με χαμηλή περιεκτικότητα σε ορό, το AGO2 και μια άλλη πρωτεΐνη που σχετίζεται με το σύμπλεγμα miRNA-πρωτεΐνης (miRNA-protein complex ή microRNPs), την FXR1 (Fragile-x-mental retardation related protein 1), συσχετίστηκαν με στοιχεία πλούσια σε AU (AU-rich elements-AREs) στο 3' UTR για την ενεργοποίηση της μετάφρασης. Αρκετά miRNA, συμπεριλαμβανομένου του let-7, βρέθηκε ότι σχετίζονται με το AGO2 και το FXR1 για να ενεργοποιήσουν τη μετάφραση κατά τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου, αλλά αναστέλλουν τη μετάφραση σε κύτταρα (Vasudevan et al., 2007). Η μεσολαβούμενη από miRNA ενεργοποίηση της μετάφρασης περιλαμβάνει AGO2 και FXR1 αντί για GW182 (Orom et al., 2008). Άλλα παραδείγματα γονιδιακής ενεργοποίησης από miRNA περιλαμβάνουν τη δέσμευση στο 5' UTR των mRNA που κωδικοποιούν ριβοσωμικές πρωτεΐνες κατά τη διάρκεια της αστίας με αμινοξέα (Orom et al., 2008). υποδηλώνοντας έτσι ότι η προκαλούμενη από miRNA ρύθμιση προς τα πάνω της γονιδιακής έκφρασης συμβαίνει υπό συγκεκριμένες συνθήκες.

Διαμεσολαβούμενη από MicroRNA μεταγραφική και μετα-μεταγραφική γονιδιακή ρύθμιση εντός του πυρήνα

Μέσω Importin-8 ή Exportin-1, το AGO2 στον άνθρωπο μετακινείται μεταξύ του πυρήνα και του κυτταροπλάσματος μέσω της αλληλεπίδρασής του με το TNRC6A (μια πρωτεΐνη της οικογένειας GW182) που περιέχει ένα σήμα πυρηνικού εντοπισμού και εξαγωγής. Το πυρηνικά εντοπισμένο miRISC βρέθηκε ότι ρυθμίζει τόσο μεταγραφικά όσο και μετα-μεταγραφικά το mRNA (Benhamed et al., 2012; Pitchiaya et al., 2017) και συσχετίζεται με την ευχρωματίνη σε γονιδιακούς τόπους με ενεργή μεταγραφή (Cernilogar et al., 2011). Έχει αναφερθεί ότι το miRISC χαμηλού μοριακού βάρους μπορεί να αλληλεπιδράσει με

τα mRNA εντός του πυρήνα και να προκαλέσει την αποικοδόμηση του πυρηνικού mRNA, αν και ο μηχανισμός πίσω από αυτό είναι ασαφής (Bottini et al., 2017).

Ο εμπλουτισμός του miRNA σε ενεργά μεταγραφόμενα γονίδια μπορεί να υποδηλώνει ότι το miRISC αλληλεπιδρά με το mRNA στόχο συν-/μετα-μεταγραφικά. Η συμμετοχή του AGO και του Drosha στο μάτισμα(προσθήκη επιμήκυνσης) του mRNA υποστηρίζει περαιτέρω τις συν-μεταγραφικές αλληλεπιδράσεις miRISC:mRNA. Το miRISC μπορεί επίσης να ρυθμίζει απευθείας τη μεταγραφή. Μια μελέτη έδειξε ότι το AGO2 εντοπίστηκε στον πυρήνα των γηρασμένων ινοβλαστών και αλληλεπιδρούσε με το miRISC και το ρετινοβλάστωμα (Retinoblastoma-Rb) για να καταστείλει τη μεταγραφή των γονιδίων που προάγουν τον πολλαπλασιασμό, τα οποία ρυθμίζονται από ρυθμίζονται από το Rb/E2F. Σημειώθηκε ότι το let-7f δεσμεύτηκε σε MREs που βρέθηκαν στους υποκινητές δύο γονιδίων-στόχων E2F, CDCA8 και CDC2, με τρόπο που εξαρτάται από το AGO2. Επίσης, ένα υποσύνολο γονιδίων που συνδέονται με τον υποκινητή AGO ρυθμίστηκε προς τα πάνω μετά τη γήρανση και το AGO2 βρέθηκε ότι συν-ανοσοκαταβυθίζεται με την ευχρωματίνη (Benhamed et al., 2012).

Μια πιο πρόσφατη μελέτη των Miao et al. βρήκε το πυρηνικό miR-522 να αλληλεπιδρά με έναν βρόγχο στη δομή του DNA εντός του υποκινητήτου CYP2E1 και να καταστέλλει τη μεταγραφή του (Miao et al., 2016). Τα miRNAs έχει επίσης αποδειχθεί ότι αλληλεπιδρούν σε γονιδιωματικούς τόπους όπου αυξάνουν τα επίπεδα mRNA των γειτονικών γονιδίων υποκινητή προάγοντας μια μεταγραφικά ενεργή κατάσταση χρωματίνης. Ο συνολικός ρόλος του miRISC στη ρύθμιση της κατάστασης/δομής της χρωματίνης και του μεταγραφικού ελέγχου δεν έχει ακόμα καθοριστεί πλήρως, αλλά αυτά τα δεδομένα υποδηλώνουν έναν ρόλο που κάνει το miRISC να μοιάζει με μεταγραφικό παράγοντα. Είναι επίσης πιθανό το miRISC να εμπλέκεται στην εγκαθίδρυση de novo μεθυλίωσης και κατ' επέκταση, στη συμπύκνωση της χρωματίνης. (O'Brien et al., 2018).

2.4 Κυκλοφορία miRNAs

Πολυάριθμες μελέτες έχουν δείξει ότι τα miRNAs απελευθερώνονται στο εξωκυτταρικό υγρό. Τα εξωκυτταρικά miRNA μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτες διαφόρων ασθενειών. Τα εξωκυττάρια miRNAs εκφράζονται στα κύτταρα-στόχους και μπορούν να

ρυθμίζουν την κυτταρική δραστηριότητα ως αυτοκρινή, παρακρινή ή ενδοκρινή, και από την άποψη αυτή έχουν ορμονική δράση (O'Brien et al., 2018).

Πολλές μελέτες έχουν εντοπίσει εξωκυτταρικά/κυκλοφορούντα miRNAs σε βιολογικά υγρά όπως το πλάσμα και ο ορός του αίματος, το εγκεφαλονωτιαίο υγρό, το σάλιο, το μητρικόγάλα, ταούρα, τα δάκρυα, το πρωτόγαλα, το περιτοναϊκό υγρό, το βρογχικό υγρό, το σπέρμα (O'Brien et al., 2018). Σε αντίθεση με τα ενδοκυττάρια RNAs, τα εξωκυττάρια miRNAs είναι εξαιρετικά σταθερά και δεν αναπαράγονται εύκολα υπό δυσμενείς συνθήκες, όπως βρασμό, επανειλημμένους κύκλους ψύξης-απόψυξης, υψηλό ή χαμηλό pH για τέσσερις ημέρες στο μέσο (Mitchell et al., 2008). Δύο πληθυσμοί εξωκυτταρικών miRNAs υπάρχουν σε βιολογικά υγρά. Το ένα μπορεί να βρεθεί σε κυστίδια όπως εξωσώματα, μικροκυστίδια και αποπτωτικά σωμάτια ενώ το άλλο σχετίζεται με πρωτεΐνες, ειδικά AGO2 (Gallo et al., 2012). Ενώ αρκετές μελέτες διαπίστωσαν ότι η πλειονότητα των εξωκυττάρων miRNAs δεν σχετίζονται με εξωσώματα/μικροκυστίδια, αλλά αντ' αυτού συνδέονται με το AGO2 (Arroyo et al., 2011), μια άλλη μελέτη ανέφερε ότι τα εξωκυτταρικά miRNA είναι παρόντα κυρίως σε εξωσώματα στον ανθρώπινο ορό και στο σάλιο. Άλλες πρωτεΐνες που βρέθηκαν να δεσμεύουν τα εξωκυτταρικά miRNA περιλαμβάνουν τη λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας (*High-density lipoprotein* ή HDL) και νουκλεοφωσμίνη 1 (nucleophosmin 1 ή NPM1) (O'Brien et al., 2018). Η παρουσία miRNAs σε κυστίδια ή με συνοδευτικές πρωτεΐνες θεωρείται γενικά ότι προστατεύει τα εξωκυτταρικά miRNA και αυξάνει τη σταθερότητά τους στο εξωκυτταρικό περιβάλλον (Gallo et al., 2012).

Αν και ορισμένα εξωκυτταρικά miRNA θεωρούνται ως υποπροϊόντα κυτταρικών δραστηριοτήτων, όπως ο κυτταρικός θάνατος, αυξανόμενα στοιχεία υποδηλώνουν ότι η απελευθέρωση εξωκυτταρικών miRNA είναι μια ρυθμιζόμενη διαδικασία. (Kosaka et al., 2010). Πρόσφατα μελέτη έδειξε ότι τα miRNA που εκκρίνονται από το ενδοθήλιο μπορούν να ρυθμίσουν τη δραστηριότητα των λείων μυϊκών κυττάρων (Zhu et al., 2017).

Στα νευροενδοκρινικά κύτταρα, τα miRNAs σε κυστίδια μεγάλου πυρήνα απελευθερώνονται με εξωκυττάρωση μέσω σύντηξης κυστιδίων και αυτή η διαδικασία μεσολαβείται από το σύμπλεγμα SNARE και επιταχύνεται από το ερέθισμα ασβεστίου Ca^{2+} . Η έκκριση miRNAs μέσω εξωσωμάτων έχει επίσης αναφερθεί ότι ρυθμίζεται από μόρια σηματοδότησης, όπως η ιντερλευκίνη-4 (IL4) και το εικοσιδιεξαενοϊκό οξύ (DHA). Τα μακροφάγα ενεργοποιημένα με IL4 βρέθηκαν να

εκκρίνουν εξωσώματα που φέρουν ογκογόνα miRNAs για να προάγουν τη διεισδυτικότητα των καρκινικών κυττάρων του μαστού. Από την άλλη πλευρά, το DHA, το οποίο έχει αντικαρκινικές και αντι-αγγειογενετικές δράσεις, προκάλεσε την έκκριση εξωσωμάτων που περιέχουν miRNA που ασκούν ανασταλτικά αποτελέσματα στην αγγειογένεση του όγκου (Hannafon et al., 2015).

Πολλές μελέτες έχουν επίσης δείξει ότι τα εξωκυτταρικά miRNA μπορούν να ασκήσουν βιολογικές λειτουργίες στα κύτταρα με σκοπό τη ρύθμιση της δραστηριότητάς τους, δρώντας με αυτό τον τρόπο ως μόρια μεσοκυττάριας σηματοδότησης. Για παράδειγμα, η διαμεσολαβούμενη από το εξώσωμα μεταφορά του miR-105 από μεταστατικά κύτταρα καρκίνου του μαστού σε ενδοθηλιακά κύτταρα στόχευσε άμεσα μια πρωτεΐνη την ZO-1, και αυτό οδήγησε στην καταστροφή της λειτουργίας φραγμού του ενδοθηλίου προωθώντας τη μετάσταση. Επιπλέον, τα εξωσώματα από το αίμα του ομφάλιου λώρου βρέθηκαν να είναι εμπλουτισμένα σε miR-21-3p, το οποίο ενίσχυσε τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των ινοβλαστών και προκάλεσε τις αγγειογενετικές δραστηριότητες των ενδοθηλιακών κυττάρων, οδηγώντας σε επιτάχυνση της επούλωσης πληγών. Τα miRNAs, συγκεκριμένα τα miR-342-3p και miR-1246, που εκκρίνονται από μια εξαιρετικά μεταστατική ανθρώπινη κυτταρική σειρά καρκίνου του στόματος, βρέθηκε ότι προκαλούν μετάσταση σε μια κακώς μεταστατική κυτταρική σειρά καρκίνου (Sakha et al., 2016). Τα εξωκυτταρικά miRNAs έχουν επίσης αναφερθεί ότι συνδέονται με υποδοχείς τύπου Toll, ενεργοποιούν συμβάντα σηματοδότησης καθοδικά και τελικά οδηγούν σε βιολογικές αποκρίσεις, όπως ανάπτυξη και μετάσταση όγκου και νευροεκφυλισμό (Lehmann et al., 2012). Έτσι, τα miRNAs μπορούν να λειτουργήσουν ως χημικοί αγγελιοφόροι για να ρυθμίσουν τις επικοινωνίες κυττάρου-κυττάρου.

Έχει προταθεί ότι τα εξωκυτταρικά miRNA που σχετίζονται με κυστίδια μπορούν να εισέλθουν στα κύτταρα μέσω ενδοκύττωσης, φαγοκυττάρωσης ή άμεσης σύντηξης με τις κυτταροπλασματικές μεμβράνες, ενώ τα εκκρινόμενα miRNA χωρίς κυστίδια μπορεί να προσληφθούν από συγκεκριμένους υποδοχείς στην κυτταρική επιφάνεια. Πράγματι, αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι τα miRNA εισέρχονται στα κύτταρα λήπτες μέσω ενδοκύττωσης και μικροπινοκύτωσης (Xu et al., 2013). Αυτή η διαδικασία έχει αναφερθεί ότι εξαρτάται από την κλαθρίνη (Tian et al., 2014). Επιπλέον, τα miRNAs χωρίς κυστίδια που σχετίζονται με την HDL προσλαμβάνονται από τον υποδοχέα HDL και τον υποδοχέα

BI (scavenger receptor, class B type 1 ή SR-BI) υποδοχέα σάρωσης (ρακοσυλλέκτη) στη μεμβράνη πλάσματος των κυττάρων-στόχων. Τα miRNAs έχει επίσης αποδειχθεί ότι μεταφέρονται μεταξύ των συν-καλλιεργούμενων κυττάρων μέσω άμεσης επαφής κυττάρου-κυττάρου και συνδέσεων κενού. Ενώ αυτές οι μελέτες υποδεικνύουν ότι τα κυκλοφορούντα miRNA μπορούν να αλληλεπιδράσουν με τα κύτταρα μέσω πολλαπλών μηχανισμών, οι παράγοντες που καθορίζουν την ειδικότητα τέτοιων αλληλεπιδράσεων οφείλουν να διερευνηθούν περαιτέρω (O'Brien et al., 2018).

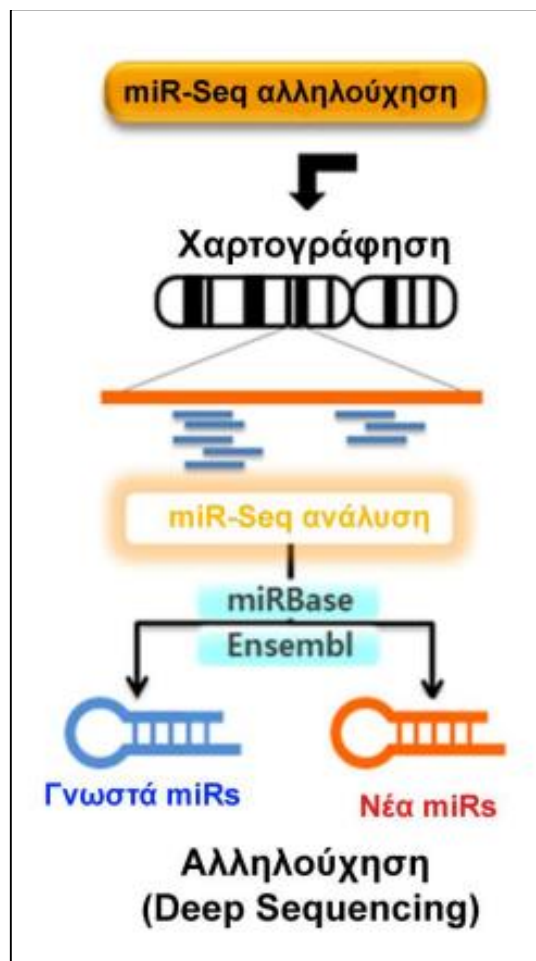
2. 5 Μέθοδοι αναγνώρισης των miRNAs

Χρησιμοποιείται πληθώρα μεθόδων για τη αναγνώριση και απομόνωση των miRNAs όπως κλωνοποίηση από cDNA, ευθεία γενετική διαλογή (forward genetic screen) η οποία έχει χρησιμοποιηθεί στο *C. elegans*, υπολογιστικοί αλγόριθμοι, οι οποίοι με βάση τη δομή φουρκέτας προβλέπουν miRNAs στο γονιδίωμα νηματόζων, εντόμων και σπονδυλωτών, η τεχνολογία μικροσυστοιχιών και η αλληλούχηση (Deep sequencing). Αναλυτικά, η τεχνολογία των μικροσυστοιχιών παρέχει τη δυνατότητα λήψης ποσοτικών και ποιοτικών πληροφοριών που αφορούν χιλιάδες γονίδια.

Η τεχνική αυτή εκμεταλλεύεται την αρχή της συμπληρωματικότητας μεταξύ νουκλεϊκών οξέων DNA-DNA ή DNA-RNA ή πρόσφατα και μεταξύ αμινοξέων-πρωτεϊνών υπό αυστηρά ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκρασίας με χρήση φθορίζουσων ουσιών. Οι μικροσυστοιχίες αποτελούν διάταξη χιλιάδων μικροσκοπικών σημείων που αντιπροσωπεύουν DNA αλληλουχίες υπό μορφή ολιγονουκλεοτιδίων που ορίζονται ως ανιχνευτές (probes) και ακινητοποιούνται με ομοιοπολικούς δεσμούς σε μία στερεή επιφάνεια ώστε να μπορούν να υβριδοποιηθούν με cDNA ή RNA δείγμα. Η ανίχνευση και η ποσοτικοποίηση του υβριδισμού πραγματοποιείται με την εφαρμογή φθορίζουσων ουσιών και ειδικότερα σχεδιασμένων βιοπληροφορικών αλγορίθμων.

Πιο πρόσφατα χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση και την δημιουργία προτύπου miRNAs η τεχνολογία της αλληλούχησης (Deep sequencing technology), όπως παρουσιάζεται στην **Εικόνα 7**, η οποία δίνει την δυνατότητα για την ταυτόχρονη αλληλούχηση εκατομμυρίων μορίων RNA (Creighton et al., 2009) (**Εικόνα 7**). Πρόκειται για ακριβή τεχνική συγκριτικά με την τεχνολογία των μικροσυστοιχιών. Ωστόσο, υπερβαίνει βασικά μειονεκτήματα της δευτέρας όπως τον θόρυβο (background) λόγω φθορισμού καθώς και έχει τη δυνατότητα ταυτοποίησης μόνον των miRNAs που

βρίσκονται σε αφθονία και μόνονόσων είναι ήδη καταχωρημένα στις βάσεις δεδομένων. Τα αποτελέσματα της τεχνικής των μικροσυστοιχιών παρουσιάζουν διαφορές αναλόγως τύπου μηχανήματος που χρησιμοποιείται για την ποσοτικοποίηση του φθορισμού, και έτσι πιθανά το αποτέλεσμα δεν είναι επαναλήψιμο. Η τεχνολογία της αλληλούχησης δεν παρουσιάζει τους παραπάνω περιορισμούς και έτσι μπορούν να ταυτοποιηθούν και νέα miRNAs, όμως θα πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι πρόκειται για μια τεχνική που θα πρέπει να επαναληφθεί αρκετές φορές ώστε να διαβαστούν αλληλουχίες με χαμηλή έκφραση (Malone et al., 2011).



Εικόνα 7 Δημιουργία προτύπου έκφρασης miRNAs με την τεχνική της αλληλούχησης (Deep sequencing).

Ανακτήθηκε από: Creighton et al., 2009

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Κεφάλαιο 3. Σκοπός της παρούσας έρευνας

Τα micro-RNAs (miRNAs) αποτελούν κατηγορία μη κωδικοποιών μορίων RNA που έχουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης και αλληλεπιδρούν δυναμικά με τα γονίδια-στόχους. Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η διερεύνηση της έκφρασης και εμπλοκής των μορίων αυτών στην καρκινογένεση, καθώς θα μπορούσαν να λειτουργήσουν ως πιθανά ογκογονίδια ή ογκοκατασταλτικά μόρια, με ιδιαίτερη έμφαση στο ρόλο τους στην παθογένεση του καρκίνου του θυρεοειδούς και κυρίως όσον αφορά το θηλώδη καρκίνο του θυρεοειδούς.

Κεφάλαιο 4. Μεθοδολογία και Περιορισμοί

Τα δεδομένα για την παρούσα Διπλωματική εργασία ταυτοποιήθηκαν από αναζητήσεις στη Βάση δεδομένων PubMed, Scopus, GoogleScholar, με τον όρο «microRNA» σε συνδυασμό με τους όρους «cancer», «thyroid cancer», «pathogenesis», «onco-miRNAs». Συμπεριλήφθηκαν review articles, research articles και systematic reviews. Έγινε επίσης αναζήτηση στις βιβλιογραφικές αναφορές των άρθρων που ανευρέθησαν. Συμπεριλήφθηκαν μόνο άρθρα που δημοσιεύτηκαν στα Αγγλικά και σχετίζονται με τους τύπους θηλώδους, θυλακιδώδους, μυελοειδούς και αναπλαστικού καρκίνου θυρεοειδούς, καθώς και σπανιότερους τύπους. Τέλος, χρησιμοποιήθηκε περιορισμός ως προς την ημερομηνία δημοσίευσης, καθώς λήφθηκαν υπόψη μόνο άρθρα της τελευταίας δεκαετίας.

Κεφάλαιο 5. Micro-RNAs και Καρκινογένεση

Οι πολυάριθμοι βιοχημικοί μηχανισμοί που διέπουν τη λειτουργία του miRNA, ωστόσο, πιθανότατα εξαρτώνται από τη διαθεσιμότητα τοπικών ρυθμιστικών παραγόντων.

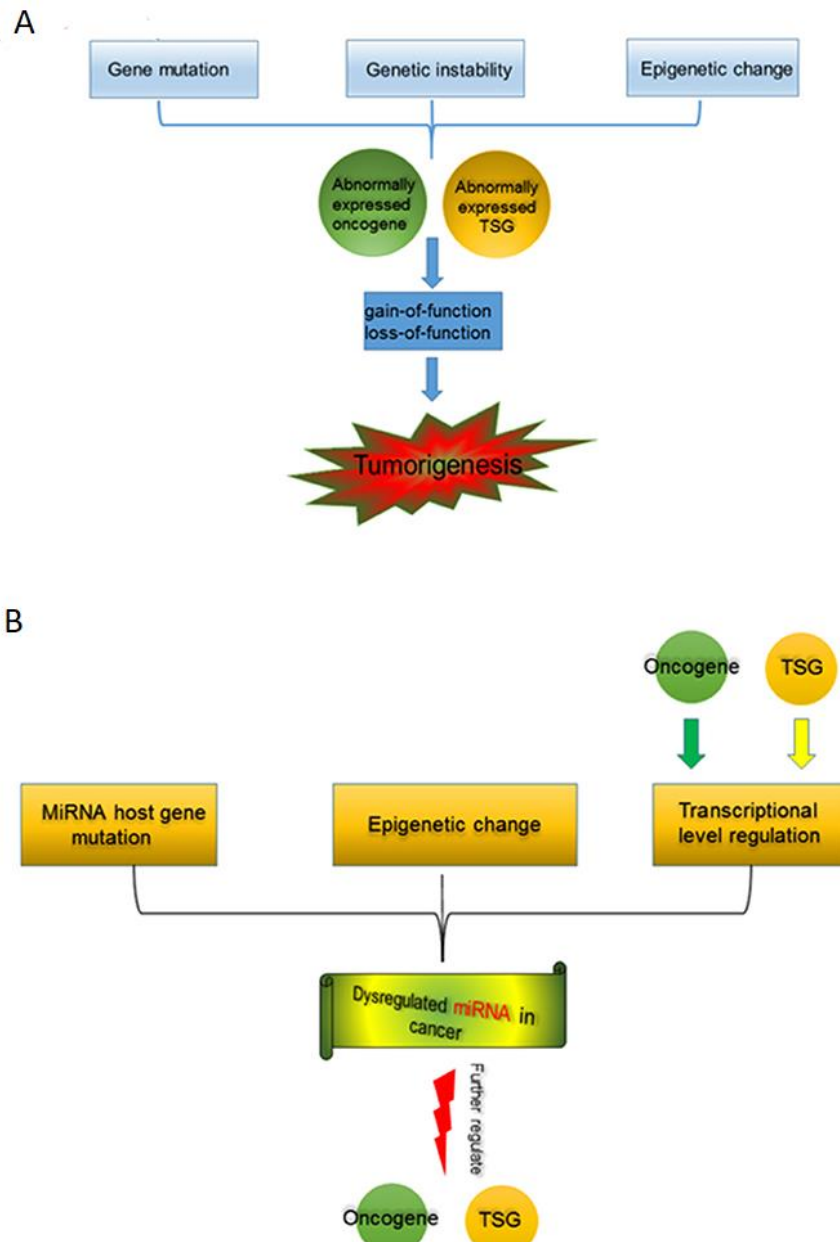
Υπολογίζεται ότι το 1/3 των ανθρώπινων mRNA που κωδικοποιούν πρωτεΐνες ρυθμίζονται από miRNA. Τα miRNAs εμπλέκονται σε κάθε κυτταρική διαδικασία και η πιθανότητα μη ορθής έκφρασης τους μπορεί να αποτελέσει αιτία για πλήθος ασθενειών, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου (**Εικόνα 8**). Αυτά τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι τα γονίδια miRNA θα μπορούσαν να λειτουργήσουν ως πιθανά ογκογονίδια και γονίδια καταστολής όγκου στο ανθρώπινο σώμα. Έτσι, μια ακριβής αξιολόγηση των αλλαγών στην έκφραση του miRNA δύναται να προσφέρει νέα οπτική όσον αφορά στους μοριακούς μηχανισμούς της καρκινογένεσης, γεγονός που αποτελεί αναγκαιότητα ιδιαίτερα σε ότι έχει να κάνει με τη διαχείριση ιστολογικών υποκατηγοριών καρκίνου του θυρεοειδούς που είναι λιγότερο ευαίσθητες στις συνήθεις θεραπευτικές επιλογές (Shi et al., 2021).

