

УДК 616.441-002-097.3

ЭКСПРЕССИЯ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ПРИ АУТОИММУННОМ ТИРЕОИДИТЕ

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

¹Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Республика Беларусь;

²Государственное научное учреждение «Институт генетики и цитологии Национальной
академии наук Беларуси», г. Минск, Республика Беларусь;

³Учреждение здравоохранения «Минский городской клинический онкологический центр»,
г. Минск, Республика Беларусь

Реферат. Для изучения паттерна экспрессии микроРНК в фиксированной формалином и за-
литой парафином ткани щитовидной железы (ЩЖ) у пациентов с аутоиммунным тиреоидитом
(АИТ), а также влияния на экспрессию микроРНК аденоматозной гиперплазии ткани ЩЖ как фо-
нового процесса использовано 13 образцов ткани ЩЖ с признаками АИТ (опытная группа 1),
10 образцов ткани ЩЖ с признаками АИТ в сочетании с фоновыми гиперпластическими измене-
ниями (опытная группа 2), а также 16 образцов нормальной ткани ЩЖ — контрольная группа.
Изучена экспрессия 18 микроРНК (miR-21, -31, -125a, -138, -144, -146b, -181b, -187, -197, -199, -
200a, -205, -200b, -221, -222, -375, -574 и -885). Установлена гиперэкспрессия miR-21, -125a, -138
и -885. Наличие фонового гиперпластического процесса сопровождалось изменением экспрессии
miR-125a и -197 по сравнению с изолированным АИТ.

Ключевые слова: микроРНК (миРНК), рак щитовидной железы, щитовидная железа, узлы
щитовидной железы, аутоиммунный тиреоидит, молекулярно-генетические исследования.

Введение. АИТ (тиреоидит Хашимото) яв-
ляется достаточно распространенным в Респуб-
лике Беларусь заболеванием, преимущественно
наблюдающимся у женщин и лиц обоих полов в
старших возрастных группах. АИТ характеризу-
ется наличием циркулирующих антител к ЩЖ и
инфильтрацией ЩЖ лимфоцитами с последую-
щим развитием гипотиреоза. В ряде случаев у па-
циентов, страдающих АИТ, на фоне гипотиреоза
может происходить гипертрофия железы с фор-
мированием узлов, либо АИТ может сочетаться с
другой патологией ЩЖ как доброкачественной,
так и злокачественной, включая лимфому и рак
ЩЖ, риск выявления которого у пациентов с
АИТ значительно повышен. Разнообразие струк-
турных изменений характерно прежде всего для
лиц старших возрастных групп, когда признаки
тиреоидита могут сочетаться с дегенеративными
и гиперпластическими процессами [1].

Наличие узловых образований является по-
казанием к выполнению тонкоигольной аспира-
ционной биопсии, необходимой для исключения
их злокачественного характера.

Однако хорошо известно, что в цитологи-
ческих образцах у пациентов с АИТ могут выяв-
ляться оксифильные либо лимфоидные клетки,
характерные соответственно для онкоцитарных
опухолей или лимфомы, либо ядерные измене-
ния, присущие папиллярной карциноме [2], что
затрудняет цитологическую диагностику и при-
водит к диагностическим ошибкам.

Открытие генетических механизмов воз-
никновения и развития рака ЩЖ легло в основу
разработки молекулярно-генетических методов
исследования, позволяющих улучшить точность
предоперационной диагностики опухолей ЩЖ.
МикроРНК (миРНК) представляют собой не-
давно идентифицированный класс эндогенных
некодирующих РНК. Это короткие (18–24 нук-
леотида) молекулы, регулирующие экспрессию
множества генов на транскрипционной и пост-
транскрипционной стадиях [3]. Были выявлены
специфичные для каждого гистологического типа
рака ЩЖ, а также иных заболеваний ЩЖ, вклю-
чая АИТ, паттерны экспрессии микроРНК, что
позволяет использовать их в качестве diagnosti-
ческих маркеров и проводить предоперационную

дифференциальную диагностику опухолей ЩЖ [3], а также оценивать риск развития и прогнозировать тяжесть течения АИТ. Вместе с тем было показано, что профиль экспрессии микроРНК в значительной степени зависит от условий окружающей среды и генетико-популяционной структуры исследуемых групп пациентов [4]. Последнее свидетельствует о необходимости изучения молекулярно-генетических характеристик тиреоидной патологии у пациентов различной расовой принадлежности, проживающих в разных регионах мира, что актуально и для белорусской популяции.

