

# Генетические маркеры, ассоциированные с резистентностью к радиойодтерапии, у больных раком щитовидной железы

Н.П. Денисенко<sup>1,2</sup>, Г.Н. Шувев<sup>2</sup>, Р.Х. Мухамадиев<sup>2</sup>, О.М. Перфильева<sup>2</sup>, Р.Е. Казаков<sup>2</sup>, А.А. Качанова<sup>2</sup>, О.И. Милютин<sup>2</sup>, О.В. Коненкова<sup>2</sup>, С.А. Рыжкин<sup>2</sup>, Д.В. Иващенко<sup>1,2</sup>, И.В. Буре<sup>1,2</sup>, С.Л. Кириенко<sup>2</sup>, Е.М. Жмаева<sup>2</sup>, К.Б. Мирзаев<sup>1,2</sup>, А.С. Аметов<sup>2</sup>, И.В. Поддубная<sup>2</sup>, Д.А. Сычев<sup>2</sup>

<sup>1</sup>НЦМУ «Центр персонализированной медицины», Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва, Россия

## Аннотация

**Обоснование.** Показанием для проведения радиойодтерапии является принадлежность пациента к группе промежуточного или высокого риска агрессивного течения рака щитовидной железы, которая определяется на основании клинико-диагностических данных и послеоперационного патоморфологического исследования опухолевой ткани щитовидной железы. Радиойодтерапия позволяет уничтожить остатки тиреоидной ткани и накапливающие радиоактивный йод вероятные резидуальные опухолевые очаги, позитивно влияет на метастазы дифференцированного рака щитовидной железы, снижая риск развития рецидива и улучшая отдаленные результаты терапии. Представляется значимым изучение роли полиморфизмов генов *NFKB1*, *ATM*, *ATG16L2* и *ATG10*, продукты которых задействованы в процессах восстановления ДНК в ответ на повреждение и при аутофагии, в формировании резистентности к радиойодтерапии больных раком щитовидной железы.

**Цель.** Изучить ассоциации между носительством полиморфизмов генов *NFKB1*, *ATM*, *ATG16L2* и *ATG10* и развитием резистентности к радиойодтерапии у больных раком щитовидной железы.

**Материалы и методы.** В исследование включен 181 пациент (37 мужчин, 144 женщины; медиана возраста 56 лет [41; 66,3]) с гистологически подтвержденным раком щитовидной железы и тиреоидэктомией в анамнезе, получивший радиойодтерапию. Определение носительства однонуклеотидных полиморфизмов (rs230493) *NFKB1*, (rs11212570) *ATM*, (rs10898880) *ATG16L2* и (rs10514231, rs1864183, rs4703533) *ATG10* проводилось методом аллель-специфической полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с помощью наборов TaqMan™.

**Результаты.** Резистентность к радиойодтерапии наблюдалась в 11 (6,1%) случаях из 181 наблюдения. Достоверных ассоциаций носительства отдельных изученных полиморфизмов с резистентностью к радиойодтерапии не получено,  $p > 0,05$ . Гаплотипический анализ показал, что носительство гаплотипа C-C *ATG10* rs10514231-rs1864183 ассоциировано с повышенным риском развития резистентности к радиойодтерапии,  $p = 0,04$ .

**Заключение.** Необходимы дальнейшие исследования на больших выборках резистентных к радиойодтерапии пациентов с применением методов полногеномного секвенирования для уточнения роли генетических факторов в ответе на терапию<sup>131</sup>.

**Ключевые слова:** радиойодтерапия, гены, резистентность

**Для цитирования:** Денисенко Н.П., Шувев Г.Н., Мухамадиев Р.Х., Перфильева О.М., Казаков Р.Е., Качанова А.А., Милютин О.И., Коненкова О.В., Рыжкин С.А., Иващенко Д.В., Буре И.В., Кириенко С.Л., Жмаева Е.М., Мирзаев К.Б., Аметов А.С., Поддубная И.В., Сычев Д.А. Генетические маркеры, ассоциированные с резистентностью к радиойодтерапии, у больных раком щитовидной железы. Современная Онкология. 2022;24(3):345–350. DOI: 10.26442/18151434.2022.3.201867

© ООО «КОНСИЛИУМ МЕДИКУМ», 2022 г.

## Информация об авторах / Information about the authors

**Денисенко Наталья Павловна** – канд. мед. наук, ст. науч. сотр. НИЛ нейроэндокринных опухолей НЦМУ «Центр персонализированной медицины», зав. отд. персонализированной медицины НИИ молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО. E-mail: natalypilipenko3990@gmail.com; ORCID: 0000-0003-3278-5941; SPIN-код: 5883-6249

**Шувев Григорий Николаевич** – мл. науч. сотр. отд. персонализированной медицины НИИ молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО. E-mail: shuevgrigorii@gmail.com; ORCID: 0000-0002-5031-0088; SPIN-код: 4172-1330

**Мухамадиев Рэис Харисович** – ординатор каф. клинической фармакологии и терапии им. акад. Б.Е. Вотчала ФГБОУ ДПО РМАНПО. E-mail: rmuhamadiev@gmail.com; ORCID: 0000-0002-8052-4984

**Перфильева Оксана Михайловна** – канд. мед. наук, зам. глав. врача по лечебной работе Клиники им. проф. Ю.Н. Касаткина ФГБОУ ДПО РМАНПО. E-mail: operfileva@mail.ru; SPIN-код: 5453-5031

**Казаков Руслан Евгеньевич** – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. отд. молекулярной медицины НИИ молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО. E-mail: rustic100@rambler.ru; ORCID: 0000-0003-0802-4229; SPIN-код: 8751-5090