Τα MicroRNAs (miRNAs) έχουν πιθανές εφαρμογές ως βιοδείκτες και ρυθμιστές της ογκογένεσης. Τα προφίλ έκφρασης τους έχουν αξιολογηθεί σε αρκετές κυτταρικές σειρές καρκίνου του θυρεοειδούς καθώς και κλινικά δείγματα. Το πρότυπο έκφρασης τους και οι επιδράσεις τους στο κυτταρικό πολλαπλασιασμό και απόπτωση, τα έχει καθορίσει ως ογκογόνα (oncomiRs) και ογκοκατασταλτικά miRNAs.

Οι αρχαιότερες ενδείξεις εμπλοκής miRNA στον ανθρώπινο καρκίνο παρασχέθηκαν από την ομάδα του Croce et al. από μελέτες που προσπαθούσαν να εντοπίσουν ογκοκατασταλτικά γονίδια στην περιοχή του χρωμοσώματος 13q14 σε κύτταρα χρόνιας λεμφοκυτταρικής λευχαιμίας B-κυττάρων (Penget al., 2016). Βρήκαν ότι αυτή η περιοχή περιλαμβάνει το miR-15a και το miR-16-1. Και τα δύο αυτά γονίδια miRNA διαγράφονται ή ρυθμίζονται καθοδικά στην πλειονότητα των κλινικών περιπτώσεων χρόνιας λεμφοκυτταρικής λευχαιμίας. Περαιτέρω μελέτη αποκάλυψε ότι αυτά τα miRNAs δρουν ως ογκοκατασταλτικά προκαλώντας απόπτωση καταστέλλοντας την Bcl-2, μια αντι-αποπτωτική πρωτεΐνη που υπερεκφράζεται σε κακοήγη μη διαιρούμενα B κύτταρα (Cimmino et al., 2005; Calin et al., 2008). Η διαγραφή του συμπλέγματος miR-15 και miR-16-1 σε ποντίκια ανακεφαλαίωσε τους φαινότυπους που σχετίζονται με τη χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία που παρατηρήθηκαν σε ανθρώπους, και απέδειξε τον κρίσιμο ρόλο αυτών των δύο miRNAs στην καταστολή του όγκου (Klein et al., 2010).

Την τελευταία δεκαετία έχει καταστεί σαφές ότι τα miRNA εμφανίζονται απορυθμισμένα σε ανθρώπινες κακοήθειες. Οι υποκείμενοι μηχανισμοί περιλαμβάνουν

χρωμοσωμικές ανωμαλίες, επιγενετικές αλλαγές, μεταλλάξεις και SNPs καθώς και βλάβες στη μηχανή βιογένεσης miRNA. Τα προφίλ των miRNAs και η βαθιά αλληλούχηση έχουν παρέξει άμεσες ενδείξεις ότι τα μόρια αυτά θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την ταξινόμηση, τη διάγνωση και την πρόγνωση του όγκου. Στη συνέχεια της εργασίας περιγράφονται η βιογένεση και η ρύθμιση των miRNAs ενώ δίνεται έμφαση στους μηχανισμούς με τους οποίους η έκφραση miRNA απορυθμίζεται στον ανθρώπινο καρκίνο, και κυρίως στον καρκίνο θυρεοειδούς.



Εικόνα 8 Ογκογένεση και συμμετοχή miRNAs

(A) Η ογκογένεση είναι μια διαδικασία που προκαλείται από πολλούς παράγοντες. Γονιδιακή μετάλλαξη και γενετική αστάθεια, καθώς και αλλαγές στην επιγενετική προκαλούν μη

φυσιολογική έκφραση ογκογονιδίου και ογκοκατασταλτικού γονιδίου (*Tumorsuppressorgene-TSG*). Δράση ογκογονιδίου και TSG, χωριστά ή από κοινού μπορούν να οδηγήσουν σε ογκογένεση. (B) Η μετάλλαξη του γονιδίου του ξενιστή miRNA, η επιγενετική αλλαγή (συμπεριλαμβανομένης της μη ορθής απομεθυλίωσης του DNA, της ανώμαλης τροποποίησης της αποακετυλάσης της ιστόνης, κ. λπ.) και η ρύθμιση της μεταγραφής από το ογκογονίδιο και το TSG συμβάλλουν στην απορρύθμιση του miRNA στον καρκίνο. Τα μη φυσιολογικά εκφραζόμενα miRNA ρυθμίζουν περαιτέρω το ογκογονίδιο και το TSG κατά τη διάρκεια της ογκογένεσης (Zhou et al., 2017).

5.1 Αίτια μη φυσιολογικής έκφρασης miRNAs

5.1.1 Χρωμοσωμικές Ανωμαλίες

Η μη φυσιολογική έκφραση miRNA σε κακοήθη κύτταρα σε σύγκριση με τα φυσιολογικά κύτταρα αποδίδεται συχνά σε αλλαγές στους αριθμούς αντιγράφων του γονιδιωματικού miRNA και στις θέσεις των γονιδίων (ενίσχυση, διαγραφή ή μετατόπιση). Για παράδειγμα, απώλεια του γονιδίου miR-15a/16-1 στο χρωμόσωμα 13q14 παρατηρείται συχνά σε ασθενείς με χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία Β-κυττάρων (Penget al., 2016), ενώ στον καρκίνο του πνεύμονα, η περιοχή 5q33 που περιέχει το miR-143 και το miR-145 συχνά διαγράφεται, με αποτέλεσμα τη μειωμένη έκφραση και των δύο miRNAs (Calinet al., 2006).

Αντίθετα, η ενίσχυση του γονιδίου miR-17-92 παρατηρήθηκε στα λεμφώματα των Β-κυττάρων και στους καρκίνους του πνεύμονα, και η μετατόπιση αυτού του γονιδίου παρατηρήθηκε επίσης στην Οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία Τ-κυττάρων (Penget al., 2016). Η υψηλή συχνότητα των γονιδιωματικών αλλαγών στους τόπους miRNA επιβεβαιώθηκε από τον συγκριτικό υβριδισμό γονιδιώματος με συστοιχίες υψηλής ανάλυσης σε 227 δείγματα από καρκίνο των ωοθηκών του ανθρώπου, καρκίνο του μαστού και μελάνωμα (Zhang et al., 2006). Περαιτέρω έρευνες σε όλο το γονιδίωμα αποκάλυψαν ότι πολλά γονίδια miRNA εντοπίζονται σε σχετιζόμενες με καρκινογένεση γονιδιωματικές περιοχές που περιλαμβάνουν ογκογονίδια ή ογκοκατασταλτικά (Penget al., 2016). Συνολικά, τα παραπάνω ευρήματα υποδηλώνουν ότι η μη φυσιολογική έκφραση miRNAs σε κακοήθη κύτταρα θα μπορούσε να προκύψει από την ενίσχυση ή τη διαγραφή συγκεκριμένων γονιδιωματικών περιοχών που περιλαμβάνουν γονίδια miRNA.

5.1.2 Επιγενετικές αλλαγές

Οι επιγενετικές αλλαγές είναι ένα πολύ γνωστό χαρακτηριστικό στον καρκίνο, συμπεριλαμβανομένης της υπομεθυλίωσης του γονιδιωματικού DNA, της μη ορθής υπερμεθυλίωσης του DNA των ογκοκατασταλτικών γονιδίων και της διαταραχής των προτύπων τροποποίησης ιστόνης. Πιστεύεται ότι τα miRNAs, παρόμοια με τα γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, είναι επίσης ευαίσθητα στην επιγενετική διαμόρφωση (Penget al., 2016). Για παράδειγμα, οι Fazi et al. ανακάλυψαν ότι η έκφραση miR-223 αποσιωπήθηκε επιγενετικά από την AML1/ETO, μια πιο κοινή AML-συνδεόμενη πρωτεΐνη σύντηξης, μέσω μεθυλίωσης CpG νησίδων (Faziet al., 2007). Η έρευνα από τους Saito et al. έδειξε επίσης ότι 17 από τα 313 ανθρώπινα miRNA ρυθμίζονται ανοδικά περισσότερο από 3 φορές (3-fold upregulation) στα T24 καρκινικά κύτταρα της ουροδόχου κύστης μετά από ταυτόχρονη θεραπεία με αναστολείς μεθυλίωσης DNA και ακετυλίωσης ιστόνης (Saito et al., 2006). Μεταξύ αυτών των miRNA, το miR-127 είχε σημαντικά αυξημένη έκφραση μετά τη θεραπεία συνοδευόμενη από την υπορρύθμιση του πρωτο-ογκογονιδίου BCL6. Φαίνεται πως η δράση miRNAs ως ογκοκατασταλτικά μπορεί να προκύψει από απομεθυλίωση του DNA και η αναστολή της αποακετυλάσης ιστόνης.

Χρησιμοποιώντας παρόμοια προσέγγιση, οι Lujambio et al. ανακάλυψαν πως το σύμπλεγμα miR-148a και miR-34b/c υπόκεινται σε ειδική αποσιώπηση που σχετίζεται με την υπερμεθυλίωση στα καρκινικά κύτταρα (Lujambio et al., 2008). Επιπλέον, η αποκατάσταση των συγκεκριμένων miRNAs σε καρκινικά κύτταρα οδήγησε σε αναστολή της κινητικότητά τους, περιορισμό της ανάπτυξης όγκου και αναστολή δημιουργίας μεταστάσεων σε in vivo μοντέλο. Παρόμοια, οι μειωμένες εκφράσεις των miR-9-1, miR-124a και miR-145-5p αποδίδονται στην υπερμεθυλίωση του DNA σε καρκινώματα μαστού, πνεύμονα και παχέος εντέρου, αντίστοιχα (Donzelli et al., 2015) Μέσω των παραπάνω αποδεικνύεται πως η επιγενετική ρύθμιση έχει ρόλο στην έκφραση των miRNAs κατά τη διάρκεια της ογκογένεσης.

5.1.3 Μεταλλάξεις και SNPs

Οι μεταλλάξεις και οι πολυμορφισμοί που εντοπίζονται σε ώριμο miRNA, προ-miRNA ή σε γειτονικές γονιδιωματικές περιοχές δύνανται να τροποποιήσουν την έκφραση των miRNA επιδρώντας στην επεξεργασία τους. Αυτά τα συμβάντα στα miRNAs είναι πιο

σπάνια από ό, τι στα γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες mRNA, επειδή το μέγεθος των miRNAs και των προδρόμων τους είναι μικρό, συγκριτικά με αυτό των mRNA.

Οι κληρονομικές μεταλλάξεις στα πρώιμα μεταγραφήματα των miR-15a και miR-16-1 έχουν αναφερθεί ότι είναι υπεύθυνες για χαμηλά επίπεδα έκφρασης *in vitro* και *in vivo*. Η μειωμένη έκφραση αυτών των miRNAs στην οικογενή χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία και στον οικογενή καρκίνο του μαστού συσχετίστηκε επίσης με τη διαγραφή του φυσιολογικού αλληλόμορφου που περιελάμβανε τα miR-15a και miR-16-1. 21 Η σημασία αυτής της μετάλλαξης υποστηρίχθηκε περαιτέρω σε ένα μοντέλο αυθόρμητου ποντικού χρόνιας λεμφοκυτταρικής λευχαιμίας (Visone et al., 2009; Shi et al., 2021)

Η γονιδιωματική περιοχή του miRNA μπορεί επίσης να περιλαμβάνει SNP.. Σε συστηματική έρευνα των κοινών αλληλουχιών προ-miRNA και των γειτονικών περιοχών τους αξιολογήθηκε λεπτομερώς η συσχέτιση SNP σε επιλεγμένα miRNA (miR-146a, miR-196a2, miR-499 και miR-149) με την επιβίωση ατόμων με μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα. Βρέθηκε πως οι ασθενείς που έφεραν παραλλαγή SNP στην περιοχή 3' του miR-196a-2 είχαν φτωχή επιβίωση, πιθανώς μέσω ενός μηχανισμού αυξημένης έκφρασης του ώριμου miR-196*, υποδηλώνοντας πως τα SNP εντός περιοχών miRNA μπορούν να αποτελέσουν προγνωστικούς βιοδείκτες ορισμένων κακοηθειών (Chhichholiya et al., 2021).

5.1.4 Βλάβες στη μηχανή βιογένεσης miRNAs

Η βιογένεση των miRNA ελέγχεται από διάφορα ένζυμα και ρυθμιστικές πρωτεΐνες, όπως οι Drosha, Dicer, DGCR8, Argonaute πρωτεΐνες και η XPO5, επιτρέποντας τη σωστή ωρίμανση miRNA από πρόδρομο miRNA. Επομένως, μετάλλαξη ή απορυθμισμένη έκφραση οποιουδήποτε στοιχείου του μηχανισμού βιογένεσης miRNA θα μπορούσε να οδηγήσει σε μη ορθή έκφραση των miRNAs. Οι Drosha και Dicer είναι δύο βασικές ενδονουκλεάσες RNase III στην ωρίμανση του miRNA, υπεύθυνες για το σχηματισμό διπλού προ-miRNA και miRNA.

Πρόσφατες έρευνες έδειξαν ότι και τα δύο ένζυμα είναι απορυθμισμένα σε ορισμένους όγκους. Οι Thomson et al. διαπίστωσαν ότι ένα μεγάλο κλάσμα των miRNAs ρυθμίζεται στο στάδιο της επεξεργασίας Drosha και αυτή η ρύθμιση έχει σημαντικό αντίκτυπο στην έκφραση του miRNA κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη και στον καρκίνο (Peng et al., 2016). Οι Walz et al. ανέφεραν ότι οι DGCR8 και Drosha έχουν μεταλλάξεις

υποκατάστασης/διαγραφής ενός νουκλεοτιδίου στο 15% των 534 όγκων του Wilms, οδηγώντας σε σημαντικά μειωμένη έκφραση της ώριμης οικογένειας Let-7a και miR-200 (Walzet et al., 2015). Όσον αφορά τη δυσρύθμιση του Dicer, παρατηρήθηκε ότι η βλάβη του Dicer1 στα κύτταρα του καρκίνου του παχέος εντέρου προκαλεί την απόκτηση μεγαλύτερης ικανότητας για έναρξη και μετάσταση όγκου, και αντίστροφα, η μειωμένη έκφραση του Dicer συσχετίζεται σημαντικά με τη μειωμένη επιβίωση των ασθενών (Pampalakis et al., 2010). Η θετική συσχέτιση μεταξύ χαμηλότερων επιπέδων mRNA του Dicer και μειωμένης έκφρασης let-7 με δυσμενή μετεγχειρητική επιβίωση ανακαλύφθηκε επίσης από τους Karube et al. σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα (Penget et al., 2016).

Οι πρωτεΐνες Argonaute είναι βασικά καταλυτικά συστατικά του RISC και έχουν κεντρικό ρόλο στις διαδικασίες αποσιώπησης του RNA. Παρόμοια με τις Dicer και Drosha, η απορρύθμιση των πρωτεϊνών Argonaute εμφανίζεται επίσης στον καρκίνο. Για παράδειγμα, το ανθρώπινο γονίδιο EIF2C1/hAgo1 συχνά χάνεται στους όγκους Wilms του νεφρού. Η έκφραση των ανθρώπινων πρωτεϊνών AGO ρυθμίζεται με κυτταροεξαρτώμενο τρόπο, με τα επίπεδα έκφρασης του AGO2 όταν υπάρχουν μεταστάσεις στους λεμφαδένες να είναι σημαντικά υψηλότερα από αυτά σε υγιείς μάρτυρες, ενώ τα επίπεδα έκφρασής του είναι χαμηλότερα στο μελάνωμα (Zhang et al., 2013; Völler et al., 2013).

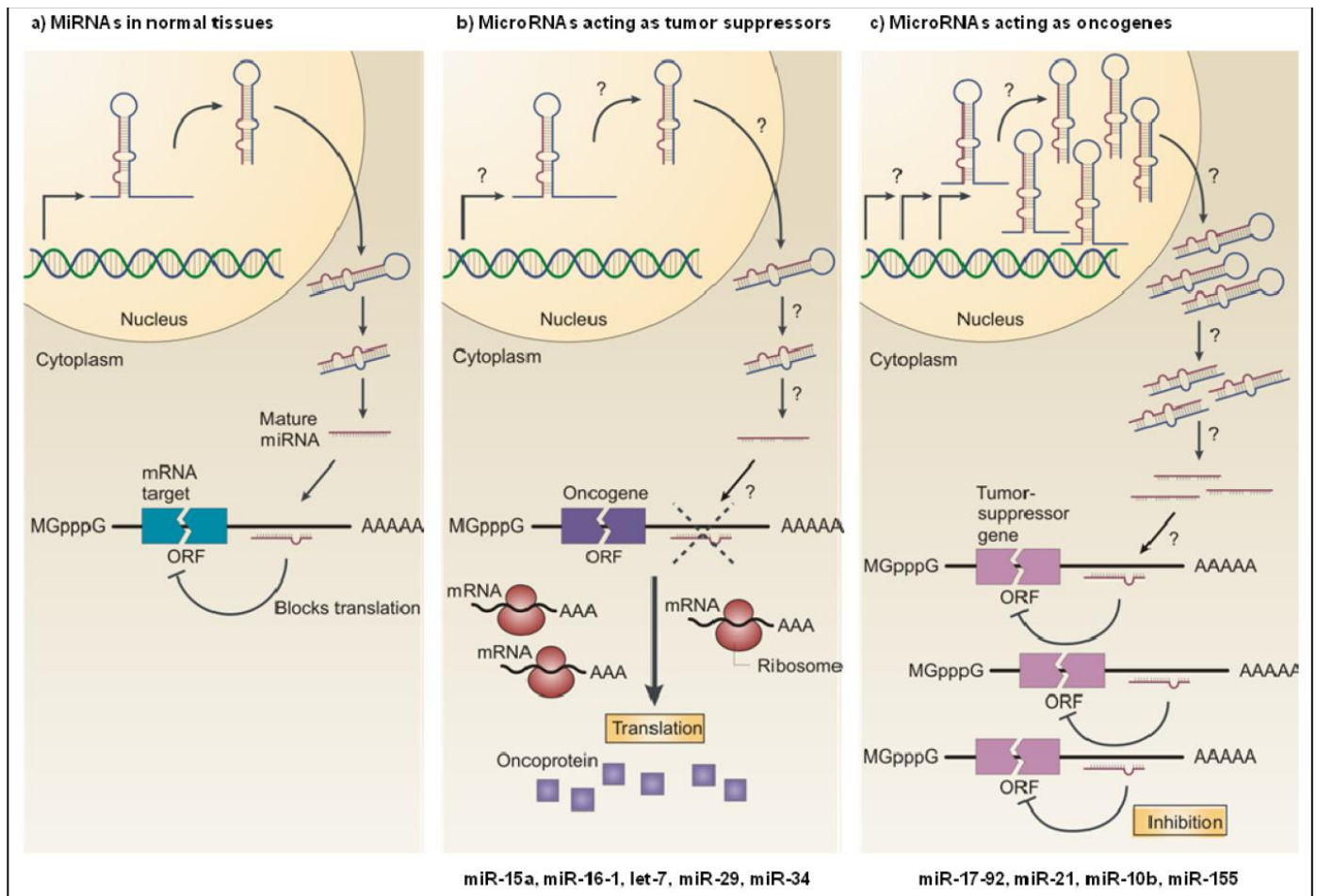
Η Exportin 5 (XPO5) είναι μια δίκλωνη πρωτεΐνη δέσμησης RNA που μεσολαβεί στην πυρηνική εξαγωγή του pre-miRNA στο κυτταρόπλασμα. Οι Melo et al. διαπίστωσαν ότι το γονίδιο XPO5 έχει αδρανοποιητικές μεταλλάξεις σε ένα υποσύνολο ανθρώπινων όγκων με μικροδορυφορική αστάθεια. Στα κύτταρα CRC HCT-15 και DLD-1, η εισαγωγή μίας Αδενίνης στο εξώνιο 32 δημιουργεί ένα πρόωρο κωδικόνιο τερματισμού, με αποτέλεσμα τη μετάλλαξη μετατόπισης πλαισίου και την παραγωγή κολοβωμένης μορφής της πρωτεΐνης. Αυτό το περικομμένο XPO5 χάνει τη λειτουργία εξαγωγής προ-miRNA. Επομένως, τα προ-miRNA παγιδεύονται στον πυρήνα, με αποτέλεσμα τη μειωμένη επεξεργασία του miRNA. Το πιο σημαντικό, η αποκατάσταση των λειτουργιών XPO5 αντιστρέφει την εξασθενημένη εξαγωγή των προ-miRNAs και έχει ογκοκατασταλτικά χαρακτηριστικά (Melo et al., 2010; Penget et al., 2016)

5.2 Ρόλος miRNAs ως ογκογονίδια

Αναλύσεις υψηλής απόδοσης (High-throughput analysis) έχουν αναφέρει αλλοιωμένη έκφραση miRNA σε όλους τους όγκους που έχουν ερευνηθεί μέχρι σήμερα, υποδηλώνοντας ότι τα miRNA μπορεί να εμπλέκονται στην ογκογένεση, πιθανότατα ρυθμίζοντας ογκογονίδια ή ογκοκατασταλτικά γονίδια. Έχει μάλιστα περιγραφεί η δράση miRNAs ως ογκογονίδια ή ογκοκατασταλτικά γονίδια **[Εικόνα 9]**. Τα miRNAs που δρουν ως ογκογονίδια συνήθως προωθούν την ανάπτυξη όγκου μέσω καταστολής ογκοκατασταλτικών γονιδίων ή/και γονιδίων που ελέγχουν την κυτταρική διαφοροποίηση ή απόπτωση.

Το miR-17-92 αντιπροσωπεύει το πρώτο παράδειγμα miRNA που δρα ως ογκογονίδιο σε θηλασικά. Αυτό το σύμπλεγμα είναι ενσωματωμένο στον γονιδιωματικό τόπο 13q31. 3, περιοχή ενισχυμένη σε πληθώρα τύπων λεμφώματος και συμπαγείς όγκους. Η έκφραση του συμπλέγματος miR-17-92 στο διαγονιδιακό μοντέλο ποντικού Εμ-myc του λεμφώματος Β-κυττάρων επιτάχυνε την έναρξη και την εξέλιξη της νόσου. Σε αυτά τα ποντίκια, η μεταγραφή του συμπλέγματος miR-17-92 ενεργοποιήθηκε αμέσως μετά την αλληλεπίδραση c-Myc, έναν μεταγραφικό παράγοντα συχνά υπερεκφραζόμενο στα καρκινικά κύτταρα (Gruszka et al., 2018). Επιπλέον το c-Myc φάνηκε πως ρυθμίζει ανοδικά (αυξημένη έκφραση) το σύμπλεγμα miR-106a-363 σε ανθρώπινους τροφοβλάστες (Kumar et al., 2013).

Οι Jackstadt et al πραγματοποίησαν αναλύσεις σε όλο το γονιδίωμα των mRNA και miRNA που ρυθμίζονται από το c-Myc, ως προς την κατανόηση του c-Myc (Jackstadt et al., 2013). Εντυπωσιακά, το c-Myc μετενεργοποίησε επίσης την έκφραση DROSHA αν και συνδέεται άμεσα με το E-box του υποκινητή (Wang et al., 2013), ο οποίος επέβαλε τη γενική ρύθμιση των miRNAs.



