

С. П. Шевченко<sup>1</sup>, Н. Н. Колесников<sup>1,2</sup>, Л. Ф. Гуляева<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Новосибирский государственный университет

<sup>2</sup> Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН

<sup>3</sup> Институт молекулярной биологии и биофизики СО РАН

## ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЗИЦИЙ

В настоящее время дифференциальная диагностика узловых образований щитовидной железы остается актуальной проблемой современной тиреологии. Для диагностики злокачественных новообразований все чаще стали использоваться молекулярно-генетические подходы. В настоящей работе исследовались генетический полиморфизм ферментов метаболизма ксенобиотиков, соматическая мутация в гене BRAF, активность и экспрессия генов GSTP, микроРНК в доброкачественных и злокачественных новообразованиях щитовидной железы с целью их дифференциальной диагностики. Показана различная «картина» экспрессии выбранных маркеров, что может быть использовано для дифференциальной диагностики ДУЗ и рака щитовидной железы.

**Ключевые слова:** рак щитовидной железы, мутация в гене BRAF, экспрессия GSTP, микроРНК, дифференциальная диагностика.

**Цель исследования:** изучение генетического полиморфизма ферментов метаболизма ксенобиотиков, соматической мутации в гене BRAF, активности и экспрессии генов GSTP, микроРНК в доброкачественных и злокачественных новообразованиях щитовидной железы с целью их дифференциальной диагностики.

### Материал и методы

После хирургического вмешательства для определения молекулярных маркеров были исследованы 113 образцов диффузно-узловатого зоба (ДУЗ), 102 папиллярного рака щитовидной железы (ПРЩЖ) I–II стадии, 15 фолликулярного рака (ФРЩЖ) I–II стадии. В качестве контроля использовали образцы тиреоидной ткани, прилежащей к опухоли. Исследования проведены у 40 женщин с ДУЗ, у 40 с ПРЩЖ, у 170 женщин (контрольная группа), у которых не было тиреоидного заболевания. Уровень экспрессии гена GSTP определяли методом мультиплексной ОТ-ПЦР, ферментативную активность GSTP – методом ВЭЖХ с использованием этакриновой кислоты в качестве субстрата. Анализ генетического полиморфизма ферментов метаболизма ксенобиотиков проводили с помощью метода ПДРФ-ПЦР, анализ мутации T1799A в гене BRAF методом аллель-специфичной ПЦР в режиме реального времени. Уровень экспрессии мРНК-21, -221, -222, -155 определяли методом ОТ-ПЦР с детекцией в реальном времени. Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы STATISTICA 9.1. Исследования соответствовали этическим стандартам биоэтического комитета ФГБУ «НИИ МББ» СО РАН.

### Результаты и обсуждение

Согласно современным представлениям канцерогенез гормонозависимых органов, в том числе щитовидной железы, во многом определяется особенностями гормонального метаболизма, с одной стороны, нарушением сигнальных клеточных путей, с другой. Поэтому для сравнения молекулярных маркеров ДУЗ и ПРЩЖ были изучены ферменты метаболизма ксенобиотиков, участвующие в метаболизме гормонов (GSTP, SULT1A1) и онкогены (BRAF, некоторые микроРНК), регулирующие, в частности, клеточную пролиферацию. Экспрессия гена GSTP повышалась при ДУЗ (n=17) в 1,4–8 раз в 70%. При ПРЩЖ (n=13), напротив, отмечено снижение в 1,5–3 раза в 80–90%. Аналогично активность этого фермента повышалась при ДУЗ (n=10) в 2–4 раза в 70%, снижалась при ПРЩЖ (n=9) в 1,5–2 раза так же в 80–90%. Такое разнонаправленное увеличение активности GSTP и экспрессии ее гена в тканях ПРЩЖ и ДУЗ можно использовать в качестве диагностического теста рака щитовидной железы с чувствительностью 83–88%, специфичностью 70–80% и диагностической точностью 76–84%. Частота соматической мутации V600E в онкогене BRAF достигала при ПРЩЖ (n=54) 70%, в то время как при ДУЗ (n=60) и при ФРЩЖ (n=15) данной мутации не выявлялось. Такая высокая частота соматической мутации V600E в онкогене BRAF (до 70%) позволяет не только диагностировать ПРЩЖ, но и осуществлять выбор адекватного метода лечения, в том числе таргетной терапии, в послеоперационном периоде. Частота встречаемости дикого аллеля G в позиции 638 и дикого генотипа G/G гена SULT1A1 (расценива-

