

Новые возможности дооперационной диагностики анапластического рака щитовидной железы

С.А. Лукьянов¹, С.В. Сергийко¹, С.Е. Титов²⁻⁴, Ю.А. Веряскина², А.М. Мудунов^{5,6}, В.З. Доброхотова^{5,6}, Е.С. Козорезова^{7,8}, С.Л. Воробьев⁷, А.В. Важенин^{1,9}, А.Ф. Романчишен¹⁰, К.В. Вабалайте¹⁰, А.С. Вилкова⁵, Н.И. Тимофеева¹¹, Т.Е. Ильина¹

¹ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России; Россия, 454048 Челябинск, ул. Воровского, 64;

²ФГБУН «Институт молекулярной и клеточной биологии» СО РАН; Россия, 630090 Новосибирск, просп. Акад. Лаврентьева, 8/2;

³АО «Вектор-Бест»; Россия, 630117 Новосибирск, ул. Арбузова, 1/1, корп. 4;

⁴ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный университет»; Россия, 630090 Новосибирск, ул. Пирогова, 1

⁵ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115522 Москва, Каширское шоссе, 24;

⁶ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России; Россия, 117418 Москва, ул. Цюрипы, 3;

⁷ООО «Национальный центр клинической морфологической диагностики»; Россия, 192283 Санкт-Петербург, ул. Олеко Дундича, 8, корп. 2;

⁸Институт молекулярной патологии и патоморфологии ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины»; Россия, 630060 Новосибирск, ул. Тимакова, 2;

⁹ГБУЗ «Челябинский областной клинический центр онкологии и ядерной медицины»; Россия, 454087 Челябинск, ул. Блюхера, 42;

¹⁰ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России; Россия, 194100 Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2;

¹¹ФГБОУ «Клиника высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова (поликлиника, стационар) Санкт-Петербургского государственного университета»; Россия, 190103 Санкт-Петербург, наб. реки Фонтанки, 154

Контакты: Сергей Анатольевич Лукьянов 11111@mail.ru

Введение. Анапластический рак щитовидной железы (АРЩЖ) – одна из наиболее агрессивных опухолей человека. Ввиду того, что медиана выживаемости составляет всего 4 мес, первоочередное значение приобретает ранняя диагностика АРЩЖ. Несмотря на наличие характерной клинической картины, изучение экспрессии различных микроРНК при АРЩЖ может помочь ускорить дооперационную диагностику и выявить потенциальных предшественников АРЩЖ среди дифференцированных форм рака и иных неоплазий щитовидной железы.

Цель исследования – выявить специфические микроРНК в клетках АРЩЖ, достоверно отличающие его от других форм новообразований щитовидной железы.

Материалы и методы. Проведен анализ экспрессии 14 микроРНК в гистологических образцах 67 пациентов с АРЩЖ. Контролем служили образцы 25 пациентов с доброкачественными узлами, 36 – с фолликулярными аденомами, 32 – с фолликулярным раком и 152 – с папиллярным раком щитовидной железы. У 7 из 67 больных АРЩЖ проведено сопоставление уровня экспрессии микроРНК в гистологических и цитологических препаратах.

Результаты. По сравнению с контрольными образцами у больных АРЩЖ зарегистрировано статистически значимое снижение экспрессии miR-145, miR-125b и повышение экспрессии miR-155, miR-21. Надежным диагностическим маркером АРЩЖ оказался относительный уровень экспрессии miR-21 (при отсечке 14,9 чувствительность 0,955, специфичность 0,837) и соотношение уровней экспрессии miR-21/miR-145 (при отсечке 122 чувствительность 0,955, специфичность 0,955). Использование miR-21 и соотношения miR-21/miR-145 в качестве маркеров АРЩЖ при цитологическом исследовании дало точный результат во всех 7 (100 %) случаях.

Заключение. Определение уровня экспрессии специфических микроРНК может быть использовано в качестве надежного метода диагностики АРЩЖ. Соответствие результатов, полученных при анализе цитологических и гистологических образцов, свидетельствует о возможности применения этого метода диагностики на окрашенных цитологических препаратах.

Ключевые слова: анапластический рак щитовидной железы, микроРНК, диагностика

Для цитирования: Лукьянов С.А., Сергийко С.В., Титов С.Е. и др. Новые возможности дооперационной диагностики анапластического рака щитовидной железы. Опухоли головы и шеи 2021;11(1):34–40.