Εικόνα 9 Ρόλος *miRNAs* ως ογκογονίδια ή ογκοκατασταλτικά μόρια (Costa et al., 2013)

(α) Σε φυσιολογικά κύτταρα, η μεταγραφή, η επεξεργασία και η δέσμευση του *miRNA* σε συμπληρωματικές αλληλουχίες στο *mRNA* στόχο οδηγεί στην καταστολή των γονιδίων-στόχων τους, είτε με αναστολή μετάφρασης του *mRNA* είτε με αποικοδόμηση του *mRNA*. (β) Η μειωμένη έκφραση ενός *miRNA* που δρα ως ογκοκατασταλτικό, ως αποτέλεσμα χρωμοσωμικής διαγραφής ή βλαβών σε οποιοδήποτε στάδιο της βιογένεσης του *miRNA* (που υποδεικνύεται με ερωτηματικά) οδηγεί στην αυξημένη σύνδεση της ογκοπρωτεΐνης στόχου *miRNA* (μωβ τετράγωνο), και τελικά στην ανάπτυξη ενός ογκογόνου φαινοτύπου. (γ) Η αυξημένη έκφραση ενός *miRNA* που δρα ως ογκογονίδιο, ως αποτέλεσμα (μεταξύ άλλων) της ενίσχυσης του γονιδίου *miRNA* ή της ενεργοποίησης του συστατικού υποκινητή (υποδεικνύεται με ερωτηματικά), οδηγεί στην καταστολή ενός όγκου στόχου *miRNA*- ογκοκατασταλτικό γονίδιο (ροζ), το οποίο ευνοεί την ανάπτυξη ενός ογκογόνου φαινοτύπου. *ORF*: ανοιχτό πλαίσιο ανάγνωσης. *mGpppG*: 7-μεθυλγουανωσίνη.

Το miR-17-92 σύμπλεγμα και το παράλογό του, miR-106b-25, φαίνεται να συνδέονται στενά με τις λειτουργίες της οικογένειας μεταγραφικών παραγόντων E2F επίσης. Πράγματι, τα μέλη και των δύο συστάδων στοχεύουν το E2F1 και με τη σειρά τους μπορούν να ενεργοποιηθούν από το E2F, δημιουργώντας έναν βρόχο αρνητικής ανάδρασης. Αν και αυτά τα δεδομένα υποστηρίζουν έναν ρόλο για το σύμπλεγμα miR-

17-92 στην προώθηση της ογκογένεσης, υπάρχουν επίσης στοιχεία που υποδηλώνουν ότι η απώλεια λειτουργίας αυτών των miRNAs μπορεί να είναι επωφελής για τα καρκινικά κύτταρα (Visone et al., 2009).

Το πρώτο άμεσο παράδειγμα ότι ένα μεμονωμένο miRNA έχει ογκογόνο ρόλο είναι το miR-155, η υπερέκφραση του οποίου έχει συσχετιστεί με διάφορους τύπους λεμφωμάτων συμπεριλαμβανομένων των λεμφωμάτων Hodgkin και Burkitt (Visone et al., 2009). Ο Costinean και οι συνεργάτες του απέδειξαν το ρόλο αυτού του miRNA στην ογκογένεση με την παραγωγή διαγονιδιακών ποντικών που υπερεκφράζουν ειδικά το miR-155 σε B κύτταρα (Costinean et al., 2006). Αυτά τα διαγονιδιακά ποντίκια ανέπτυξαν μια προλευχαιμική λεμφοπολλαπλασιαστική νόσο που εξελίχθηκε σε λευχαιμία B-κυττάρων και λέμφωμα υψηλού βαθμού. Μια μελέτη μικροσυστοιχίας των κακοήθων B-κυττάρων που απομονώθηκαν από διαγονιδιακά ποντίκια miR-155 σε σύγκριση με μη διαγονιδιακό έλεγχο ανέφερε αρκετά απορρυθμισμένα γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες σε αυτά τα κύτταρα, εντοπίζοντας πιθανώς άμεσους και έμμεσους στόχους του miR-155. Έτσι, η απορρύθμιση του miR-155 θα μπορούσε να είναι λαμβάνει χώρα σε αρχικό στάδιο στην καρκινογένεση απαιτώντας πρόσθετες αλλοιώσεις μετέπειτα ώστε να δημιουργηθεί πλήρως κακοήθης φαινότυπος (Mattiske et al., 2012).

Το P53 θα μπορούσε να ενεργοποιήσει την οικογένεια miR-34, όπως το miR-34a, το miR-34b και το miR-34c, να επηρεάσει περαιτέρω την απόπτωση, τον πολλαπλασιασμό και την ανεξάρτητη από την προσκόλληση κυττάρων ανάπτυξη. Το MiR-504 λειτουργεί ως αρνητικός ρυθμιστής του p53 δεσμεύοντας απευθείας στο 3'-UTR, επομένως, μειώνει την απόπτωση που προκαλείται από p53 και το στρες του κυτταρικού κύκλου (Hu et al., 2010). Πέραν της εμπλοκής miRNAs με τα c-Myc (ογκογονίδιο) και το p53 (ογκοκατασταλτικό), το miR-144 στοχεύει το ογκογονίδιο ZEB1, άλλη μία σχέση που συμβάλλει σε καρκινογένεση. Συγκεκριμένα, η μειωμένη έκφραση του miR-144 αυξάνει την έκφραση Zeb1 και την επιθηλιακή-μεσεγχυματική μετάβαση (EMT) (Pan et al., 2015).

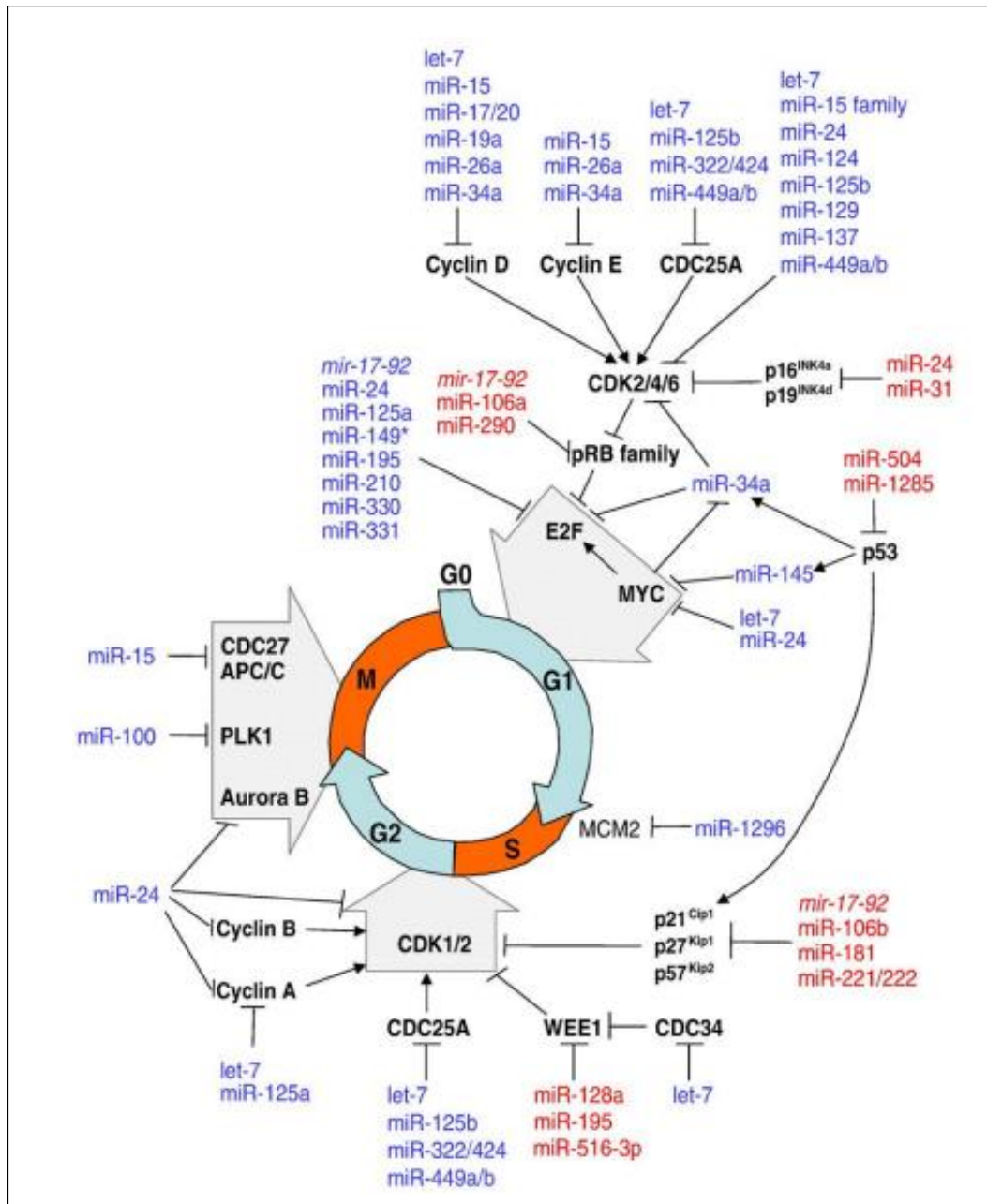
5.3 Συμμετοχή miRNAs στη ρύθμιση κυτταρικού κύκλου

Τα miRNAs μπορούν επίσης να συμβάλουν στην ογκογένεση ρυθμίζοντας την έκφραση πρωτεϊνών που ρυθμίζουν άμεσα τον έλεγχο για κυτταρική επιβίωση και κυτταρικό θάνατο. Αναδυόμενες μελέτες έχουν δείξει ότι τα miRNAs αλληλεπιδρούν με τις

Κυκλίνες, με τις Κυκλινο-εξαρτώμενες κινάσες (CDKs), E2F, Rb και τους CDK αναστολείς, ρυθμίζοντας έτσι την κυτταρική διαίρεση και την ανάπτυξη του όγκου [Εικόνα 10].

Συγκεκριμένα, το miR-221/222, το οποίο εκφράζεται ανοδικά σε πολλούς όγκους, έχει αναφερθεί ότι στοχεύει τις πρωτεΐνες p27Kip1 και p57Kip2. Οι πρωτεΐνες αυτές ρυθμίζουν αρνητικά τον κυτταρικό κύκλο, συνδεδεμένα με σύμπλοκα Cdk/κυκλίνης. Τελικά, αναστέλλουν τον διακόπτη φάσης G1/S (Visone et al., 2009). Επιπλέον τα μέλη των συμπλεγμάτων miR-17-92 και miR-106b-25 προάγουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων στοχεύοντας το p21Waf/Cip1, που εμπλέκεται στο ίδιο σημείο ελέγχου. Αντίθετα, το miR-122, το οποίο στοχεύει την κυκλίνη G1 (η μειωμένη έκφραση της σχετίζεται με χαμηλή εμφάνιση όγκου), έχοντας μειωμένη έκφραση στα ηπατικά κύτταρα οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων της G1 και προώθηση ηπατοκυτταρικών καρκινωμάτων. (Oliveto et al., 2017).

Το σύμπλεγμα miR-15a/16 μειώνει τα επίπεδα κυκλίνης D1, κυκλίνης D3, κυκλίνης E1 και CDK6. Έτσι μειωμένη έκφραση αυτού του συμπλέγματος οδηγεί σε συσσώρευση πλήθους γονιδίων που προάγουν τον κυτταρικό κύκλο. Επιπλέον, αυτά τα δύο miRNA συμβάλλουν επίσης στην απόπτωση και μειώνουν τα επίπεδα του αποπτωτικού αναστολέα Bcl-2. (Cimmino et al., 2005). Τα miR-17-92 και miR-106b-25, ακόμα, φαίνεται πως συσχετίζονται με απόπτωση μέσω αναστολής του προαποπτωτικού παράγοντα Bim (Tan et al., 2014).



Εικόνα 10 Κυτταρικός κύκλος και MicroRNAs.

Τα miRNAs που παρουσιάζονται με κόκκινο χρώμα προωθούν τον πολλαπλασιασμό ενώ αυτά με μπλε χρώμα αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό. S: Φάση S, M: Μίτωση, G1 και G2 : φάσεις μετάβασης κυτταρικού κύκλου, G0 : Φάση ηρεμίας (τα κύτταρα δεν διαιρούνται) (María José Bueno and Marcos Malumbres, 2011)

5.4 Διαμεσολαβούμενη από miRNAs μετάσταση όγκου

Ένας ρόλος για τα miRNAs έχει καθιερωθεί στα τελευταία στάδια της ογκογένεσης, της εξέλιξης και της μετάστασης καρκίνου. Αρκετά miRNAs, όπως τα miR-21 και miR-10b, φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο. Το miR-21 λειτουργεί ως ογκογονίδιο και

συμβάλλει στην ογκογένεση, εν μέρει μέσω της ρύθμισης του ογκοκατασταλτικού γονιδίου τροπομυοσίνη 1 (TPM1), μιας πρωτεΐνης που εμπλέκεται στη μετανάστευση των κυττάρων. Πρόσφατες μελέτες ανέφεραν ότι η καταστολή του miR-21 σε μεταστατικά καρκινικά κύτταρα του μαστού ή κακοήθη ηπατοκύτταρα μείωσε σημαντικά την διήθηση και τη μετάσταση (Liu et al., 2013).

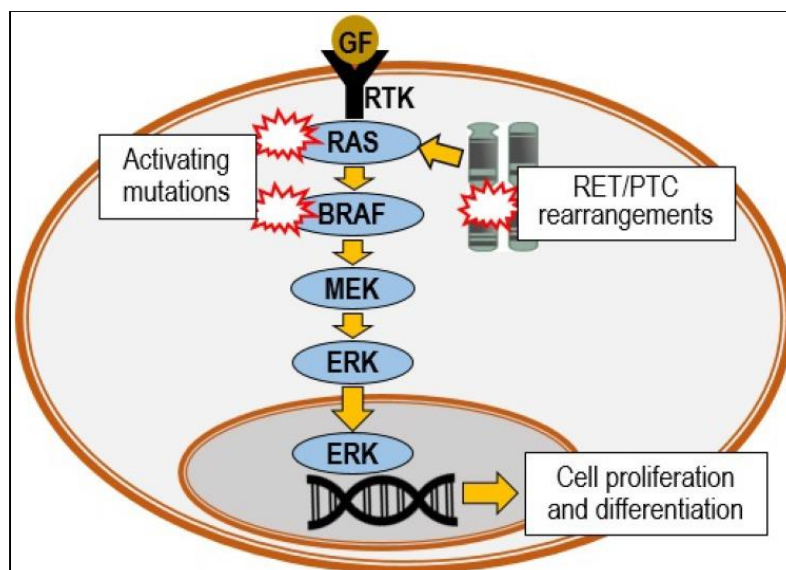
Σε μια άλλη μελέτη, η έκφραση του miR-10b ήταν αυξημένη σε μεταστατικά κύτταρα καρκίνου του μαστού σε σύγκριση με υγιή, κάτι που αποδόθηκε στην εμπλοκή του παράγοντα μεταγραφής Twist, ο οποίος χαρακτηρίστηκε ως επαγωγέα της υπερέκφρασης του miR-10b. Το miR-10b φάνηκε ακόμα πως προκαλεί μείωση των επιπέδων HOXD10 (Homeobox D10), και άρα αυξημένα επίπεδα παράγοντα RHOC, ο οποίος έχει ρόλο στη διέγερση της κινητικότητας των κυττάρων (Ma et al., 2007)

Κεφάλαιο 6. Ρόλος Micro-RNAs στην παθογένεση καρκίνου θυρεοειδούς

6.1 Γονιδιακές μεταλλάξεις στον θηλώδη και θυλακιώδη καρκίνο του θυρεοειδούς

Θυλώδες καρκίνωμα θυρεοειδούς

Στην ανάπτυξη του θυλώδους καρκίνου του θυρεοειδούς (PTC), εμπλέκονται αρκετοί γενετικοί παράγοντες, συμπεριλαμβανομένης της ενεργοποίησης της οδού σηματοδότησης MAPK ως αποτέλεσμα σημειακών μεταλλάξεων εντός του BRAF (40% των περιπτώσεων PTC) ή του RAS (15% των περιπτώσεων PTC) ή αναδιάταξη RET/PTC (18% των περιπτώσεων PTC). Στο PTC αρκετά συχνές είναι μεταλλάξεις BRAF, RAS ή RET (~70% περιπτώσεων) (βλ. Κεφάλαιο 1.3). Αυτές οι μεταλλάξεις συνδέονται με διακριτά φαινοτυπικά χαρακτηριστικά των όγκων (Abdullah et al., 2019) (Εικόνα 11). Αυτές οι παραλλαγές μπορούν να αναγνωριστούν μέσω των διαφορετικών ιστοπαθολογικών χαρακτηριστικών. Συχνά εμφανιζόμενες είναι οι κλασικές, οι θυλακιώδεις παραλλαγές και οι παραλλαγές ψλών κυττάρων. Μεταξύ των παραλλαγών του PTC, οι παραλλαγές των ψηλών κυττάρων είναι βιολογικά πιο επιθετικές. Ο Πίνακας 1 δείχνει τη συσχέτιση των αλλοιώσεων των γονιδίων RET, BRAF και RAS με τις τρεις κοινές παραλλαγές PTC και τα χαρακτηριστικά τους (Abdullah et al., 2019) (βλ. Πιν. 1).



Εικόνα 11 Ογκογόνος ενεργοποίηση της οδού MAPK. (Abdullah et al., 2019)

Η οδός πυροδοτείται από τη δέσμευση αυξητικού παράγοντα (Growth Factor, GF) σε έναν υποδοχέα κινάσης τυροσίνης (RTK), ο οποίος ενεργοποιεί τον καταρράκτη φωσφορύλιωσης RAS, BRAF, MEK και ERK.

Πίνακας 1. Κοινές παραλλαγές PTC, χαρακτηριστικά και σχετικές γονιδιακές αλλοιώσεις.
(Abdullah et al., 2019)

Παραλλαγή PTC	Κλασσική παραλλαγή	Ψηλών κυττάρων	Θυλακιώδης
Πυρηνικά χαρακτηριστικά	Σαφή	Σαφή	Λιγότερο σαφή
Ψαμμώματα σώματα	Συνήθη	Συνήθη	Σπάνια
Μετάστασησε λεμφαδένες	Συνήθης	Συνήθης	Σπάνια
Εξωθυρεοειδική επέκταση	Συνήθης	Συνήθης	Σπάνια
Στάδιο όγκου κατά την εμφάνιση	Πρώιμο/Αρχικό	Σε εξέλιξη	Ενδιάμεσο
Γονιδιακή μεταλλαγή	RET/BRAF	BRAF	RAS

Οι αναδιατάξεις RET/PTC συμβαίνουν συχνότερα σε ασθενείς ηλικίας κάτω των 45 ετών. Είναι ιδιαίτερα συχνές σε περιπτώσεις PTC που περιλαμβάνουν έκθεση σε ακτινοβολία, τόσο από θεραπεία εξωτερικής ακτινοβολίας όσο και από πυρηνικά ατυχήματα (Abdullah et al., 2019).

Στον καρκίνο του θυρεοειδούς, σημειακές μεταλλάξεις, χρωμοσωμική αναδιάταξη ή μικρές εισαγωγές ή διαγραφές στο πλαίσιο μπορεί να οδηγήσουν στην ενεργοποίηση του BRAF (Nikiforov et al., 2011). Οι μεταλλάξεις του BRAF είναι αμοιβαία αποκλειόμενες (δεν δύναται να συμβούν ταυτόχρονα) με την αναδιάταξη RET/PTC και άλλες κοινές γενετικές αλλοιώσεις και είναι πολύ πιθανό να έχουν ανεξάρτητο ογκογόνο ρόλο όπως φαίνεται στην ανάπτυξη PTC που ξεκίνησε με μετάλλαξη BRAF σε μελέτες διαγονιδιακών ποντικών (Rusinek et al., 2015). Το BRAFV600E είναι η πιο συχνά αναφερόμενη μετάλλαξη σε ασθενείς με PTC, ενώ η πιο σπάνια μετάλλαξη K601E έχει ανιχνευθεί στη θυλακιώδη παραλλαγή του PTC και σε καλοήγη αδενώματα θυρεοειδούς (Abdullah et al., 2019).

Προηγούμενες μελέτες έχουν συσχετίσει τη μετάλλαξη BRAFV600E με κακή πρόγνωση (Lee et al., 2007). Η υψηλή δραστηριότητα κινάσης αυτού του μεταλλάγματος μπορεί να οδηγήσει σε γενετική αστάθεια στο PTC, διευκολύνοντας τη δευτερογενή γενετική αλλοίωση των μελών της PI3K-ΚΤοδού μεσολαβώντας στην εξέλιξη πιο επιθετικό καρκίνο (Grogan et al., 2010). Έκτοτε, έχει υπάρξει πλήθος ερευνητικών αναφορών που συσχέτισαν την παρουσία της μετάλλαξης αυτής με μεταστάσεις λεμφαδένων, εξωθυρεοειδική διήθηση, υποτροπή και προχωρημένο κλινικό στάδιο (Chakraborty et al., 2012; Carrola et al., 2013). Ωστόσο, η προγνωστική αξία της μετάλλαξης BRAFV600E στο PTC έγινε αμφισβητήσιμη όταν τα στατιστικά δεδομένα από μια μεγάλη πολυκεντρική αναδρομική μελέτη αποδείχθηκαν ασήμαντα μετά την

προσαρμογή για κλινικούς και κλινικοπαθολογικούς παράγοντες κινδύνου όπως ηλικία του ασθενούς, εξωθυρεοειδική διήθηση, λεμφαδένες μετάσταση και απομακρυσμένη μετάσταση. Βέβαια, επακόλουθα δεδομένα τόνισαν την πιθανή προγνωστική αξία της μετάλλαξης BRAFV600E στην πρόβλεψη του κινδύνου υποτροπής του PTC (Xing et al., 2015). Σε αυτή την περίπτωση, η συσχέτιση της μετάλλαξης BRAFV600E με την υποτροπή PTC διατήρησε τη σημασία της ακόμη και μετά την προσαρμογή των δεδομένων για τους ίδιους κλινικοπαθολογικούς παράγοντες κινδύνου.

Στο PTC, γενετικές αλλοιώσεις του RAS συμβαίνουν όχι ταυτόχρονα (αμοιβαία αποκλειόμενα συμβάντα) με τα γονίδια BRAF, υποδηλώνοντας ότι η μετάλλαξη RAS είναι παρόμοια με τη μετάλλαξη του BRAF, η οποία είναι ικανή να επηρεάσει το PTC ανεξάρτητα. Οι πρωτεΐνες RAS εμπλέκονται σε μη ορθό κυτταρικό πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση (Abdullah et al., 2019).

Θυλακιώδες καρκίνωμα θυρεοειδούς

Οι FTC, όγκοι με θυλακιώδες μοτίβο που στερούνται πυρηνικών αλλοιώσεων PTC, συνήθως εγκλείονται και εμφανίζουν διήθηση όγκου και/ή αγγειακή διήθηση. Σε αντίθεση με τα PTC, τα οποία προκαλούν συμμετοχή των λεμφαδένων σε πολλούς ασθενείς, τα FTC συχνά εμφανίζουν αιματογενή εξάπλωση σε μακρινά όργανα (κυρίως στα οστά και τους πνεύμονες) (Macerolla et al., 2021). Τα αποτελέσματα της μελέτης TCGA για το PTC έχουν επιβεβαιωθεί από αρκετές μεταγενέστερες μελέτες, όπου συμπεριλήφθηκαν και οι FTC (Yoo et al., 2016; Duan et al., 2019; Bando et al., 2018) Σε αντίθεση με το PTC, τοθυλακιώδες καρκίνωμα θυρεοειδούς είναι γνωστό ότι περιλαμβάνει μεταλλάξεις είτε RAS είτε PTEN είτε αναδιατάξεις PAX8/PPAR, οι οποίες εντοπίζονται σε έως και 50-80% των όγκων FTC (Macerolla et al., 2021). Οι μεταλλάξεις του RAS ανευρίσκονται επίσης σε καλοήγη θυλακιώδη αδενώματα (βλ. Κεφάλαιο 1.3)(**Εικόνα 4**).