**Качанова Анастасия Алексеевна** – мл. науч. сотр. отд. молекулярной медицины НИИ молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО. E-mail: aakachanova@yandex.ru; ORCID: 0000-0003-3194-4410; SPIN-код: 1214-8156

**Милютин Ольга Игоревна** – ординатор каф. радиотерапии и радиологии им. акад. А.С. Павлова ФГБОУ ДПО РМАНПО. E-mail: miliutina.olia2017@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-6828-3831

**Natalia P. Denisenko** – Cand. Sci. (Med.), Centre for Personalized Medicine, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education. E-mail: natalypilipenko3990@gmail.com; ORCID: 0000-0003-3278-5941; SPIN code: 5883-6249

**Grigorij N. Shuev** – Res. Assist., Russian Medical Academy of Continuous Professional Education. E-mail: shuevgrigorii@gmail.com; ORCID: 0000-0002-5031-0088; SPIN code: 4172-1330

**Reis H. Mukhamadiev** – Resident, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education. E-mail: rmuhamadiev@gmail.com; ORCID: 0000-0002-8052-4984

**Oksana M. Perfilieva** – Cand. Sci. (Med.), Russian Medical Academy of Continuous Professional Education. E-mail: operfileva@mail.ru; SPIN code: 5453-5031

**Ruslan E. Kazakov** – Cand. Sci. (Biol.), Russian Medical Academy of Continuous Professional Education. E-mail: rustic100@rambler.ru; ORCID: 0000-0003-0802-4229; SPIN code: 8751-5090

**Anastasia A. Kachanova** – Res. Assist., Russian Medical Academy of Continuous Professional Education. E-mail: aakachanova@yandex.ru; ORCID: 0000-0003-3194-4410; SPIN code: 1214-8156

**Olga I. Milyutina** – Resident, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education. E-mail: miliutina.olia2017@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-6828-3831

# Genetic markers associated with resistance to radioiodine therapy in thyroid cancer patients: Prospective cohort study

Natalia P. Denisenko<sup>1,2</sup>, Grigoriy N. Shuev<sup>2</sup>, Reis H. Mukhamadiev<sup>2</sup>, Oksana M. Perfilieva<sup>2</sup>, Ruslan E. Kazakov<sup>2</sup>, Anastasia A. Kachanova<sup>2</sup>, Olga I. Milyutina<sup>2</sup>, Olga V. Konenkova<sup>2</sup>, Sergey A. Ryzhkin<sup>2</sup>, Dmitriy V. Ivashchenko<sup>1,2</sup>, Irina V. Bure<sup>1,2</sup>, Sergey L. Kirienko<sup>2</sup>, Elena M. Zhmaeva<sup>2</sup>, Karin B. Mirzaev<sup>1,2</sup>, Alexander S. Ametov<sup>2</sup>, Irina V. Poddubnaya<sup>2</sup>, Dmitry A. Sychev<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centre for Personalized Medicine, Saint Petersburg, Russia;

<sup>2</sup>Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia

## Abstract

**Background.** The indication for radiotherapy in oncological practice are metastases of differentiated thyroid cancer after thyroidectomy, the presence of distant metastases, or stage N1b, or negative dynamics of blood thyroglobulin levels after thyroidectomy for thyroid cancer. The mechanism of action of radiotherapy is based on provoking double-stranded DNA breaks. It is important to study the role of polymorphisms of *NFKB1*, *ATM*, *ATG16L2* and *ATG10* genes, products of which are involved in the processes of DNA damage response pathway and autophagy, in the formation of resistance to radioiodine therapy of thyroid cancer patients.

**Aim.** To examine the association between *NFKB1*, *ATM*, *ATG16L2* and *ATG10* polymorphisms and resistance to radioiodine therapy in thyroid cancer patients.

**Materials and methods.** The study included 181 patients (37 men, 144 women; mean age 53.5±15.7 years) with histologically confirmed thyroid cancer and a history of thyroidectomy who received radioiodine therapy. Carriage of single-nucleotide polymorphisms (rs230493) *NFKB1*, (rs11212570) *ATM*, (rs10898880) *ATG16L2* and (rs10514231, rs1864183, rs4703533) *ATG10* was determined by real-time PCR using TaqMan™ kits.

**Results.** Among 181 patients, resistance to radioiodine therapy was observed in 11 (6.1%) cases. No significant associations between the individual polymorphisms and resistance to radioiodine therapy were obtained,  $p>0.05$ . Haplotype analysis showed that carriage of the C-C *ATG10* rs10514231-rs1864183 haplotype was associated with an increased risk of developing resistance to radioiodine therapy,  $p=0.04$ .

**Conclusion.** Further studies on large samples of radioiodine therapy-resistant patients using whole-genome sequencing methods are required to specify the role of genetic factors in the response to <sup>131</sup>I therapy.

