

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

ПИНСК 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

<b>ВВЕДЕНИЕ .....</b>	<b>6</b>
<b>ГЛАВА 1. АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....</b>	<b>9</b>
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
<b>ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ .....</b>	<b>28</b>
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
<b>ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ .....</b>	<b>36</b>
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....</b>	<b>42</b>
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ .....</b>	<b>44</b>