Υπάρχουν τρεις ισομορφές του γονιδίου RAS: τα H-RAS, K-RAS και N-RAS με τα τελευταία να είναι πιο μεταλλαγμένα σε διαφοροποιημένους όγκους θυρεοειδούς, κυρίως στα κωδικόνια 12, 13 και 61 και τα H-RAS, K-RAS στο MTC (Agrawal et al., 2014). Είναι ενδιαφέρον ότι όλες οι μεταλλάξεις RAS που αναφέρθηκαν από τη μελέτη TGCA λαμβάνουν χώρα στη θυλακιώδη παραλλαγή του PTC, με αποτέλεσμα η σχετική συχνότητα των μεταλλάξεων σε αυτήν την υποομάδα είναι υψηλότερη στον τύπο

FTC(Yoo et al., 2016). Οι μεταλλάξεις του RAS έχει δείχνει ότι εμφανίζονται συχνά και σε κακώς διαφοροποιημένο και αναπλαστικό καρκίνο του θυρεοειδούς, όπου συχνά συνδέονται με άλλες μεταλλάξεις όπως η μετάλλαξη του υποκινητή TERT (Molinaro et al., 2017). Οι μεταλλάξεις N-RAS, στο FTC, στο κωδικόνιο 61 έχει βρεθεί ότι μεταλλάσσονται σε επιπολασμό που κυμαίνεται από 15% έως 40% του FTC (Fukahori et al., 2012; Nicolson et al., 2018). Φαίνεται πως μεταλλάξεις RAS αυξάνουν το μεταστατικό δυναμικό και τη θνησιμότητα που σχετίζεται με τη νόσο και στον τύπο FTC.

6.2 MicroRNAs στον καρκίνο του θυρεοειδούς

In vitro και in vivo πειράματα έχουν αποκαλύψει το ρόλο πολλών miRNAs στην παθογένεση του καρκίνου του θυρεοειδούς. Συγκεκριμένα, τα ογκογόνα miRNAs (ή αλλιώς oncomiRs) περιορίζουν την έκφραση ογκοκατασταλτικών γονιδίων, με αποτέλεσμα να ενισχύουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου. Ο ρόλος αυτών των miRNAs ασκείται μέσω της διαμόρφωσης οδών σηματοδότησης που σχετίζονται με τον καρκίνο, όπως το PI3K/Akt/mTOR σηματοδοτικό μονοπάτι, καθώς και τα μονοπάτια σηματοδότησης Hippo, Wnt και Jak-STAT (Ghafouri-Fardet et al., 2020).

6.2.1 miRNAs στο θηλώδη καρκίνο θυρεοειδούς ή PTC

Αν και η πλειονότητα των περιπτώσεων PTC έχουν εξαιρετικές προγνώσεις και ανταποκρίσεις στη θεραπεία, το 10-15% των ασθενών εμφανίζει σημεία υποτροπής της νόσου κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης, η οποία σχετίζεται με μικρότερη συνολική επιβίωση (Albert de la Chapelle et al., 2011).

Η εξέλιξη του PTC συσχετίζεται με την αποδιαφοροποίηση των καρκινικών κυττάρων με αποτέλεσμα να παρατηρείται αυξημένη αντίσταση στη θεραπεία με ραδιενεργό ιώδιο (RAI) (Schonfeld et al., 2011). Επομένως, η καλύτερη κατανόηση των μηχανισμών που εμπλέκονται στην εξέλιξη και τη μετάσταση του PTC είναι πολύ σημαντική και μπορεί να έχει κλινικές προεκτάσεις. Στη συγκεκριμένη ενότητα παρατίθεται αναλυτικά η συμμετοχή miRNAs στην παθογένεση καρκίνου θυρεοειδούς.

6.2.1.1 Up regulated miRNAs -on com

iRNAs στο PTC

Ένας μεγάλος αριθμός miRNAs τα οποία ρυθμίζονται ανοδικά (**up regulated miRNAs**) έχοντας ογκογόνες επιδράσεις έχει ανιχνευτεί σε δείγματα PTC όπως συνοψίζονται αρκετές μελέτες διεθνώς (Mohamadet al., 2018; Chengfenget al., 2019; Papaioannouet al., 2022).

Μελέτες έχουν δείξει πως τα **miR-146**, **miR-222**, **miR-21**, **miR-221** **miR-181**, **miR-146b-5p**, **miR-146b-3p**, **miR-221-3p**, **miR-222-5p** και **miR-222-3p** υπερεκφράζονται σε δείγματα ιστού PTC σε σύγκριση με τους φυσιολογικούς ιστούς του θυρεοειδούς. Αυτά τα miRNAs είχαν υψηλότερη έκφραση, επίσης, σε υποτροπιάζοντες όγκους PTC σε σύγκριση με μη υποτροπιάζοντα δείγματα και σε θετικά δείγματα για μεταστάσεις λεμφαδένων (LNM, Lymphnodemetastasis) σε σύγκριση με αρνητικά για LNM (Papaioannouet al., 2022; Pamedytyteet al., 2019).

Τα **miRNA-146a** και **146b** είναι τα πιο εκτενώς μελετημένα απορυθμισμένα miRNA σε όγκους του θυρεοειδούς ιστού. Εμφανίζουν μεγαλύτερη έκφραση σε παθολογικά δείγματα θυρεοειδούς σε σύγκριση με τον φυσιολογικό ιστό (Chou et al., 2017). Συγκεκριμένα, η υπερέκφραση του **mir146a** προκύπτει λόγω μειωμένης αποικοδόμησης του HIFa μέσω ουβικιτινίωσης, λόγω της αυξημένης δραστηριότητας του LSD1. Το **Mir-146a** φάνηκε να αναστέλλει την έκφραση του GABPA και με αυτόν τον τρόπο συνέβαλε στην αναστολή της απόπτωσης και στη διέγερση της κακοήθειας των κυττάρων PTC (Long et al., 2020).

Το **MiR146b** εμπλέκεται στην οδό MAPK/ERK επιδρώντας σε διάφορες κυτταρικές λειτουργίες, μέσω αλληλεπίδρασης με TGF-β, όπως ο σχηματισμός κυτταροσκελετού ακτίνης που επηρεάζει τη μετανάστευση και την διήθηση των κυττάρων του θυρεοειδούς (Lima et al., 2016). Συγκεκριμένα, το miRNA αυτό στοχεύει τη σχετιζόμενη με τον υποδοχέα IL-1 κινάση 1 (IRAK1), της οποίας η αναστολή συσχετίζεται με ενίσχυση της πολλαπλασιαστικής ικανότητας κυττάρων PTC, διεισδυτικότητα όγκου και επιθετικότητα, πιθανώς λόγω της απορρύθμισης της μεσολαβούμενης από E-cadherin EMT (Qiu et al., 2017).

Το **MiR-146b-5p** επηρεάζει τον πολλαπλασιασμό και την διήθηση των κυττάρων, η οποία ενισχύεται κατά τη διάρκεια της οδού σηματοδότησης EMT που προκαλείται

από τον TGF-β1 (Hardin et al., 2014). Ένας άλλος αρνητικός ρυθμιστής της οδού Wnt/β-κατενίνης που εμπλέκεται στο EMT είναι ο ZNRF3, ο οποίος επίσης ρυθμίζεται καθοδικά από το miR-146b-5p (Deng et al., 2015). Επιπλέον, το miR146b-5p στοχεύει τόσο τη γονιδιακή έκφραση του RARβ όσο και του CCDC6 και προάγει την ανάπτυξη όγκου (Czajka et al., 2016; Jia et al., 2019). Η υπερέκφραση των miR-146b-5p και miR-146b-3p διακρίνει τον κλασικό τύπο και την παραλλαγή των μακρών-ψηλών κυττάρων (tall cell variant (TCV) στο PTC, αλλά όχι την θυλακιώδη παραλλαγή του PTC (Rosignolo et al., 2017).

Ένα άλλο μέλος της οικογένειας είναι το **MiR146b-3p**, το οποίο εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό σε μεταστατικές κυτταρικές σειρές και ενισχύει την κυτταρική διήθηση και τη μετάσταση καταστέλλοντας την έκφραση του γονιδίου NF2. Η αυξημένη έκφραση του MiR146b πιθανά οφείλεται σε υπομεθυλίωση του DNA. Η ανοδική ρύθμιση του MiR146b μπορεί να είναι ένας ευαίσθητος (91-96%) και ειδικός (96-97%) δείκτης για τη διάκριση των καλοήθων και κακοήθων βλαβών του θυρεοειδούς και ένας προγνωστικός δείκτης για υποτροπή (Rosignolo et al., 2017). Επιπλέον, η έκφραση της οικογένειας miR146 σχετίζεται με το στάδιο του όγκου σύμφωνα με το σύστημα TNM, την επιθετικότητα του όγκου, την κλασική παραλλαγή ψηλών κυττάρων του PTC (ιδίως miR-146b-5p) και τον αυξημένο κίνδυνο μετάστασης στους λεμφαδένες (Ab Mutalib et al., 2016; Qiu et al., 2018; Han et al., 2016). Η υπερέκφραση του MiR146a στον ιστό έχει, επιπλέον, συσχετιστεί, με το γυναικείο φύλο, τη μετάσταση σε κεντρικούς λεμφαδένες, την εξωθυρεοειδική επέκταση και το προχωρημένο στάδιο όγκου στο TNM σύμφωνα με τα αποτελέσματα στατιστικής ανάλυσης μιας μελέτης κόορτης από τους Sun et al. (Sun et al., 2015).

Το **MiR-183** είναι ένα άλλο ογκογονίδιο που περιγράφεται, το οποίο, αναστέλλοντας την έκφραση του γονιδίου PDCD4, ενίσχυσε την εξέλιξη του PTC και ανέστειλε την απόπτωση (Wei et al., 2015). Το **MiR-182** αναστέλλει τη γονιδιακή έκφραση CHL1, προάγοντας την ανάπτυξη και τη διήθηση του όγκου (Zhu et al., 2014). Η υπερέκφραση του **miR-92a-3p** συνδέθηκε με αγγειακή διήθηση (Todorović et al., 2018). Η λειτουργία του ογκογονιδίου του **miR-96** αποδείχθηκε ότι διαμεσολαβείται από την καταστολή της έκφρασης του FOXO1, επηρεάζοντας την οδό σηματοδότησης του άξονα AKT/FOXO1/Bim και επομένως μεσολάβησε στον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση των κυττάρων PTC (Song et al., 2015). Το CYLD, μέλος της οδού κατενίνης Wnt/β και

αρνητικός ρυθμιστής του παράγοντα NF-κΒ, υπορυθμίζεται από το **miR-181b**, το οποίο υπερεκφράζεται σε δείγματα PTC (Li et al., 2014). Επομένως, τόσο το **miR-181a** όσο και το **miR-181b** προτείνονται ως πιθανοί θεραπευτικοί στόχοι στη θεραπεία PTC.

Η δράση του **miR-223** ως ογκογονίδιο στα καρκινικά κύτταρα του θυρεοειδούς πιθανώς μεσολαβείται μέσω της καθοδικής ρύθμισης της πρωτεΐνης APQ-1. Συγκεκριμένα, η διαμεσολαβούμενη από siRNA αποσιώπηση αυτού του miRNA έχει αναστείλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και έχει προκαλέσει απόπτωση σε αυτά τα κύτταρα. Επιπλέον, το miR-221 έχει αποδειχθεί ότι συνδέεται άμεσα με την 3' αμετάφραστη περιοχή (3'UTR) του γονιδίου του TIMP3 (TIMP Metalloproteinase Inhibitor 3), που κωδικοποιεί τον αναστολέα μεταλλοπρωτεϊνών αναστέλλοντας έτσι την έκφρασή του και προάγοντας τον πολλαπλασιασμό και την διήθηση των κυττάρων PTC. Τα ογκογόνα αποτελέσματα αυτού του miRNA έχουν επίσης επαληθευτεί σε μοντέλο ξενομοσχεύματος του PTC (Diaoe et al., 2017).

Η έκφραση του **miR-181a** έχει παρατηρηθεί επίσης ότι είναι αυξημένη στους καρκινικούς ιστούς του θυρεοειδούς σε σύγκριση με τους συζευγμένους μη καρκινικούς ιστούς. Η μειωμένη έκφραση του γονιδίου THRβ βρέθηκε επίσης να συσχετίζεται αρνητικά με την αυξημένη έκφραση του miR181a σε δείγματα PTC. Αποσιώπηση του miR-181a οδηγεί σε περιορισμό της κυτταρικής ανάπτυξης, ενώ η υπερέκφρασή αυτού του μορίου αναστέλλει την απόπτωση και ενισχύει την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου. Αυτό το miRNA, επιπλέον, αναστέλλει την έκφραση του RB1 (Leet et al., 2017).

Τα **MiRNA-221** και **222** βρέθηκαν επίσης συχνά ρυθμισμένα ανοδικά σε δείγματα PTC λόγω της αλληλεπίδρασης της πρωτεΐνης HMGB1 με τον υποδοχέα για τα τελικά προϊόντα προηγμένης γλυκοζυλίωσης (RAGE). Η ενεργοποίηση της οδού HMGB1/RAGE εκτός από τη συμβολή στη χρόνια φλεγμονή και την αναστολή του PTEN, ενός ρυθμιστή του κυττάρου, επάγει την έκφραση των miR-221 και -222 και συμβάλλει στην ανάπτυξη PTC (Mardente et al., 2015). Το MiR-221 συνδέεται με το mRNA του TIMP3. Ως αποτέλεσμα της επαγόμενης καταστολής του γονιδίου TIMP3, ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός, η ανάπτυξη και η επιθετικότητα του PTC αυξάνονται. Επιπλέον, βρέθηκε αρνητική συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης των επιπέδων mRNA **miR-221**, **-222**, **-146b** και **p27 (kip1)** σε κύτταρα PTC (Acibucu et al., 2014). Η ανοδική ρύθμιση του miR-221 πιθανώς μέσω της IL-7 και του miR-222 συσχετίστηκε με το προχωρημένο στάδιο

TNM, την εξωθυρεοειδική επέκταση και τη μετάσταση στους λεμφαδένες (Jiang et al., 2017).

Τόσο το miR-221 όσο και το -222 αποτελούν προγνωστικούς βιοδείκτες της υποτροπής PTC (Dai et al., 2017). Η καθοδική ρύθμιση του γονιδίου THRβ συσχετίστηκε επίσης αντιστρόφως με την υπερέκφραση του miR-221 και συσχετίστηκε με την επιθετικότητα του PTC. Το MiR-222 στοχεύει άμεσα το 3'-UTR του PPP2R2A, ένα ογκοκατασταλτικό μόριο, αλλάζοντας την οδό σηματοδότησης AKT και επομένως ενισχύοντας τη μετάσταση του όγκου σε ποντίκια (Huang et al., 2018; Xianget al., 2019).

Η έκφραση του **MiR-21** βρέθηκε να αυξάνεται σε κυτταρικές σειρές PTC υπό υποξικές συνθήκες και προάγει την αγγειογένεση μέσω άμεσης στόχευσης και αναστολής της έκφρασης των γονιδίων TGFB1 και COL4A1. Ως εκ τούτου, αυξημένος ρυθμός αγγειογένεσης θα μπορούσε να συσχετιστούν με την αυξημένη υποτροπή PTC (Sondermann et al., 2015). Μια άλλη πιθανή ογκογόνος οδός για τη δράση του miR-21 συνεπαγόταν τη μείωση της ρύθμισης του PDCD4 και την ενίσχυση του πολλαπλασιασμού και της διήθησης των κυττάρων (Zhang et al., 2014). Σύμφωνα με τους Rosignolo και συνεργάτες, εκτός από τη συσχέτιση της υπερέκφρασης του miR-21 με αυξημένο κίνδυνο υποτροπής, υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την παραλλαγή ψηλών κυττάρων σε δείγματα PTC (Rosignolo et al., 2017).

Το **MiR-155** αναφέρεται ως βιοδείκτης για τη διάκριση μεταξύ καλοήθων και κακοήθων βλαβών του θυρεοειδούς και για μεγαλύτερο μέγεθος, επέκταση εξωθυρεοειδούς, μετάσταση κεντρικών λεμφαδένων, προχωρημένο στάδιο TNM και κακή πρόγνωση (Papaioannou et al., 2022).

Η οικογένεια **miRNAlet-7c** επιδρά στα επίπεδα RAS, μειώνοντάς α και με αυτό τον τρόπο δρα ως ογκοκατασταλτικό γονίδιο, όπως συνοψίζεται από τους Perdas et al. (Perdas et al., 2016). Ωστόσο, τα **let-7b** και **let-7c** βρέθηκαν να υπερεκφράζονται σε δείγματα PTC. Άλλα microRNA που βρέθηκαν σε διεθνείς μελέτες ότι ρυθμίζονται προς τα πάνω είναι τα **miR- 196a-5p, -31, -187, -551-3p, -99b, -340, -954, -18a, -506, -578, -381, -3613 και -346**(Papaioannou et al., 2022)(**Εικόνα 12**).

MiRNA	Tissue	Plasma/Serum
146a	+	+
146a-5p	+	+
146b	+	+
146b-5p	+	+
221	+	+
221-3p		+
222	+	+
222-3p		+
595	+	
1270	+	
21	+	+
183	+	
182	+	
92a	+	
625-3p	+	
96	+	
181	+	+
Let-7b	+	
Let-7c	+	
Let-7e		+
155	+	+
34a	+	
424	+	
200a-5p	+	
196a-5p	+	
31	+	+
187	+	
551-3p	+	
99b	+	
340	+	
954	+	
18a	+	
506	+	
578	+	
381	+	
3613	+	
346	+	
451a		+
30a-5p		+
106a		+
Let-7e		+
191-5p		+
93-5p		+
Let-7b		+
Let-7b-5p		+
24-3p		+
103a-3p		+
28-3p		+
423-5p		+
22	+	+
25-3p		+
190		+
95		+
10a-5p		+
598-5p		+
3161		+
4644		+
6516-5p		+
1283		+
5189-3p		+
4433a-5p		+
485-3p		+
151-5p		+

Εικόνα 12. Up regulated miRNAs στο PTC (ιστό, ορό/πλάσμα)

Ανακτήθηκε ως Εικόνα από: Paraiouannou et al., 2022

6.2.1. 2Down regulated miRNAs- ογκοκατασταλτικά miRNAs στο PTC

Μια αξιοσημείωτη ομάδα miRNAs με μειωμένη έκφραση (**downregulatedmiRNAs**), που επηρεάζουν την έκφραση των γονιδίων και τις κυτταρικές διεργασίες, έχει επίσης βρεθεί τόσο σε κυτταρικές σειρές PTC όσο και σε δείγματα. Αυτά τα miRNAs έχει αποδειχθεί ότι ρυθμίζουν αρνητικά την έκφραση των ογκογονιδίων, αναστέλλοντας έτσι τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των κυττάρων. Τα μονοπάτια MAPK, PI3K, NF-κB, GSK-3β/β-κατενίνης, AKT και PI3K είναι μεταξύ των οδών που σχετίζονται με τον καρκίνο και διαμορφώνονται από αυτά τα miRNA. Ένας εκτενής αριθμός αυτών των miRNAs έχει αποδειχθεί ότι ρυθμίζεται προς τα κάτω σε κυτταρικές σειρές καρκίνου του θυρεοειδούς ή κλινικά δείγματα, διευκολύνοντας έτσι την κακοήγη συμπεριφορά αυτών των κυττάρων (Ghafouri-Fard et al., 2020).

Τα miRNAs αυτά ρυθμίζουν τον κυτταρικό κύκλο και τον πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση και την διήθηση, όπως το **miR-7**, το οποίο βρέθηκε να υπορυθμίζεται σε δείγματα PTC. Ωστόσο, κατά την υπερέκφραση του miR-7, η έκφραση του ογκογονιδίου CKS2 καταστέλλεται, επηρεάζοντας τη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου καθοδικά και καταλήγοντας σε διακοπή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G0/G1 (Hua et al., 2016).

Το **miR-129** είναι ένα άλλο ογκοκατασταλτικό miRNA στο PTC, η υπερέκφραση του οποίου προκαλεί αναστολή της κυτταρικής ανάπτυξης και διήθηση των κυττάρων PTC (Gao et al., 2018).

Επίσης, η υπερέκφραση του **miR-791**, που βρέθηκε να υποεκφράζεται σε δείγματα PTC, φάνηκε πως οδηγεί τον κυτταρικό κύκλο στη φάση G0/G1 αναστέλλοντας την έκφραση της κυκλίνης D1, CDK6 και CDK4 (Gao et al., 2018). Η μείωση της έκφρασης **miR-144** σε PTC σχετίζεται με μεγαλύτερο μέγεθος όγκου.

Το **MiR-144**, σε μελέτη ανέστειλε τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό στοχεύοντας WWTR1 (Sun et al., 2018). Επιπλέον, το miR-144 φάνηκε πως στοχεύει τον μεταγραφικό παράγοντα E2F8 προκαλώντας διακοπή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G1, μειώνοντας τη ρύθμιση της κυκλίνης D1 (Sun et al., 2017). Το **Mir144-3p** βρέθηκε ότι καταστέλλεται από το BAG5 και επομένως η έκφραση της φμπρονεκτίνης 1 (FN1) διατηρήθηκε αυξημένη, προάγοντας την διήθηση σε κύτταρα PTC. Η άμεση αλληλεπίδραση του **miR-144-3p** με την FN1 βρέθηκε επίσης ότι μεσολαβεί στην ογκογόνο λειτουργία του SphK1 σε κύτταρα PTC (Liang et al., 2017).

Η μειωμένη του **miR-1266** στο PTC θα μπορούσε να είναι υπεύθυνη για την υπερέκφραση του FGFR2 (Papaioannou et al., 2022). Το **MiR-335** φάνηκε πως λειτουργεί επίσης ως ογκοκατασταλτικό μόριο στοχεύοντας το ZEB2 (Kan et al., 2017). Μέσω της οδού Akt/mTOR, ακόμα, το **miR-718** στοχεύει την PDK1 και αναστέλλει τον μεταβολισμό της γλυκόζης στα κύτταρα και την εξέλιξη του PTC (Wang et al., 2018).

Το **miR-9-5p** φάνηκε πως στοχεύει την 3'-αμετάφραση περιοχή του BRAF η οποία ρυθμίζεται αρνητικά στις θηλώδεις κυτταρικές σειρές (Guo et al., 2018). Τα **MiR-449** και **miR-202-3p** βρέθηκαν επίσης να είναι αρνητικοί ρυθμιστές του PTC μέσω της αναστολής της οδού σηματοδότησης Wnt/ β -κατενίνης (Chen et al., 2019).

Το **MiR-126** βρέθηκε να υποεκφράζεται τόσο σε δείγματα PTC όσο και σε κύτταρα, ενώ ο λειτουργικός του ρόλος έγκειται στην αναστολή της αγγειογένεσης που προκαλείται από τον VEGF-A (Salajegheh et al., 2016). Επιπλέον, το **miR-126** βρέθηκε ότι ρυθμίζει το μονοπάτι σηματοδότησης Wnt/ β -κατενίνης μέσω της ρύθμισης της πρωτεΐνης LRP6, με τη μη ορθή έκφραση του miR-126 να σχετίζεται με τη μετάσταση στους λεμφαδένες και το προχωρημένο στάδιο TNM (Wen et al., 2015).

Επιπλέον ο αγγειακός παράγοντας VEGF βρέθηκε να αναστέλλεται και από το **miR-622**. Σε δείγματα PTC, η μειωμένη έκφραση του **miR-622** βρέθηκε να συσχετίζεται με τη μετάσταση στους λεμφαδένες και το προχωρημένο στάδιο TNM (Cheng et al., 2017). Το MiR-205 είναι ένα άλλο ογκοκατασταλτικό μόριο που φαίνεται να σπινχέυει στη δράση του VEGFA αναστέλλοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου και την αγγειογένεση (Li et al., 2018).

Τα **MiR-204-5p** και **miR-7-2** περιγράφηκαν επίσης ως ογκοκατασταλτικά, εμπλεκόμενα με αγγειογένεση και πρόοδο κυτταρικού κύκλου. Η υποέκφρασή τους στο δείγμα PTC έδειξε τον πιθανό ρόλο τους ως βιοδείκτες σταδίου όγκου. (Liu et al., 2015). Επιπλέον, η ρύθμιση του **miR-204** βρέθηκε να σχετίζεται έντονα με τον τύπο παραλλαγής του θυλακιδώδους κυττάρου και των ψηλών κυττάρου, την εξωθυρεοειδική επέκταση και μετάσταση του PTC και την παρουσία μετάλλαξης BRAF-V600E (Liu et al., 2015). Η μειωμένη έκφραση του γονιδίου Dicer σε κακοήθεις ιστούς συσχετίστηκε σε μεγάλο βαθμό με επιθετικά χαρακτηριστικά: εξωθυρεοειδική επέκταση, αγγειολεμφική διήθηση, πολυεστίαση λεμφαδένα και απομακρυσμένη μετάσταση και υποτροπή. Η εμφάνιση της μετάλλαξης BRAF-V600E και τα επιθετικά χαρακτηριστικά του PTC βρέθηκαν να σχετίζονται με τη μειωμένη έκφραση του DICER-mRNA (Erler et al., 2014). Ωστόσο, αυτά

τα αποτελέσματα είναι αμφιλεγόμενα αφού οι Penha et al. Διαπίστωσαν ότι το mRNA του DICER1 υπερεκφραζόταν στο 70% των δειγμάτων PTC. Ωστόσο, τα επίπεδα πρωτεΐνης Dicer1 μειώθηκαν και επηρέασαν τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση του PTC (Penha et al., 2017).

