

بررسی پروفایل miRNA در انواع سرطان تیروئید

● عطیه محمدی

دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیوتکنولوژی پزشکی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران



● دکتر رضا نکوئیان

استادیار، گروه بیوتکنولوژی پزشکی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران



nekouian.r@iums.ac.ir

چکیده

سرطان تیروئید که به عنوان رایج‌ترین سرطان در بین انواع سرطان‌های غدد درون ریز بدن شناخته می‌شود، شیوع رو به رشدی را طی چند دهه اخیر به همراه داشته است. از طرفی، تنها درصد کمی از موارد ابتلا با بدخیمی همراه بوده و اکثر آن‌ها جز تومورهای خوش خیم محسوب می‌شوند. لذا قدم اول جهت مدیریت صحیح این نوع سرطان، افتراق تومورهای بدخیم از خوش خیم و اتخاذ روش‌های درمانی متناسب با هر نوع از آن‌ها می‌باشد که امروزه تلاش می‌شود از نشانگرهای زیستی بدین منظور استفاده شود.

MicroRNA ها که جز تنظیم کننده‌های منفی بیان ژن در سطح پس از رونویسی محسوب می‌شوند، پروسه‌های سلولی مختلفی را از طریق هدف قرار دادن mRNA ها کنترل می‌کنند. این نوع مولکول‌های RNA غیر کد کننده در انواع مختلفی از سلول‌های سرطانی به صورت اختصاصی بیان می‌شوند که از بررسی تنظیم مثبت و یا منفی آن‌ها، می‌توان به عنوان ابزارهای پیش آگهی، تشخیصی و حتی

درمانی استفاده کرد.

در این مقاله مروری، خلاصه‌ای از اطلاعات انواع microRNA ها در انواع مختلف سرطان‌های تیروئید جمع‌آوری شده است.

کلمات کلیدی: سرطان تیروئید، میکرو RNA، نشانگرهای زیستی سرطانی، تشخیص مولکولی

مقدمه

سرطان تیروئید^۱ به عنوان شایع‌ترین بدخیمی دستگاه درون ریز بدن^۲ شناخته می‌شود به طوری که در ایران، ۷۶/۱٪ از انواع سرطان‌های غدد درون ریز را به خود اختصاص داده است [۱]. براساس گزارش‌ها، سرطان تیروئید در ایران هفتمین سرطان شایع در بین زنان و چهاردهمین سرطان شایع در بین مردان می‌باشد [۲] و به دلایل نامعلومی نرخ ابتلای زنان حدوداً دو برابر مردان بوده که از دلایل احتمالی آن می‌توان به هورمون‌هایی که در بدن زنان ترشح می‌شود، اشاره کرد [۳]. در سه دهه اخیر،

1- Thyroid Cancer

2- Endocrine System

شیوع ابتلا به سرطان تیروئید به حدود ۳ برابر رسیده است که این افزایش براساس جنسیت، سن و منطقه جغرافیایی متفاوت است [۴].

غده تیروئید شامل دو نوع اصلی سلول‌هاست: سلول‌های فولیکولی و سلول‌های پارافولیکولی (سلول‌های C). از نظر هیستولوژی، سرطان‌های تیروئید می‌توانند از هر کدام از این نوع سلول‌ها مشتق شوند که دانستن منشأ سلولی مهم است، زیرا در خوش خیم یا بدخیم بودن تومور تاثیرگذار است، به طوری که بیشتر بدخیمی‌ها از سلول‌های فولیکولی منشأ می‌گیرند. به طور کلی انواع بدخیمی‌های سرطان تیروئید به چهار گروه اصلی تقسیم می‌شوند: (۱) سرطان پاپیلاری تیروئید^۳ (PTC)، (۲) سرطان فولیکولار تیروئید^۴ (FTC)، (۳) سرطان آناپلاستیک تیروئید^۵ (ATC)، (۴) سرطان مدولاری تیروئید^۶ (MTC). از بین موارد فوق، PTC و FTC و ATC از سلول‌های فولیکولی و MTC از سلول‌های پارافولیکولی منشأ می‌گیرد [۵].

