

РАЗРАБОТКА ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ ХИМЕРНЫХ ГЕНОВ (*RET-CCDC6*, *RET-NCOA4*, *ETV6-NTRK3*) ПРИ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ ФОРМАХ РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ



© Е.С. Филипович, Е.А. Городкова, М.В. Уткина*

ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, Москва

АКТУАЛЬНОСТЬ. Рак щитовидной железы (ЩЖ) занимает пятое место в мире по распространенности (Jemal, et al, 2010 г.). Рост заболеваемости почти полностью обусловлен наиболее распространенным гистологическим типом — папиллярным раком ЩЖ (EER Cancer Statistics Review, 2017 г.). Химерные гены слияния играют важную роль как в этиологии, так и в патогенезе рака и рассматриваются в качестве потенциальных диагностических и прогностических маркеров и возможных терапевтических мишеней. Наличие химерных генов — слияний (fusion): *RET-CCDC6*, *RET-NCOA4*, *ETV6-NTRK3* в биологических пробах является специфичным для карцином ЩЖ папиллярного типа (Nakazawa T, et al, 2005 г.), в связи с чем обнаружение данных альтераций является достоверным указанием на наличие папиллярного рака ЩЖ. Своевременная и точная диагностика позволит определить причину на начальном этапе проявления заболевания, дифференцировать доброкачественные и злокачественные узлы, лимфомы ЩЖ и метастазы в нее.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. В качестве биоматериала использовались FFPE-блоки с дифференцированными формами рака ЩЖ. Из FFPE была выделена тотальная РНК, была амплифицирована кДНК с помощью гексамеров. Была проведена кПЦР. Реакционная смесь содержала кДНК, TaqMan-зонды, смесь 1X qPCRmix-HS (Евроген, Россия), прямой и обратный праймеры. TaqMan-зонды подбирались по свечению на участок хромосомной перестройки с участием гена *RET* (*RET/PTC1*: [VIC] CCAGCGTKACCATCGAGGATCCA (BHQ2); *RET/PTC3*: [VIC] AAAGCAGACCTTGAGAACAGTCAGGAGG (BHQ2); *ETV6-NTRK3*: [VIC] GCCCATTTGGGAGAATAGCAGATGTGC (BHQ2)). Были подобраны специфические праймеры на каждую перестройку *RET/PTC1*: прямой — 5'TGCAGGAGGAGAACC3', обратный — 5'GAACCAAGTCTCCGAGGGA3'; *RET/PTC3*: прямой — 5'CCCCAGGACTGGTTACCC3', обратный — 5'GAACCAAGTCTCCGAGGGA3'; *ETV6-NTRK3*: прямой — 5'CTGTCTCCCCGCCTGAAGA3', обратный — 5'TTCTCGCTTCAGCACGATGT3'. кПЦР проводили в амплификаторе QuantStudio 5 (Thermo Scientific, США) по программе: 95 °C в течение 5 мин, 40 циклов при 95 °C в течение 10 с, 60 °C в течение 10 с, 72 °C в течение 10 с. Для внутреннего контроля прохождения ПЦР использовали прямой и обратный праймеры, TaqMan-пробу для измерения уровня экспрессии гена *GAPDH* (эндогенный контроль).

РЕЗУЛЬТАТЫ. Выделенная РНК из FFPE всех образцов имела индекс DV200 более 50%. Амплификация целевого гена наблюдалась в канале VIC/JOE. Результаты регистрировались как отрицательные, если не было сигмоидальной кривой и >35, и как положительные, если была сигмоидальная кривая с <35. Положительные образцы были повторно проверены секвенированием по Сэнгеру с прямого и обратного праймера, все химерные гены подтвердились. У проб с отрицательным контролем (mQ) не было обнаружено сигмоидальной кривой. Во всех образцах на 30–32 циклах поднимался *GAPDH*. Перестройка *RET/PTC1* была обнаружена в трех образцах. Перестройка *RET/PTC3* была обнаружена в трех образцах. Перестройка *ETV6-NTRK3* была обнаружена в одном образце.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Было подтверждено, что у пяти из шести пациентов с перестройками была диагностирована папиллярная карцинома, и у одного фолликулярная аденома.

Полученные результаты показывают, что разработанная тест-система с достаточно высокой точностью (100%) может выявлять экспрессию химерных генов — слияний (fusion): *RET-CCDC6*, *RET-NCOA4*, *ETV6-NTRK3*.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: папиллярный рак щитовидной железы; *RET/PTC3*; *RET/PTC1*; *ETV6-NTRK3*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. EER Cancer Statistics Review, 1975–2014. Bethesda: National Cancer Institute; 2017
2. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer Statistics, 2010
3. Nakazawa T, et al. RET gene rearrangements (*RET/PTC1* and *RET/PTC3*) in papillary thyroid carcinomas from an iodine-rich country (Japan) // *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*. – 2005. – Т. 104. – №5. – С. 943–951

ЦИТИРОВАТЬ:

Филипович Е.С., Городкова Е.А., Уткина М.В. Разработка тест-системы для обнаружения химерных генов (*RET-CCDC6*, *RET-NCOA4*, *ETV6-NTRK3*) при дифференцированных формах рака щитовидной железы // *Эндокринная хирургия*. — 2023. — Т. 17 — №4. — С. 100. doi: <https://doi.org/10.14341/serg12919>

TO CITE THIS ABSTRACT:

Filipovich ES, Gorodkova EA, Utkina MV. Development of a test system for the detection of chimeric genes (*RET-CCDC6*, *RET-NCOA4*, *ETV6-NTRK3*) in differentiated forms of thyroid cancer. *Endocrine surgery*. 2023; 17(4):100. doi: <https://doi.org/10.14341/serg12919>

*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author.