Το **MiR-451a** υποεκφράζεται στον ιστό PTC. Εμφανίζει συσχέτιση με επιθετικά κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά, παραλλαγή ψηλών κυττάρων του PTC, εξωθυρεοειδική επέκταση και προχωρημένο στάδιο όγκου. Το MiR-451a φάνηκε να στοχεύει την έκφραση των MIF, c-MYC και AKT1 και έτσι ανέστειλε τη σηματοδότηση Akt/mTOR (Minna et al., 2016). Μέσω της οδού Akt και στοχεύοντας την έκφραση των γονιδίων ARFGEF1 και IRS2, αντίστοιχα, τα **miR-215** και **miR-766** που ανιχνεύθηκαν σε χαμηλότερα επίπεδα προάγουν τη μετάσταση στους λεμφαδένες, ενώ το **miR-431** καταστέλλεται στη μετάσταση στους λεμφαδένες, αποτελώντας έναν σημαντικό βιοδείκτη για μεταστατική ασθένεια, που ρυθμίζει τον σχηματισμό κυτταροσκελετού από την E-cadherin και τη Vimentin και αναστέλλει την οδό Hedgehog (Liu et al., 2018).

Επιπλέον, τα **miR-152** και **-20b** σχετίζονται με πιο επιθετικούς τύπους θηλώδους καρκίνου του θυρεοειδούς, προχωρημένο στάδιο TNM και μετάσταση λεμφαδένων (Hong et al., 2016; Nie et al., 2020).

Η έκφραση του **miR-26b-5p** έχει φανεί πως μειώνεται στους καρκινικούς ιστούς του θυρεοειδούς σε σύγκριση με τους γειτονικούς φυσιολογικούς ιστούς σε σχέση με τη μετάσταση στους λεμφαδένες. Μελέτες in vitro έδειξαν το ρόλο αυτού του miRNA στην καταστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, της διήθησης και της μετανάστευσης των καρκινικών κυττάρων του θυρεοειδούς. Ο ογκοκατασταλτικός ρόλος αυτού του miRNA μπορεί να ασκηθεί μέσω της οδού GSK-3β/β-κατενίνης (Zhou et al., 2019). Το **miR-203** έχει επίσης δειχθεί πως ρυθμίζεται καθοδικά σε ιστούς και κυτταρικές σειρές PTC σε σύγκριση με ιστούς και κύτταρα ελέγχου. Η καθοδική ρύθμιση αυτού του miRNA έχει συσχετιστεί αναστολή της απόπτωσης (Wu et al., 2020).

Το **Let-7e**, ένα ογκοκατασταλτικό miRNA, βρέθηκε ότι είναι ικανό να αποτρέψει την εξέλιξη του PCT αναστέλλοντας άμεσα τη μετάφραση του mRNA HMGB1 (Ding et al., 2019).

Άλλα miRNA που βρέθηκαν να ρυθμίζονται καθοδικά στο PTC αλλά με άγνωστο μοριακό μηχανισμό είναι τα **miR-140-3p**, **miR-99a**, **miR-374a**, **miR-372**, **miR-363**, **miR-299-3p**, **miR-135b**, **miR-107**, **miR-103**, **miR-122-5p** και **miR-10a-5p** (Papaioannou et al.,

2022). Τα MiR-654-3p, miR-361-5p (μέσω ROCK1), miR-497 (μέσω Akt3), miR-744 (μέσω NOB1), miR-613 (μέσω SphK2), miR-4500 (μέσω PLXNC1), miR-577 (μέσω SphK2), miR-29a-3p (μέσω OTUB2), miR-101 (μέσω RAC1), miR-195 (μέσω CCND1 και FGF2), miR-329 (μέσω WNT1), miR-4728 (μέσω SOS1 και MAPKμονοπάτι σηματοδότησης), miR-199a-5p (μέσω SNAI1), miR-758-3p (μέσω TAB1), miR-219-5p (μέσω ERα), miR-206 (μέσω MAP4K3), miR-128 (μέσω SphK1), και miR143-3p (μέσω MSI2) βρέθηκαν σε χαμηλότερα επίπεδα σε δείγματα PTC και κύτταρα με ενισχυμένο κυτταρικό πολλαπλασιασμό, μετανάστευση και διήθηση (Papaioannou et al., 2022) **(Εικόνα 13)**.

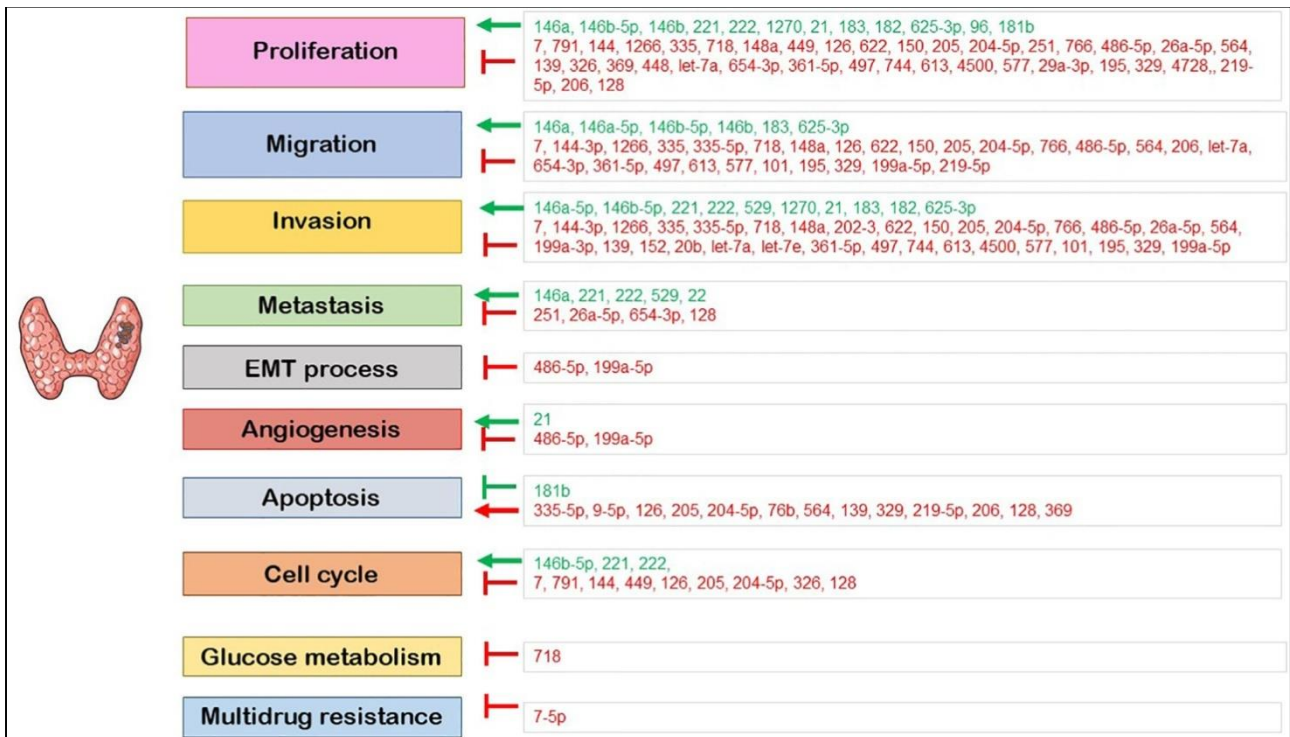
MiRNA	Tissue	Plasma/Serum
7	+	
791	+	
144	+	
1266	+	
335	+	
718	+	
148a	+	
9-5p	+	
449	+	
202-3p	+	
126	+	
622	+	
150	+	
205	+	
204-5p	+	
7-2	+	
DICER	+	
451a	+	
215	+	
766	+	
431	+	
486-5p	+	
940	+	
16	+	
199a-3p	+	+
26a-5p	+	
564	+	
15a	+	
30c-2-3p	+	
876-5p	+	
138-5p	+	
139	+	
139-3p	+	
139-5p	+	
138-1-3p	+	
504	+	
152	+	
873	+	
199-5p	+	
20b	+	
326	+	
TG	+	
369-3p	+	
448	+	
Let-7a	+	
Let-7b-5p	+	+
Let-7e	+	
Let-d	+	
Let-7f	+	
Let-g	+	
140-3p	+	+
99a	+	
374a	+	
372	+	
363	+	
299-3p	+	
135b	+	
107	+	
103	+	
122-5p	+	
654-3p	+	
361-5p	+	
497	+	
744	+	
613	+	
4500	+	
577	+	
29a-3p	+	
101	+	
195	+	
329	+	
4728	+	
199	+	
758-3p	+	
219-5p	+	
206	+	
128	+	
143-3-p	+	
10a-5p	+	
150-5p		+
146a-5p		+
342-3p		+
190a-5p		+
95-3p		+
5010-3p		+

Εικόνα 13 Downregulated miRNAs στο PTC (ιστό, ορό/πλάσμα)

Ανακτήθηκε ως Εικόνα από: Παραϊοαννουet al., 2022

6.2.1.3 Deregulated miRNAs στο PTC και χρήση ως βιοδείκτες

Ένας αξιοσημείωτος αριθμός γενετικών μελετών έχει φέρει στην επιφάνεια απορυθμισμένα miRNA στον ορό και το πλάσμα των ασθενών PTC, υποδεικνύοντας τον πιθανό ρόλο τους ως πολύτιμοι βιοδείκτες για την ανάπτυξη PTC, τη μετάσταση και τον κίνδυνο υποτροπής, με μεγάλη ευαισθησία και ειδικότητα (Samsonov et al., 2016)(Εικόνα 14).



Εικόνα 140 ρόλος των απορυθμισμένων miRNA στη ρύθμιση των κυτταρικών διεργασιών.
Κόκκινο: miRNA με αυξημένη έκφραση/ρύθμιση. πράσινο: miRNA καθοδικά ρυθμισμένο-μειωμένη έκφραση -επαγωγή; -ι αναστολή. (Papaioannou et al., 2022)

Η ανοδική ρύθμιση **MiR-25-3p**, **-451a**, **-146b**, **-30a-5p**, **-106a**, **-155** και **let-7e** στον ορό και το πλάσμα στο PTC αποτελούν σημαντικό εργαλείο για τη διάγνωση της PTC με ευαισθησία και ειδικότητα περισσότερο από 68% (Lee et al., 2015; Shen et al., 2016). Τα **MiR-190** και **-95** θα μπορούσαν επίσης να είναι χρήσιμοι βιοδείκτες για κακοήθεια, καθώς και τα δύο έχουν βρεθεί υπερεκφρασμένα στον ορό (Pilli et al., 2017). Τα miRNA **146a-5p** και **-199-3p** του ορού βρέθηκαν να υπορυθμίζονται και τα **miR-10a-5p** και **let-7b-5p** να υπερυθμίζονται σε PTC έναντι καλοήθων παθολογιών θυρεοειδούς, ενώ τα **miR-150-5p**, **-146a-5p** και **-342-3p** εμφάνισαν μειωμένη έκφραση και τα **miR-191-5p**, -

93-5p και let-7b-5p υπερεκφράστηκαν σε PTC έναντι του φυσιολογικού θυρεοειδούς (Graham et al., 2015).

Τα **MiR-598-5p, miR-3161, miR-4644, miR-6516-5p και miR-1283** βρέθηκαν μόνο στον ορό PTC. Ωστόσο, το **mir-5189-3p**, που βρέθηκε να εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό στον ορό PTC, χαρακτηρίστηκε ως ο βέλτιστος βιοδείκτης για τη διάκριση PTC. Από την άλλη πλευρά, η συγκέντρωση του **mir-5010-3p** ανιχνεύθηκε σημαντικά χαμηλή στον ορό ασθενών με PTC (Papaioannou et al., 2022). Σύμφωνα με τους Dai et al. τα **miR-376a-3p, miR-4306, miR-4433a-5p και miR-485-3p** ρυθμίστηκαν σημαντικά προς τα πάνω στον ορό ασθενών με PTC σε σύγκριση με δείγματα από ασθενείς με καλοήθεις όζους θυρεοειδούς ή δείγματα υγιών ατόμων (Dai et al., 2020). Ωστόσο, μόνο τα **miR-485-3p και miR-4433a-5p** προτείνονται πιθανοί βιοδείκτες λόγω της διαγνωστικής τους ακρίβειας..

Σε μια άλλη μελέτη, τα **miR-221-3p, -146a-5p, -222-3p, 24-3p, 146b-5p, -191-5p, 103a-3p και -28-3p** βρέθηκαν σε υψηλά επίπεδα στον ορό του ασθενούς πριν από τη θυρεοειδεκτομή σε σύγκριση με δείγματα ελέγχου, υποδεικνύοντάς τα ως πιθανούς βιοδείκτες. Από την άλλη πλευρά, τα επίπεδα στον ορό των **miR-95-3p και -190a-5p** ήταν πολύ χαμηλά, σχεδόν μη ανιχνεύσιμα (Rosignolo et al., 2017).

Είναι πολύ σημαντικό ότι μετεγχειρητικά τα επίπεδα miR βρέθηκαν χαμηλότερα για τα **miR-221-3p και 146a-5p** (Pan et al., 2020). Το **miR-222** βρέθηκε να είναι αυξημένο στον ορό ασθενών με PTC που έφεραν τη μετάλλαξη BRAF V600E (Rezaei et al., 2019). Οι Yoturker et al. υπέδειξαν ότι τα επίπεδα των **miR-21, -151-5p, -221, -222 και -31** στον ορό ήταν ενδεικτικά του σταδίου TNM, της μετάστασης και του μεγέθους του όγκου. Μετά από θυρεοειδεκτομή, τα επίπεδα **miR-222, -221 και -146b** μειώθηκαν και συσχετίστηκαν με προχωρημένο στάδιο όγκου, μέγεθος όγκου και υποτροπή (Yoturker et al., 2016). Το **miR-22**, ακόμα, βρέθηκε να υπερυθμίζεται τόσο στον ιστό όσο και στον ορό ασθενών με PTC και πιστεύεται ότι είναι ένας πιθανός βιοδείκτης για μεταστατική νόσο (Wang et al., 2019).

6.2. 2 miRNAs στο θυλακιώδες καρκίνωμα θυρεοειδούς ή FTC

Τα δεδομένα σχετικά με τα προφίλ έκφρασης miRNA στο FTC είναι πολύ περιορισμένα συγκριτικά με το PTC και από ό, τι είναι γνωστό δεν υπάρχει μελέτη που να συσχετίζει τη γενετική αλλοίωση του FTC με μη φυσιολογική έκφραση miRNA. Τα **miR-199a-5p** και

miR-144 έχουν μειωμένη έκφραση στο FTC, ενώ τα **miR-197** και **miR-346** υπερεκφράζονται σε αυτόν τον τύπο καρκίνου (Boufrajeh et al., 2016).

Μια σύγκριση της έκφρασης miRNA σε δύο ιστολογικούς τύπους FTC (συμβατικές και ογκοκυτταρικές παραλλαγές) αποκάλυψε μια ανοδική ρύθμιση των **miR-182/-183/-221/-222/-125a-3p** και την καθοδική ρύθμιση των **miR-542-5p/-574-3p/-455/-199a** και στους δύο ιστολογικούς τύπους σε σύγκριση με τον φυσιολογικό θυρεοειδή ιστό, με το **miR-885-5p** βρέθηκε να ρυθμίζεται προς τα πάνω μόνο στην ογκοκυτταρική παραλλαγή του FTC (Dettmer et al., 2013). Από όλα τα microRNA που παρουσίασαν σημαντική αύξηση ή μείωση, το **miR-199a-5p** μελετήθηκε in vitro, και φάνηκε πως το συγκεκριμένο miRNA στοχεύει το CTGF, το οποίο οδηγεί στην αναστολή της εξέλιξης του κυτταρικού κύκλου (Sun et al., 2016). Τα **miR-146b** και **miR-221** βρέθηκαν να ρυθμίζονται ανοδικά στο FTC σε σύγκριση με τον φυσιολογικό θυρεοειδή ιστό, υποδηλώνοντας ότι αυτά τα δύο miRNA δεν είναι ειδικά για PTC αλλά είναι κοινά σε καλά διαφοροποιημένους καρκίνους του θυρεοειδούς (Wojtas et al., 2014).

6.2.3 miRNAs στον Αναπλαστικό καρκίνου θυρεοειδούς ή ATC

Ο τύπος ATC, αν και αποτελεί το ~2% των θυρεοειδικών καρκινωμάτων, είναι ο πιο επιθετικός τύπος καρκίνου του θυρεοειδούς (έως 39% θανάτων) (Boufrajeh et al., 2016). Ο συγκεκριμένος τύπος καρκίνου μπορεί να προέρχεται από έναν προϋπάρχοντα καλά διαφοροποιημένο καρκίνο. Αυτή η υπόθεση υποστηρίζεται από μελέτες που τεκμηριώνουν την παρουσία μεταλλάξεων τυπικών για DTC, όπως BRAF και RAS, σε σημαντικό ποσοστό των ATC (Charles et al., 2014). Ωστόσο, η μετάλλαξη TP53 εντοπίζεται αποκλειστικά στο ATC (Boufrajeh et al., 2016).

Λίγα μόνο miRNA (π. χ. **miR-200a, b και c**) είναι αποκλειστικά απορυθμισμένα στο ATC, γεγονός που υποδηλώνει ρόλο στην εξέλιξη του καρκίνου. Η μείωση της ρύθμισης των μελών της οικογένειας **miR-200** έχει περιγραφεί σε πολλούς μεταστατικούς όγκους. Το **miR-200c** ρυθμίζεται μεταγραφικά από το TP53 και οι μεταλλάξεις που απενεργοποιούν το TP53 στο ATC οδηγούν σε μείωση της ρύθμισης του miR-200c (Chang et al., 2011). Οι δύο κύριοι στόχοι των miR-200s είναι οι μεταγραφικοί παράγοντες EMT, ZEB1 και ZEB2 (Sun et al., 2014). Ο μηχανισμός EMT επιτρέπει στα κύτταρα να μεταναστεύσουν και να εισβάλουν. Αυτή η διαδικασία διαμεσολαβείται από τους μεταγραφικούς παράγοντες EMT (όπως ZEB1, ZEB2, SNAIL και SNAI2) που

καταστέλλουν τα επιθηλιακά χαρακτηριστικά των καρκινικών κυττάρων και διαταράσσουν την προσκόλληση κυττάρου-κυττάρου που προκαλείται από απώλεια E-cadherin (Puisieux et al., 2016). Από την άλλη πλευρά, η οδός EGF/EGFR οδηγεί σε αποσιώπηση των **miR-200s** και σε αύξηση της δραστηριότητας της Rho/Rho κινάσης καθώς και στην διήθηση EMT και καρκινικών κυττάρων (Xue et al., 2015). Η έκφραση του EGFR είναι μεγαλύτερη στο ATC σε σύγκριση με τον PTC και τον φυσιολογικό θυρεοειδή ιστό και η αναστολή των οδών EGFR οδηγεί σε κυτταρικό θάνατο. Συνολικά, αυτά τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι η οδός EGFR και μια μετάλλαξη TP53 στο ATC οδηγούν σε απώλεια της έκφρασης miR-200, η οποία με τη σειρά της αυξάνει τις μεταγραφές ZEB1 και ZEB2 και τα επίπεδα πρωτεΐνης και εμποδίζει την έκφραση της E-cadherin (Boufrajeh et al., 2016).

Έχει επίσης αναφερθεί ότι η ενεργοποίηση ογκογονιδίου BRAF V600E διεγείρει την έκφραση του συμπλέγματος **miR-17-92** (Fuziwara et al., 2014). Ένας σημαντικός στόχος του συμπλέγματος miR-17-92 είναι ο ογκοκατασταλτικός PTEN (Jin et al., 2013). Ακόμα, έχουν αποκαλυφθεί αρκετές θέσεις δέσμησης για τα miR-19a/b, miR-17 και miR-20a στο 3'-UTR του PTEN. Στην πραγματικότητα, η μείωση των επιπέδων PTEN είναι ένα βασικό βήμα κατά τη διάρκεια της ογκογένεσης που ενισχύει την ενεργοποίηση της σηματοδότησης ανάπτυξης και επιβίωσης AKT/mTOR. Τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι αυτά τα miRNA παίζουν ρόλο στην έναρξη και την εξέλιξη του καρκίνου στο ATC. Μια άλλη σημαντική ογκοκατασταλτική οδός που στοχεύεται από αρκετά μέλη του **miR-17-92** είναι η οδός σηματοδότησης TGFβ (Fuziwara et al., 2014).

Μεταξύ των onco-miRNAs των οποίων ο ρόλος στον καρκίνο του θυρεοειδούς έχει αξιολογηθεί, είναι το **miR-19a**, το οποίο εντάσσεται στο συμπλεγμα miR-17-92 το οποίο υπερεκφράζεται σε ιστούς ATC, προάγοντας την αποδιαφοροποίηση και την επιθετικότητα των αντίστοιχων κυττάρων (Callabrese et al., 2018). Η αναγκαστική υπερέκφραση αυτού του miRNA στην καλά διαφοροποιημένη κυτταρική σειρά FTC έχει ενισχύσει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και έχει τροποποιήσει την έκφραση των γονιδίων που σχετίζονται με τη διαφοροποίηση και την επιθετικότητα των κυττάρων του θυρεοειδούς, όπως ο υποδοχέας ορμόνης διέγερσης του θυρεοειδούς και η θυρεοσφαιρίνη (Zhang et al., 2019). Ενεργοποιώντας το μονοπάτι NOTCH, το BRAF V600E αυξάνει τη μεταγραφική δραστηριότητα του ογκογόνου **miR-19**. Με τη σειρά του, το **miR-19** αναστέλλει την έκφραση SMAD4, η οποία μεσολαβεί την ανασταλτική δράση της

σηματοδότησης του TGFβ (Fuziwara et al., 2014). Η οδός σηματοδότησης TGFβ είναι ένας σημαντικός ρυθμιστής του πολλαπλασιασμού των επιθηλιακών κυττάρων, με αντιπολλαπλασιαστική δράση που προκαλείται από το p21. Έτσι, η μεσολαβούμενη από το BRAF V600E αύξηση του miR-19 οδηγεί σε απώλεια του ανασταλτικού αποτελέσματος του όγκου του TGFβ στα καρκινικά κύτταρα του θυρεοειδούς, γεγονός που ενισχύει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό (Boufrajeh et al., 2016).

Τα μέλη της οικογένειας **miR-30** παρουσιάζουν διαφορές μεταξύ του ATC και του DTC, καθώς η μείωση του miR-30 βρέθηκε μόνο στο ATC. Οπότε, το miR-30 παίζει ρόλο στη διαφοροποίηση και την εξέλιξη του καρκίνου του θυρεοειδούς. Η υπερέκφραση όλων των μελών της οικογένειας miR-30 μειώνει την έκφραση SMAD2 (Fuziwara et al., 2014). Το **miR-30a** παίζει ογκοκατασταλτικό ρόλο στο ATC. Η χαμηλή έκφραση του miR-30a συσχετίστηκε με κακή πρόγνωση, εξωθυρεοειδική διήθηση και μικρότερη επιβίωση στον θηλώδη καρκίνο του θυρεοειδούς (Boufrajeh et al., 2014). Τα μέλη της οικογένειας **miR-200** και **miR-30** είναι ειδικά για αδιαφοροποίητους όγκους του θυρεοειδούς και εμπλέκονται στην εξέλιξη του καρκίνου ρυθμίζοντας τη διαδικασία EMT (Boufrajeh et al., 2016).

Τα **miR-146a-5p** και **miR-146b-5p**, τα οποία ρυθμίζονται στο PTC, υπερεκφράζονται επίσης στο ATC, και μάλιστα σε αρκετά υψηλότερο βαθμό (Aherne et al., 2008). Μελέτες in vitro έχουν δείξει ότι ο παράγοντας NFκB ελέγχει τη μεταγραφή του **miR-146a** σε ATC (Boufrajeh et al., 2016). Συγκεκριμένα, ο NFκB υπερενεργοποιείται στο ATC και ελέγχει την έκφραση των αντι-αποπτωτικών γονιδίων. Φαίνεται πως ο προ-ογκογόνος ρόλος του παράγοντα NFκB στο ATC μπορεί να διαμεσολαβείται, μερικώς, από το **miR-146b** (Boufrajeh et al., 2016).

