

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ОПУХОЛЕЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

*Якубовский С. В.<sup>1</sup>, Кипень В. Н.<sup>2</sup>, Кондратенко Г. Г.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>УО «Белорусский государственный медицинский университет», Беларусь, Минск

<sup>2</sup>ГНУ «Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси», Беларусь, Минск

**Введение.** Узловые образования щитовидной железы (ЩЖ) выявляются у 60–70 % людей. Дооперационная диагностика морфологической природы опухолей ЩЖ базируется на цитологическом исследовании, которое позволяет подтвердить характер образования лишь в 70–75 % случаев [Naugen B.R. et al., 2016]. Последнее затрудняет выбор оптимального метода лечения, и приводит в ряде случаев к избыточно агрессивной тактике ведения пациентов.

МикроРНК (миРНК) представляют собой эндогенные некодирующие РНК. Идентифицированы специфичные для опухолей ЩЖ 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].

**Цель** — изучение паттерна экспрессии микроРНК, присущего наиболее распространенным опухолям и опухолеподобным заболеваниям ЩЖ, с целью идентификации возможных молекулярных маркеров, позволяющих различить данные опухоли, на материале фиксированных формалином и залитых парафином образцов ткани ЩЖ.

**Методы исследования.** Изучен профиль экспрессии 18 микроРНК (miR-021-5p, miR-031-5p, miR-125a-3p, miR-138-5p, miR-144-5p, miR-146b-5p, miR-181b-5p, miR-187-3p, miR-197-3p, miR-199b-5p, miR-200b-3p, miR-200a-3p, miR-205-5p, miR-221-3p, miR-222-3p, miR-375-3p, miR-574-3p, miR-885-5p) на материале 320 образцов новообразований ЩЖ, фиксированных в формалине и залитых парафином. Выделение микроРНК производилось с использованием набора LRU-100-50 (Biolabmix, Россия), синтез кДНК — набором ArtMMLV Total (АртБиоТех, Беларусь), проведение ПЦР в реальном времени — мастер-миксами производства ОДО Праймтех (Беларусь). 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 стандартной формуле [Pfaffl M.W. et al., 2001].

**Результаты и обсуждение.** На основании экспериментальных данных были рассчитаны средние значения экспрессии изученных микроРНК в образцах опухолей. Парные сравнительные тесты с использованием непараметрического U-критерия Манна-Уитни-Вилкоксона с поправкой Бонферрони позволили установить микроРНК, значимо отличающиеся по экспрессии. Выявлено 10 наиболее

информативных микроРНК для дифференциации групп по гистологическому типу: miR-021, miR-031, miR-125a, miR-138, miR-146b, miR-200a, miR-200b, miR-221, miR-222 и miR-375. Выявленные достоверные различия в экспрессии этих микроРНК между группами позволяют предположить возможность их использования в качестве маркеров дифференциальной диагностики опухолей ЩЖ.

В дальнейшем были определены наиболее информативные микроРНК для различения фолликулярного рака (ФРЦЖ) и фолликулярной аденомы (ФА): miR-31, miR-125a, miR-138, miR-144, miR-146b, miR-181b, miR-197, miR-205, miR-221, miR-222, miR-574.

Выполненный ROC-анализ позволил изучить диагностический потенциал выявленных микроРНК и были определены точки отсечения, позволившие добиться оптимальных показателей чувствительности и специфичности. Для достижения максимальных показателей диагностической эффективности на основе четырех микроРНК с наибольшим значением AUC (miR-144, -205, -221, -574) с использованием метода логистической регрессии была разработана модель, позволяющая дифференцировать ФА и ФРЦЖ, характеризующаяся максимальными показателями диагностической эффективности:  $Y = 1/(1+2,7183^{(-4,428 + 21,888*mir_{144} + 10,916*mir_{221} - 48,062*mir_{574} - 23,900*mir_{205})})$  (AUC = 1,000,  $p < 0,01$ , 95 % ДИ = 0,999–1,0, чувствительность — 100 %, специфичность — 100 %) при значениях экспрессии каждой из используемых в модели микроРНК, соответствующих ранее определенным точкам отсечения.

**Выводы.** Был установлен ряд молекул микроРНК — потенциальных маркеров дифференциальной диагностики опухолей ЩЖ, а также микроРНК, дифференциально экспрессирующиеся в группах ФРЦЖ и ФА. Изучены показатели их диагностической эффективности, разработана математическая модель дифференциальной диагностики ФА и ФРЦЖ, позволяющая максимизировать показатели диагностической эффективности предложенных маркеров дифференциальной диагностики. Предложенная модель после выполнения ее валидации на материале цитологических препаратов может способствовать оптимизации хирургической тактики у пациентов с фолликулярными опухолями щитовидной железы.