Цель работы – явилось изучение паттерна экспрессии микроРНК в фиксированной формалином и залитой парафином ткани ЩЖ у пациентов с АИТ, а также влияния на экспрессию микроРНК аденоматозной гиперплазии ткани ЩЖ как фонового процесса.

Материалы и методы. *Образцы ткани ЩЖ.* Было исследовано 13 образцов ткани ЩЖ с признаками АИТ (опытная группа 1), удаленной у пациентов, оперированных в Минском городском клиническом онкологическом центре в 2021–2023 гг., по поводу АИТ либо иных заболеваний ЩЖ, 10 образцов ткани ЩЖ с признаками АИТ в сочетании с фоновыми гиперпластическими изменениями (опытная группа 2), а также 16 образцов нормальной ткани ЩЖ — контрольная группа. Контрольная группа была сформирована из образцов удаленной ЩЖ в тех случаях,

когда при тотальной тиреоидэктомии, выполненной по поводу карциномы ЩЖ согласно действующим в Республике Беларусь протоколам лечения пациентов с онкологическими заболеваниями, в контралатеральной доле в ходе предоперационного ультразвукового и послеоперационного макро- и микроскопического исследования признаков патологии не выявлялось.

Забор и первичное гистологическое исследование материала осуществлялось врачом-патоморфологом патологоанатомической лаборатории Минского городского клинического онкологического центра. Для гистологических исследований образцы ткани ЩЖ фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине и заключали в парафин. Гистологические срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Включенные в исследование образцы ткани подвергались повторному экспертному патоморфологическому исследованию.

Оценка экспрессии микроРНК. Депарафинизация среза гистологического препарата осуществлялась с использованием толуола и цетана согласно оригинальному протоколу [5]. Выделение микроРНК производилось с использованием набора LRU-100-50 («Биолабикс», Россия) по адаптированному протоколу [5].

В образцах опухолевой и нормальной ткани определяли содержание 18 микроРНК, которые были выбраны для исследований на основании анализа литературных данных (таблица 1).

Таблица 1 – Перечень исследованных микроРНК

№	микроРНК	Индивидуальный номер*	Хромосомная локализация**
1	hsa-miR-021-5p	MIMAT0000076	chr17: 59841266–59841337
2	hsa-miR-031-5p	MIMAT0000089	chr9: 21512115–21512185
3	hsa-miR-125a-3p	MIMAT0004602	chr19: 51693254–51693339
4	hsa-miR-138-5p	MIMAT0000430	chr3: 44114212–44114310
5	hsa-miR-144-5p	MIMAT0004600	chr17: 28861533–28861618
6	hsa-miR-146b-5p	MIMAT0002809	chr10: 102436512–102436584
7	hsa-miR-181b-5p	MIMAT0000257	chr1: 198858873–198858982
8	hsa-miR-187-3p	MIMAT0000262	chr18: 35904818–35904926
9	hsa-miR-197-3p	MIMAT0000227	chr1: 109598893–109598967
10	hsa-miR-199b-5p	MIMAT0000263	chr9: 128244721–128244830
11	hsa-miR-200b-3p	MIMAT0000318	chr1: 1167104–1167198
12	hsa-miR-200a-3p	MIMAT0000682	chr1: 1167863–1167952
13	hsa-miR-205-5p	MIMAT0000266	chr1: 209432133–209432242
14	hsa-miR-221-3p	MIMAT0000278	chrX: 45746157–45746266
15	hsa-miR-222-3p	MIMAT0000279	chrX: 45747015–45747124
16	hsa-miR-375-3p	MIMAT0000728	chr2: 219001645–219001708
17	hsa-miR-574-3p	MIMAT0003239	chr4: 38868032–38868127
18	hsa-miR-885-5p	MIMAT0004947	chr3: 10394489–10394562

Примечание: * <https://www.mirbase.org>, ** GRCh38

Синтез кДНК осуществляли с использованием набора ArtMMLV Total («АртБиоТех», Беларусь) по следующему протоколу:

5 мкл образца РНК, 0,2 мкл 10 нмоль раствора специфичного праймера для микроРНК (таблица 2), 2,5 мкл 10х TG буфера, 0,5 мкл смеси дНТФ (конечная концентрация каждого дНТФ — 500 мкМ), 1,5 мкл $MgCl_2$ (конечная концентрация — 3 мМ), 0,2 мкл ArtMMLV ревертазы (количество в реакции — 40 единиц активности фермента), довести объем до 25 мкл с использованием воды, свободной от нуклеаз.