6.2.4 miRNAs στο Μυελοειδή καρκίνο του θυρεοειδούς-MTC

Περίπου το 25% των MTC προκαλούνται από μετάλλαξη του πρωτοογκογονιδίου RET. Έχει αποδειχθεί ότι το **miR-129-5p**, το οποίο στοχεύει άμεσα το RET, έχει σημαντικά μειωμένη έκφραση στο MTC σε σύγκριση με τον φυσιολογικό ιστό και η υπερέκφραση του miR-129-5p in vitro φάνηκε να μειώνει την κυτταρική διήθηση και μετανάστευση και να αναστέλλει τη φωσφορυλίωση του AKT. (Duan et al., 2014).

Μια άλλη μελέτη αποκάλυψε ότι τα **miR-7, miR-10a, miR-29c και miR-200b/-200c** είχαν μειωμένη έκφραση στις μεταστατικές θέσεις σε σύγκριση μεσε πρωτοπαθείς όγκους. Επιπλέον, τα **miR-130a, miR-138, miR-193a-3p, miR-373 και miR-498** ήταν υπερεκφρασμένα σε μεταστατικούς όγκους. Η οικογένεια **miR-200**, δείχθηκε πως έχει ως στόχους παράγοντες μεταγραφής EMT όπως ZEB1, ZEB2, SNAI1, SNAI2 και TWIST-1, ρυθμίζοντας έτσι την διαδικασία EMT. Στην πραγματικότητα, η αναστολή της οικογένειας **miR-200** σε κυτταρικές σειρές MTC οδήγησε σε μείωση της E-cadherin και ανοδική ρύθμιση της βιμεντίνης, και του TGFβ1 και -β2 (Santarpia et al., 2013). Ωστόσο, απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για την πλήρη κατανόηση του ρόλου των miRNA στη βιολογία του MTC και της αλληλεπίδρασής τους με το πρωτοογκογονίδιο RET.

Συζήτηση - συμπεράσματα

Πληθώρα μελετών έχουν αποκαλύψει μη ορθή έκφραση των miRNAs σε ιστούς ή στο περιφερικό αίμα ασθενών με καρκίνο του θυρεοειδούς. Αυτά τα miRNA έχουν εμπλακεί στη ρύθμιση μονοπατιών σηματοδότησης όπως MAPK, PI3K, AKT, GSK-3β/β-κατενίνη, Wnt, mTOR και NF-κB. Φαίνεται πως υπάρχει συσχέτιση μεταξύ DTC και μεταλλάξεων στην οδό RAS/RAF/MAPK ή αναδιατάξεις RET/PTC, ενώ η παρουσία πολυμορφισμών στα miRNAs συνδέεται με τη ρύθμιση της έκφρασής τους. Έτσι, η σημασία κάθε oncomiR ή ογκοκατασταλτικού miRNA στην παθογένεση του καρκίνου του θυρεοειδούς μπορεί να ποικίλλει σε διαφορετικούς πληθυσμούς με βάση τις συχνότητες αυτών των παραλλαγών σε κάθε πληθυσμό.

Τα απορυθμισμένα miRNA (συμπεριλαμβανομένων ανοδικά και καθοδικά ρυθμισμένων miRNA) που συνδέονται με τον καρκίνο του θυρεοειδούς, και ιδιαίτερα με το PTC, αποτελούν μια μεγάλη ομάδα μορίων με πολύπλοκα ρυθμιστικά δίκτυα. Η επιστημονική έρευνα όσον αφορά σε αυτά τα μικρά μόρια δεν έχει ακόμη ολοκληρωθεί πλήρως, καθώς η συσχέτιση και αλληλεπίδρασή τους με πολλά μοριακά σηματοδοτικά μονοπάτια θα πρέπει να διερευνηθεί μελλοντικά. Είναι βέβαιο πως τα miRNA αντιπροσωπεύουν πιθανούς βιοδείκτες, χρήσιμους τόσο στη διάγνωση όσο και στη διαχείριση της θεραπείας του PTC, χαρακτηρίζοντας το στάδιο και την επιθετικότητα του όγκου και ως εκ τούτου καθοδηγώντας τη θεραπευτική διαδικασία.

. Η παρατηρούμενη απορρύθμιση των miRNA που σχετίζονται με MAPK στον καρκίνο του θυρεοειδούς δείχνει περαιτέρω το πολύπλοκο διαδραστικό δίκτυο μεταξύ των miRNAs και των οδών σηματοδότησης. Τα miRNAs δύνανται να χρησιμεύσουν ως λειτουργικοί σύνδεσμοι μεταξύ πληθώρας οδών που σχετίζονται με τον καρκίνο του θυρεοειδούς.

Συνολικά, τα miRNAs έχουν κρίσιμους ρόλους στη ρύθμιση των οδών σηματοδότησης που σχετίζονται με τον καρκίνο του θυρεοειδούς. Η διαθεσιμότητά τους σε σωματικά υγρά παρέχει τη δυνατότητα εφαρμογής μη επεμβατικής δειγματοληψίας στη διάγνωση του καρκίνου του θυρεοειδούς. Ένας αριθμός miRNAs έχει αποδειχθεί ότι μπορεί να εφαρμοστεί στον προσδιορισμό της πρόγνωσης στον καρκίνο του

θυρεοειδούς. Ωστόσο, απαιτείται επαλήθευση αυτών των αποτελεσμάτων σε μεγαλύτερα μεγέθη δειγμάτων ασθενών από διάφορες εθνότητες.

Βιβλιογραφικές αναφορές

- Ab Mutalib, N. S., Othman, S. N., Yusof, A. M., Suhaimi, S. N. A., Muhammad, R., & Jamal, R. (2016). Integrated microRNA, gene expression and transcription factors signature in papillary thyroid cancer with lymph node metastasis. *PeerJ*, 4, e2119.
- Abdullah MI, Junit SM, Ng KL, Jayapalan JJ, Karikalan B, Hashim OH. Papillary Thyroid Cancer: Genetic Alterations and Molecular Biomarker Investigations. *Int J Med Sci*. 2019 Feb 28; 16 (3):450-460.
- Acibucu, F., Dökmetaş, H. S., Tutar, Y., Elagoz, Ş., & Kilicli, F. (2014). Correlations between the expression levels of micro-RNA146b, 221, 222 and p27Kip1 protein mRNA and the clinicopathologic parameters in papillary thyroid cancers. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, 122 (03), 137-143.
- Agrawal, N., Akbani, R., Arman Aksoy, B., Ally, A., Arachchi, H., Asa, S.,... & Protopopov, A. (2014). Integrated genomic characterization of papillary thyroid carcinoma. *Cell*, 159 (3), 676-690.
- Aherne, S. T., Smyth, P. C., Flavin, R. J., Russell, S. M., Denning, K. M., Li, J. H.,... & Sheils, O. M. (2008). Geographical mapping of a multifocal thyroid tumour using genetic alteration analysis & miRNA profiling. *Molecular cancer*, 7 (1), 1-13.
- Alanazi, S. M., & Limaiem, F. (2021). Ectopic thyroid. In *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing.
- Alarcón, C. R., Lee, H., Goodarzi, H., Halberg, N., & Tavazoie, S. F. (2015). N6-methyladenosine marks primary microRNAs for processing. *Nature*, 519 (7544), 482-485.
- Albert de la Chapelle, Krystian Jazdzewski, MicroRNAs in Thyroid Cancer, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, Volume 96, Issue 11, 1 November 2011, Pages 3326–3336
- Ameres, S. L., Horwich, M. D., Hung, J. H., Xu, J., Ghildiyal, M., Weng, Z., & Zamore, P. D. (2010). Target RNA-directed trimming and tailing of small silencing RNAs. *Science*, 328 (5985), 1534-1539.
- Amos, J., & Shermetaro, C. (2021). Thyroglossal duct cyst. In *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing.
- Aragon Han, P., Kim, H. S., Cho, S., Fazeli, R., Najafian, A., Khawaja, H.,... & Zeiger, M. A. (2016). Association of BRAFV600E mutation and microRNA expression with central lymph node metastases in papillary thyroid cancer: A prospective study from four endocrine surgery centers. *Thyroid*, 26 (4), 532-542.
- Armstrong, M., Asuka, E., & Fingeret, A. (2019). Physiology, thyroid function.
- Arroyo, J. D., Chevillet, J. R., Kroh, E. M., Ruf, I. K., Pritchard, C. C., Gibson, D. F.,... & Tewari, M. (2011). Argonaute2 complexes carry a population of circulating microRNAs independent of vesicles in human plasma. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108 (12), 5003-5008.
- Asa, S. L. (2019). The current histologic classification of thyroid cancer. *Endocrinology and Metabolism Clinics*, 48 (1), 1-22.
- Babiarz, J. E., Ruby, J. G., Wang, Y., Bartel, D. P., & Belloch, R. (2008). Mouse ES cells express endogenous shRNAs, siRNAs, and other Microprocessor-independent, Dicer-dependent small RNAs. *Genes & development*, 22 (20), 2773-2785.

- Bandoh, N., Akahane, T., Goto, T., Kono, M., Ichikawa, H., Sawada, T.,... &Nishihara, H. (2018). Targeted next-generation sequencing of cancer-related genes in thyroid carcinoma: A single institution's experience. *Oncology Letters*, *16* (6), 7278-7286.
- Benhamed, M., Herbig, U., Ye, T., Dejean, A., &Bischof, O. (2012). Senescence is an endogenous trigger for microRNA-directed transcriptional gene silencing in human cells. *Nature cell biology*, *14* (3), 266-275.
- Benvenga, S., &Guarneri, F. (2019). Thyroid hormone binding motifs and iodination pattern of thyroglobulin. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, *24* (2), 212-230.
- Boos, L. A., Dettmer, M., Schmitt, A., Rudolph, T., Steinert, H., Moch, H.,... &Perren, A. (2013). Diagnostic and prognostic implications of the PAX 8–PPAR γ translocation in thyroid carcinomas—a TMA-based study of 226 cases. *Histopathology*, *63* (2), 234-241
- Bottini, S., Hamouda-Tekaya, N., Mategot, R., Zaragosi, L. E., Audebert, S., Pisano, S.,... &Trabucchi, M. (2017). Post-transcriptional gene silencing mediated by microRNAs is controlled by nucleoplasmic Sfpq. *Nat Commun* 8: 1189.
- Boufraquech, M., Klubo-Gwiedzinska, J., &Kebebew, E. (2016). MicroRNAs in the thyroid. *Best Practice &Research Clinical Endocrinology &Metabolism*, *30* (5), 603-619.
- Boufraquech, M., Nilubol, N., Zhang, L., Sadowski, S., Gara, S. K., He, M.,... &Kebebew, E. (2014). Tumor suppressor miR-30a inhibits LOX expression and progression in anaplastic thyroid cancer. *Cancer Research*, *74* (19_Supplement), 4367-4367.
- Braun, J. E., Truffault, V., Boland, A., Huntzinger, E., Chang, C. T., Haas, G.,... &Izaurralde, E. (2012). A direct interaction between DCP1 and XRN1 couples mRNA decapping to 5' exonucleolytic degradation. *Nature structural &molecular biology*, *19* (12), 1324-1331.
- Bukhari, S. I., Truesdell, S. S., Lee, S., Kollu, S., Classon, A., Boukhali, M.,... &Vasudevan, S. (2016). A specialized mechanism of translation mediated by FXR1a-associated microRNP in cellular quiescence. *Molecular cell*, *61* (5), 760-773.
- Calabrese, G., Dolcimasclo, A., Torrisi, F., Zappalà, A., Gulino, R., &Parenti, R. (2018). MiR-19a overexpression in FTC-133 cell line induces a more de-differentiated and aggressive phenotype. *International journal of molecular sciences*, *19* (12), 3944.
- Calin, G. A., &Croce, C. M. (2006). MicroRNAs and chromosomal abnormalities in cancer cells. *Oncogene*, *25* (46), 6202-6210
- Calin, G. A., Cimmino, A., Fabbri, M., Ferracin, M., Wojcik, S. E., Shimizu, M.,... &Croce, C. M. (2008). MiR-15a and miR-16-1 cluster functions in human leukemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *105* (13), 5166-5171.
- Calin, G. A., Dumitru, C. D., Shimizu, M., Bichi, R., Zupo, S., Noch, E.,... &Croce, C. M. (2002). Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proceedings of the national academy of sciences*, *99* (24), 15524-15529.
- Cao, X. Z., Bin, H., &Zang, Z. N. (2019). MiR-128 suppresses the growth of thyroid carcinoma by negatively regulating SPHK1. *Biomedicine &Pharmacotherapy*, *109*, 1960-1966.
- Cappola, A. R., &Mandel, S. J. (2013). Molecular testing in thyroid cancer: BRAF mutation status and mortality. *Jama*, *309* (14), 1529-1530
- Cappola, A. R., &Mandel, S. J. (2013). Molecular testing in thyroid cancer: BRAF mutation status and mortality. *Jama*, *309* (14), 1529-1530.

- Carcangiu, M. L., Steeper, T., Zampi, G., & Rosai, J. (1985). Anaplastic thyroid carcinoma: a study of 70 cases. *American journal of clinical pathology*, *83* (2), 135-158.
- Carling, T., Ocal, I. T., & Udelsman, R. (2007). Special variants of differentiated thyroid cancer: does it alter the extent of surgery versus well-differentiated thyroid cancer?. *World journal of surgery*, *31* (5), 916-923
- Castro, D. G. D., Salvajoli, J. V., Canteras, M. M., & Cecílio, S. A. J. (2006). Radiosurgery for pituitary adenomas. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, *50*, 996-1004.
- Cernilogar, F. M., Onorati, M. C., Kothe, G. O., Burroughs, A. M., Parsi, K. M., Breiling, A.,... & Orlando, V. (2011). Chromatin-associated RNA interference components contribute to transcriptional regulation in *Drosophila*. *Nature*, *480* (7377), 391-395.
- Chakraborty, A., Narkar, A., Mukhopadhyaya, R., Kane, S., D'Cruz, A., & Rajan, M. G. R. (2012). BRAF V600E mutation in papillary thyroid carcinoma: significant association with node metastases and extra thyroidal invasion. *Endocrine pathology*, *23* (2), 83-93.
- Chang, C. J., Chao, C. H., Xia, W., Yang, J. Y., Xiong, Y., Li, C. W.,... & Hung, M. C. (2011). p53 regulates epithelial-mesenchymal transition and stem cell properties through modulating miRNAs. *Nature cell biology*, *13* (3), 317-323.
- Charles, R. P., Silva, J., Iezza, G., Phillips, W. A., & McMahon, M. (2014). Activating BRAF and PIK3CA Mutations Cooperate to Promote Anaplastic Thyroid Carcinogenesis. *Molecular Cancer Research*, *12* (7), 979-986.
- Cheloufi, S., Dos Santos, C. O., Chong, M. M., & Hannon, G. J. (2010). A dicer-independent miRNA biogenesis pathway that requires Ago catalysis. *Nature*, *465* (7298), 584-589.
- Chen, J., Yin, J., Liu, J., Zhu, R. X., Zheng, Y., & Wang, X. L. (2019). MiR-202-3p functions as a tumor suppressor and reduces cell migration and invasion in papillary thyroid carcinoma. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, *23* (3), 1145-1150.
- Cheng, L., Zhou, R., Chen, M., Feng, L., & Li, H. (2017). MicroRNA-150 targets Rho-associated protein kinase 1 to inhibit cell proliferation, migration and invasion in papillary thyroid carcinoma. *Molecular medicine reports*, *16* (2), 2217-2224.
- Chengfeng, X., Gengming, C., Junjia, Z., & Yunxia, L. (2019). MicroRNA signature predicts survival in papillary thyroid carcinoma. *Journal of cellular biochemistry*, *120* (10), 17050-17058.
- Chhichholiya, Y., Suryan, A. K., Suman, P., Munshi, A., & Singh, S. (2021). SNPs in miRNAs and Target Sequences: Role in Cancer and Diabetes. *Frontiers in Genetics*, *12*.
- Choi, J. H., Cho, J. H., Kim, J. H., Yoo, E. G., Kim, G. H., & Yoo, H. W. (2018). Variable clinical characteristics and molecular spectrum of patients with syndromes of reduced sensitivity to thyroid hormone: genetic defects in the THRB and SLC16A2 genes. *Hormone Research in Paediatrics*, *90* (5), 283-290.
- Chou, C. K., Liu, R. T., & Kang, H. Y. (2017). MicroRNA-146b: a novel biomarker and therapeutic target for human papillary thyroid cancer. *International journal of molecular sciences*, *18* (3), 636.
- Christie, M., Boland, A., Huntzinger, E., Weichenrieder, O., & Izaurralde, E. (2013). Structure of the PAN3 pseudokinase reveals the basis for interactions with the PAN2 deadenylase and the GW182 proteins. *Molecular cell*, *51* (3), 360-373.
- Cibas, E. S., & Ali, S. Z. (2009). The Bethesda system for reporting thyroid cytopathology. *Thyroid*, *19* (11), 1159-1165.

- Cimmino, A., Calin, G. A., Fabbri, M., Iorio, M. V., Ferracin, M., Shimizu, M.,... & Croce, C. M. (2005). miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *102* (39), 13944-13949.
- Cimmino, A., Calin, G. A., Fabbri, M., Iorio, M. V., Ferracin, M., Shimizu, M.,... & Croce, C. M. (2005). miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *102* (39), 13944-13949.
- Cioffi, F., Gentile, A., Silvestri, E., Goglia, F., & Lombardi, A. (2018). Effect of iodothyronines on thermogenesis: focus on brown adipose tissue. *Frontiers in endocrinology*, *9*, 254.
- Collini, P., Sampietro, G., Rosai, J., & Pilotti, S. (2003). Minimally invasive (encapsulated) follicular carcinoma of the thyroid gland is the low-risk counterpart of widely invasive follicular carcinoma but not of insular carcinoma. *Virchows Archiv*, *442* (1), 71-76.
- Cornett, W. R., Sharma, A. K., Day, T. A., Richardson, M. S., Hoda, R. S., van Heerden, J. A., & Fernandes, J. K. (2007). Anaplastic thyroid carcinoma: an overview. *Current oncology reports*, *9* (2), 152-158.
- Costinean, S., Zanesi, N., Pekarsky, Y., Tili, E., Volinia, S., Heerema, N., & Croce, C. M. (2006). Pre-B cell proliferation and lymphoblastic leukemia/high-grade lymphoma in Eμ-miR155 transgenic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *103* (18), 7024-7029.
- Creighton CJ, Reid JG, Gunaratne PH. Expression profiling of microRNAs by deep sequencing. *Brief Bioinform* 2009; *10*: 490-7
- Czajka, A. A., Wojcicka, A., Kubiak, A., Kotlarek, M., Bakula-Zalewska, E., Koperski, Ł.,... & Jazdzewski, K. (2016). Family of microRNA-146 regulates RARβ in papillary thyroid carcinoma. *PLoS One*, *11* (3), e0151968.
- Dai, D., Tan, Y., Guo, L., Tang, A., & Zhao, Y. (2020). Identification of exosomal miRNA biomarkers for diagnosis of papillary thyroid cancer by small RNA sequencing. *European Journal of Endocrinology*, *182* (1), 111-121.
- Dai, L., Wang, Y., Chen, L., Zheng, J., Li, J., & Wu, X. (2017). MiR-221, a potential prognostic biomarker for recurrence in papillary thyroid cancer. *World journal of surgical oncology*, *15* (1), 1-6.
- Daniels, G. H. (2018). Follicular thyroid carcinoma: a perspective. *Thyroid*, *28* (10), 1229-1242.
- Davis, J. R., Dackiw, A. P., Holt, S. A., Nwariaku, F. E., & Oltmann, S. C. (2019). Rapid Relief: Thyroidectomy is a Quicker Cure than Radioactive Iodine Ablation (RAI) in Patients with Hyperthyroidism. *World Journal of Surgery*, *43* (3), 812-817.
- de la Chapelle, A., & Jazdzewski, K. (2011). MicroRNAs in thyroid cancer. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *96* (11), 3326-3336.
- Deng, X., Wu, B., Xiao, K., Kang, J., Xie, J., Zhang, X., & Fan, Y. (2015). MiR-146b-5p promotes metastasis and induces epithelial-mesenchymal transition in thyroid cancer by targeting ZNRF3. *Cellular physiology and biochemistry*, *35* (1), 71-82.
- Denli, A. M., Tops, B. B., Plasterk, R. H., Ketting, R. F., & Hannon, G. J. (2004). Processing of primary microRNAs by the Microprocessor complex. *Nature*, *432* (7014), 231-235.
- Dettmer, M., Vogetseder, A., Durso, M. B., Moch, H., Komminoth, P., Perren, A.,... & Nikiforova, M. N. (2013). MicroRNA expression array identifies novel diagnostic markers for conventional and oncocytic follicular thyroid carcinomas. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *98* (1), E1-E7.

- Dharap, A., Pokrzywa, C., Murali, S., Pandi, G., & Vemuganti, R. (2013). MicroRNA miR-324-3p induces promoter-mediated expression of RelA gene. *PLoS one*, 8 (11), e79467.
- Diao, Y., Fu, H., & Wang, Q. (2017). MiR-221 exacerbate cell proliferation and invasion by targeting TIMP3 in papillary thyroid carcinoma. *American Journal of Therapeutics*, 24 (3), e317.
- Ding, C., Yu, H., Shi, C., Shi, T., Qin, H., & Cui, Y. (2019). MiR-let-7e inhibits invasion and migration and regulates HMGB1 expression in papillary thyroid carcinoma. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 110, 528-536.
- Ding, C., Yu, H., Shi, C., Shi, T., Qin, H., & Cui, Y. (2019). MiR-let-7e inhibits invasion and migration and regulates HMGB1 expression in papillary thyroid carcinoma. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 110, 528-536.
- Donzelli, S., Mori, F., Bellissimo, T., Sacconi, A., Casini, B., Frixia, T.,... & Blandino, G. (2015). Epigenetic silencing of miR-145-5p contributes to brain metastasis. *Oncotarget*, 6 (34), 35183.
- Duan, H., Li, Y., Hu, P., Gao, J., Ying, J., Xu, W.,... & Liang, Z. (2019). Mutational profiling of poorly differentiated and anaplastic thyroid carcinoma by the use of targeted next-generation sequencing. *Histopathology*, 75 (6), 890-899.
- Duan, H., Liu, X., Ren, X., Zhang, H., Wu, H., & Liang, Z. (2019). Mutation profiles of follicular thyroid tumors by targeted sequencing. *Diagnostic Pathology*, 14 (1), 1-10.
- Duan, L., Hao, X., Liu, Z., Zhang, Y., & Zhang, G. (2014). MiR-129-5p is down-regulated and involved in the growth, apoptosis and migration of medullary thyroid carcinoma cells through targeting RET. *FEBS letters*, 588 (9), 1644-1651.
- Ellwanger, D. C., Büttner, F. A., Mewes, H. W., & Stümpflen, V. (2011). The sufficient minimal set of miRNA seed types. *Bioinformatics*, 27 (10), 1346-1350.
- Erler, P., Keutgen, X. M., Crowley, M. J., Zetoune, T., Kundel, A., Kleiman, D.,... & Fahey III, T. J. (2014). Dicer expression and microRNA dysregulation associate with aggressive features in thyroid cancer. *Surgery*, 156 (6), 1342-1350.
- Esquela-Kerscher, A. (2014). The lin-4 microRNA: The ultimate micromanager. *Cell Cycle*, 13 (7), 1060-1061.
- Fariduddin, M. M., & Syed, W. (2022). Hurthle Cell Thyroid Carcinoma. In StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing.
- Fazi, F., Racanicchi, S., Zardo, G., Starnes, L. M., Mancini, M., Travaglini, L.,... & Nervi, C. (2007). Epigenetic silencing of the myelopoiesis regulator microRNA-223 by the AML1/ETO oncoprotein. *Cancer cell*, 12 (5), 457-466.
- Fukahori, M., Yoshida, A., Hayashi, H., Yoshihara, M., Matsukuma, S., Sakuma, Y.,... & Miyagi, Y. (2012). The associations between RAS mutations and clinical characteristics in follicular thyroid tumors: new insights from a single center and a large patient cohort. *Thyroid*, 22 (7), 683-689.
- Fusco, A., Grieco, M., Santoro, M. A., Berlingieri, M. T., Pilotti, S., Pierotti, M. A.,... & Vecchio, G. (1987). A new oncogene in human thyroid papillary carcinomas and their lymph-nodal metastases. *Nature*, 328 (6126), 170-172
- Fuziwara, C. S., & Kimura, E. T. (2014). High iodine blocks a notch/miR-19 loop activated by the BRAFV600E oncoprotein and restores the response to TGFβ in thyroid follicular cells. *Thyroid*, 24 (3), 453-462.
- Fuziwara, C. S., & Kimura, E. T. (2014). MicroRNA deregulation in anaplastic thyroid cancer biology. *International journal of endocrinology*, 2014.