MicroRNA (miRNAs) □

حدود ۳۰ سال پیش هنگامی که microRNA ها برای اولین بار شناسایی شدند، در ابتدا تصور می‌شد که دسته‌ای از ژن‌های کدکننده پروتئین^۷ هستند در حالی که پژوهش‌های بعدی نشان داد که آن‌ها دسته‌ای از انواع

RNA های غیر کد کننده^۸ می‌باشند که بعدها miRNA نام گرفتند [۶].

MicroRNA ها دارای طولی حدود ۱۹-۲۴ نوکلئوتید هستند و در تنظیم بیان ژن در سطح پس از رونویسی^۹ نقش دارند. تخمین زده می‌شود که microRNA ها در تنظیم حداقل نیمی از رونوشت‌های کد کننده پروتئین‌های انسانی نقش دارند [۷].

MicroRNA ها که به عنوان تنظیم گرهای منفی^{۱۰} شناخته می‌شوند، مکمل نواحی خاصی از mRNA های هدف می‌شوند که با آن‌ها هیبرید شده و باعث تجزیه آن‌ها می‌شوند و یا اینکه جلوی ترجمه را می‌گیرند. MicroRNA ها همچنین به عنوان ژن‌های سرکوبگر تومور^{۱۲} و یا انکوژن^{۱۳} نیز عمل می‌کنند [۸].

از ویژگی‌های microRNA ها اختصاصیت پروفایل بیانی آن‌ها است به طوری که دارای بیان اختصاصی در انواع مختلف سلول‌ها و بیماری‌ها هستند و به عنوان اثر انگشت اختصاصی^{۱۴} در بافت‌های سالم و ناسالم عمل می‌کنند. به دلیل اختصاصیت بیان microRNA ها در سرطان‌های مختلف، بسیاری از پژوهش‌ها microRNA ها را به عنوان بیونشانگرهای سرطانی^{۱۵} معرفی کرده‌اند. ویژگی دوم منحصر به فرد miRNA ها، طول کوتاه آن‌ها است به طوری که

- 3- Papillary Thyroid Cancer
- 4- Follicular Thyroid Cancer
- 5- Anaplastic Thyroid Cancer
- 6- Medullary Thyroid Cancer
- 7- Protein-Coding Genes
- 8- non-coding RNAs
- 9- Post-transcriptional level
- 10- Negative Regulators
- 11- Messenger RNA
- 12- Tumor Suppressor Genes
- 13- Oncogenes
- 14- Specific fingerprint
- 15- Cancer biomarkers



DGCR8، به پیش ساز^{۲۶} miRNA (Pre-miRNA) با طول ۷۰-۸۰ نوکلئوتید کوتاه می‌گردد (که طی آن بخش سنجاق سری^{۲۷} از پیش ساز طویل و بلند جدا می‌شود). سپس Pre-miRNA توسط ناقل هسته‌ای اختصاصی اکسپورتین ۵^{۲۸} به سیتوپلاسم صادر می‌گردد و در آنجا تحت عمل آنزیم Dicer (یک اندونوکلاز سیتوپلاسمی) و یک پروتئین متصل شونده به RNA دو رشته‌ای به نام TRBP قرار می‌گیرد که موجب پردازش بیشتر Pre-miRNA و تبدیل آن به یک RNA دو رشته‌ای می‌شود. یکی از رشته‌ها، رشته راهنما^{۲۹} نامیده شده که در ادامه جهت تشکیل کمپلکس RISC^{۳۰} انتخاب و رشته دیگر، رشته مسافر^{۳۱} نامیده شده که تجزیه می‌گردد. کمپلکس RISC، حاوی یک miRNA بالغ تک رشته‌ای متصل به یک پروتئین چند دومینی به نام آرگوناس است که در ادامه به انتهای ۳' از ناحیه غیر قابل ترجمه شونده^{۳۲} mRNA هدف متصل می‌شود که این اتصال به دو شکل می‌تواند رخ دهد: حالت اول زمانی است که مکمل بودن بین miRNA و mRNA هدف آن کاملاً صحیح باشد که در این صورت mRNA هدف شکسته و تجزیه می‌شود. حالت دوم زمانی است که مکمل بودن نسبی باشد که در این صورت موجب مهار بیان mRNA هدف می‌شود (جلوی فرآیند ترجمه^{۳۳} را می‌گیرد) [۱۴].

