

ИДЕНТИФИКАЦИЯ микроРНК В ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫХ УЗЛОВЫХ ОБРАЗОВАНИЯХ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

**Якубовский С.В.¹, Кипень В.Н.², Фридман М.В.^{1,3}, Кондратович В.А.³,
Буракова А.А.², Добыш О.И.², Лемеш В.А.², Кондратенко Г.Г.¹**

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет»,

²ГНУ «Институт генетики и цитологии Национальной академии наук
Беларуси»,

³УЗ «Минский городской клинический онкологический центр»,
Минск, Беларусь

Введение. Узловые новообразования щитовидной железы (ЩЖ) встречаются с высокой частотой во всех странах. Несмотря на большой опыт диагностики и лечения, накопленный в Беларуси в итоге борьбы с эпидемией детского рака, обусловленной последствиями контакта с радиоактивным йодом после аварии на Чернобыльской АЭС, вопросы определения злокачественного потенциала в инкапсулированных образованиях, наблюдаемых в группе пациентов с так называемыми «фолликулярными опухолями», до сих пор не решены.

Изучение цитологических аспиратов позволяет подтвердить доброкачественный или злокачественный характер узла в 70-75% случаев, но у четверти пациентов заключение носит неопределенный характер (по системе Bethesda: III, IV и V) с ожидаемым риском обнаружения рака на уровне 5-15%, 20-30% и 50-75% соответственно [Naugen B.R. et al., 2016]. Последнее затрудняет выбор оптимального метода лечения, что приводит к избыточно агрессивной хирургической тактике.

МикроРНК (миРНК) представляют собой класс эндогенных некодирующих молекул из 18–24 нуклеотидов, регулирующих экспрессию множества генов на транскрипционной и посттранскрипционной стадиях [Nikiforova M.N. et al., 2009]. Были идентифицированы специфичные для каждого гистологического типа РЩЖ паттерны экспрессии микроРНК, которые в значительной степени зависят от условий окружающей среды и генетико-популяционной структуры исследуемых групп пациентов [Ferris R.L. et al., 2015]. Последнее свидетельствует о необходимости изучения молекулярно-генетических характеристик узловых образований ЩЖ у пациентов различной расовой принадлежности и проживающих в разных регионах мира. Такого рода исследования в Беларуси проводятся впервые.

ЦЕЛЬ. Разработка и освоение методики изучения экспрессии микроРНК в фиксированной формалином и залитой парафином ткани щитовидной железы.

Материалы и методы. Образцы ткани щитовидной железы. Было исследовано 17 образцов ткани ЩЖ: визуально интактная ткань (6 образцов), фолликулярная узловатая болезнь щитовидной железы (клинически – узловой

(аденоматозный) зоб, 9 образцов), аутоимунный тиреоидит с узлообразованием (2 образца).

Выделение РНК. Для депарафинизации образцов использовался толуол и цетан. Выделение микроРНК производилось с использованием набора LRU-100-50 (Biolabmix, Россия), для синтеза кДНК использовался набор ArtMMLV Total (АртБиоТех, Беларусь), для проведения ПЦР в реальном времени - мастер-миксы производства ОДО Праймтех (Беларусь).

Статистический анализ. Для анализа графиков, полученных при проведении кПЦР, использован метод прямого сравнения графиков Ср (crossing point), который реализован в программе LinRegPCR v.11.0 [LinRegPCR (11.0). Analysis of quantitative RT-PCR data – URL: https://www.gene-quantification.de/LinRegPCR_help_manual_v11.0.pdf (дата обращения: 26.04.2023)]. Оценку изменения уровня экспрессии микроРНК в опытном образце по отношению к контрольному вычисляли по стандартной формуле [Pfaffl M.W. et al., 2001].

Результаты и обсуждение. Был изучен профиль экспрессии 17 микроРНК (miR-021, miR-031, miR-125a, miR-138, miR-144, miR-146b, miR-181b, miR-187, miR-197, miR-199b, miR-200b, miR-200a, miR-205, miR-222, miR-375, miR-574, miR-885 и внутреннего контроля U6) на материале фиксированных формалином и залитых парафином гистологических препаратов доброкачественных новообразований щитовидной железы и нормальной ткани, а также изучено влияние аутоимунного тиреоидита на показатели экспрессии.

Было установлено, что большинство микроРНК изменяло степень своей экспрессии в изученных образцах по сравнению с нормальной тканью.

При сопоставлении уровня экспрессии изученных микроРНК при наличии фолликулярной узловой болезни относительно нормальной ткани железы, было установлено, что ряд микроРНК продемонстрировал тенденцию к усилению экспрессии в ткани: miR-31, -125a, -138, -146b, -181b, -187, 197, 199b. Ряд микроРНК характеризовался тенденцией к снижению экспрессии относительно нормальной ткани: miR-21, -144, -200a/b, -375, -574, -885. Экспрессия miR-205 не изменилась.

При сопоставлении уровня экспрессии изученных микроРНК в ткани железы с наличием явлений аутоимунного тиреоидита относительно нормальной ткани железы было установлено, что в ряде случаев изменения степени экспрессии носили схожий характер (усиление экспрессии для miR-31, -125a, -138, -181b, -187, -197, -199b; снижение экспрессии miR-21, -200b). Но для ряда микроРНК направленность изменений носила отличный от узловой болезни характер. К последним относятся: miR-146b – снижение экспрессии; miR-200a, -205, -375, -574 и -885 - усиление экспрессии.

По сравнению с контрольной микроРНК U6 микроРНК hsa-miR-187 и hsa-miR-197 характеризовались усилением экспрессии умеренной интенсивности – не более чем в 100 раз, для hsa-miR-574 была установлена повышенная экспрессия более высокой интенсивности – до 200 раз, для hsa-miR-125a и hsa-

miR-138 выявлена гиперэкспрессия – в среднем, более чем в 500 раз. При этом для hsa-miR-187, hsa-miR-197, hsa-miR-125a и hsa-miR-138 наблюдалась тенденция к возрастанию экспрессии в ряду «нормальная ткань > зоб > аутоиммунный тиреоидит».

При сопоставлении с литературными данными было установлено, что ряд микроРНК характеризовался изменением экспрессии, не согласующимся с полученными нами данными. К последним относятся miR-31, -125a, -146b и -187.

Выводы. Для микроРНК hsa-miR-187 и hsa-miR-197 показана повышенная экспрессия умеренной интенсивности – не более чем в 100 раз, для hsa-miR-574 показана повышенная экспрессия более высокой интенсивности – до 200 раз, для hsa-miR-125a и hsa-miR-138 выявлена гиперэкспрессия – в среднем, более чем в 500 раз. При этом для hsa-miR-187, hsa-miR-197, hsa-miR-125a и hsa-miR-138 наблюдается тенденция к возрастанию экспрессии в ряду «нормальная ткань > зоб > аутоиммунный тиреоидит».

Установленные тенденции по изменению характера экспрессии изученных микроРНК в ткани аденоматозного зоба и аутоиммунного тиреоидита для ряда исследованных микроРНК согласуются с ранее проведенными исследованиями; в то же время, для некоторых микроРНК (hsa-miR-31, hsa-miR-125a, hsa-miR-146b, hsa-miR-187) установлены изменения экспрессии, отличающиеся от ранее полученных данных. Имеющиеся расхождения в характере изменения экспрессии микроРНК требуют проведения дальнейших исследований.