- Gallo, A., Tandon, M., Alevizos, I., & Illei, G. G. (2012). The majority of microRNAs detectable in serum and saliva is concentrated in exosomes. *PLoS one*, 7 (3), e30679.
- Gao, X. B., Chen, C. L., Tian, Z. L., Yuan, F. K., & Jia, G. L. (2018). MicroRNA-791 is an independent prognostic factor of papillary thyroid carcinoma and inhibits the proliferation of PTC cells. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 22 (17), 5562-5568.
- Gao, X., Chen, Z., Li, A., Zhang, X., & Cai, X. (2018). MiR-129 regulates growth and invasion by targeting MAL2 in papillary thyroid carcinoma. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 105, 1072-1078
- Ghafouri-Fard, S., Mohammad-Rahimi, H., & Taheri, M. (2020). The role of long non-coding RNAs in the pathogenesis of thyroid cancer. *Experimental and Molecular Pathology*, 112, 104332.
- Graham, M. E. R., Hart, R. D., Douglas, S., Makki, F. M., Pinto, D., Butler, A. L.,... & Singh, R. (2015). Serum microRNA profiling to distinguish papillary thyroid cancer from benign thyroid masses. *Journal of Otolaryngology-Head & Neck Surgery*, 44 (1), 1-9.
- Grande, E., Díez, J. J., Zafon, C., & Capdevila, J. (2012). Thyroid cancer: molecular aspects and new therapeutic strategies. *Journal of Thyroid Research*, 2012.
- Grogan, R. H., Mitmaker, E. J., & Clark, O. H. (2010). The evolution of biomarkers in thyroid cancer—from mass screening to a personalized biosignature. *Cancers*, 2 (2), 885-912.
- Gruszka R, Zakrzewska M. The Oncogenic Relevance of miR-17-92 Cluster and Its Paralogous miR-106b-25 and miR-106a-363 Clusters in Brain Tumors. *Int J Mol Sci*. 2018 Mar 16; 19 (3):879.
- Guo, F., Hou, X., & Sun, Q. (2018). MicroRNA-9-5p functions as a tumor suppressor in papillary thyroid cancer via targeting BRAF. *Oncology letters*, 16 (5), 6815-6821.
- Gürleyik, E. (2018). Double pyramidal lobe of the thyroid gland. *Balkan Medical Journal*, 35 (4), 350-351.
- Ha, M., & Kim, V. N. (2014). Regulation of microRNA biogenesis. *Nature reviews Molecular cell biology*, 15 (8), 509-524.
- Han, J., Lee, Y., Yeom, K. H., Kim, Y. K., Jin, H., & Kim, V. N. (2004). The Drosha-DGCR8 complex in primary microRNA processing. *Genes & development*, 18 (24), 3016-3027.
- Hannafon, B. N., Carpenter, K. J., Berry, W. L., Janknecht, R., Dooley, W. C., & Ding, W. Q. (2015). Exosome-mediated microRNA signaling from breast cancer cells is altered by the anti-angiogenesis agent docosahexaenoic acid (DHA). *Molecular cancer*, 14 (1), 1-13.
- Hardin, H., Guo, Z., Shan, W., Montemayor-Garcia, C., Asioli, S., Yu, X. M.,... & Lloyd, R. V. (2014). The roles of the epithelial-mesenchymal transition marker PRRX1 and miR-146b-5p in papillary thyroid carcinoma progression. *The American journal of pathology*, 184 (8), 2342-2354.
- Hayder, H., O'Brien, J., Nadeem, U., & Peng, C. (2018). MicroRNAs: crucial regulators of placental development. *Reproduction*, 155 (6), R259-R271.
- Hong, S., Yu, S., Li, J., Yin, Y., Liu, Y., Zhang, Q.,... & Xiao, H. (2016). MiR-20b displays tumor-suppressor functions in papillary thyroid carcinoma by regulating the MAPK/ERK signaling pathway. *Thyroid*, 26 (12), 1733-1743.
- Hu, W., Chan, C. S., Wu, R., Zhang, C., Sun, Y., Song, J. S.,... & Feng, Z. (2010). Negative regulation of tumor suppressor p53 by microRNA miR-504. *Molecular cell*, 38 (5), 689-699.

- Hua, K., Jin, J., Zhang, H., Zhao, B., Wu, C., Xu, H., & Fang, L. (2016). MicroRNA-7 inhibits proliferation, migration and invasion of thyroid papillary cancer cells via targeting CKS2. *International Journal of Oncology*, 49 (4), 1531-1540.
- Huang, Y., Yu, S., Cao, S., Yin, Y., Hong, S., Guan, H.,... & Xiao, H. (2018). MicroRNA-222 promotes invasion and metastasis of papillary thyroid cancer through targeting protein phosphatase 2 regulatory subunit B alpha expression. *Thyroid*, 28 (9), 1162-1173.
- Jackstadt, R., Menssen, A., & Hermeking, H. (2013). Genome-wide analysis of c-MYC-regulated mRNAs and miRNAs, and c-MYC DNA binding by next-generation sequencing. In *The Myc Gene* (pp. 145-185). Humana Press, Totowa, NJ.
- Jia, M., Shi, Y., Li, Z., Lu, X., & Wang, J. (2019). MicroRNA-146b-5p as an oncomiR promotes papillary thyroid carcinoma development by targeting CCDC6. *Cancer Letters*, 443, 145-156.
- Jiang, X. L., Zhang, H., Chen, Y. L., & Peng, L. (2017). Expression of microRNA-221 and IL-17 in papillary thyroid carcinoma and correlation with clinicopathologic features. *Zhonghua Bing li xue za zhi= Chinese Journal of Pathology*, 46 (3), 160-165.
- Jin, H. Y., Oda, H., Lai, M., Skalsky, R. L., Bethel, K., Shepherd, J.,... & Xiao, C. (2013). MicroRNA-17~ 92 plays a causative role in lymphomagenesis by coordinating multiple oncogenic pathways. *The EMBO journal*, 32 (17), 2377-2391.
- Jo, M. H., Shin, S., Jung, S. R., Kim, E., Song, J. J., & Hohng, S. (2015). Human Argonaute 2 has diverse reaction pathways on target RNAs. *Molecular cell*, 59 (1), 117-124.
- Jonas, S., & Izaurralde, E. (2015). Towards a molecular understanding of microRNA-mediated gene silencing. *Nature reviews genetics*, 16 (7), 421-433.
- Joshi, S. D., Joshi, S. S., Daimi, S. R., & Athavale, S. A. (2010). The thyroid gland and its variations: a cadaveric study. *Folia morphologica*, 69 (1), 47-50.
- Kaklamanos, I., Zarokosta, M., Flessas, I., Zoulamoglou, M., Katsoulas, T., Birbas, K.,... & Mariolis-Sapsakos, T. (2017). Surgical anatomy of double pyramidal lobe on total thyroidectomy: a rare case report. *Journal of Surgical Case Reports*, 2017 (3).
- Kan, Q. E., Su, Y., & Yang, H. (2017). MicroRNA-335 is downregulated in papillary thyroid cancer and suppresses cancer cell growth, migration and invasion by directly targeting ZEB2. *Oncology Letters*, 14 (6), 7622-7628.
- Karam, O., Pfister, R. E., Extermann, P., & La Scala, G. C. (2007). Congenital lingual cysts. *Journal of pediatric surgery*, 42 (4), e25-e27.
- Kawamata, T., & Tomari, Y. (2010). Making risc. *Trends in biochemical sciences*, 35 (7), 368-376.
- Khakisahneh, S., Zhang, X. Y., Nouri, Z., Hao, S. Y., Chi, Q. S., & Wang, D. H. (2019). Thyroid hormones mediate metabolic rate and oxidative, anti-oxidative balance at different temperatures in Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 216, 101-109.
- Khvorova, A., Reynolds, A., & Jayasena, S. D. (2003). Functional siRNAs and miRNAs exhibit strand bias. *Cell*, 115 (2), 209-216.
- Kimura, E. T., Nikiforova, M. N., Zhu, Z., Knauf, J. A., Nikiforov, Y. E., & Fagin, J. A. (2003). High prevalence of BRAF mutations in thyroid cancer: genetic evidence for constitutive activation of the RET/PTC-RAS-BRAF signaling pathway in papillary thyroid carcinoma. *Cancer research*, 63 (7), 1454-1457.

- Klein, U., Lia, M., Crespo, M., Siegel, R., Shen, Q., Mo, T.,... & Dalla-Favera, R. (2010). The DLEU2/miR-15a/16-1 cluster controls B cell proliferation and its deletion leads to chronic lymphocytic leukemia. *Cancer cell*, 17 (1), 28-40.
- Knauf, J. A., Kuroda, H., Basu, S., & Fagin, J. A. (2003). RET/PTC-induced dedifferentiation of thyroid cells is mediated through Y1062 signaling through SHC-RAS-MAP kinase. *Oncogene*, 22 (28), 4406-4412.
- Kondo, T., Ezzat, S., & Asa, S. L. (2006). Pathogenetic mechanisms in thyroid follicular-cell neoplasia. *Nature Reviews Cancer*, 6 (4), 292-306.
- Kosaka, N., Iguchi, H., Yoshioka, Y., Takeshita, F., Matsuki, Y., & Ochiya, T. (2010). Secretory mechanisms and intercellular transfer of microRNAs in living cells*♦. *Journal of Biological Chemistry*, 285 (23), 17442-17452.
- Kumar, P., Luo, Y., Tudela, C., Alexander, J. M., & Mendelson, C. R. (2013). The c-Myc-regulated microRNA-17~ 92 (miR-17~ 92) and miR-106a~ 363 clusters target hCYP19A1 and hGCM1 to inhibit human trophoblast differentiation. *Molecular and cellular biology*, 33 (9), 1782-1796.
- Lagos-Quintana, M., Rauhut, R., Lendeckel, W., & Tuschl, T. (2001). Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science*, 294 (5543), 853-858.
- Latoya A. Stewart and Jennifer H. Kuo. (2021). Advancements in the treatment of differentiated thyroid cancer. *Therapeutic Advances in Endocrinology and Metabolism*. <https://doi.org/10.1177/20420188211000251>
- Lau, N. C., Lim, L. P., Weinstein, E. G., & Bartel, D. P. (2001). An abundant class of tiny RNAs with probable regulatory roles in *Caenorhabditis elegans*. *Science*, 294 (5543), 858-862.
- Le, F., Luo, P., Yang, Q. O., & Zhong, X. M. (2017). MiR-181a promotes growth of thyroid cancer cells by targeting tumor suppressor RB1. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 21 (24), 5638-5647.
- Lee, K., Anastasopoulou, C., Chandran, C., & Cassaro, S. (2021). Thyroid cancer. In *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing.
- Lee, R. C., & Ambros, V. (2001). An extensive class of small RNAs in *Caenorhabditis elegans*. *science*, 294 (5543), 862-864.
- Lee, R. C., Feinbaum, R. L., & Ambros, V. (1993). The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *cell*, 75 (5), 843-854.
- Lee, Y. S., Lim, Y. S., Lee, J. C., Wang, S. G., Park, H. Y., Kim, S. Y., & Lee, B. J. (2015). Differential expression levels of plasma-derived miR-146b and miR-155 in papillary thyroid cancer. *Oral oncology*, 51 (1), 77-83.
- Lehmann, S. M., Krüger, C., Park, B., Derkow, K., Rosenberger, K., Baumgart, J.,... & Lehnardt, S. (2012). An unconventional role for miRNA: let-7 activates Toll-like receptor 7 and causes neurodegeneration. *Nature neuroscience*, 15 (6), 827-835.
- Li, D., Wang, Q., Li, N., & Zhang, S. (2018). miR-205 targets YAP1 and inhibits proliferation and invasion in thyroid cancer cells. *Molecular medicine reports*, 18 (2), 1674-1681.
- Li, J., & Liu, C. (2019). Coding or noncoding, the converging concepts of RNAs. *Frontiers in genetics*, 10, 496.
- Liang, W., Xie, Z., Cui, W., Guo, Y., Xu, L., Wu, J., & Guan, H. (2017). Comprehensive gene and microRNA expression profiling reveals a role for miRNAs in the oncogenic roles of SphK1 in papillary thyroid cancer. *Journal of cancer research and clinical oncology*, 143 (4), 601-611.

- Liaw, D., Marsh, D. J., Li, J., Dahia, P. L., Wang, S. I., Zheng, Z.,... &Parsons, R. (1997). Germline mutations of the PTEN gene in Cowden disease, an inherited breast and thyroid cancer syndrome. *Nature genetics*, 16 (1), 64-67.
- Lima, C. R., Geraldo, M. V., Fuziwara, C. S., Kimura, E. T., &Santos, M. F. (2016). MiRNA-146b-5p upregulates migration and invasion of different papillary thyroid carcinoma cells. *BMC cancer*, 16 (1), 1-13.
- Limaiem, F., Rehman, A., &Mazzoni, T. (2019). Cancer, papillary thyroid carcinoma (PTC).
- Liu, L., Wang, J., Li, X., Ma, J., Shi, C., Zhu, H.,... &Gu, M. (2015). MiR-204-5p suppresses cell proliferation by inhibiting IGFBP5 in papillary thyroid carcinoma. *Biochemical and biophysical research communications*, 457 (4), 621-626.
- Liu, Y., Li, L., Liu, Z., Yuan, Q., &Lu, X. (2018). Downregulation of MiR-431 expression associated with lymph node metastasis and promotes cell invasion in papillary thyroid carcinoma. *Cancer Biomarkers*, 22 (4), 727-732.
- Liu, Z. L., Wang, H., Liu, J., &Wang, Z. X. (2013). MicroRNA-21 (miR-21) expression promotes growth, metastasis, and chemo- or radioresistance in non-small cell lung cancer cells by targeting PTEN. *Molecular and cellular biochemistry*, 372 (1-2), 35–45.
- Long, M., Zhu, Y., Chen, Z., Lin, S., Peng, X., Luo, D.,... &Tan, L. (2020). Lysine-Specific Demethylase 1 Affects the Progression of Papillary Thyroid Carcinoma via HIF1 α and microRNA-146a. *The Journal of Clinical Endocrinology &Metabolism*, 105 (7), 2237-2251.
- Lu, J., Getz, G., Miska, E. A., Alvarez-Saavedra, E., Lamb, J., Peck, D.,... &Golub, T. R. (2005). MicroRNA expression profiles classify human cancers. *nature*, 435 (7043), 834-838.
- Lujambio, A., Calin, G. A., Villanueva, A., Ropero, S., Sánchez-Céspedes, M., Blanco, D.,... &Esteller, M. (2008). A microRNA DNA methylation signature for human cancer metastasis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105 (36), 13556-13561.
- Macerola, E., Poma, A. M., Vignali, P., Basolo, A., Ugolini, C., Torregrossa, L.,... &Basolo, F. (2021). Molecular genetics of follicular-derived thyroid cancer. *Cancers*, 13 (5), 1139.
- Malone JH, Oliver B. Microarrays, deep sequencing and the true measure of the transcriptome. *BMC Biol* 2011; 9: 34
- Maradonna, F., &Carnevali, O. (2018). Lipid metabolism alteration by endocrine disruptors in animal models: an overview. *Frontiers in Endocrinology*, 9, 654.
- Mardente, S., Mari, E., Massimi, I., Fico, F., Faggioni, A., Pulcinelli, F.,... &Zicari, A. (2015). HMGB1-induced cross talk between PTEN and miRs 221/222 in thyroid cancer. *BioMed research international*, 2015.
- Marina Dj, Sajić S. [Lingual thyroid]. *SrpArhCelok Lek*. 2007 Mar-Apr; 135 (3-4):201-3.
- Master, S. R., &Burns, B. (2021). Medullary Thyroid Cancer. In *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing.
- Mattiske, S., Suetani, R. J., Neilsen, P. M., &Callen, D. F. (2012). The oncogenic role of miR-155 in breast cancer. *Cancer epidemiology, biomarkers &prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 21 (8), 1236–1243.
- Means, C., Clayburgh, D. R., Maloney, L., Sauer, D., Taylor, M. H., Shindo, M. L.,... &Tsujikawa, T. (2019). Tumor immune microenvironment characteristics of papillary

- thyroid carcinoma are associated with histopathological aggressiveness and BRAF mutation status. *Head & neck*, 41 (8), 2636-2646.
- Meijer, H. A., Smith, E. M., & Bushell, M. (2014). Regulation of miRNA strand selection: follow the leader?. *Biochemical Society Transactions*, 42 (4), 1135-1140.
- Melo, S. A., Moutinho, C., Ropero, S., Calin, G. A., Rossi, S., Spizzo, R.,... & Esteller, M. (2010). A genetic defect in exportin-5 traps precursor microRNAs in the nucleus of cancer cells. *Cancer cell*, 18 (4), 303-315.
- Merson J. Hypothyroidism. *JAAPA*. 2018 Dec; 31 (12):43-44.
- Miao, L., Yao, H., Li, C., Pu, M., Yao, X., Yang, H.,... & Wang, Y. (2016). A dual inhibition: microRNA-552 suppresses both transcription and translation of cytochrome P450 2E1. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Regulatory Mechanisms*, 1859 (4), 650-662.
- Minna, E., Romeo, P., Dugo, M., De Cecco, L., Todoerti, K., Pilotti, S.,... & Borrello, M. G. (2016). miR-451a is underexpressed and targets AKT/mTOR pathway in papillary thyroid carcinoma. *Oncotarget*, 7 (11), 12731.
- Mitchell, P. S., Parkin, R. K., Kroh, E. M., Fritz, B. R., Wyman, S. K., Pogosova-Agadjanyan, E. L.,... & Tewari, M. (2008). Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105 (30), 10513-10518.
- Mohamad Yusof, A., Jamal, R., Muhammad, R., Abdullah Suhaimi, S. N., Mohamed Rose, I., Saidin, S., & Ab Mutalib, N. S. (2018). Integrated characterization of MicroRNA and mRNA transcriptome in papillary thyroid carcinoma. *Frontiers in endocrinology*, 9, 158.
- Moi, L., Braaten, T., Al-Shibli, K., Lund, E., & Busund, L. R. (2019). Differential expression of the miR-17-92 cluster and miR-17 family in breast cancer according to tumor type; results from the Norwegian Women and Cancer (NOWAC) study. *Journal of translational medicine*, 17 (1), 334.
- Molinaro, E., Romei, C., Biagini, A., Sabini, E., Agate, L., Mazzeo, S.,... & Elisei, R. (2017). Anaplastic thyroid carcinoma: from clinicopathology to genetics and advanced therapies. *Nature Reviews Endocrinology*, 13 (11), 644-660.
- Montero-Conde, C., Graña-Castro, O., Martín-Serrano, G., Martínez-Montes, Á. M., Zarzuela, E., Muñoz, J.,... & Robledo, M. (2020). Hsa-miR-139-5p is a prognostic thyroid cancer marker involved in HNRNPF-mediated alternative splicing. *International journal of cancer*, 146 (2), 521-530.
- Nicolson, N. G., Murtha, T. D., Dong, W., Paulsson, J. O., Choi, J., Barbieri, A. L.,... & Carling, T. (2018). Comprehensive genetic analysis of follicular thyroid carcinoma predicts prognosis independent of histology. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 103 (7), 2640-2650.
- Nie, F. R., Li, Q. X., Wei, H. F., & Ma, Y. (2020). miR-326 inhibits the progression of papillary thyroid carcinoma by targeting MAPK1 and ERBB4. *Neoplasma*, 67 (3), 604-613
- Nikiforov, Y. E., & Nikiforova, M. N. (2011). Molecular genetics and diagnosis of thyroid cancer. *Nature Reviews Endocrinology*, 7 (10), 569-580.
- Nikiforov, Y. E., & Seethala, R. R. (2012). Anaplastic (undifferentiated) carcinoma. *Diagnostic Pathology and Molecular Genetics of the Thyroid*. 2nd ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins, 263-284.

- Nikiforov, Y. E., Baloch, Z. W., Hodak, S. P., Giordano, T. J., Lloyd, R. V., Seethala, R. R., & Wenig, B. M. (2018). Change in diagnostic criteria for noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillarylike nuclear features. *JAMA oncology*, 4 (8), 1125-1126.
- Nikiforova, M. N., Biddinger, P. W., Caudill, C. M., Kroll, T. G., & Nikiforov, Y. E. (2002). PAX8-PPAR γ rearrangement in thyroid tumors: RT-PCR and immunohistochemical analyses. *The American journal of surgical pathology*, 26 (8), 1016-1023.
- Nikiforova, M. N., Kimura, E. T., Gandhi, M., Biddinger, P. W., Knauf, J. A., Basolo, F.,... & Nikiforov, Y. E. (2003). BRAF mutations in thyroid tumors are restricted to papillary carcinomas and anaplastic or poorly differentiated carcinomas arising from papillary carcinomas. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 88 (11), 5399-5404.
- Nilsson, M., & Williams, D. (2016). On the origin of cells and derivation of thyroid cancer: C cell story revisited. *European Thyroid Journal*, 5 (2), 79-93.
- O'Brien, J., Hayder, H., Zayed, Y., & Peng, C. (2018). Overview of microRNA biogenesis, mechanisms of actions, and circulation. *Frontiers in endocrinology*, 9, 402.
- O'Brien, J., Hayder, H., Zayed, Y., & Peng, C. (2018). Overview of microRNA biogenesis, mechanisms of actions, and circulation. *Frontiers in endocrinology*, 9, 402.
- Okada, C., Yamashita, E., Lee, S. J., Shibata, S., Katahira, J., Nakagawa, A.,... & Tsukahara, T. (2009). A high-resolution structure of the pre-microRNA nuclear export machinery. *Science*, 326 (5957), 1275-1279.
- Oliveto, S., Mancino, M., Manfrini, N., & Biffo, S. (2017). Role of microRNAs in translation regulation and cancer. *World journal of biological chemistry*, 8 (1), 45.
- Pamedylyte, D., Simanaviciene, V., Dauksiene, D., Leipute, E., Zvirbliene, A., Kazokaite, M.,... & Zilaitiene, B. (2019). SAT-LB096 relationship between MicroRNA expression levels and clinicopathological parameters and recurrence of papillary thyroid carcinoma. *Journal of the Endocrine Society*, 3 (Supplement_1), SAT-LB096.
- Pampalakis, G., Diamandis, E. P., Katsaros, D., & Sotiropoulou, G. (2010). Down-regulation of dicer expression in ovarian cancer tissues. *Clinical biochemistry*, 43 (3), 324-327.
- Pan, H. L., Wen, Z. S., Huang, Y. C., Cheng, X., & Wang, G. Z. & Zhou GB (2015). Down-regulation of microRNA-144 in air pollution-related lung cancer. *Scientific reports*, 5, 14331.
- Pan, Q., Zhao, J., Li, M., Liu, X., Xu, Y., Li, W.,... & Su, Z. (2020). Exosomal miRNAs are potential diagnostic biomarkers between malignant and benign thyroid nodules based on next-generation sequencing. *Carcinogenesis*, 41 (1), 18-24.
- Papaoannou, M., Chorti, A. G., Chatzikiyriakidou, A., Giannoulis, K., Bakkar, S., & Papavramidis, T. S. (2022). MicroRNAs in papillary thyroid cancer: what is new in diagnosis and treatment. *Frontiers in oncology*, 11, 5530.
- Patel, L., Pass, I., Coxon, P., Downes, C. P., Smith, S. A., & Macphee, C. H. (2001). Tumor suppressor and anti-inflammatory actions of PPAR γ agonists are mediated via upregulation of PTEN. *Current Biology*, 11 (10), 764-768.
- Paulson, V. A., Rudzinski, E. R., & Hawkins, D. S. (2019). Thyroid cancer in the pediatric population. *Genes*, 10 (9), 723.
- Peng, Y., Croce, C. The role of MicroRNAs in human cancer. *Sig Transduct Target Ther* 1, 15004 (2016)
- Peng, Y., Li, C., Luo, D. C., Ding, J. W., Zhang, W., & Pan, G. (2014). Expression profile and clinical significance of microRNAs in papillary thyroid carcinoma. *Molecules*, 19 (8), 11586-11599.