**Keywords:** <sup>131</sup>I radiotherapy, SNPs, resistance

**For citation:** Denisenko NP, Shuev GN, Mukhamadiev RH, Perfilieva OM, Kazakov RE, Kachanova AA, Milyutina OI, Konenkova OV, Ryzhkin SA, Ivashchenko DV, Bure IV, Kirienko SL, Zhmaeva EM, Mirzaev KB, Ametov AS, Poddubnaya IV, Sychev DA. Genetic markers associated with resistance to radioiodine therapy in thyroid cancer patients: Prospective cohort study. *Journal of Modern Oncology*. 2022;24(3):345–350. DOI: 10.26442/18151434.2022.3.201867

## Информация об авторах / Information about the authors

**Коненкова Ольга Витальевна** – ординатор каф. радиотерапии и радиологии им. акад. А.С. Павлова ФГБОУ ДПО РМАНПО. E-mail: konenkova.olia@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-4789-2718

**Рыжкин Сергей Александрович** – д-р мед. наук, доц., зав. каф. радиотерапии и радиологии им. акад. А.С. Павлова ФГБОУ ДПО РМАНПО. E-mail: rsa777@inbox.ru; ORCID: 0000-0003-2595-353X; SPIN-код: 5955-5712

**Ивашченко Дмитрий Владимирович** – д-р мед. наук, ст. науч. сотр. научно-исследовательской лаб. нейроэндокринных опухолей НЦМУ «Центр персонализированной медицины», ст. науч. сотр. научно-исследовательской лаб. геномных предикторов нежелательных лекарственных реакций Научно-исследовательского института молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО. E-mail: dvi1991@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-2295-7167; SPIN-код: 9435-7794

**Буре Ирина Владимировна** – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. научно-исследовательской лаб. нейроэндокринных опухолей НЦМУ «Центр персонализированной медицины», ст. науч. сотр. отд. молекулярной медицины Научно-исследовательского института молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО. E-mail: bureira@mail.ru; ORCID: 0000-0003-2043-5848; SPIN-код: 3212-7905

**Кириенко Сергей Леонидович** – зав. отд.-нием Клиники им. проф. Ю.Н. Касаткина ФГБОУ ДПО РМАНПО. E-mail: ii\_po\_klinica\_rmapo@mail.ru

**Жмаева Елена Михайловна** – канд. мед. наук, доц. каф. радиотерапии и радиологии им. акад. А.С. Павлова ФГБОУ ДПО РМАНПО. E-mail: zhem1504@mail.ru

**Мирзаев Карин Бадавинович** – д-р мед. наук, ст. науч. сотр. научно-исследовательской лаб. нейроэндокринных опухолей НЦМУ «Центр персонализированной медицины», проректор по научной работе и инновациям ФГБОУ ДПО РМАНПО. E-mail: karin05doc@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-9307-4994; SPIN-код: 8308-7599

**Аметов Александр Сергеевич** – д-р мед. наук, проф., зав. каф. эндокринологии ФГБОУ ДПО РМАНПО. E-mail: alexander.ametov@gmail.com; ORCID: 0000-0002-7936-7619; SPIN-код: 9511-1413

**Поддубная Ирина Владимировна** – акад. РАН, д-р мед. наук, проф., проректор по лечебной работе и международному сотрудничеству, зав. каф. онкологии и паллиативной медицины им. акад. А.И. Савицкого ФГБОУ ДПО РМАНПО. E-mail: poddubnaya\_irina@inbox.ru; ORCID: 0000-0002-0995-1801; SPIN-код: 1146-9889

**Olga V. Konenkova** – Resident, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education. E-mail: konenkova.olia@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-4789-2718

**Sergey A. Ryzhkin** – D. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Russian Medical Academy of Continuous Professional Education. E-mail: rsa777@inbox.ru; ORCID: 0000-0003-2595-353X; SPIN code: 5955-5712

**Dmitriy V. Ivashchenko** – D. Sci. (Med.), Centre for Personalized Medicine, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education. E-mail: dvi1991@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-2295-7167; SPIN code: 9435-7794

**Irina V. Bure** – Cand. Sci. (Biol.), Centre for Personalized Medicine, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education. E-mail: bureira@mail.ru; ORCID: 0000-0003-2043-5848; SPIN code: 3212-7905

**Sergey L. Kirienko** – Department Pead, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education. E-mail: ii\_po\_klinica\_rmapo@mail.ru

**Elena M. Zhmaeva** – Cand. Sci. (Med.), Russian Medical Academy of Continuous Professional Education. E-mail: zhem1504@mail.ru

**Karin B. Mirzaev** – D. Sci. (Med.), Centre for Personalized Medicine, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education. E-mail: karin05doc@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-9307-4994; SPIN code: 8308-7599

**Alexander S. Ametov** – D. Sci. (Med.), Prof., Russian Medical Academy of Continuous Professional Education. E-mail: alexander.ametov@gmail.com; ORCID: 0000-0002-7936-7619; SPIN code: 9511-1413

**Irina V. Poddubnaya** – D. Sci. (Med.), Prof., Acad. RAS, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education. E-mail: poddubnaya\_irina@inbox.ru; ORCID: 0000-0002-0995-1801; SPIN code: 1146-9889

## Введение

В настоящее время радиоизотопы йода широко используются в ядерной медицине и при терапии различных заболеваний щитовидной железы. Радиойодтерапия возможна благодаря способности клеток щитовидной железы избирательно поглощать йод, при этом концентрация радиоактивного изотопа  $^{131}\text{I}$  в щитовидной железе оказывается во много раз больше концентрации в крови. В основе такого распределения лежит механизм активного транспорта  $^{131}\text{I}$  из крови в фолликулярный эпителий щитовидной железы посредством Na-I-симпортера, который представляет собой мембранный гликопротеин [1].

Согласно Клиническим рекомендациям Минздрава России 2020 г. показанием для проведения радиойодтерапии является принадлежность пациента к группе промежуточного или высокого риска, которая определяется на основании клинико-диагностических данных и послеоперационного патоморфологического исследования опухолевой ткани щитовидной железы. Обязательным условием для проведения терапии радиоактивным йодом  $^{131}\text{I}$  является выполнение тиреоидэктомии [2]. Радиойодтерапия позволяет уничтожить остатки тиреоидной ткани и накапливающие радиоактивный йод вероятные резидуальные опухолевые очаги, позитивно влияет на метастазы дифференцированного рака щитовидной железы, снижая риск развития рецидива и улучшая отдаленные результаты терапии.

