

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
“ПОЛЕССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ”

Кафедра биотехнологии

Допущено к защите

Заведующий кафедрой

_____ Е.М. Волкова

_____ 2022

ДИПЛОМНАЯ РАБОТА

на тему:

**«ОЦЕНКА ПРОГНОСТИЧЕСКОГО ЗНАЧЕНИЯ МИКРОРНК У ПАЦИЕНТОВ
С МЕЛАНОМОЙ КОЖИ»**

**(на базе ГУ «РНЦ онкологии и медицинской
радиологии им. Н.Н. Александрова»)**

Студент
5 курс, гр. 17НПД-1з

(подпись)

Тертица Наталья Андреевна
_____ 2022

Научный руководитель
доцент кафедры
биотехнологии, кандидат
биологических наук,
доцент

(подпись)

Безручёнок Николай Николаевич
_____ 2022

РЕФЕРАТ

Дипломная работа: 47 страниц, 3 рисунка, 11 таблиц, 35 источников.

Ключевые слова: МЕЛАНОМА КОЖИ, МИКРОРНК, ОПУХОЛЕВАЯ ТКАНЬ, МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.

Объект исследования: образцы опухолевой ткани пациентов с меланомой кожи.

Предмет исследования: влияние уровня экспрессии микроРНК на прогноз заболевания у пациентов с меланомой кожи.

Цель работы: оценить прогностическое значение микроРНК при меланоме кожи.

Задачи:

1. Изучить вопросы эпидемиологии меланомы кожи.
2. Адаптировать методику определения уровня экспрессии микроРНК в образцах меланомы кожи с использованием технологии обратнo-транскрибируемой полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР).
3. Выявить прогностически значимые клинико-морфологические факторы прогрессирования меланомы.
4. Оценить молекулярный профиль экспрессии микроРНК в группах пациентов с меланомой кожи.

Методы исследований: обратнo-транскрибируемая полимеразная цепная реакция (ОТ-ПЦР).

Полученные результаты и их новизна. Проведена амплификация в режиме реального времени фрагментов комплементарной ДНК (кДНК) генов микроРНК с использованием геноспецифичных олигонуклеотидных праймеров. Определен перечень факторов неблагоприятного прогноза меланомы кожи после проведенного радикального лечения, который включает: уровень экспрессии микроРНК-21 ниже -0,98 отн. ед., микроРНК-181 ниже 5,82 отн. ед., микроРНК-182 выше 11,31 отн. ед., микроРНК-200b выше 7,11 отн. ед., микроРНК-214 выше 5,77 отн. ед. Разработка прогностической панели микроРНК является новым направлением в лечении пациентов с меланомой кожи.

Степень использования: определение прогноза заболевания на основе профиля aberrантной экспрессии панели микроРНК с целью индивидуализации лечебной тактики и диспансерного наблюдения у пациентов с меланомой кожи.

Область применения: медицина, онкология, лабораторная диагностика.

ABSTRACT

Thesis: 47 pages, 3 figures, 11 tables, 35 sources.

Keyword: skin melanoma, microRNA, tumour tissue, MOLECULAR-GENETIC STUDIES.

Object of research: samples of tumour tissue from patients with melanoma of the skin.

Subject of research: impact of microRNA expression level on disease prognosis in patients with skin melanoma.

Purpose of work: assess the prognostic value of microRNAs in skin melanoma.

Tasks:

1. To explore the epidemiology of melanoma of the skin.
2. To adapt a methodology for determining microRNA expression levels in skin melanoma samples using reverse transcribed polymerase chain reaction (RT-PCR) technology.
3. To identify prognostically relevant clinical and morphological factors of melanoma progression.
4. To evaluate the molecular profile of microRNA expression in groups of patients with skin melanoma.

Research methods: quantitative polymerase chain reaction (PCR); fluorescence method; molecular genetic method.

The results obtained and their novelty. Real-time amplification of complementary DNA (cDNA) fragments of microRNA genes using gene-specific oligonucleotide primers was performed. A list of adverse prognostic factors for melanoma of the skin after radical treatment was determined and included: microRNA-21 expression level below -0.98 r.U, microRNA-181 below 5.82 r.U, microRNA-182 above 11.31 r.U, microRNA-200b above 7.11 r.U, microRNA-214 above 5.77 r.U. The development of a microRNA prognostic panel is a new direction in the treatment of patients with skin melanoma.

Degree of use: determination of disease prognosis based on the aberrant expression profile of the microRNA panel in order to individualise treatment tactics and follow-up in patients with skin melanoma.

Field of application: medicine, molecular genetics laboratories.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	9
1.1 Меланома кожи: молекулярно-генетические маркеры.....	9
1.2 Молекулярный патогенез меланомы кожи	12
1.3 МикроРНК как эпигенетические регуляторы экспрессии генов	15
1.4 Спектр экспрессии микроРНК и их использование в качестве диагностических биомаркеров	17
1.5 Современный взгляд на лечение метастатической меланомы кожи.....	24
1.5.1 Методы лечения опухолей, основанные на микроРНК	25
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	28
2.1 Клиническая характеристика пациентов, включенных в исследование	28
2.2 Методы исследования	29
2.2.1 Выделение общей фракции РНК из опухолевой ткани, заключенной в парафиновые блоки	30
2.2.2 Постановка реакции обратной транскрипции	32
2.2.3 Постановка полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени	33
2.2.4 Анализ результатов уровня экспрессии микроРНК	35
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	36
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	42
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	44