New opportunities for preoperative diagnosis of anaplastic thyroid cancer

S.A. Lukyanov¹, S.V. Sergiyko¹, S.E. Titov²⁻⁴, Yu.A. Veryaskina², A.M. Mudunov^{5, 6}, V.Z. Dobrokhotova^{5, 6}, E.S. Kozorezova^{7, 8}, S.L. Vorobyov⁷, A.V. Vazhenin^{1, 9}, A.F. Romanchishen¹⁰, K.V. Vabalaite¹⁰, A.S. Vilkova⁵, N.I. Timofeeva¹¹, T.E. Ilina¹

¹South Ural State Medical University, the Ministry of Health of Russia; 64 Vorovsky St., Chelyabinsk 454048, Russia;

²Institute of Molecular and Cellular Biology, SB RAS; 8/2 Acad. Lavrentiev Ave., Novosibirsk 630090, Russia;

³JSC "Vector-best", Bld. 4, 1/1 Arbuzov St., Novosibirsk 630117, Russia;

⁴Novosibirsk State University, 1 Pirogova St., Novosibirsk 630090, Russia;

⁵N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24, Kashirskoe Hwy, Moscow 115522, Russia;

⁶I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia; 3 Tsyurupy St., Moscow 117418, Russia;

⁷National Center for Clinical Morphological Diagnostics; Bld. 2, 8 Oleko Dundicha St., St. Petersburg 192283, Russia;

⁸Institute of Molecular Pathology and Pathomorphology, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine; 2 Timakova St., Novosibirsk 630060, Russia;

⁹Chelyabinsk Regional Clinical Center of Oncology and Nuclear Medicine; 42 Blucher St., Chelyabinsk 454087, Russia;

¹⁰St. Petersburg State Pediatric Medical University, Ministry of Health of Russia; 2 Litovskaya St., St. Petersburg 194100, Russia;

¹¹Clinic of High Medical Technologies n. a. N.I. Pirogov (Clinic, Hospital), St. Petersburg State University; 154 Fontanka River Embankment, St. Petersburg 190103, Russia

Contacts: Sergey Anatolyevich Lukyanov 111lll@mail.ru

Background. Anaplastic thyroid cancer (ATC) is one of the most aggressive human tumors. Since median survival of ATC patients is only 4 months, its early diagnosis is very important. Although ATC has specific clinical manifestations, the analysis of expression of different microRNAs can facilitate preoperative diagnostics and help to detect its potential precursors among differentiated cancers and other thyroid malignancies.

The study objective is to identify microRNAs specific for ATC that are different from microRNAs in other thyroid cancers.

Materials and methods. We analyzed the expression of 14 microRNAs in histological specimens of 67 patients with ATC. The control groups included 25 patients with benign nodules, 36 patients with follicular adenomas, 32 patients with follicular cancer, and 152 patients with papillary thyroid cancer. For 7 out of 67 ATC patients, we compared microRNA levels in histological and cytological specimens.

Results. Patients with ATC demonstrated a statistically significant decrease in the expression of miR-145, miR-125b and increase in the expression of miR-155 and miR-21 compared to all control groups. We found two reliable diagnostic markers of ATC: relative miR-21 expression (at a cutoff of 14.9, sensitivity was 0.955 and specificity was 0.837) and the miR-21/miR-145 ratio (at a cutoff of 122, sensitivity was 0.955 and specificity was 0.955). The level of miR-21 expression and miR-21/miR-145 ratio in cytological specimens were accurate in all 7 cases (100 %).

Conclusion. the level of expression of specific microRNAs can be used as a reliable biomarker for ATC. The consistency between the results obtained in cytological and histological specimens enables the use of stained cytological samples for this analysis.

Key words: anaplastic thyroid cancer, microRNA, diagnostics

For citation: Lukyanov S.A., Sergiyko S.V., Titov S.E. et al. New opportunities for preoperative diagnosis of anaplastic thyroid cancer. Opuholi golovy i shei = Head and Neck Tumors 2021;11(1):34–40. (In Russ.).

Введение

Анапластический рак щитовидной железы (АРЩЖ) составляет 0,8–2 % случаев тиреоидных карцином, однако в структуре смертности на его долю приходится 15–40 % [1–3]. АРЩЖ – одна из самых быстрорастущих опухолей человека, в результате чего у 80 % больных при ее обнаружении уже имеются отдаленные метастазы [4]. АРЩЖ характеризуется крайней агрессивностью, обусловленной быстрым ростом и высокой инвазивностью опухоли, а также ее низкой чувствительностью к большинству имеющихся в настоящее время методов лечения [5, 6]. Кроме того, плохой прогноз связан с тем, что АРЩЖ часто выявляют уже на поздних стадиях. Таким образом, ранняя и точная диаг-