Перемешать содержимое пробирки пипетированием. Инкубировать в течение 60 мин при 42 °С. Нагреть до 95 °С в течение 5 мин для инактивации фермента.

ПЦР проводили на амплификаторе QuantStudio 5 (Applied Biosystems, США). Для ПЦР использовали мастер-микс «Биомастер HS-qПЦР Lo-ROX 2х» для ПЦР-РВ («Биолабмикс», Россия), в качестве интеркалирующего красителя использовали EvaGreen (Jena Bioscience, Германия). Последовательности праймеров представлены в таблице 3.

Таблица 2 – Нуклеотидная последовательность специфичных праймеров

Олигонуклеотид	Последовательность, 5' > 3'
miR-21-RT	GTCGTGTCTGAGGCTCACTGAGACCTATTTCGCACCTCGACACGACTCAACATC
miR-31-RT	GTCGTGTCTGAGGCTCACTGAGACCTATTTCGCACCTCGACACGACAGCTATGC
miR-125-RT	TGTCTGTCTGAGGCTCACTGAGACCTATTTCGCACCTCGACACGACGGCTCCCA
miR-138-RT	TCGATGTCTGAGGCTCACTGAGACCTATTTCGCACCTCGACACGACCGGCCTGA
miR-144-RT	GTCGTGTCTGAGGCTCACTGAGACCTATTTCGCACCTCGACACGACCTTACAGTA
miR-146b-RT	GTCGTGTCTGAGGCTCACTGAGACCTATTTCGCACCTCGACACGACCAGCCTATG
miR-181b-RT	GTCGTGTCTGAGGCTCACTGAGACCTATTTCGCACCTCGACACGACACCCACCG
miR-187-RT	GTCGTGTCTGAGGCTCACTGAGACCTATTTCGCACCTCGACACGACCCGGCTGC
miR-197-RT	AAGTTGTCTGAGGCTCACTGAGACCTATTTCGCACCTCGACACGACGCTGGGTG
miR-199b-RT	GTCGTGTCTGAGGCTCACTGAGACCTATTTCGCACCTCGACACGACGAACAGATA
miR-200a-RT	GTCGTGTCTGAGGCTCACTGAGACCTATTTCGCACCTCGACACGACACATCGTT
miR-200b-RT	GTCGTGTCTGAGGCTCACTGAGACCTATTTCGCACCTCGACACGACTCATCATT
miR-205-RT	GTCGTGTCTGAGGCTCACTGAGACCTATTTCGCACCTCGACACGACCAGACTCC
miR-221-RT	GTCGTGTCTGAGGCTCACTGAGACCTATTTCGCACCTCGACACGACGAAACCCA
miR-222-RT	GTCGTGTCTGAGGCTCACTGAGACCTATTTCGCACCTCGACACGACACCCAGTA
miR-375-RT	GTCGTGTCTGAGGCTCACTGAGACCTATTTCGCACCTCGACACGACTACGCGA
miR-574-RT	GTGCTGTCTGAGGCTCACTGAGACCTATTTCGCACCTCGACACGACTGTGGGTG
miR-885-RT	AGGTTGTCTGAGGCTCACTGAGACCTATTTCGCACCTCGACACGACAGAGGCAG

Таблица 3 – Нуклеотидная последовательность специфичных праймеров

Олигонуклеотид	Последовательность, 5' > 3'
miR-21-F	ACGCAGCTAGCTTATCAGACT
miR-31-F	CAAGCAGGCAAGATGCTG
miR-125a-F	TTCTTGGAGTGGACACTGGGA
miR-138-F	TAAGTGTTGTGGTTCGACGTCG
miR-144-F	ACCTCCAGCGGATATCATCATA
miR-146b-F	ACCAGCTGAGAACTGAATTCC
miR-181b-F	CCAGCAACATTTCATTGCTGT
miR-187-F	AGCTCGTGTCTTGTGTTG
miR-197-F	CTCTTCCACCACTTCCCACTT
miR-199b-F	TCAGCCCCAGTGTTTAGAC
miR-200a-F	CCAGCTAACACTGTCTGGT
miR-200b-F	TCCAGCTAATACTGCCTGGT
miR-205-F	CCAGCTCCTTCATTCCACC
miR-221-F	CAGCAGCTACATTGTCTGC
miR-222-F	CTCAGCAGCTACATCTGGC
miR-375-F	ACAGCTTTGTTCGTTTCGGC
miR-574-F	CACACGTA CT CGCACCTGG
miR-885-F	CCATCACATTACCTCTCTCACG
miR-R	CTGAGGCTCACTGAGACCT