Механизм терапевтического действия лучевой терапии основан на провоцировании двуцепочечных разрывов ДНК. Клетки могут активировать сложную сигнальную систему по восстановлению ДНК в ответ на повреждение [3, 4]. Одним из ключевых сенсоров данной сигнальной системы является серин/треониновая протеинкиназа ATM [5]. Другим механизмом, который может участвовать в восстановлении ДНК при двуцепочечных разрывах, является транскрипционный фактор (NF- $\kappa$ B) – универсальный фактор транскрипции, контролирующей экспрессию генов иммунного ответа, апоптоза и клеточного цикла [6].

Особое значение в развитии и прогрессировании канцерогенеза играет аутофагия – лизосомально-опосредованный путь клеточной деградации с рециркуляцией внутриклеточных компонентов для поддержания метаболизма и выживания [7]. Процессы аутофагии являются значимыми для восстановления ДНК в ответ на повреждение, регулируя некоторые белки, задействованные в каскаде восстановления после повреждения ДНК, поддерживая баланс между их синтезом, стабилизацией и деградацией [8, 9]. С другой стороны, определенные молекулы сигнальной системы по восстановлению ДНК в ответ на повреждение играют решающую роль в иницировании аутофагии [9].

В ряде исследований продемонстрировано, что аутофагия при онкологических заболеваниях может выступать как супрессором, так и индуктором роста опухоли [10, 11]. Регуляторами процессов аутофагии выступает семейство генов ATG [12]. Перспективными для исследования являются ATG10 и ATG16L2, кодирующие белки, участвующие в формировании аутофагосом и экспрессирующиеся при различных онкологических заболеваниях, включая рак легкого, колоректальный рак, рак поджелудочной железы [13–16].

Таким образом, изучение полиморфизмов генов NFKB1, ATM, ATG16L2 и ATG10, продукты которых задействованы в процессах восстановления ДНК в ответ на повреждение и при аутофагии, является актуальным для понимания развития резистентности к радиойодтерапии у больных раком щитовидной железы.

Таблица 1. Характеристика пациентов, включенных в исследование Table 1. Characteristics of patients included in the study	
Параметры	Значение
<i>Госпитализация, абс. (%)</i>	
Первично	157 (86,7)
Повторно	24 (13,3)
<i>Данные гистологического исследования, абс. (%)</i>	
Папиллярный рак	175 (96,7)
Фолликулярный рак	5 (2,7)
Низкодифференцированный рак	1 (0,6)
<i>Стадия, абс. (%)</i>	
I	87 (48,1)
II	64 (35,4)
III	20 (11)
IV	10 (5,5)
<i>Резистентность, абс. (%)</i>	
Есть	11 (6,1)
Нет	170 (93,9)
Активность $^{131}\text{I}$ (ГБк), среднее $\pm$ SD	3,28 $\pm$ 1,00

## Материалы и методы

### Пациенты

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ДПО РМАНПО от 9 февраля 2021 г.

В исследование включен 181 пациент, среди них 37 (20,4%) мужчин и 144 (79,6%) женщины, поступивших в отделение радиологии Клиники имени профессора Ю.Н. Касакина ФГБОУ ДПО РМАНПО с апреля по декабрь 2021 г. Медиана возраста пациентов на момент включения в исследование составила 56 лет [41; 66,3]. Наиболее часто в группе исследуемых согласно гистологическому заключению диагностирован папиллярный рак щитовидной железы – 175 (96,7%) пациентов. У подавляющего большинства пациентов выборки обнаруживалась I (87 пациентов, 48,1%) и II (64 пациента, 35,4%) стадии онкологического процесса (табл. 1). За исследуемый период число госпитализаций составило 184 случая; 3 пациента получили лечение  $^{131}\text{I}$  за исследуемый период дважды.

Критерии включения в исследование: мужчины и женщины старше 18 лет, подписанное информированное добровольное согласие на участие в исследовании, наличие гистологически подтвержденного рака щитовидной железы у пациентов после тиреоидэктомии, наличие показаний к проведению радиойодтерапии, отмена левотироксина натрия за 4 нед до процедуры, 2-недельная диета с низким содержанием йода, тиреотропный гормон крови  $>30$  мЕд/л.

Критерии невключения в исследование: отказ подписать информированное согласие на участие в исследовании, наличие тяжелых сопутствующих заболеваний, в том числе инфекционных в острой стадии, хронических заболеваний в стадии обострения, печеночной и почечной недостаточности, когнитивных и психических расстройств, беременность и лактация.

Критерии исключения: добровольный отказ пациента от участия в программе, развитие тяжелых побочных реакций или тяжелых заболеваний/состояний, не связанных с лечением, требующих прекращения терапии/госпитализации в стационар другого профиля, развитие в процессе лечения состояний, ассоциирующихся с критериями исключения, которых не отмечено на момент включения в исследование.