ностика имеет ключевое значение для быстрого начала терапии АРЩЖ [7]. Тонкоигольная аспирационная биопсия с цитологическим исследованием является малоинвазивным, но не всегда окончательным методом диагностики АРЩЖ. Наличие обширного некроза и воспаления, а также разнообразная дифференцировка клеток определяют схожесть АРЩЖ с другими неопластическими процессами и могут значительно снизить диагностический потенциал тонкоигольной аспирационной биопсии у больных АРЩЖ, требуя дополнительного проведения толстоигольной или открытой биопсии опухоли [8]. Сложность и неоднозначность первичной диагностики АРЩЖ отражена в клинических рекомендациях Американской тиреоидологической

ассоциации, в которых рекомендуется начинать лечение, не дожидаясь результатов биопсии [3]. Все это диктует необходимость поиска новых маркеров, которые способны ускорить дооперационную диагностику АРЩЖ и выявить его потенциальных предшественников среди дифференцированных форм рака или иных фолликулярных неоплазий щитовидной железы.

В последнее время особое внимание в развитии АРЩЖ уделяется роли микроРНК. Это класс малых некодирующих РНК, которые регулируют посттранскрипционную экспрессию генов. Дерегуляция микроРНК может приводить к развитию рака щитовидной железы двумя путями: повышение их экспрессии блокирует трансляцию генов-супрессоров опухоли (в этом случае микроРНК является онкогенной) или снижение экспрессии микроРНК ослабляет трансляцию протоонкогенных мРНК (тогда микроРНК считается онкосупрессорной) [9].

Использование различных микроРНК в качестве диагностических маркеров дифференцированных форм рака щитовидной железы в настоящее время уже успешно реализовано в различных генетических панелях, таких как ThyGenX/ThyraMIR, Rosetta Reveal, mir-TNУре, «ТиреоидИНФО» [10–12]. Подобные исследования АРЩЖ остаются единичными и характеризуются малой выборкой, что обусловлено редкостью этой опухоли [13].

Цель настоящего исследования — выявить специфические микроРНК при АРЩЖ, достоверно отличающие его от других форм тиреоидных новообразований.

Материалы и методы

Проведен анализ экспрессии различных микроРНК в гистологических образцах у 67 пациентов с АРЩЖ, оперированных в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина», Клинике высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова, на базах кафедр общей и детской хирургии Южно-Уральского государственного медицинского университета и кафедры госпитальной хирургии с курсами онкологии Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета с 2014 по 2019 г. Контрольные группы составили: 25 пациентов с доброкачественными узлами (ДУ), 36 — с фолликулярными аденомами (ФА), 32 — с фолликулярным раком щитовидной железы и 152 больных папиллярным раком щитовидной железы (ПРЩЖ). Для оценки возможности диагностики АРЩЖ по окрашенным цитологическим стеклам у 7 из 67 больных дополнительно проведено сопоставление уровней микроРНК в гистологических и цитологических препаратах. Дизайн исследования был одобрен этическим комитетом Южно-Уральского государственного медицинского университета от 18.04.2019, протокол № 3. Клинические данные были получены путем анализа медицинской документации пациентов. Все гистоло-

гические препараты АРЩЖ были идентифицированы штатными врачами-патологоанатомами соответствующих учреждений кодом ICD-O 8020/3 Международной гистологической классификации опухолей щитовидной железы (4-е издание, 2017 г.). Молекулярно-генетические исследования проводились в лаборатории ПЦР АО «Вектор-Бест» (Россия) методом ПЦР в реальном времени на CFX96 (Bio-Rad Laboratories, США).

На основании данных литературы были выбраны 14 микроРНК, наиболее перспективных с нашей точки зрения при раке щитовидной железы (миР-144, миР-145, миР-146b, миР-155, миР-183, миР-199b, миР-221, миР-31, миР-375, миР-451a, миР-551b, миР-7, миР-21, миР-125b). Для каждой микроРНК отдельно проводили реакцию обратной транскрипции с последующей ПЦР в реальном времени. Нормировку содержания микроРНК проводили на геометрическое среднее содержание 3 референсных микроРНК (миР-197, миР-23a, миР-29b) с помощью метода $2^{-\Delta C_q}$. Использовалась стандартная концентрация праймеров 0,5 мкМ, концентрация флуоресцентно меченного зонда — 0,25 мкМ. Реакцию обратной транскрипции проводили в течение 15 мин при 16 °С, 15 мин при 42 °С, затем обратную транскриптазу инактивировали 2 мин при 95 °С и отбирали 3 мкл полученной смеси для ПЦР в реальном времени. Протокол ПЦР: предварительный прогрев при 95 °С 2 мин, 50 циклов: денатурация при 94 °С 10 с, отжиг праймеров и элонгация при 60 °С 20 с. Повышение экспрессии микроРНК представлено в виде абсолютных значений (указывает на кратность повышения), снижение в виде $-1/c$ (указывает на кратность снижения).