Вносили в пробирку 10,0 мкл премикса (конечная концентрация — 1х, если референсный краситель ROX не входит в состав буфера — необходимо внести самостоятельно до конечной концентрации 30 нМ), 0,2 мкл F-праймера (конечная концентрация — 400 нМ), 0,2 мкл R-праймера (конечная концентрация — 400 нМ), матрица кДНК — 2 мкл, 0,04 мкл EvaGreen (конечная концентрация — 0,2 мкМ). Доводили объем до 20,0 мкл с использованием воды, свободной от нуклеаз. Перемешивали содержимое пробирки пипетированием. В последующем запусклась программа амплификации: 2 мин 50 °С, 10 мин 95 °С, 50 циклов — 15 с 95 °С и 1 мин 60 °С (считывание сигнала флуоресценции). Оценка специфичности ПЦР оценивалась на этапе плавления ампликонов после стадии амплификации.

Статистический анализ. Для анализа графиков, полученных при проведении кПЦР, использован метод прямого сравнения графиков C_p (crossing point), реализованный в программе LinRegPCR v.11.0. Оценку изменения уровня экспрессии микроРНК в опытном образце по отношению к контрольному вычисляли по формуле [6] $Y = 2^{-((Ct(x, \text{опухоль}) - Ct(\text{global, опухоль})) / (Ct(x, \text{контроль}) - Ct(\text{global, контроль})))}$, где $Ct(x)$ — Ct для исследуемой микроРНК, $Ct(\text{global})$ — среднее значение Ct для всех

исследуемых микроРНК, Y — относительное изменение экспрессии исследуемой микроРНК.

Статистический анализ данных проводили с использованием пакета программ Microsoft Excel 2019 и SPSS v.20.0 (IBM, США).

Источники финансирования. Исследование выполнено в рамках государственной программы научных исследований «Биотехнологии-2», подпрограмма 3.2 «Геномика, эпигеномика, биоинформатика», задание «Изучение молекулярно-генетического профиля узловых образований щитовидной железы» № ГР 20220367 от 28.03.2022 (сроки выполнения — 2022–2023 гг.).

Этическая экспертиза. Исследование одобрено Комитетом по биомедицинской этике учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет» (протокол № 9 от 23.03.2022). Все данные, полученные из медицинских записей, были анонимизированы. В связи с ретроспективным характером исследования и использованием архивных материалов согласие пациентов не требовалось.

Результаты и их обсуждение. На основании экспериментальных данных были рассчитаны средние значения величины изменения каждой микроРНК в материале ткани ЩЖ с признаками АИТ, а также с признаками АИТ и фолликулярной узловой болезни относительно образцов нормальной ткани ЩЖ (рисунки 1, 2).

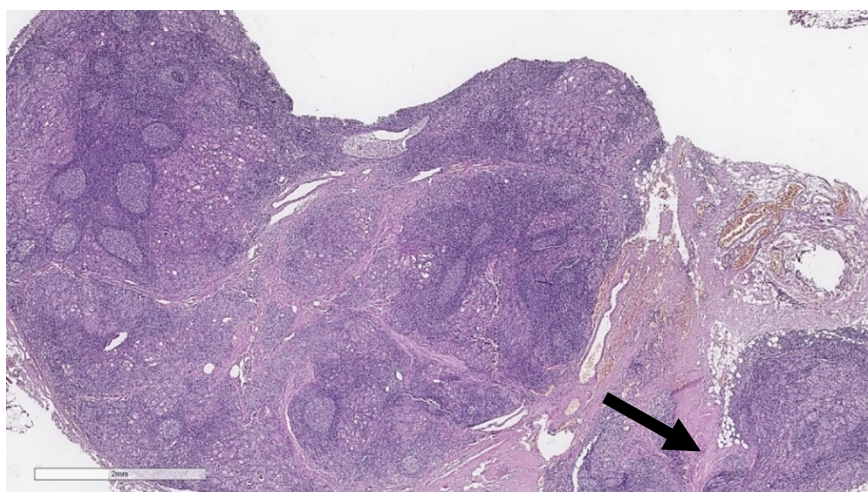


Рисунок 1 – Аутоиммунный тиреоидит (Хашимото)

Пролиферация лимфоидных элементов с формированием фолликулярных структур с центрами размножения, распространения процесса за пределы капсулы щитовидной железы (стрелка).