عموماً از ۲۴ نوکلئوتید تجاوز نکرده در نتیجه آن‌ها را در برابر آنزیم‌های اندونوکلویتیک^{۱۶} مقاوم می‌سازد. MicroRNA ها در نمونه‌های بیولوژیک متنوعی از جمله خون، سرم، بافت‌های تازه^{۱۷} و بافت‌های فرمالین فیکس شده در پارافین^{۱۸} قابل شناسایی هستند [۹-۱۱]. اهمیت microRNA ها به دلیل شرکت کردن در فرآیندهای فیزیولوژیک پایه‌ای از جمله رشد، تکثیر سلولی، تمایز سلولی، متابولیسم و مرگ برنامه ریزی شده سلول (آپوپتوز) می‌باشد [۱۲]. تحقیقات همچنین نشان داده‌اند که microRNA ها می‌توانند به عنوان نشانگرهای زیستی^{۱۹} در حیطه‌های پیش آگهی^{۲۰} و تشخیص^{۲۱} در بیماری‌های مختلفی از جمله انواع سرطان‌ها، اختلالات عصب شناختی^{۲۲}، بیماری‌های قلبی عروقی و همچنین دیابت نوع ۲ استفاده شوند [۱۳].

مراحل ساخت^{۲۳} یک miRNA بالغ (طبق شکل ۱):
در ابتدا، آنزیم RNA Pol II ژن‌های miRNA را در هسته سلول رونویسی^{۲۴} می‌کند و رونوشت اولیه^{۲۵} miRNA (Pri-miRNA) که یک RNA بزرگ با طول متغیر است، ایجاد می‌شود. سپس Pri-miRNA توسط آنزیم Drosha (یک اندونوکلاز هسته‌ای) و یک پروتئین متصل شونده به RNA دو رشته‌ای به نام

- 16- Endo nucleolytic
- 17- Fresh Samples
- 18- Formalin-fixed paraffin embedded (FFPE) Samples
- 19- Biomarker
- 20- Prognosis
- 21- Diagnosis
- 22- Neurological Disorders
- 23- Biogenesis
- 24- Transcription
- 25- Primary miRNA
- 26- Precursor RNA
- 27- Hairpin
- 28- Exportin-5
- 29- Guide Strand
- 30- RNA Induced Silencing Complex
- 31- Passenger Strand
- 32- Untranslated Region (UTR)
- 33- Translation

انواع microRNA های گزارش شده در انواع سرطان های تیروئید

پژوهش های زیادی در حال انجام هستند که از microRNA ها به عنوان ابزارهای قدرتمندی در پیش آگهی، تشخیص و درمان سرطان های تیروئید استفاده می کنند. پروفایل بیانی microRNA ها، تغییر پذیری^{۳۴} چشم گیری را در بین انواع مختلف سرطان های تیروئیدی حتی آن هایی که از یک منشأ سلولی نشأت گرفته اند، نشان می دهد. به عنوان مثال نوع MTC که از سلول های C منشأ می گیرد، بیان microRNA کاملاً متفاوتی نسبت به آن هایی که از سلول های فولیکولار منشأ می گیرند، دارد [۱۵].