Статистический анализ проводился с использованием программы SPSS Statistics 23 (IBM, США). Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей. Все статистические анализы проводились с использованием критерия Манна–Уитни между 2 группами. Учитывая множественное сравнение (14 показателей в 4 парах групп сравнения), был введен поправочный коэффициент Бонферрони ($0,05/(14 \times 4)$). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,00089$. Анализ ROC-кривой был использован для определения оптимальных значений экспрессии микроРНК в качестве маркеров АРЩЖ.

Результаты

Уровни экспрессии 8 микроРНК имели статически значимые различия и оказались специфичны для ПРЩЖ и фолликулярного рака щитовидной железы, но не информативны для АРЩЖ. Из них в ПРЩЖ, относительно АРЩЖ, оказалась снижена экспрессия миР-144 и миР-451a и повышена экспрессия миР-551b, миР-221 и миР-375. Экспрессия миР-146b, миР-7 и миР-31 различалась при АРЩЖ и ДУ, АРЩЖ и ФА, АРЩЖ и фолликулярном раке щитовидной железы, но оказалась сопоставимой при АРЩЖ и ПРЩЖ (рис. 1).

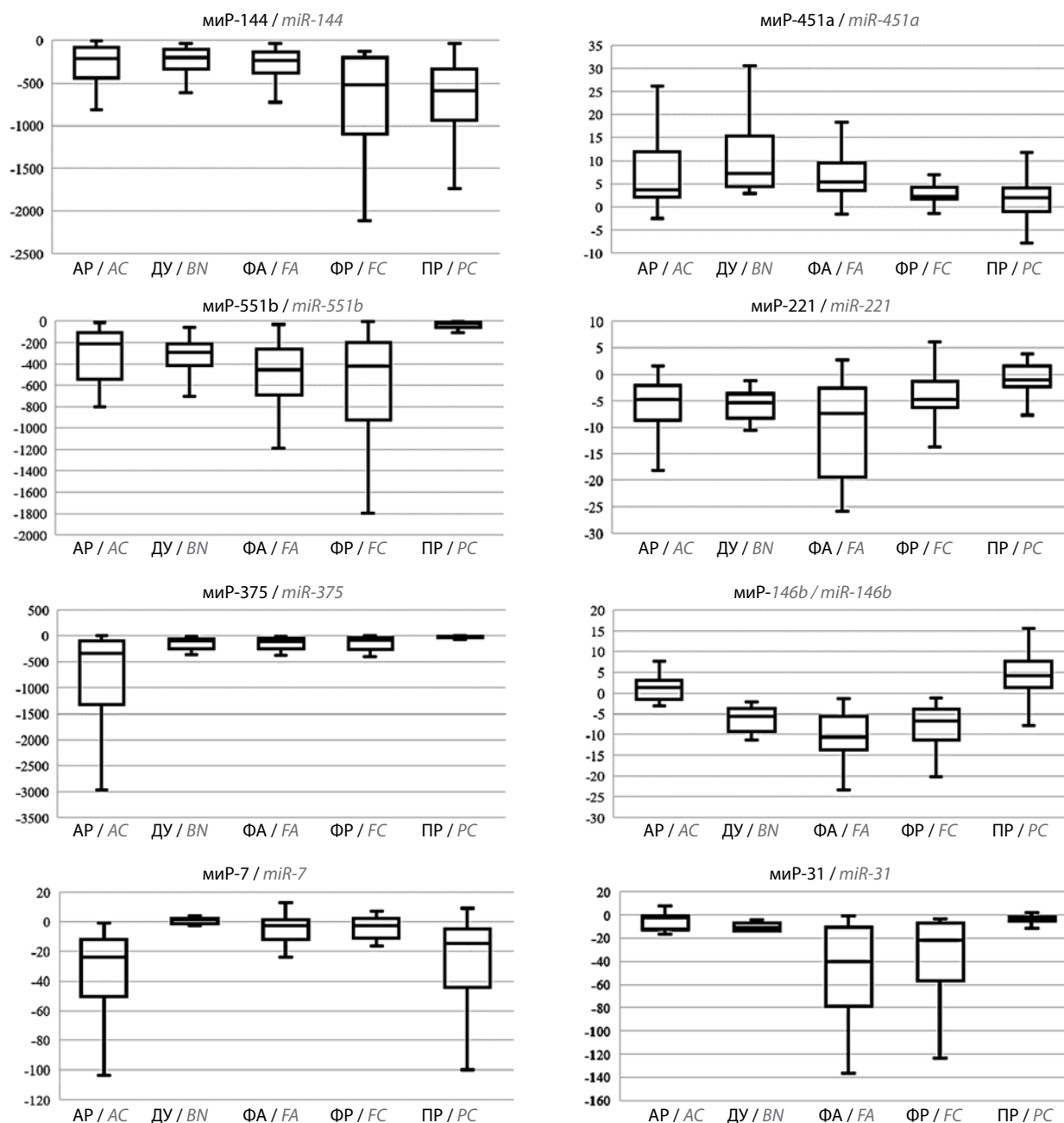


Рис. 1. Относительные уровни экспрессии микроРНК, неинформативных в качестве маркера анапластического рака (АР) щитовидной железы. ДУ – доброкачественные узлы; ФА – фолликулярные аденомы; ФР – фолликулярный рак; ПР – папиллярный рак