Окраска гематоксилин и эозин, $\times 15$

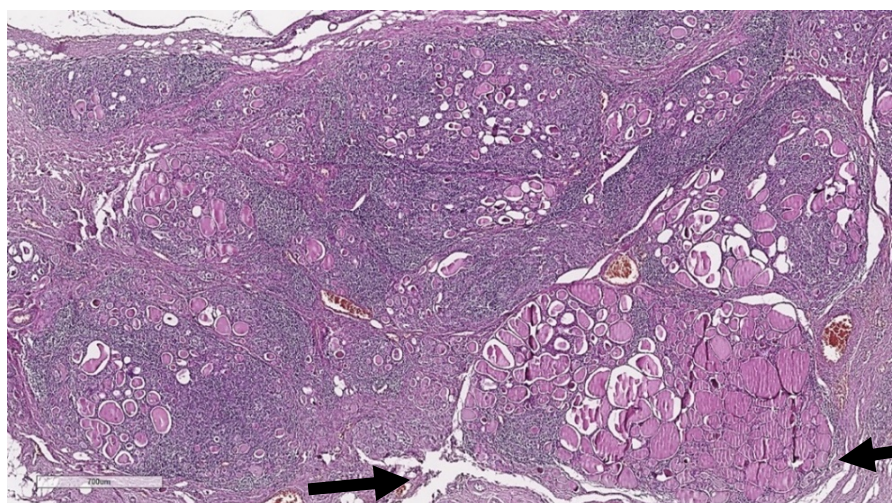


Рисунок 2 – Аутоиммунный тиреоидит в сочетании с зобом

Формирование гиперпластических узлов (стрелки).

Окраска гематоксилин и эозин, $\times 30$

На основании экспериментальных данных были рассчитаны значения величины изменения каждой миРНК в материале ткани ЩЖ с признаками АИТ, а также с признаками АИТ и фолликулярной узловой болезни (АИТ/зоб) относительно

образцов нормальной ткани ЩЖ. Относительные значения экспрессии исследуемых микроРНК в каждой группе (гистологический тип опухоли) приведены в таблице 4.

Таблица 4 – Относительные значения экспрессии исследуемых микроРНК

МикроРНК	АИТ (n=13)		АИТ/зоб (n=10)		p-уровень*
	Среднее	Стандартное отклонение	Среднее	Стандартное отклонение	
miR-21	2,6105	0,1888	2,2962	0,3690	0,021753615 4
miR-31	0,9172	0,1250	0,7230	0,1475	0,010999583 2

Окончание таблицы 4

miR-125a	1,3764	0,1711	0,8042	0,1562	0,0000555096
miR-138	2,0085	0,1861	2,4150	0,8471	0,4201126796
miR-144	0,4022	0,1589	0,4335	0,2821	0,6197963885
miR-146b	4,4059	0,5154	3,5971	0,6415	0,0052580950
miR-181b	0,6368	0,0663	0,7631	0,1088	0,0109995832
miR-187	1,4191	0,1982	1,1960	0,3532	0,1210373395
miR-197	0,9049	0,1107	1,3598	0,1894	0,0000721411
miR-199b	0,3951	0,1421	0,4746	0,2412	0,5351434524
miR-200a	0,6506	0,1784	0,6835	0,3892	1,0000000000
miR-200b	0,3980	0,1243	0,3423	0,1439	0,2386650808
miR-205	1,0641	0,0869	1,2000	0,4468	0,9505490015
miR-221	1,5293	0,1175	1,5346	0,3217	0,4951181594
miR-222	0,9167	0,5597	1,2141	0,1850	0,3210619923
miR-375	0,4454	0,1192	0,4610	0,2763	0,4951181594
miR-574	1,6357	0,3955	1,7079	0,6107	0,8524039032
miR-885	2,1324	1,5720	2,9332	2,2599	0,1068637150

Примечание: * Mann–Whitney U-test (двусторонний)

Развитие АИТ сопровождалось усилением экспрессии miR-21, -125a, -138, -146b, -187, -205, -221, -574 и -885. Экспрессия остальных микроРНК была снижена относительно нормальной ткани ЩЖ. Наиболее значимо (более чем в 2 раза) изменялась экспрессия miR-21, -138, -146b, и -885. Наличие признаков аденоматозной гиперплазии в образцах с превалированием явлений АИТ сопровождалось изменением выраженности экспрессии большинства изученных микроРНК.