- Penha, R. C. C., Sepe, R., De Martino, M., Esposito, F., Pellecchia, S., Raia, M.,... & Fusco, A. (2017). Role of Dicer1 in thyroid cell proliferation and differentiation. *Cell Cycle*, *16* (23), 2282-2289.
- Perdas, E., Stawski, R., Nowak, D., & Zubrzycka, M. (2016). The role of miRNA in papillary thyroid cancer in the context of miRNA Let-7 family. *International journal of molecular sciences*, *17* (6), 909.
- Pilli, T., Cantara, S., Marzocchi, C., Cardinale, S., Santini, C., Cevenini, G., & Pacini, F. (2017). Diagnostic value of circulating microRNA-95 and-190 in the differential diagnosis of thyroid nodules: a validation study in 1000 consecutive patients. *Thyroid*, *27* (8), 1053-1057.
- Piriyapongsa, J., Jordan, I. K., Conley, A. B., Ronan, T., & Smalheiser, N. R. (2011). Transcription factor binding sites are highly enriched within microRNA precursor sequences. *Biology Direct*, *6* (1), 1-12.
- Pitchiaya, S., Heinicke, L. A., Park, J. I., Cameron, E. L., & Walter, N. G. (2017). Resolving subcellular miRNA trafficking and turnover at single-molecule resolution. *Cell reports*, *19* (3), 630-642.
- Pozdeyev, N., Gay, L. M., Sokol, E. S., Hartmaier, R., Deaver, K. E., Davis, S.,... & Bowles, D. W. (2018). Genetic analysis of 779 advanced differentiated and anaplastic thyroid cancers. *Clinical Cancer Research*, *24* (13), 3059-3068.
- Prete, A., Borges de Souza, P., Censi, S., Muzza, M., Nucci, N., & Sponziello, M. (2020). Update on fundamental mechanisms of thyroid cancer. *Frontiers in Endocrinology*, *11*, 102.
- psaro, J. J., & Joshua-Tor, L. (2015). From guide to target: molecular insights into eukaryotic RNA-interference machinery. *Nature structural & molecular biology*, *22* (1), 20-28.
- Puisieux, A., Brabletz, T., & Caramel, J. (2014). Oncogenic roles of EMT-inducing transcription factors. *Nature cell biology*, *16* (6), 488-494.
- Pylayeva-Gupta, Y., Grabocka, E., & Bar-Sagi, D. (2011). RAS oncogenes: weaving a tumorigenic web. *Nature Reviews Cancer*, *11* (11), 761-774.
- Qiu, J., Zhang, W., Zang, C., Liu, X., Liu, F., Ge, R.,... & Xia, Q. (2018). Identification of key genes and miRNAs markers of papillary thyroid cancer. *Biological research*, *51*.
- Qiu, Z., Li, H., Wang, J., & Sun, C. (2017). miR-146a and miR-146b in the diagnosis and prognosis of papillary thyroid carcinoma. *Oncology Reports*, *38* (5), 2735-2740.
- Raman, P., & Koenig, R. J. (2014). Pax-8–PPAR- γ fusion protein in thyroid carcinoma. *Nature Reviews Endocrinology*, *10* (10), 616-623.
- Reinhart, B. J., Slack, F. J., Basson, M., Pasquinelli, A. E., Bettinger, J. C., Rougvie, A. E.,... & Ruvkun, G. (2000). The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *nature*, *403* (6772), 901-906.
- Ringel, M. D., Hayre, N., Saito, J., Saunier, B., Schuppert, F., Burch, H.,... & Saji, M. (2001). Overexpression and overactivation of Akt in thyroid carcinoma. *Cancer research*, *61* (16), 6105-6111.
- Romei C, Elisei R. A Narrative Review of Genetic Alterations in Primary Thyroid Epithelial Cancer. *Int J Mol Sci*. 2021 Feb 9; *22* (4):1726.
- Romei, C., & Elisei, R. (2012). RET/PTC translocations and clinico-pathological features in human papillary thyroid carcinoma. *Frontiers in endocrinology*, *3*, 54.
- Romei, C., Ciampi, R., & Elisei, R. (2016). A comprehensive overview of the role of the RET proto-oncogene in thyroid carcinoma. *Nature Reviews Endocrinology*, *12* (4), 192.

- Rosen, R. D., &Sapra, A. (2019). Embryology, thyroid.
- Rosignolo, F., Memeo, L., Monzani, F., Colarossi, C., Pecce, V., Verrienti, A.,... &Sponziello, M. (2017). MicroRNA-based molecular classification of papillary thyroid carcinoma. *International Journal of Oncology*, *50* (5), 1767-1777.
- Rosignolo, F., Sponziello, M., Giacomelli, L., Russo, D., Pecce, V., Biffoni, M.,... &Verrienti, A. (2017). Identification of thyroid-associated serum microRNA profiles and their potential use in thyroid cancer follow-up. *Journal of the Endocrine Society*, *1* (1), 3-13.
- Ruby, J. G., Jan, C. H., &Bartel, D. P. (2007). Intronic microRNA precursors that bypass Drosha processing. *Nature*, *448* (7149), 83-86.
- Saito, Y., Liang, G., Egger, G., Friedman, J. M., Chuang, J. C., Coetzee, G. A., &Jones, P. A. (2006). Specific activation of microRNA-127 with downregulation of the proto-oncogene BCL6 by chromatin-modifying drugs in human cancer cells. *Cancer cell*, *9* (6), 435-443.
- Saji, M., &Ringel, M. D. (2010). The PI3K-Akt-mTOR pathway in initiation and progression of thyroid tumors. *Molecular and cellular endocrinology*, *321* (1), 20-28
- Sakha, S., Muramatsu, T., Ueda, K., &Inazawa, J. (2016). Exosomal microRNA miR-1246 induces cell motility and invasion through the regulation of DENND2D in oral squamous cell carcinoma. *Scientific Reports*, *6* (1), 1-11.
- Salajegheh, A., Vosgha, H., Rahman, M. A., Amin, M., Smith, R. A., &Lam, A. K. Y. (2016). Interactive role of miR-126 on VEGF-A and progression of papillary and undifferentiated thyroid carcinoma. *Human pathology*, *51*, 75-85.
- Samsonov, R., Burdakov, V., Shtam, T., Radzhabova, Z., Vasilyev, D., Tsyrlina, E.,... &Malek, A. (2016). Plasma exosomal miR-21 and miR-181a differentiates follicular from papillary thyroid cancer. *Tumor Biology*, *37* (9), 12011-12021.
- Santarpia, L., Calin, G. A., Adam, L., Ye, L., Fusco, A., Giunti, S.,... &Gagel, R. F. (2013). A miRNA signature associated with human metastatic medullary thyroid carcinoma. *Endocrine-related cancer*, *20* (6), 809-823.
- Schonfeld, S. J., Lee, C., &De Gonzalez, A. B. (2011). Medical exposure to radiation and thyroid cancer. *Clinical Oncology*, *23* (4), 244-250.
- Shah JP. Thyroid carcinoma: epidemiology, histology, and diagnosis. *Clin Adv Hematol Oncol*. 2015 Apr; *13* (4 Suppl 4):3-6.
- Shen, C. T., Qiu, Z. L., Song, H. J., Wei, W. J., &Luo, Q. Y. (2016). miRNA-106a directly targeting RARB associates with the expression of Na⁺/I⁻ symporter in thyroid cancer by regulating MAPK signaling pathway. *Journal of Experimental &Clinical Cancer Research*, *35* (1), 1-12.
- Shi, Y., Liu, Z., Lin, Q., Luo, Q., Cen, Y., Li, J., Fang, X., &Gong, C. (2021). MiRNAs and Cancer: Key Link in Diagnosis and Therapy. *Genes*, *12* (8), 1289.
- Sondermann, A., Andreghetto, F. M., Moulatlet, A. C. B., da Silva Victor, E., de Castro, M. G., Nunes, F. D.,... &Severino, P. (2015). MiR-9 and miR-21 as prognostic biomarkers for recurrence in papillary thyroid cancer. *Clinical &experimental metastasis*, *32* (6), 521-530.
- Song, H. M., Luo, Y., Li, D. F., Wei, C. K., Hua, K. Y., Song, J. L.,... &Fang, L. (2015). MicroRNA-96 plays an oncogenic role by targeting FOXO1 and regulating AKT/FOXO1/Bim pathway in papillary thyroid carcinoma cells. *International journal of clinical and experimental pathology*, *8* (9), 9889.

- Sun, D., Han, S., Liu, C., Zhou, R., Sun, W., Zhang, Z., & Qu, J. (2016). MicroRNA-199a-5p functions as a tumor suppressor via suppressing connective tissue growth factor (CTGF) in follicular thyroid carcinoma. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 22, 1210.
- Sun, J., Shi, R., Zhao, S., Li, X., Lu, S., Bu, H.,... & Su, C. (2017). E2F8, a direct target of miR-144, promotes papillary thyroid cancer progression via regulating cell cycle. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 36 (1), 1-14.
- Sun, M., Fang, S., Li, W., Li, C., Wang, L., Wang, F., & Wang, Y. (2015). Associations of miR-146a and miR-146b expression and clinical characteristics in papillary thyroid carcinoma. *Cancer Biomarkers*, 15 (1), 33-40.
- Sun, N., Zhang, Q., Xu, C., Zhao, Q., Ma, Y., Lu, X.,... & Li, W. (2014). Molecular regulation of ovarian cancer cell invasion. *Tumor Biology*, 35 (11), 11359-11366.
- Sun, W., Lan, X., Wang, Z., Dong, W., He, L., Zhang, T.,... & Zhang, H. (2018). MicroRNA-144 inhibits proliferation by targeting WW domain-containing transcription regulator protein 1 in papillary thyroid cancer. *Oncology letters*, 15 (1), 1007-1013.
- Tan W, Li Y, Lim SG, Tan TM. miR-106b-25/miR-17-92 clusters: polycistrons with oncogenic roles in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*. 2014 May 28; 20 (20):5962-72.
- Taty-Anna K, Fariyah HS, Norzana AG, Farida H, Das S. Absence of the isthmus of the thyroid gland: anatomical and clinical considerations. *Clin Ter*. 2012 Nov; 163 (6):503-4.
- Tian, T., Zhu, Y. L., Zhou, Y. Y., Liang, G. F., Wang, Y. Y., Hu, F. H., & Xiao, Z. D. (2014). Exosome uptake through clathrin-mediated endocytosis and macropinocytosis and mediating miR-21 delivery. *Journal of Biological Chemistry*, 289 (32), 22258-22267.
- Todorović, L., Stanojević, B., Mandušić, V., Petrović, N., Živaljević, V., Paunović, I.,... & Yamashita, S. (2018). Expression of VHL tumor suppressor mRNA and miR-92a in papillary thyroid carcinoma and their correlation with clinical and pathological parameters. *Medical Oncology*, 35 (2), 1-10.
- Trovisco, V., Vieira de Castro, I., Soares, P., Máximo, V., Silva, P., Magalhaes, J.,... & Sobrinho-Simões, M. (2004). BRAF mutations are associated with some histological types of papillary thyroid carcinoma. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*, 202 (2), 247-251.
- Truesdell, S. S., Mortensen, R. D., Seo, M., Schroeder, J. C., Lee, J. H., LeTonqueze, O., & Vasudevan, S. (2012). MicroRNA-mediated mRNA translation activation in quiescent cells and oocytes involves recruitment of a nuclear microRNP. *Scientific reports*, 2 (1), 1-12.
- Unger, K., Zitzelsberger, H., Salvatore, G., Santoro, M., Bogdanova, T., Braselmann, H.,... & Thomas, G. (2004). Heterogeneity in the distribution of RET/PTC rearrangements within individual post-Chernobyl papillary thyroid carcinomas. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 89 (9), 4272-4279.
- Vara, J. Á. F., Casado, E., de Castro, J., Cejas, P., Belda-Iniesta, C., & González-Barón, M. (2004). PI3K/Akt signalling pathway and cancer. *Cancer treatment reviews*, 30 (2), 193-204.
- Vasko, V., Saji, M., Hardy, E., Kruhlak, M., Larin, A., Savchenko, V.,... & Ringel, M. D. (2004). Akt activation and localisation correlate with tumour invasion and oncogene expression in thyroid cancer. *Journal of medical genetics*, 41 (3), 161-170.

- Vasudevan, S., &Steitz, J. A. (2007). AU-rich-element-mediated upregulation of translation by FXR1 and Argonaute 2. *Cell*, *128* (6), 1105-1118.
- Visone R, Croce CM. MiRNAs and cancer. *Am J Pathol*. 2009 Apr; *174* (4):1131-8.
- «Völler, D., Reinders, J., Meister, G., & Bosserhoff, A. K. (2013). Strong reduction of AGO2 expression in melanoma and cellular consequences. *British journal of cancer*, *109* (12), 3116-3124.
- Vuong, H. G., Kondo, T., Oishi, N., Nakazawa, T., Mochizuki, K., Inoue, T.,... & Katoh, R. (2016). Genetic alterations of differentiated thyroid carcinoma in iodine-rich and iodine-deficient countries. *Cancer medicine*, *5* (8), 1883-1889.
- Walz, A., Ooms, A., Gadd, S., Gerhard, D., Smith, M., GuidryáAuvil, J. M.,... & Perlman, E. (2015). Recurrent DGCR8, DROSHA, and SIX homeodomain mutations in favorable histology Wilms tumors. *Cancer cell*, *27* (2), 286-297.
- Wang, D., Guo, C., Kong, T., Mi, G., Li, J., & Sun, Y. (2019). Serum miR-22 may be a biomarker for papillary thyroid cancer. *Oncology Letters*, *17* (3), 3355-3361.
- Wang, D., Yu, S., Ma, C., Li, H., Qiu, L., Cheng, X.,... & Liu, H. (2019). Reference intervals for thyroid-stimulating hormone, free thyroxine, and free triiodothyronine in elderly Chinese persons. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, *57* (7), 1044-1052.
- Wang, X., & Qi, M. (2018). miR-718 is involved in malignancy of papillary thyroid cancer through repression of PDPK1. *Pathology-Research and Practice*, *214* (11), 1787-1793.
- Wang, X., Zhao, X., Gao, P., & Wu, M. (2013). c-Myc modulates microRNA processing via the transcriptional regulation of Drosha. *Scientific reports*, *3* (1), 1-7.
- Wei, C., Song, H., Sun, X., Li, D., Song, J., Hua, K., & Fang, L. (2015). miR-183 regulates biological behavior in papillary thyroid carcinoma by targeting the programmed cell death 4. *Oncology Reports*, *34* (1), 211-220.
- Wen, Q., Zhao, J., Bai, L., Wang, T., Zhang, H., & Ma, Q. (2015). miR-126 inhibits papillary thyroid carcinoma growth by targeting LRP6 Retraction in/10. 3892/or. 2021. 8097. *Oncology reports*, *34* (4), 2202-2210.
- Wojtas, B., Ferraz, C., Stokowy, T., Hauptmann, S., Lange, D., Dralle, H.,... & Eszlinger, M. (2014). Differential miRNA expression defines migration and reduced apoptosis in follicular thyroid carcinomas. *Molecular and cellular endocrinology*, *388* (1-2), 1-9.
- Wu, X., Dai, L., Zhang, Z., Zheng, J., & Zhao, J. (2020). Overexpression of microRNA-203 can downregulate survivin and function as a potential therapeutic target in papillary thyroid cancer. *Oncology Letters*, *19* (1), 61-68.
- Xiang, D., Tian, B., Yang, T., & Li, Z. (2019). miR-222 expression is correlated with the ATA risk stratifications in papillary thyroid carcinomas*. *Medicine*, *98* (25).
- Xie, M., Li, M., Vilborg, A., Lee, N., Shu, M. D., Yartseva, V.,... & Steitz, J. A. (2013). Mammalian 5'-capped microRNA precursors that generate a single microRNA. *Cell*, *155* (7), 1568-1580.
- Xing M. Molecular pathogenesis and mechanisms of thyroid cancer. *Nat Rev Cancer*. 2013 Mar; *13* (3):184-99.
- Xing, M. (2008). Recent advances in molecular biology of thyroid cancer and their clinical implications. *Otolaryngologic Clinics of North America*, *41* (6), 1135-1146
- Xing, M. (2013). Molecular pathogenesis and mechanisms of thyroid cancer. *Nature Reviews Cancer*, *13* (3), 184-199.

- Xing, M. (2016). Clinical utility of RAS mutations in thyroid cancer: A blurred picture now emerging clearer. *BMC Medicine*.
- Xing, M., Alzahrani, A. S., Carson, K. A., Shong, Y. K., Kim, T. Y., Viola, D.,... & Sýkorová, V. (2015). Association between BRAF V600E mutation and recurrence of papillary thyroid cancer. *Journal of clinical oncology*, *33* (1), 42.
- Xu, J., Chen, Q., Zen, K., Zhang, C., & Zhang, Q. (2013). Synaptosomes secrete and uptake functionally active microRNA s via exocytosis and endocytosis pathways. *Journal of neurochemistry*, *124* (1), 15-25.
- Yang, J. S., Maurin, T., Robine, N., Rasmussen, K. D., Jeffrey, K. L., Chandwani, R.,... & Lai, E. C. (2010). Conserved vertebrate mir-451 provides a platform for Dicer-independent, Ago2-mediated microRNA biogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *107* (34), 15163-15168.
- Yasoda, A. (2018). Secondary osteoporosis. Hyperthyroidism. *Clinical Calcium*, *28* (12), 1619-1625.
- Yoda, M., Kawamata, T., Paroo, Z., Ye, X., Iwasaki, S., Liu, Q., & Tomari, Y. (2010). ATP-dependent human RISC assembly pathways. *Nature structural & molecular biology*, *17* (1), 17-23.
- Yoo, S. K., Song, Y. S., Lee, E. K., Hwang, J., Kim, H. H., Jung, G.,... & Seo, J. S. (2019). Integrative analysis of genomic and transcriptomic characteristics associated with progression of aggressive thyroid cancer. *Nature communications*, *10* (1), 1-12.
- Zaballos, M. A., & Santisteban, P. (2017). Key signaling pathways in thyroid cancer. *Journal of Endocrinology*, *235* (2), R43-R61.
- Zatelli, M. C., Trasforini, G., Leoni, S., Frigato, G., Buratto, M., Tagliati, F.,... & degli Uberti, E. C. (2009). BRAF V600E mutation analysis increases diagnostic accuracy for papillary thyroid carcinoma in fine-needle aspiration biopsies. *European journal of endocrinology*, *161* (3), 467.
- Zhang, H., Kolb, F. A., Jaskiewicz, L., Westhof, E., & Filipowicz, W. (2004). Single processing center models for human Dicer and bacterial RNase III. *Cell*, *118* (1), 57-68.
- Zhang, J., Fan, X. S., Wang, C. X., Liu, B., Li, Q., & Zhou, X. J. (2013). Up-regulation of Ago2 expression in gastric carcinoma. *Medical Oncology*, *30* (3), 1-7.
- Zhang, J., Yang, Y., Liu, Y., Fan, Y., Liu, Z., Wang, X.,... & Lu, X. (2014). MicroRNA-21 regulates biological behaviors in papillary thyroid carcinoma by targeting programmed cell death 4. *Journal of Surgical Research*, *189* (1), 68-74.
- Zhang, L., Huang, J., Yang, N., Greshock, J., Megraw, M. S., Giannakakis, A.,... & Coukos, G. (2006). microRNAs exhibit high frequency genomic alterations in human cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *103* (24), 9136-9141.
- Zhang, Q., Lin, L., Li, W., Lu, G., & Li, X. (2019). MiR-223 inhibitor suppresses proliferation and induces apoptosis of thyroid cancer cells by down-regulating aquaporin-1. *Journal of Receptors and Signal Transduction*, *39* (2), 146-153.
- Zhang, Z., Liu, Z. B., Ren, W. M., Ye, X. G., & Zhang, Y. Y. (2012). The miR-200 family regulates the epithelial-mesenchymal transition induced by EGF/EGFR in anaplastic thyroid cancer cells. *International journal of molecular medicine*, *30* (4), 856-862.
- Zhou, A., Chen, G., Cheng, X., Zhang, C., Xu, H., Qi, M.,... & Li, L. (2019). Inhibitory effects of miR-26b-5p on thyroid cancer. *Molecular medicine reports*, *20* (2), 1196-1202.
- Zhu, H., Fang, J., Zhang, J., Zhao, Z., Liu, L., Wang, J.,... & Gu, M. (2014). miR-182 targets CHL1 and controls tumor growth and invasion in papillary thyroid carcinoma. *Biochemical and biophysical research communications*, *450* (1), 857-862.

- Zhu, J. J., Liu, Y. F., Zhang, Y. P., Zhao, C. R., Yao, W. J., Li, Y. S.,... & Zhou, J. (2017). VAMP3 and SNAP23 mediate the disturbed flow-induced endothelial microRNA secretion and smooth muscle hyperplasia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114 (31), 8271-8276.
- Zhu, Z., Ciampi, R., Nikiforova, M. N., Gandhi, M., & Nikiforov, Y. E. (2006). Prevalence of RET/PTC rearrangements in thyroid papillary carcinomas: effects of the detection methods and genetic heterogeneity. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 91 (9), 3603-3610.
- Zimmermann, M. B., & Boelaert, K. (2015). Iodine deficiency and thyroid disorders. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 3 (4), 286-295.

Πηγές Εικόνων

- Εικόνα 1.** Prete, A., Borges de Souza, P., Censi, S., Muzza, M., Nucci, N., & Sponziello, M. (2020). Update on Fundamental Mechanisms of Thyroid Cancer. *Frontiers in endocrinology*, 11, 102.
- Εικόνα 2.** Zaballos, M. A., & Santisteban, P. (2017). Key signaling pathways in thyroid cancer. *Journal of Endocrinology*, 235 (2), R43-R61.
- Εικόνα 3.** Zaballos, M. A., & Santisteban, P. (2017). Key signaling pathways in thyroid cancer. *Journal of Endocrinology*, 235 (2), R43-R61.
- Εικόνα 4.** Romei C, Elisei R. A Narrative Review of Genetic Alterations in Primary Thyroid Epithelial Cancer. *Int J Mol Sci*. 2021 Feb 9; 22 (4):1726. doi: 10.3390/ijms22041726. PMID: 33572167; PMCID: PMC7915177.
- Εικόνα 5.** Hayder, H., O'Brien, J., Nadeem, U., & Peng, C. (2018). MicroRNAs: crucial regulators of placental development. *Reproduction*, 155 (6), R259-R271.
- Εικόνα 6.** Τροχάτου Ουρανία, Διδακτορική Διατριβή Μελέτη του ρόλου των microRNAs στη ρύθμιση των μηχανισμών αυτοανάνεωσης και διαφοροποίησης των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων του αμνιακού υγρού, 2013, σελ. 51
- Εικόνα 7.** Τροχάτου Ουρανία, Διδακτορική Διατριβή Μελέτη του ρόλου των microRNAs στη ρύθμιση των μηχανισμών αυτοανάνεωσης και διαφοροποίησης των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων του αμνιακού υγρού, 2013, σελ. 53
- Εικόνα 8.** Zhou, K., Liu, M., & Cao, Y. (2017). New insight into microRNA functions in cancer: oncogene–microRNA–tumor suppressor gene network. *Frontiers in molecular biosciences*, 4, 46
- Εικόνα 9.** Costa, P. M., & Pedroso de Lima, M. C. (2013). MicroRNAs as molecular targets for cancer therapy: on the modulation of microRNA expression. *Pharmaceuticals*, 6 (10), 1195-1220.
- Εικόνα 10.** Bueno, M. J., & Malumbres, M. (2011). MicroRNAs and the cell cycle. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1812 (5), 592-601.
- Εικόνα 11.** Abdullah MI, Junit SM, Ng KL, Jayapalan JJ, Karikalan B, Hashim OH. Papillary Thyroid Cancer: Genetic Alterations and Molecular Biomarker Investigations. *Int J Med Sci*. 2019 Feb 28; 16 (3):450-460. doi: 10.7150/ijms.29935. PMID: 30911279; PMCID: PMC6428975.
- Εικόνα 12.** Papaioannou, M., Chorti, A. G., Chatzikyriakidou, A., Giannoulis, K., Bakkar, S., & Papavramidis, T. S. (2022). MicroRNAs in papillary thyroid cancer: what is new in diagnosis and treatment. *Frontiers in oncology*, 11, 5530

Εικόνα 13. Papaioannou, M., Chorti, A. G., Chatzikyriakidou, A., Giannoulis, K., Bakkar, S., & Papavramidis, T. S. (2022). MicroRNAs in papillary thyroid cancer: what is new in diagnosis and treatment. *Frontiers in oncology, 11*, 5530.

Εικόνα 14. Papaioannou, M., Chorti, A. G., Chatzikyriakidou, A., Giannoulis, K., Bakkar, S., & Papavramidis, T. S. (2022). MicroRNAs in papillary thyroid cancer: what is new in diagnosis and treatment. *Frontiers in oncology, 11*, 5530.

Πηγές Πινάκων

Πίνακας 1. Abdullah MI, Junit SM, Ng KL, Jayapalan JJ, Karikalan B, Hashim OH. Papillary Thyroid Cancer: Genetic Alterations and Molecular Biomarker Investigations. *Int J Med Sci.* 2019 Feb 28; 16 (3):450-460. doi: 10.7150/ijms.29935. PMID: 30911279; PMCID: PMC6428975.