Fig. 1. Relative expression of microRNAs that are uninformative for anaplastic thyroid cancer (AC). BN – benign nodules; FA – follicular adenomas; FC – follicular cancer; PC – papillary cancer

Выявлены статистически значимые различия АРЩЖ одновременно от всех контрольных групп по уровню экспрессии 4 микроРНК. В АРЩЖ оказалась повышена экспрессия миР-21 и миР-155, снижена – миР-145 и миР-125b (рис. 2).

Для определения диагностической ценности каждой из этих микроРНК, а также различных их комбинаций в качестве маркера АРЩЖ был проведен ROC-анализ. Наибольшие значения площади под ROC-кривой (AUC)

были получены для миР-21 (AUC = 0,969) и комбинации миР-21/миР-145 (AUC = 0,979) (рис. 3).

При отсечке экспрессии миР-21 в 14,9 чувствительность составила 0,955, специфичность – 0,837; при отсечке соотношения миР-21/миР-145 в 122 чувствительность была равна 0,955, специфичность – 0,955.

Проведено сопоставление уровней экспрессии микроРНК в гистологических и окрашенных цитологических препаратах у 7 больных АРЩЖ. Уровни

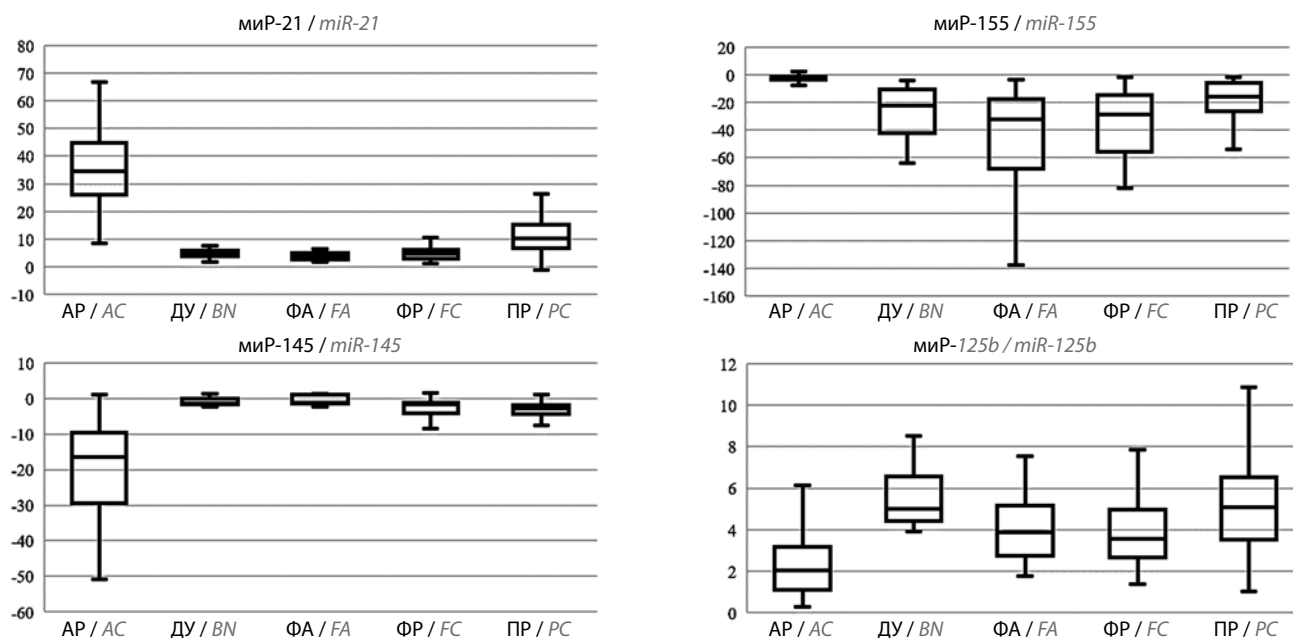


Рис. 2. Относительные уровни экспрессии микроРНК, информативных в качестве маркера анапластического рака (АР) щитовидной железы ($p < 0,00089$). ДУ – доброкачественные узлы; ФА – фолликулярные аденомы; ФР – фолликулярный рак; ПР – папиллярный рак