از آنجایی که PTC فراوان ترین نوع سرطان های تیروئیدی محسوب می شود، بیشتر پژوهش ها در حیطه بررسی پروفایل بیانی microRNA ها، بر روی رده های سلولی PTC و نمونه های بیماران آن انجام شده است [۱۶]. براساس مطالعه ای که در سال ۲۰۱۶ انجام شده، نشان داده است که میزان بیان miRNA 146-b در سرطان PTC تا ۲۸/۹ برابر افزایش یافته است [۱۷]. علاوه بر آن، پژوهش های بسیار دیگری نیز نشان داده اند که بیان miRNA 146-b در PTC دچار تنظیم مثبت^{۳۵} می شود [۱۸-۲۰]. بررسی های دیگری ثابت کرده اند که بیان miRNA 146-b در نمونه هایی که دچار متاستاز به گره لنفاوی^{۳۶} شده اند، به میزان زیادی افزایش یافته است [۲۱]. Acibucu و همکاران و Yip و همکاران نشان داده اند که بیان miRNA 221 و miRNA 222 در نمونه های PTC

در مقایسه با نمونه های سالم تیروئیدی دچار تنظیم مثبت شده و همچنین همراه با افزایش ریسک عود تومور^{۳۷} همراه می باشند. بنابراین، هر چه میزان بیان miRNA 146-b، miRNA 221 و miRNA 222 بیشتر باشد، ریسک عود مجدد تومور نیز بیشتر می شود. به علاوه این که ارتباط معناداری میان تنظیم مثبت این سه نوع miRNA و بدخیمی تومور^{۳۸} نیز مشاهده شده است [۲۲،۲۳].

در PTC بیان miRNA 204 در مقایسه با بافت های نرمال تیروئیدی دچار تنظیم منفی^{۳۹} می شود [۱۶]. miRNA 204 که به عنوان miRNA سرکوب کننده تومور شناسایی می شود، در سرطان های کلیه، رحم و پستان نیز دچار تنظیم منفی می شود [۲۴،۲۵].

در مورد نوع FTC، ثابت شده است که میزان بیان miRNA 146-b، miRNA 221، miRNA 222 و (همانند PTC) miRNA 183 تنظیم مثبت و miRNA 199-b دچار تنظیم منفی می شود [۲۶].

ATC جز تومورهای بسیار بدخیم محسوب می شود. بررسی پروفایل بیانی miRNA های مرتبط با آن نشان می دهد که miRNA 30d، miRNA 125-b، miRNA 26-a، miRNA 30a-5p و miRNA 30a-5p دچار تنظیم منفی می شوند. همانند PTC و FTC، مطالعات نشان داده اند که در ATC نیز شاهد تنظیم مثبت بیان miRNA 222 هستیم [۲۷،۲۸]. ارتباط معناداری میان تنظیم منفی miRNA 30a و miRNA 200 در ATC با افزایش بدخیمی تومور و میزان مرگ و میر دیده شده است [۲۹].

در مورد بیماران مبتلا به MTC، Pennelli و همکاران

34- variability

35- Upregulated

36- Lymph node metastasis

37- Recurrence

38- Tumor aggression

39- Downregulation





که امکان تشخیص تومورهای خوش خیم از بدخیم را با اختصاصیت^{۴۵} و حساسیت^{۴۶} بالایی گزارش کنند، وجود دارد که امروزه تلاش می‌شود که از microRNA ها بدین منظور استفاده شود [۳۳،۳۴].

Nikiforova و همکاران بررسی پروفایل بیانی مجموعه‌ای از microRNA ها را پیشنهاد داده‌اند که شامل microRNA 146-b، microRNA 155، microRNA 187، microRNA 197، microRNA 221، microRNA 222 و microRNA 224 می‌باشد. نویسندگان ادعا می‌کنند که اگر یکی از microRNA های انتخاب شده به اندازه دو برابر تنظیم مثبت شود، حساسیت تشخیص سرطان ۱۰۰٪ و اختصاصیت به ۹۴٪ می‌رسد و هنگامی که سه تا microRNA و یا بیشتر تنظیم مثبت شوند، حساسیت تشخیص سرطان ۸۸٪ و اختصاصیت ۱۰۰٪ گزارش می‌شود [۳۵].

