

ПЦР-ТЕСТ-СИСТЕМА В ДИАГНОСТИКЕ МЕДУЛЛЯРНОГО РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ



© А.А. Матросова*, С.В. Попов, М.В. Уткина

ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, Москва

АКТУАЛЬНОСТЬ. Медуллярный рак щитовидной железы (МРЩЖ) имеет аутосомно-доминантный тип наследования и является одной из наиболее агрессивных форм злокачественных новообразований щитовидной железы. В соответствии с клиническими рекомендациями, всем пациентам, имеющим диагноз МРЩЖ или семейный анамнез МРЩЖ или синдрома МЭН 2-го типа, рекомендовано генетическое исследование для определения герминальной мутации гена *RET* для определения прогноза заболевания. Ген *RET* расположен на 10-й хромосоме, кодирует трансмембранный рецептор тирозинкиназы. Активация данного рецептора приводит к неконтролируемой пролиферации С-клеток. Наличие герминальной мутации *RET* помогает клиницисту дифференцировать спорадические случаи и наследственные формы МРЩЖ, а отдельные варианты мутаций могут указывать на предрасположенность к определенному фенотипу и клиническому течению (например, случаи раннего выявления феохромоцитомы и первичного гиперпаратиреоза). Определение точечных соматических мутаций в гене *RET* позволяет выбрать тактику лечения МРЩЖ и назначить таргетную терапию. Целью предстоящей работы является разработка, валидация и внедрение тест-системы для выявления наиболее часто встречающихся патогенных мутаций в протоонкогене *RET*, ассоциированных с развитием МРЩЖ. Разрабатываемая тест-система основана на проведении ПЦР в реальном времени с использованием аллель-специфичных Taqman зондов, комплементарных определенным нуклеотидным последовательностям, несущим последовательность-мишень (мутацию).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. ДНК из парафиновых блоков (FFPE) и цельной крови пациентов получали с использованием набора GeneRead DNA FFPE Kit (Qiagen) и HiPure Universal DNA Kit (Magen) соответственно. Количественная и качественная оценка ДНК проводилась с использованием спектрофотометра BioSpectrometer Eppendorf. Соотношение A260/280 для всех образцов составляло не менее 1,8, A260/230 — не менее 2,0. Дизайн праймеров и зондов для детекции SNP выполнен с использованием программных инструментов Benchling.com, OligoCalc и Primer-BLAST. Молекулярно-диагностический анализ SNP проводился на приборе QuantStudio5 (Thermo Fisher Scientific).

РЕЗУЛЬТАТЫ. Произведен дизайн праймеров и зондов для детекции 6 генетических вариантов в 11, 13, 14 и 16 экзонах (rs78014899, rs75030001, rs79658334, rs78347871, rs75076352, rs377767406), приводящих к аминокислотным заменам цистеин-богатого и тирозинкиназного доменов рецептора RET выполнен. Подобраны и оптимизированы температурные и физико-химические условия для проведения ПЦР в реальном времени. Показана экономически целесообразная возможность тестирования на наличие мутаций в гене *RET* с помощью ПЦР в реальном времени с использованием Taqman зондов для детекции нескольких SNPs в пределах одного экзона. Проведен скрининг 28 гетерозиготных образцов крови и парафиновых блоков пациентов (в паре), с использованием метода секвенирования соответствующих экзонов гена *RET* по Сенгеру в качестве контроля.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. В перспективе планируется применение данной тест-системы в клинике с целью определения чувствительности к таргетной терапии селективными RET-ингибиторами для направления пациентов в клинические исследования и разработки клинических рекомендаций.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: медуллярный рак щитовидной железы; ПЦР; тест-система; мутации.

ЦИТИРОВАТЬ:

Матросова А.А., Попов С.В., Уткина М.В. ПЦР-тест-система в диагностике медуллярного рака щитовидной железы // *Эндокринная хирургия*. — 2023. — Т. 17. — №4. — С. 67. doi: <https://doi.org/10.14341/serg12890>

TO CITE THIS ABSTRACT:

Matrosova AA, Popov SV, Utkina MV. PCR test system in the diagnosis of medullary thyroid cancer. *Endocrine surgery*. 2023;17(4):67. doi: <https://doi.org/10.14341/serg12890>

*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author.