## Информация об авторах / Information about the authors

Сычев Дмитрий Алексеевич – акад. РАН, д-р мед. наук, проф., ректор, зав. каф. клинической фармакологии и терапии им. акад. Б.Е. Вотчала ФГБОУ ДПО РМАНПО. E-mail: dmitry.alex.sychev@gmail.com; ORCID: 0000-0002-4496-3680; SPIN-код: 4525-7556

Dmitry A. Sychev – D. Sci. (Med.), Prof., Acad. RAS, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education. E-mail: dmitry.alex.sychev@gmail.com; ORCID: 0000-0002-4496-3680; SPIN code: 4525-7556

Таблица 2. Частота встречаемости аллелей и генотипов у больных раком щитовидной железы  
Table 2. Frequency of alleles and genotypes in patients with thyroid cancer

Генетические полиморфизмы	Частота полиморфного аллельного варианта, %	Гомозиготные носители полиморфного аллельного варианта, абс. (%)	Гетерозиготные носители, абс. (%)
<i>NFKB1</i> rs230493, A>T	62,7	71 (39,2)	85 (46,9)
<i>ATM</i> rs11212570, G>A	10,5	1 (0,5)	36 (19,9)
<i>ATG10</i> rs10514231, C>T	69,3	90 (49,7)	71 (39,2)
<i>ATG10</i> rs1864183, C>T	52,7	55 (30,4)	81 (44,8)
<i>ATG10</i> rs4703533, C>G	41,9	35 (19,3)	82 (45,3)
<i>ATG16L2</i> rs10898880, C>A	57,1	64 (35,4)	79 (43,6)

Всем пациентам проводилось клиническое обследование: сбор анамнеза, клинический осмотр, ультразвуковое исследование мягких тканей шеи, компьютерная томография (КТ) органов грудной клетки без внутривенного контрастирования, анализ лабораторных данных (включая уровни тиреотропного гормона, тиреоглобулина, антител к тиреоглобулину).

Всем пациентам до начала радиойодтерапии производился забор крови для фармакогенетического исследования на базе НИИ молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО.

С целью определения остаточной тироидной ткани всем пациентам на 3–5-е сутки после радиойодтерапии проводилась планарная сцинтиграфия для оценки распределения <sup>131</sup>I. При неоднозначности трактовки результатов планарная сцинтиграфия дополнялась однофотонной эмиссионной томографией-КТ. Исследования проводились на однофотонных эмиссионных томографах Siemens Symbia (Германия), GE Hawkey 4 (Голландия).

Стационарное лечение и обследование проводилось в Клинике имени профессора Ю.Н. Касаткина ФГБОУ ДПО РМАНПО. Лечение осуществлялось в «закрытом» радиационном режиме. Радиофармпрепарат натрия йодид-131 физиологический раствор пациенты получали на 2-е сутки госпитализации внутрь после приема антацидного препарата (согласно расчетной активности). На 3–5-е сутки стационарного лечения выполняли посттерапевтическое радиоизотопное исследование (планарная сцинтиграфия всего тела).

При наличии одного или нескольких из следующих признаков клиническая ситуация трактовалась как резистентность пациента к дифференцированному раку щитовидной железы к терапии радиоактивным йодом:

- один (или более) очаг высокодифференцированного рака щитовидной железы, не подлежащий хирургическому удалению и визуализируемый на (и/или) КТ/магнитно-резонансной томографии/позитронной эмиссионной томографии с F-дезоксиглюкозой, не накапливающий терапевтическую активность радиоактивного йода при условии адекватно выполненной радиойодтерапии и пост-лечебной сцинтиграфии всего тела, с использованием однофотонной эмиссионной томографии, сопряженной с КТ;
- доказанное согласно системе RECIST 1.1 прогрессирование опухолевого процесса через ≤12 мес на фоне радиойодтерапии активностями не менее 3,7 Гбк (100 мКи) при условии успешно аблацированного тиреоидного остатка;
- отсутствие регрессии очагов опухоли при суммарной лечебной активности радиоактивного йода более 22 Гбк (600 мКи) [17].

### Выделение ДНК, генотипирование

Биологическим материалом для экстракции геномной ДНК являлось 4–6 мл венозной крови, забор которой осуществлялся из локтевой вены в вакуумную пробирку VACUETTE® (GreinerBio-One, Австрия), содержащую

ЭДТА-К2 или ЭДТА-К3. Образцы хранились при -80°C вплоть до момента экстракции ДНК.

Выделение геномной ДНК из образцов цельной крови осуществлялось с помощью набора реагентов S-Сорб для выделения ДНК на кремниевом сорбенте (ООО «Синтол», Россия). Концентрация экстрагированной ДНК определялась с помощью спектрофотометра для микрообъемов NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, NY, USA).

Определение носительства однонуклеотидных полиморфизмов A>T гена *NFKB1* (rs230493), G>A *ATM* (rs11212570), C>A гена *ATG16L2* (rs10898880) и C>T rs10514231, C>T rs1864183, C>G rs4703533 гена *ATG10* проводилось методом аллель-специфической полимеразной цепной реакции в режиме реального времени на приборе CFX96 Touch Real Time System с ПО CFX Manager версии 3.0 (BioRad, США) с использованием коммерческого набора TaqMan® SNP Genotyping Assays и TaqMan Universal Master Mix II, no UNG (Applied Biosystems, США). Согласно инструкции производителя применялся TaqMan® SNP Genotyping Assays 0,5 мкл в 40-кратном разведении в 10 мкл TaqMan Universal Master Mix II, no UNG и 9,5 мкл воды, свободной от РНКаз. В каждую пробу вносились по 5 мкл ДНК исследуемых образцов. Программа амплификации включала в себя этап инкубации при 95°C в течение 10 мин, затем денатурацию при 95°C – 15 с и отжиг при 60°C – 1 мин в течение 49 циклов. Сигнал флуоресценции развивался по соответствующему каналу: FAM и VIC.

### Статистическая обработка данных

Статистическая обработка проведена при помощи программного пакета IBM SPSS Statistics 26.0.