Проведенные в дальнейшем парные сравнения экспрессии микроРНК в образцах ткани ЩЖ с признаками АИТ и в образцах ткани, характеризующейся наличием сочетания АИТ и фолликулярной узловой болезни (с использованием непараметрического U-критерия Манна–Уитни (Mann–Whitney U-test), выделены только статистически значимые различия с учетом высококонсервативной поправки Бонферрони, то есть если $p < 0,00139$ ($0,05 / n \cdot 2$, где n — количество сравниваемых переменных, то есть 18 микроРНК)), показали, что в условиях фонового гиперпластического процесса статистически значимо по сравнению с АИТ изменилась только экспрессия miR-125a и -197 (таблица 4).

Аберрантная экспрессия микроРНК играет важную роль в пролиферации, дифференцировке, инвазии, миграции и апоптозе клеток, что дает возможность использовать микроРНК в дифференциальной диагностике узловых образований ЩЖ. Накопленные в последние годы данные свидетельствуют о том, что микроРНК также могут

использоваться в качестве биомаркеров различных аутоиммунных заболеваний.

В данном исследовании мы изучили профиль экспрессии ряда микроРНК, наиболее характерных для карцином ЩЖ и играющих значительную роль в процессах канцерогенеза, с целью разработки новых биомаркеров, позволяющих дифференцировать в ходе предоперационной диагностики узловые образования ЩЖ. Ряд изученных микроРНК также важны и в процессах развития иммунных реакций (регуляция передачи сигналов цитокинов, каскада Toll-подобных рецепторов, передача сигнала от В-клеточного рецептора), что позволяет объяснить выявленную значимую гиперэкспрессию (> 2 раз) четырех микроРНК: miR-21, -125a, -138 и -885.

Эти результаты подтверждают ранее установленную тесную связь данных микроРНК с развитием АИТ.

Показано, что miR-21 играет важную роль в дифференцировке лимфоцитов и их активации [7], и ее гиперэкспрессия была неоднократно продемонстрирована в ранее выполненных исследованиях.

MiR-125a является негативным регулятором уровня интерлейкина-6 и TGF- β ; известно, что ее экспрессия снижается у пациентов с папиллярной карциномой ЩЖ, но повышается в условиях АИТ [7]. Как следует из полученных нами данных (таблицы 1, 2), нами также была выявлена тенденция к усилению экспрессии miR-125a в исследованных тканях.

MiR-138 является одной из супрессорных микроРНК, регулирующих рост папиллярной карциномы посредством влияния на один из регуляторных путей (β -катенин). В ранее проведенных исследованиях была продемонстрирована возможность использования данной микроРНК в дифференциальной диагностике опухолей ЩЖ за счет ее гиперэкспрессии при доброкачественных и сниженной экспрессии при злокачественных опухолях [7].

Также была показана возможность использования MiR-885 в плазме крови как возможного биомаркера интенсивности аутоиммунного воспалительного процесса и чувствительности к глюкокортикоидной терапии у пациентов с аутоиммунной офтальмопатией, а также ее гиперэкспрессия при различных типах поражения ткани ЩЖ [7].

Сопоставление профилей экспрессии микроРНК при классическом АИТ и при АИТ с наличием фоновых гиперпластических изменений продемонстрировали сходный характер изменений экспрессии большинства изученных микроРНК, за исключением miR-125a и -197.

Последнее, на наш взгляд, говорит как о хорошей воспроизводимости разработанной методики по изучению экспрессии микроРНК в фиксированной формалином и залитой парафином ткани, так и малом влиянии фоновых гиперпластических изменений на профиль экспрессии микроРНК у пациентов, страдающих АИТ.

Несмотря на выявление значимых изменений экспрессии miR-125a и -197 в образцах тканей с фоновым гиперпластическим процессом, общая направленность этих изменений (гипер- и гипоекспрессия соответственно) говорит о

возможности использования данных микроРНК в качестве биомаркеров у пациентов как с изолированным АИТ, так и у пациентов с сочетанием АИТ и гиперпластических изменений ткани ЩЖ, что особенно важно в свете значительной распространенности такого рода изменений в популяции, особенно в старших возрастных группах. Наличие таких изменений необходимо учитывать при выборе диагностически значимого уровня экспрессии микроРНК для целей дифференциальной диагностики.