Fig. 2. Relative levels of microRNA expression, informative as a marker of anaplastic thyroid cancer (AC) ($p < 0,00089$). BN – benign nodules; FA – follicular adenomas; FC – follicular cancer; PC – papillary cancer

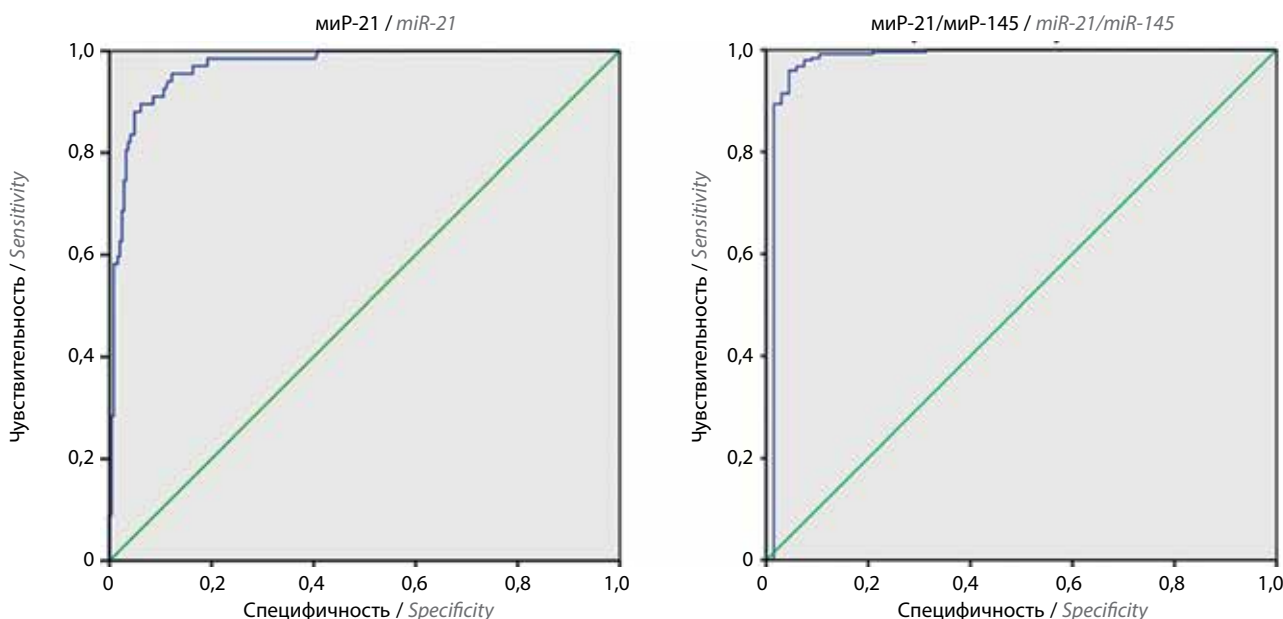


Рис. 3. ROC-анализ диагностической ценности микроРНК, специфичных для анапластического рака щитовидной железы

Fig. 3. ROC analysis of the diagnostic value of microRNAs specific for anaplastic thyroid cancer

соответствовали друг другу на 56–96 % (ME = 0,84). Использование миР-21 и соотношения миР-21/миР-145 в качестве маркера АРЩЖ в цитологических препаратах оказалось точным во всех 7 случаях (100 %).

Обсуждение

Проведенное исследование на сегодняшний день является одним из самых крупных по количеству про-

анализированных образцов (67 пациентов) АРЩЖ и может значительно дополнить уже имеющиеся данные.