Для оценки достоверности ассоциаций носительства полиморфных вариантов генов с резистентностью к радиойодтерапии использовался точный критерий Фишера.

Гаплотипический анализ проводился при помощи онлайн-инструмента SNPStats (<https://www.snpstats.net/start.htm>). Для определения достоверности различий между параметрами использовалась величина  $p < 0,05$ .

### Результаты

Нами определена частота встречаемости однонуклеотидных полиморфизмов генов *NFKB1*, *ATM*, *ATG16L2* и *ATG10* (табл. 2). Распределение частот генотипов по всем выбранным генам соответствовало равновесию Харди-Вайнберга,  $p > 0,05$ .

Резистентность к радиойодтерапии наблюдалась в 11 (6,1%) случаях из 181 наблюдения. Достоверных ассоциаций носительства отдельных полиморфизмов с развитием резистентности к радиойодтерапии не получено,  $p > 0,05$  (табл. 3).

При проведении анализа ассоциаций гаплотипов rs10514231-rs1864183-rs4703533 *ATG10*, а также rs1864183-rs4703533 *ATG10* и rs10514231-rs4703533 с развитием резистентности к радиойодтерапии не получено достоверных различий,  $p > 0,05$ . Анализ гаплотипов *ATG10* rs10514231-rs1864183 выявил повышенную частоту развития резистентности к радиойодтерапии у носителей гаплотипа C-C,  $p = 0,04$  (табл. 4).

### Обсуждение

В нашем исследовании изучалась роль однонуклеотидных полиморфизмов генов *NFKB1*, *ATM*, *ATG16L2* и *ATG10* в развитии резистентности к радиойодтерапии у больных раком щитовидной железы.

В ранее проведенных исследованиях данные о роли указанных генетических полиморфизмов в эффективности лучевой терапии пациентов онкологического профиля противоречивы. Так, в отношении гена *ATM* показано, что его мутация приводит к аутосомно-рецессивному заболеванию – атаксии-телеангиэктазии, которое характеризуется повышенной чувствительностью к ионизирующему излучению и неспособностью клеток восстанавливать клеточный цикл после индукции двуцепочечных разрывов ДНК. В исследовании на клеточных линиях человека показано, что ингибирование *ATM* может вызвать повышение чувствительности клеток к лучевой терапии [18, 19].

**Таблица 3. Ассоциация носительства полиморфизмов генов и резистентности к радиоiodотерапии у больных раком щитовидной железы**  
**Table 3. Association of gene polymorphism carriage and resistance to radioiodine therapy in thyroid cancer patients**

Генетические полиморфизмы/ Наличие резистентности		Генотипы				Уровень достоверности, <i>p</i>	Отношение шансов (95% доверительный интервал)
		AA		AT+TT			
<i>NFKB1</i> rs230493		абс.	%	абс.	%	0,65	0,98 (0,86–1,10)
Резистентность	Нет	23	92	147	94,2		
	Есть	2	8	9	5,8		
<i>ATM</i> rs11212570		абс.	%	абс.	%	0,70	1,03 (0,93–1,14)
Резистентность	Нет	136	94,4	34	91,9		
	Есть	8	5,6	3	8,1		
<i>ATG10</i> rs10514231		абс.	%	абс.	%	0,35	0,95 (0,82–1,11)
Резистентность	Нет	18	90	152	94,4		
	Есть	2	10	9	5,6		
<i>ATG10</i> rs1864183		абс.	%	абс.	%	0,14	0,93 (0,83–1,04)
Резистентность	Нет	40	88,9	130	95,6		
	Есть	5	11,1	6	4,4		
<i>ATG10</i> rs4703533		абс.	%	абс.	%	0,20	0,95 (0,87–1,03)
Резистентность	Нет	58	90,6	112	95,7		
	Есть	6	9,4	5	4,3		
<i>ATG16L2</i> rs10898880		абс.	%	абс.	%	1,00	1,01 (0,93–1,10)
Резистентность	Нет	36	94,7	134	93,7		
	Есть	2	5,3	9	6,3		

Участвующий в процессах апоптоза клеток NF-κβ, по данным ряда работ, усиливает процессы канцерогенеза, а также может активировать систему сигнализации ATM [20–22]. В исследовании T. Plantinga и соавт. показано, что полиморфизм rs4648068 *NF-κβ1* не ассоциирован с ответом на радиоiodотерапию, в то время как гетерозиготное носительство другого полиморфизма – *NFKBIA* rs2233406 достоверно связано с худшей чувствительностью к терапии радиоактивным йодом у больных немедулярным раком щитовидной железы и требовало использования более высокой кумулятивной дозы препарата <sup>131</sup>I для достижения клинически значимого эффекта [23]. В исследовании J. Liu и соавт. с участием 203 больных раком щитовидной железы показана связь между носительством полиморфизма *NF-κβ* rs230493 и худшей переносимостью радиоiodотерапии [24].

