



Москва / 22-23 ноября 2023

II Конференция по онкоэндокринологии  
и аутоиммунным эндокринным заболеваниям

Филипович Е.С.<sup>1</sup>, Городкова Е.А.<sup>1</sup>, Уткина М.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России



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

**ВВЕДЕНИЕ.** Рак щитовидной железы (ЩЖ) занимает пятое место в мире по распространенности (Jemal et al., 2010). Рост заболеваемости почти полностью обусловлен наиболее распространенным гистологическим типом – папиллярным раком ЩЖ (EER Cancer Statistics Review, 2017). 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), 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-NS (Евроген, Россия), прямой и обратный праймеры. TaqMan-зонды подбирались по свечению на участок хромосомной перестройки с участием гена *RET*. Были подобраны специфические праймеры на каждую перестройку *RET/PTC1*, *RET/PIC3*, *ETV6-NTRK3*. 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 праймер, 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  $C_q > 35$ , и как положительные, если была сигмоидальная кривая с  $C_q < 35$ . Положительные образцы были повторно проверены секвенированием по Сенгеру 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*.

**КОНТАКТЫ.** Уткина Марина Валерьевна, старший научный сотрудник лаборатории общей, молекулярной и популяционной генетики ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, Москва, Россия  
Телефон: +7 (915)-057-77-78  
E-mail: Utkina.Marina@endocrincentr.ru