В настоящее время уже установлена роль нескольких микроРНК, участвующих в развитии АРЩЖ. Часть из них deregulirovana как в дифференцированных формах рака щитовидной железы, так и в АРЩЖ (миР-7, миР-15b, миР-21, миР-26a, миР-100, миР-138, миР-144, миР-146b, миР-155, миР-181, миР-183, миР-187, миР-199a,

миР-221, миР-222, миР-224, миР-451а), другая часть — только в АРЩЖ (let-7, миР-29b, миР-30а, миР-99а, миР-125, миР-130, миР-138, миР-151, миР-195, миР-204, миР-486) [10, 14]. Из исследованных нами микроРНК миР-144, миР-183, миР-199b, миР-221, миР-31, миР-375, миР-451а и миР-551b не имели различий между АРЩЖ и доброкачественными узлами, а уровень миР-7 в АРЩЖ и ПРЩЖ не отличался, следовательно, данные микроРНК не могут быть использованы в качестве маркеров АРЩЖ. В исследовании А. Fassina и соавт. перспективным диагностическим маркером, позволяющим отличить АРЩЖ от лимфомы, оказалась миР-146b [15]. По нашим данным, экспрессия миР-146b также оказалась выше в АРЩЖ, чем в ДУ, ФА и фолликулярном раке щитовидной железы, но в еще большей степени она была выше в ПРЩЖ, и поэтому также не может служить надежным маркером анапластической карциномы от других форм тиреоидной патологии. Значительно ниже в образцах, полученных от больных АРЩЖ, чем во всех других клинических группах, оказалось содержание миР-145 и миР-125b, а повышенная экспрессия миР-155 и миР-21 у таких пациентов

делает данные микроРНК потенциальными маркерами этой опухоли. С помощью ROC-кривой были рассчитаны отсечки экспрессии данных микроРНК. Наибольшей чувствительностью и специфичностью обладают миР-21 и соотношение миР-21/миР-145. Использование данных маркеров позволяет с высокой надежностью отличить АРЩЖ от другой тиреоидной патологии. Соответствие результатов цитологических и гистологических образцов, в случае подтверждения вывода на большем количестве наблюдений, даст в будущем возможность применять этот метод диагностики уже на окрашенных цитологических препаратах.

Заключение

Определение экспрессии специфических микроРНК методом ПЦР в реальном времени может быть использовано в качестве надежного маркера АРЩЖ. Наличие в пунктате опухоли щитовидной железы молекулярно-генетических изменений, характерных для АРЩЖ, может указывать также на его потенциального предшественника среди дифференцированных форм рака и иных фолликулярных неоплазий щитовидной железы.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Noone A.M., Howlader N., Krapcho M. et al. (eds.). SEER Cancer Statistics Review, 1975–2015. Bethesda, MD. National Cancer Institute. Available from: https://seer.cancer.gov/csr/1975_2015/.
2. Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I. et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2018;68(6):394–424. DOI: 10.3322/caac.21492.
3. Smallridge R.C., Ain K.B., Asa S.L. et al. American Thyroid Association anaplastic thyroid cancer guidelines for management of patients with anaplastic thyroid cancer. *Thyroid* 2012;22(11):1104–39. DOI: 10.1089/thy.2012.0302.
4. The JAES/JSTS Task Force on the Guidelines for Thyroid Tumors Clinical Practice Guidelines on the Management of Thyroid Tumors 2018. *J JAES JSTS* 2018;35:1–87.
5. Patel K.N., Shaha A.R. Poorly differentiated and anaplastic thyroid cancer. *Cancer Control* 2006;13(2):119–28. DOI: 10.1177/107327480601300206.
6. Haymart M.R., Banerjee M., Yin H. et al. Marginal treatment benefit in anaplastic thyroid cancer. *Cancer* 2013;119(17):3133–9. DOI: 10.1002/cncr.28187.
7. Lin R.Y. Thyroid cancer stem cells. *Nat Rev Endocrinol* 2011;7(10):609–16. DOI: 10.1038/nrendo.2011.127.
8. Boerner S., Asa S.L. Biopsy interpretation of the thyroid. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2009. 276 p.
9. Nikiforova M.N., Tseng G.C., Steward D. et al. MicroRNA expression profiling of thyroid tumors: biological significance and diagnostic utility. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93(5):1600–8. DOI: 10.1210/jc.2007-2696.
10. Vargas-Salas S., Martínez J.R., Urrea S. et al. Genetic testing for indeterminate thyroid cytology: review and meta-analysis. *Endocr Relat Cancer* (2018);25(3):R163–77. DOI: 10.1530/ERC-17-0405.
11. Santos M., Buzolin A.L., Gama R.R. et al. Molecular classification of thyroid nodules with indeterminate cytology: development and validation of a highly sensitive and specific new miRNA-based classifier test using fine-needle aspiration smear slides. *Thyroid* 2018;28(12):1618–26. DOI: 10.1089/thy.2018.0254.
12. Titov S., Demenkov P.S., Lukyanov S.A. et al. Preoperative detection of malignancy in fine-needle aspiration cytology (FNAC) smears with indeterminate cytology (Bethesda III, IV) by a combined molecular classifier. *J Clin Pathol* 2020;73(11):722–7. DOI: 10.1136/jclinpath-2020-206445.
13. Santiago K., Chen Wongworawat Y., Khan S. Differential microRNA-signatures in thyroid cancer subtypes. *J Oncol* 2020;2020:2052396. DOI: 10.1155/2020/2052396.
14. Geraldo M.V., Kimura E.T. Integrated analysis of thyroid cancer public datasets reveals role of post-transcriptional regulation on tumor progression by targeting of immune system mediators. *PLoS One* 2015;10(11):e0141726. DOI: 10.1371/journal.pone.0141726.
15. Fassina A., Cappellesso R., Simonato F. et al. A 4-microRNA signature can discriminate primary lymphomas from anaplastic carcinomas in thyroid cytology smears. *Cancer Cytopathol* 2014;122(4):274–81. DOI: 10.1002/cncy.21383.