Заключение.

1. Был изучен профиль экспрессии микроРНК в фиксированной формалином и залитой парафином ткани ЩЖ пациентов с АИТ и АИТ с наличием фонового гиперпластического процесса. Полученные результаты для большинства изученных микроРНК соответствуют описанным в литературе данным.

2. Ткань ЩЖ включает различные клетки, как тиреоциты, так и стромальные и иммунные клеточные элементы. Все они играют различные роли в патогенезе АИТ, что может влиять на характер и выраженность выявленных изменений экспрессии микроРНК.

3. Сходный характер изменений экспрессии микроРНК у пациентов с АИТ и сочетанием АИТ и фонового гиперпластического процесса говорит как о малом влиянии таких фоновых изменений на профиль микроРНК при доминирующей аутоиммунной патологии, так и о возможности использовать для дифференциальной диагностики данные, полученные у пациентов с АИТ вне зависимости от наличия фоновых гиперпластических изменений.

Список цитированных источников

1. Ajish, T. P. Geriatric thyroidology: An update / T. P. Ajish, R. V. Jayakumar // *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*. – 2012. – Vol. 16, N 4. P. 542–547.
2. MacDonald, L. Fine needle aspiration biopsy of Hashimoto's thyroiditis. Sources of diagnostic error / L. MacDonald, H. M. Yazdi // *Acta Cytol.* – 1999. – Vol. 43, N 3. P. 400–406.
3. Nikiforova, M. N. MicroRNA expression profiles in thyroid tumors / M. N. Nikiforova, S. I. Chiosea, Y. E. Nikiforov // *Endocr Pathol.* – 2009. – Vol. 20, N 2. P. 85–91.
4. Pan-cancer clinical and molecular analysis of racial disparities / O. D. Lara [et al.] // *Cancer*. – 2020. – Vol. 126, N 4. P. 800–807.
5. Методика определения микроРНК в гистологических препаратах щитовидной железы, фиксированных формалином и залитых парафином / Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси. – Минск : Право и экономика. – 2023. – 32 с.
6. Pfaffl, M. W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR / M. W. Pfaffl // *Nucleic Acids Res.* – 2001. – Vol. 29, N 9. P. 45.
7. Martínez-Hernández, R. MicroRNAs in autoimmune thyroid diseases and their role as biomarkers / R. Martínez-Hernández, M. Marazuela // *Best Pract Res. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2023. – Vol. 37, N 2 (101741).

Expression of epigenetic markers in autoimmune thyroiditis

Yakubouski S. U.¹, Kipen V. N.², Fridman M. V.^{1,3}, Kandratsenka H. H.¹, Lemesh V. A.², Kondratovich V. A.³, Byrakova A. A., Dobysh O. I.², Bragina Z. N.¹, Chaika L. D.¹

¹Belarusian State medical university, Minsk, Republic of Belarus;

²The Institute of Genetics and Cytology National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus;

³Minsk City Clinical Cancer Centre, Minsk, Republic of Belarus

MicroRNA (miRNA) is a type of non-coding RNA that regulates the expression of many genes at the post-transcriptional stage. Currently, they are considered as important diagnostic and prognostic markers for a number of diseases, including tumors of various locations and autoimmune pathology.

The aim of the work was to study microRNAs expression pattern in formalin-fixed and paraffin-embedded thyroid tissue in patients with autoimmune thyroiditis (AT), as well as the influence of adenomatous hyperplasia of thyroid tissue, as a background process, on the expression of studied microRNAs.

We used 13 thyroid specimens of AT (experimental group 1), 10 samples of thyroid tissue of AT in combination with background hyperplastic changes (experimental group 2), as well as 16 samples of normal thyroid tissue — control group. The expression of 18 microRNAs was studied (miR-21, -31, -125a, -138, -144, -146b, -181b, -187, -197, -199, -200a, -205, -200b, -221, -222, -375, -574 and -885). Overexpression (> 2 times) of miR-21, -125a, -138 and -885 was detected. The presence of a background hyperplastic process was accompanied by a change in the expression of miR-125a and -197 compared to pure AT.

Keywords: microRNA (miRNA), thyroid cancer, thyroid, thyroid nodule, autoimmune thyroiditis, molecular studies.

Поступила 05.06.2024