در نتیجه، امروزه سعی می‌شود که از پتانسیل بالای microRNA ها در زمینه‌های مختلف پیش آگهی، تشخیص و درمان بیماری‌ها از جمله سرطان تیروئید استفاده شود به طوری که از بررسی مجموعه‌ای از آن‌ها بتوان با اختصاصیت و حساسیت بالایی به عنوان نشانگرهای زیستی سرطانی بهره برد که به عنوان ابزارهای غیر تهاجمی^{۴۷} تشخیص‌های مولکولی^{۴۸} محسوب می‌شوند.

نشان دادند که افزایش بیان miRNA 224 می‌تواند به عنوان یک نشانگر پیش آگهی دهنده مفید عمل کند [۳۰]. گروهی دیگر نشان دادند که میزان بیان miRNA 200b و miRNA 200c در بیماران مبتلا به MTC که دچار متاستاز شدند، به طور چشم گیری دچار تنظیم منفی می‌شود [۳۱]. Hudson و همکاران گزارش کردند که میزان بیان miRNA 10-a و miRNA 375 در MTC دچار تنظیم مثبت می‌شوند [۳۲].

□ microRNA ها به عنوان ابزارهای تشخیصی در سرطان تیروئید

ندول های تیروئیدی^{۴۰} شایع ترین بیماری تیروئیدی هستند و تخمین زده می‌شود حدود ۵۰٪ جمعیت دارای ندول های تیروئیدی قابل تشخیص توسط اولتراسونوگرافی هستند. با این حال، تنها ۵٪ ندول های تیروئیدی بدخیم^{۴۱} هستند. بنابراین تشخیص ندول های خوش خیم^{۴۲} از بدخیم بسیار حائز اهمیت می‌باشد. روش های سنتی تشخیصی مانند نمونه برداری^{۴۳} FNA و آزمایش های سیتولوژیکی^{۴۴} همیشه در افتراق بین تومورهای خوش خیم و بدخیم به درستی عمل نمی‌کنند به طوری که تقریباً ۲۰٪ نتایج، نامشخص گزارش می‌شوند. بنابراین نیاز به روش های تشخیصی جدید

- 40- Thyroid Nodules
- 41- Malignant
- 42- Benign
- 43- Fine-needle aspiration (FNA) biopsy
- 44- Cytological Examinations
- 45- Specificity
- 46- Sensitivity
- 47- Non-invasive
- 48- Molecular Diagnostic



جدول ۱: خلاصه‌ای از miRNA های ذکر شده در متن که در انواع مختلف سرطان تیروئید دچار بی نظمی می‌شوند

منبع	miRNA های تنظیم منفی شده	miRNA های تنظیم مثبت شده	نوع سرطان تیروئید
[16, 18-20, 22, 23]	miRNA 204	miRNA 146-b miRNA 221 miRNA 222	PTC
[26]	miRNA 199-b	miRNA 146-b miRNA 221 miRNA 222 miRNA 183	FTC
[27-29]	miRNA 26-a miRNA 125-b miRNA 30d miRNA 30-a-5b	miRNA 222	ATC
[30-32]	miRNA 200-b miRNA 200-c	miRNA 375 miRNA 224 miRNA 10-a	MTC