Результаты ряда исследований демонстрируют важную роль *ATG10* в прогрессировании онкологического процесса; в частности, в исследовании, проведенном K. Xie и соавт., показано, что у больных раком легкого носительство полиморфизмов rs10514231, rs1864182 и rs1864183 *ATG10* ассоциировано с более низкой выживаемостью и положительно коррелировало с экспрессией *ATG10* [25]. В исследовании, проведенном H. Bai и соавт., отмечено изменение статуса метилирования *ATG16L2*, что связано с прогрессированием рака легкого [26]. Не менее интересным представляется исследование, проведенное Z. Yang и соавт. (468 пациентов), где сообщается о связи между носительством полиморфизмов rs10514231, rs1864183, rs4703533 гена *ATG10* со снижением эффективности радиоiodотерапии назофарингеальной карциномы как в отношении первичной опухоли, так и лимфогенных метастазов [27]. Однако при носительстве rs10898880 гена *ATG16L2* наблюдалась обратная корреляция – обнаружен более выраженный положительный ответ как первичной опу-

**Таблица 4. Результаты гаплотипического анализа риска развития резистентности к радиоiodотерапии у больных раком щитовидной железы**  
**Table 4. Results of haplotypic analysis of the risk of resistance to radioiodine therapy in patients with thyroid cancer**

Гаплотипы <i>ATG10</i> rs10514231 – rs1864183	Частота встречаемости в общей выборке, %	Частота встречаемости в подгруппах, %		Отношение шансов (95% доверительный интервал)	Уровень достоверности, <i>p</i>
		нет резистентности	есть резистентность		
T-T	52	54	32	1,00	–
C-C	30	29	50	2,70 (1,04–6,98)	0,04
T-C	17	17	18	1,70 (0,49–5,86)	0,4
C-T	0,3	0,4	0	0,00	1

холи, так и пораженных лимфатических узлов на лучевую терапию у пациентов с назофарингеальной карциномой.

В нашем исследовании не получено данных о связи между развитием резистентности к радиоiodотерапии и носительством отдельных полиморфизмов генов *NFKB1* (rs230493), *ATM* (rs11212570), *ATG16L2* (rs10898880) и *ATG10* (rs10514231, rs1864183, rs4703533). Вероятно, это может быть обусловлено небольшим числом резистентных пациентов при недостаточном объеме выборки. Другими ограничениями нашего исследования являются ограниченное количество включенных в панель генов-кандидатов и их полиморфизмов и отсутствие исследования тканевых молекулярно-генетических маркеров (онкогенов, микро-РНК) в опухоли щитовидной железы.

В результате выполнения гаплотипического анализа выявлено, что носительство гаплотипа С-С *ATG10* rs10514231-rs1864183 негативно влияет на эффективность радиойодтерапии, достоверно чаще встречаясь в группе резистентных к радиойодтерапии пациентов. Отмечается высокая частота встречаемости данного гаплотипа в общей выборке пациентов – 30%, что может иметь прогностическую ценность для клинической практики. Таким образом, проведенный гаплотипический анализ выявил не обнаруженные при ассоциативном анализе отдельных полиморфизмов закономерности встречаемости генотипов *ATG10* у резистентных к радиойодтерапии пациентов.

### Заключение

Проведенное исследование не выявило ассоциации между носительством отдельных полиморфизмов *NFKB1* (rs230493), *ATM* (rs11212570), *ATG16L2* (rs10898880) и *ATG10* (rs10514231, rs1864183, rs4703533) и развитием резистентности к радиойодтерапии у больных раком щитовидной железы. Гаплотипический анализ показал, что носительство гаплотипа С-С *ATG10* rs10514231-rs1864183 ассоциировано с повышенным риском развития резистентности к радиойодтерапии. Требуется дальнейшие исследования на больших выборках резистентных к радиойодтерапии пациентов, в том числе с применением методов полногеномного секвенирования, для уточнения роли генетических факторов в ответе на терапию <sup>131</sup>I.

**Раскрытие интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Disclosure of interest.** The authors declare that they have no competing interests.

**Вклад авторов.** Авторы декларируют соответствие своего авторства международным критериям ICMJE. Все авто-

ры в равной степени участвовали в подготовке публикации: разработка концепции статьи, получение и анализ фактических данных, написание и редактирование текста статьи, проверка и утверждение текста статьи.

**Authors' contribution.** The authors declare the compliance of their authorship according to the international ICMJE criteria. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

**Источник финансирования.** Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение №075-15-2022-301 от 20.04.2022).

**Funding source.** This work was financially supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Agreement No. 075-15-2022-301).

**Информированное согласие на публикацию.** Пациенты подписали форму добровольного информированного согласия на публикацию медицинской информации.

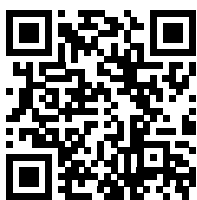
**Consent for publication.** Written consent was obtained from the patient for publication of relevant medical information and all of accompanying images within the manuscript.

**Соответствие принципам этики.** Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом ФГБОУ ДПО РМАНПО от 9 февраля 2021 г. Одобрение и процедуру проведения протокола получали по принципам Хельсинкской конвенции.

**Ethics approval.** The study was approved by the local ethics committee of Russian Medical Academy of Continuous Professional Education dated 09.02.2021. The approval and procedure for the protocol were obtained in accordance with the principles of the Helsinki Convention.

### ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Van Nostrand D. The Benefits and Risks of I-131 Therapy in Patients with Well-Differentiated Thyroid Cancer. *Thyroid*. 2009;19(12):1381-91. DOI:10.1089/thy.2009.1611
- Клинические рекомендации «Дифференцированный рак щитовидной железы» (утв. Минздравом России, 2020 г.). Режим доступа: [https://cr.minzdrav.gov.ru/recommend/329\\_1](https://cr.minzdrav.gov.ru/recommend/329_1). Ссылка активна на 16.04.2022 [Clinical recommendations: differentiated thyroid cancer (approved by the Ministry of Health of Russia, 2020). Available at: [https://cr.minzdrav.gov.ru/recommend/329\\_1](https://cr.minzdrav.gov.ru/recommend/329_1). Accessed: 16.04.2022 (in Russian)].
- Jackson S, Bartek J. The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature*. 2009;461(7267):1071-8. DOI:10.1038/nature08467
- Yan M, Tang C, Ma Z, et al. DNA damage response in nephrotoxic and ischemic kidney injury. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2016;313:104-108. DOI:10.1016/j.taap.2016.10.022
- Marechal A, Zou L. DNA Damage Sensing by the ATM and ATR Kinases. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2013;5(9):a012716. DOI:10.1101/cshperspect.a012716
- Thomasova D, Mulay SR, Bruns H, Anders HJ. p53-Independent Roles of MDM2 in NF-κB Signaling: Implications for Cancer Therapy, Wound Healing, and Autoimmune Diseases. *Neoplasia*. 2012;14(12):1097-101. DOI:10.1593/neo.121534
- Boya P, Reggiori F, Codogno P. Emerging regulation and functions of autophagy. *Nat Cell Biol*. 2013;15(7):713-20. DOI:10.1038/ncb2788
- Katayama M, Kawaguchi T, Berger M, Pieper R. DNA damaging agent-induced autophagy produces a cytoprotective adenosine triphosphate surge in malignant glioma cells. *Cell Death Differ*. 2007;14(3):548-58. DOI:10.1038/sj.cdd.4402030
- Dyavaiah M, Rooney J, Chittur S, et al. Autophagy-Dependent Regulation of the DNA Damage Response Protein Ribonucleotide Reductase 1. *Mol Cancer Res*. 2011;9(4):462-75. DOI:10.1158/1541-7786.mcr-10-0473
- Levine B, Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease. *Cell*. 2008;132(1):27-42.
- Sridhar S, Botbol Y, Macian F, Cuervo A. Autophagy and disease: always two sides to a problem. *J Pathol*. 2011;226(2):255-73. DOI:10.1002/path.3025
- Tsukada M, Ohsumi Y. Isolation and characterization of autophagy-defective mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Lett*. 1993;333(1-2):169-74. DOI:10.1016/0014-5793(93)80398-e
- Lamb C, Yoshimori T, Tooze S. The autophagosome: origins unknown, biogenesis complex. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2013;14(12):759-74. DOI:10.1038/nrm3696
- Ishibashi K, Fujita N, Kanno E, et al. Atg16L2, a novel isoform of mammalian Atg16L that is not essential for canonical autophagy despite forming an Atg12-5-16L2 complex. *Autophagy*. 2011;7(12):1500-13. DOI:10.4161/auto.712.18025
- Tang J, Wang D, Shen Y, Xue F. ATG16L2 overexpression is associated with a good prognosis in colorectal cancer. *J Gastrointest Oncol*. 2021;12(5):2192-202. DOI:10.21037/jgo-21-495
- Zhou Q, Chen X, Chen Q, et al. A Four Autophagy-Related Gene-Based Prognostic Signature for Pancreatic Cancer. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*. 2021;31(4):89-100. DOI:10.1615/critrevukaryotgeneexpr.2021038733
- Filetti S, Durante C, Hartl D, et al. Thyroid cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2019;30(12):1856-83. DOI:10.1093/annonc/mdz400
- Kastan MB, Lim DS, Kim ST, Yang D. ATM--A Key Determinant of Multiple Cellular Responses to Irradiation. *Acta Oncol (Madr)*. 2001;40(6):686-8. DOI:10.1080/02841860152619089
- Hickson I, Zhao Y, Richardson CJ, et al. Identification and Characterization of a Novel and Specific Inhibitor of the Ataxia-Telangiectasia Mutated Kinase ATM. *Cancer Res*. 2004;64(24):9152-9. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-04-2727
- Aggarwal BB, Sung B. NF-κB in Cancer: A Matter of Life and Death: Figure 1. *Cancer Discov*. 2011;1(6):469-71. DOI:10.1158/2159-8290.CD-11-0260
- Perkins ND. The diverse and complex roles of NF-κB subunits in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2012;12(2):121-32. DOI:10.1038/nrc3204
- Wu Z, Shi Y, Tibbetts R, Miyamoto S. Molecular Linkage Between the Kinase ATM and NF-κB Signaling in Response to Genotoxic Stimuli. *Science*. 2006;311(5764):1141-6. DOI:10.1126/science.1121513
- Plantinga T, Petrulea M, Oosting M, et al. Association of NF-κB polymorphisms with clinical outcome of non-medullary thyroid carcinoma. *Endocr Relat Cancer*. 2017;307-18. DOI:10.1530/erc-17-0033
- Liu J, Tang X, Shi F, et al. Genetic polymorphism contributes to 131I radiotherapy-induced toxicities in patients with differentiated thyroid cancer. *Pharmacogenomics*. 2018;19(17):1335-44. DOI:10.2217/pgs-2018-0070
- Xie K, Liang C, Li Q, et al. Role of ATG10 expression quantitative trait loci in non-small cell lung cancer survival. *Int J Cancer*. 2016;139(7):1564-73. DOI:10.1002/ijc.30205
- Bai H, He Y, Lin Y, et al. Identification of a novel differentially methylated region adjacent to ATG16L2 in lung cancer cells using methyl-CpG binding domain protein-enriched genome sequencing. *Genome*. 2021;64(5):533-46. DOI:10.1139/gen-2020-0071
- Yang Z, Liu Z. Potentially functional variants of autophagy-related genes are associated with the efficacy and toxicity of radiotherapy in patients with nasopharyngeal carcinoma. *Mol Genet Genomic Med*. 2019;7(12):e1030. DOI:10.1002/mgg3.1030



Статья поступила в редакцию /  
The article received: 15.08.2022

Статья принята к печати /  
The article approved for publication: 04.10.2022

OMNIDOCTOR.RU