ется как фактор риска) значительно при ПРЦЖ (отношение шансов 2,3 и 2,5 соответственно), тогда как мутантный аллель А является фактором устойчивости (отношение шансов 0,38). Выявление таких генотипов может быть использовано в скрининговом варианте. Экспрессия онкогенных микроРНК 21, 221, 222, 155 значительно (в 3–10 раз) увеличивалось при ПРЦЖ (n=26), тогда как существенных изменений в профиле экспрессии данных микроРНК при ДУЗ (n=26)

не выявлено. Этот факт может указывать на перспективность их использования в диагностических целях.

### Выводы

Представленные данные по анализируемым маркерам могут быть использованы для дифференциальной диагностики узлового зоба и рака щитовидной железы.

Стаття надійшла до редакції: 25. 07. 2013

*С. П. Шевченко<sup>1</sup>, Н. Н. Колесніков<sup>1,2</sup>, Л. Ф. Гуляєва<sup>1,3</sup>*

<sup>1</sup> *Новосибірський державний університет*

<sup>2</sup> *Інститут молекулярної і клітинної біології СО РАН*

<sup>3</sup> *Інститут молекулярної біології і біофізики СО РАН*

## ДИФЕРЕНЦІАЛЬНА ДІАГНОСТИКА РАКУ ЩИТОВИДНОЇ ЗАЛОЗИ З МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИХ ПОЗИЦІЙ

У даний час диференційна діагностика вузлових утворень щитовидної залози залишається актуальною проблемою сучасної тиреоїдології. Для діагностики злоякісних новоутворень все частіше стали використовуватися молекулярно-генетичні підходи. У даній роботі досліджувалися генетичний поліморфізм ферментів метаболізму ксенобіотиків, соматична мутація в гені BRAF, активність і експресія генів GSTP, мікроРНК в доброякісних і злоякісних новоутвореннях щитовидної залози з метою їх диференціальної діагностики. Показана різна «картина» експресії обраних маркерів, що може бути використано для диференціальної діагностики ДНЗ та раку щитовидної залози.

**Ключові слова:** рак щитовидної залози, мутація в гені BRAF, експресія GSTP, мікроРНК, диференціальна діагностика.

*S. P. Shevchenko<sup>1</sup>, N. N. Kolesnikov<sup>1,2</sup>, L. F. Gulyaeva<sup>1,3</sup>*

<sup>1</sup> *Novosibirsk State University*

<sup>2</sup> *Institute of Molecular and Cell Biology SB RAS*

<sup>3</sup> *Institute of Molecular Biology and Biophysics SB RAMS*

## DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF THYROID CANCER. MOLECULAR GENETIC POSITIONS

At the present time the differential diagnostics of nodular thyroid pathology, is a key problem of modern thyroidology. For the diagnosis and effective treatment of malignant tumors of the thyroid gland are increasingly being used molecular-genetic approaches. In this work we studied the genetic polymorphism of xenobiotics metabolizing enzymes, somatic mutation in BRAF, activity and gene expression of GSTP, microRNA in benign and malignant tumors of the thyroid gland for differential diagnostics of thyroid cancer. Different patterns of the selected markers expression were shown that can be used for diagnosis of benign and thyroid cancer.

**Keywords:** thyroid cancer, BRAF mutation, expression of GSTP, micro-RNA, differential diagnostics.