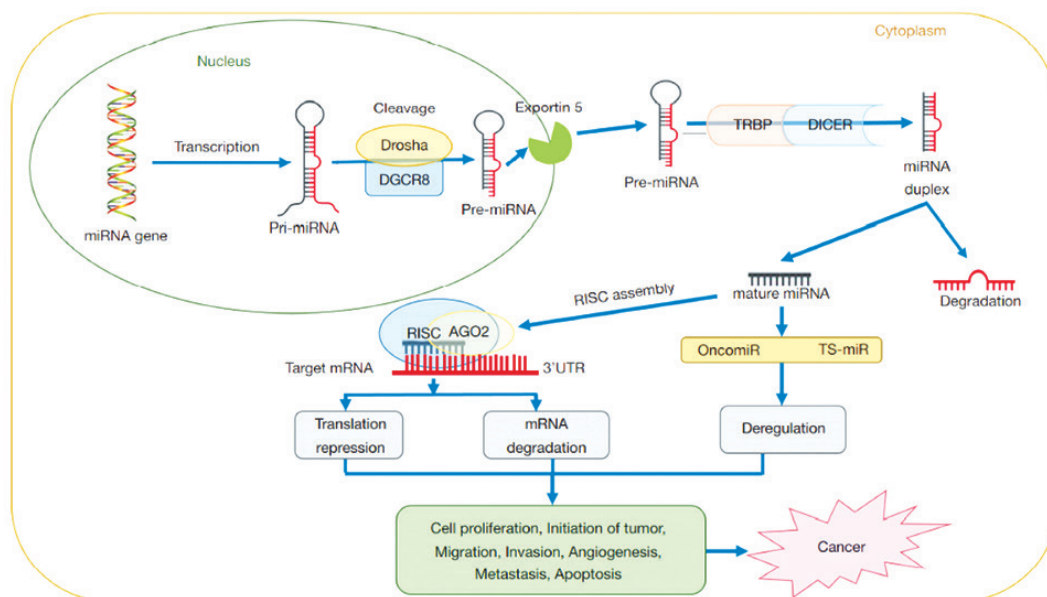


Figure 1 Biogenesis of microRNAs and their implication in the occurrence of cancer.

شکل ۱: مراحل ساخت miRNA ها [۱۴]



References:

- 1- Hajizadeh, N., M. A. Pourhoseingholi, and A. Baghestani, Incidence rate of thyroid cancer in Iranian population, trend analysis from 2003 to 2009. *International Journal of Epidemiologic Research*, 2015. 2(1): p. 12-17.
- 2- TAGHAVI, K.H., et al., A comprehensive study on national and sub national trend in thyroid cancer prevalence in the Iranian population, 1990–2010. 2016.
- 3- Caron, N., et al., Selective modified radical neck dissection for papillary thyroid cancer—is level I, II and V dissection always necessary? *World journal of surgery*, 2006. 30(5): p. 833-840.
- 4- Pellegriti, G., et al., Worldwide increasing incidence of thyroid cancer: update on epidemiology and risk factors. *Journal of cancer epidemiology*, 2013. 2013.
- 5- Farrag, T.Y., et al., Importance of routine evaluation of the thyroid gland prior to open partial laryngectomy. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*, 2006. 132(10): p. 1047-1051.
- 6- Hammond, S.M., An overview of microRNAs. *Advanced drug delivery reviews*, 2015. 87: p. 3-14.
- 7- Krol, J., I. Loedige, and W. Filipowicz, The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. *Nature Reviews Genetics*, 2010. 11(9): p. 597-610.
- 8- Nielsen, C.B., et al., Determinants of targeting by endogenous and exogenous microRNAs and siRNAs. *Rna*, 2007. 13(11): p. 1894-1910.
- 9- Sood, P., et al., Cell-type-specific signatures of microRNAs on target mRNA expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2006. 103(8): p. 2746-2751.
- 10- Lu, J., et al., MicroRNA expression profiles classify human cancers. *nature*, 2005. 435(7043): p. 834-838.
- 11- Zen, K. and C.Y. Zhang, Circulating microRNAs: a novel class of biomarkers to diagnose and monitor human cancers. *Medicinal research reviews*, 2012. 32(2): p. 326-348.
- 12- Liu, Y., et al., A meta-analysis of circulating microRNAs in the diagnosis of papillary thyroid carcinoma. *PLoS one*, 2021. 16(5): p. e0251676.
- 13- Santiago, K., Y. Chen Wongworawat, and S. Khan, Differential MicroRNA-signatures in thyroid cancer subtypes. *Journal of oncology*, 2020. 2020.
- 14- Sharma, P.C. and A. Gupta, MicroRNAs: potential biomarkers for diagnosis and prognosis of different cancers. *Translational Cancer Research*, 2020. 9(9): p. 5798-5818.
- 15- Nikiforova, M.N., S.I. Chiose, and Y.E. Nikiforov, MicroRNA expression profiles in thyroid tumors. *Endocrine pathology*, 2009. 20(2): p. 85-91.
- 16- Swierniak, M., et al., In-depth characterization of the microRNA transcriptome in normal thyroid and papillary thyroid carcinoma. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2013. 98(8): p. E1401-E1409.
- 17- Czajka, A.A., et al., Family of microRNA-146 regulates RAR β in papillary thyroid carcinoma. *PLoS One*, 2016. 11(3): p. e0151968.
- 18- Sun, Y., et al., Expression of miRNAs in papillary thyroid carcinomas is associated with BRAF mutation and clinicopathological features in Chinese patients. *International Journal of Endocrinology*, 2013. 2013.
- 19- Chen, Y.-T., et al., MicroRNA analysis as a potential diagnostic tool for papillary thyroid carcinoma. *Modern Pathology*, 2008. 21(9): p. 1139-1146.
- 20- Chou, C.-K., et al., miR-146b is highly expressed in adult papillary thyroid carcinomas with high risk features including extrathyroidal invasion and the BRAFV600E mutation. *Thyroid*, 2010. 20(5): p. 489-494.
- 21- Ab Mutalib, N.-S., et al., Integrated microRNA, gene expression and transcription factors signature in papillary thyroid cancer with lymph node metastasis. *PeerJ*, 2016. 4: p. e2119.
- 22- Acibucu, F., et al., 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*, 2014. 122(03): p. 137-143.
- 23- Yip, L., et al., MicroRNA signature distinguishes the degree of aggressiveness of papillary thyroid carcinoma. *Annals of surgical oncology*, 2011. 18(7): p. 2035-2041.
- 24- Gowrishankar, B., et al., MicroRNA expression signatures of stage, grade, and progression in clear cell RCC. *Cancer biology & therapy*, 2014. 15(3): p. 329-341.
- 25- Lee, H., et al., MicroRNA expression profiling and Notch1 and Notch2 expression in minimal deviation adenocarcinoma of uterine cervix. *World Journal of Surgical Oncology*, 2014. 12(1): p. 1-9.
- 26- Wojtas, B., et al., Differential miRNA expression defines migration and reduced apoptosis in follicular thyroid carcinomas. *Molecular and cellular endocrinology*, 2014. 388(1-2): p. 1-9.
- 27- Visone, R., et al., Erratum: specific microRNAs are downregulated in human thyroid anaplastic carcinomas. *Oncogene*, 2016. 35(39): p. 5214-5214.
- 28- Aherne, S.T., et al., Altered expression of mir-222 and mir-25 influences diverse gene expression changes in transformed normal and anaplastic thyroid cells, and impacts on MEK and TRAIL protein expression. *International Journal of Molecular Medicine*, 2016. 38(2): p. 433-445.
- 29- Boufraqueh, M., et al., miR30a Inhibits LOX Expression and Anaplastic Thyroid Cancer Progression miR30a and LOX in Anaplastic Thyroid Cancer. *Cancer research*, 2015. 75(2): p. 367-377.
- 30- Pennelli, G., et al., The PDCD4/miR-21 pathway in medullary thyroid carcinoma. *Human pathology*, 2015. 46(1): p. 50-57.
- 31- Santarpia, L., et al., A miRNA signature associated with human metastatic medullary thyroid carcinoma. *Endocr Relat Cancer*, 2013. 20(6): p. 809-823.
- 32- Hudson, J., et al., Overexpression of miR-10a and miR-375 and downregulation of YAPI in medullary thyroid carcinoma. *Experimental and molecular pathology*, 2013. 95(1): p. 62-67.
- 33- Wójcicka, A., M. Kolanowska, and K. Jazdzewski, Mechanisms in endocrinology: microRNA in diagnostics and therapy of thyroid cancer. *European journal of endocrinology*, 2016. 174(3): p. R89-R98.
- 34- Lin, J.D., et al., Thyroid ultrasonography with fine-needle aspiration cytology for the diagnosis of thyroid cancer. *Journal of clinical ultrasound*, 1997. 25(3): p. 111-118.
- 35- Nikiforova, M.N., et al., MicroRNA expression profiling of thyroid tumors: biological significance and diagnostic utility. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2008. 93(5): p. 1600-1608.