Вклад авторов

С.А. Лукьянов: разработка концепции и дизайна исследования, отбор пациентов, анализ полученных данных, редактирование, написание текста статьи, обзор публикаций;

С.В. Сергийко: разработка концепции и дизайна исследования, анализ полученных данных, редактирование, написание текста статьи;

С.Е. Титов, Ю.А. Веряскина: разработка концепции и дизайна исследования, редактирование текста статьи, проведение молекулярно-генетического тестирования;

А.М. Мудунов, В.З. Доброхотова: разработка концепции исследования, анализ полученных данных, отбор пациентов, редактирование текста статьи;

Е.С. Козорезова, С.Л. Воробьев: отбор пациентов, редактирование текста статьи, морфологическая оценка препаратов;

А.В. Важенин: редактирование статьи;

А.Ф. Романчишен, К.В. Вабалайте, А.С. Вилкова, Н.И. Тимофеева: отбор пациентов;

Т.Е. Ильина: морфологическая оценка препаратов.

Authors' contributions

S.A. Lukyanov: development of the concept and design of the study, selection of patients, analysis of the obtained data, editing, writing the text of the article, review of publications;

S.V. Sergiyko: development of the research concept and design, analysis of the obtained data, editing, writing the text of the article;

S.E. Titov, Yu.A. Veryaskina: development of the concept and design of the study, editing the text of the article, conducting molecular genetic testing;

A.M. Mudunov, V.Z. Dobrokhotova: development of the research concept, analysis of the obtained data, selection of patients, editing of the article text;

E.S. Kozorezova, S.L. Vorobyov: selection of patients, editing of the article text, morphological study;

A.V. Vazhenin: scientific editing;

A.F. Romanchishen, K.V. Vabalaitė, A.S. Vilkova, N.I. Timofeeva: selection of patients;

T.E. Ilina: morphological study.

ORCID авторов / ORCID of authors

С.А. Лукьянов / S.A. Lukyanov: <https://orcid.org/0000-0001-5559-9872>

С.В. Сергийко / S.V. Sergiyko: <https://orcid.org/0000-0001-6694-9030>

С.Е. Титов / S.E. Titov: <https://orcid.org/0000-0001-9401-5737>

Ю.А. Веряскина / Yu.A. Veryaskina: <https://orcid.org/0000-0002-3799-9407>

А.М. Мудунов / A.M. Mudunov: <https://orcid.org/0000-0003-1255-5700>

В.З. Доброхотова / V.Z. Dobrokhotova: <https://orcid.org/0000-0001-5889-392X>

Е.С. Козорезова / E.S. Kozorezova: <https://orcid.org/0000-0002-3659-7510>

С.Л. Воробьев / S.L. Vorobyov: <https://orcid.org/0000-0002-7817-9069>

А.В. Важенин / A.V. Vazhenin: <https://orcid.org/0000-0002-7807-8479>

А.Ф. Романчишен / A.F. Romanchishen: <https://orcid.org/0000-0001-7646-4360>

К. В. Вабалайте / K.V. Vabalaitė: <https://orcid.org/0000-0002-9122-1540>

А.С. Вилкова / A.S. Vilkova: <https://orcid.org/0000-0003-2724-4075>

Н.И. Тимофеева / N.I. Timofeeva: <https://orcid.org/0000-0001-6594-8845>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Дизайн исследования был одобрен этическим комитетом ФГБОУ ВО «ЮУГМУ» Минздрава России (протокол № 3 от 18.04.2019).

Compliance with patient rights and principles of bioethics

The design of the study was approved by the Ethics Committee of the South Ural State Medical University of the Ministry of Health of Russia on 18.04.2019, Protocol No. 3.

Статья поступила: 23.12.2020. **Принята к публикации:** 09.02.2021.

Article submitted: 23.12.2020. **Accepted for publication:** 09.02.2021.