

СТОМАТОЛОГІЯ

DOI 10.31718/2077-1096.20.1.149

УДК 616.316-006.55-076:577.214/.215

Бродецький І.С., Маланчук В.О., Досенко В.Є.

ВИКОРИСТАННЯ 29А МІКРОРНК ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ ПЛЕОМОРФНИХ АДЕНОМ СЛИННИХ ЗАЛОЗ

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ

Вступ. Найбільш поширеною пухлиною слинних залоз залишається плеоморфна аденома – 60-90 % усіх доброякісних пухлин слинних залоз. Сучасним генетичним напрямом в діагностиці пухлин слинних залоз є вивчення ролі молекул мікроРНК. Найбільший інтерес серед них становить проапоптозна мікроРНК - 29а. Вона експресується у 84 % плеоморфних аденом слинних залоз. Мета дослідження. Визначення експресії 29а мікроРНК в тканинах плеоморфних аденом великих слинних залоз, прилеглих до пухлини тканині слинної залози, інтактній тканині слинної залози, що не мала зв'язку з пухлиною та венозній крові. Матеріали і методи. Матеріалом обстеження було 20 хворих з доброякісними пухлинами великих слинних залоз (плеоморфні аденоми). Експресію 29а-мікроРНК оцінювали за допомогою зворотної транскрипції та кількісної ланцюгової реакції полімерази (qPCR) у режимі реального часу. Результати дослідження. Проведений аналіз рівня експресії 29а мікроРНК виявив, що серед 4-ох груп показників (тканина пухлини, прилегла до пухлини тканина слинної залози, інтактна тканина слинної залози, що не мала зв'язку з пухлиною та венозна кров) у хворих з плеоморфними аденомами великих слинних залоз найбільша експресія відмічалась у групі - прилегла до пухлини тканина слинної залози (111,93±56,97 проти 8,12±4,4). При проведенні кореляційного аналізу хворих з плеоморфними аденомами великих слинних залоз з різними фрагментами біопсійного матеріалу ми виявили, що рівень експресії 29а мікроРНК мав статистично-значущу різницю лише в одній групі (прилегла залоза - інтактна тканина слинної залози). Висновки. Достатньо високий рівень експресії 29а мікроРНК в тканинах пухлин плеоморфних аденом великих слинних залоз у порівнянні з нормою (інтактна тканина слинної залози) – в 10 разів може використовуватись як генетичний маркер для верифікації цього виду пухлин. Проведені дослідження біопсійного матеріалу від хворих з плеоморфними аденомами великих слинних залоз на генетичному рівні (за експресією 29а мікроРНК), ще раз підтверджують, необхідність не тільки енуклеації пухлини (часткової паротидектомії), але й проводити субтотальну резекцію з видаленням прилеглої до пухлини слинної залози.

Ключові слова: плеоморфні аденоми, генетичні дослідження, 29а мікроРНК, апоптоз, кореляційний аналіз.

Вступ

Більшість випадків пухлин слинних залоз є доброякісними, а лише 20% - злоякісні [1]. Вони виникають у осіб старше 60 років, з рівним розподілом за статтю [2]. Пухлини слинних залоз показують високий рівень фенотипизму, біологічної та клінічної гетерогенності. Вони виникають у великих та малих слинних залозах, причому у 80 % зустрічаються в привушних слинних залозах, де 40 % пухлин є злоякісними [3].

Найбільш поширеною пухлиною слинних залоз залишається плеоморфна аденома – 60-90 % усіх доброякісних пухлин слинних залоз [4]. Вона має типову клінічну картину, що не викликає труднощів в діагностиці у сучасного лікаря. Не дивлячись на це, помилки в діагностиці цієї пухлини (відсутність співпадіння клінічного та патогістологічного діагнозів) залишаються достатньо високими – до 41,81 % [5]. Вищезазначені фактори спонукають науковців та лікарів звертатися до більш сучасних методів діагностики пухлин – імуногістохімічних та генетичних.

Імуногістохімія пухлин слинних залоз, а і зок-

рема ПА (плеоморфної аденоми) розвивається достатньо швидко. На сьогодні відомо вже достатня кількість різноманітних прогностичних маркерів плеоморфної аденоми: етіологічні - ПЛАГ 1 (ген плеоморфної аденоми №1), вірусні - ВПЛ (вірус папіломи людини) та ЕБВ (Епштейн-Бар вірус), гормональні – естрогени, прогестерон та ін. [6].

Сучасним генетичним напрямом в діагностиці пухлин є вивчення ролі молекул мікроРНК. МікроРНК - це малі некодуючі РНК, які складаються з 21-23 нуклеотидів та виявляються в усіх еукаріотичних клітинах. На сьогодні відомо близько 2588 мікроРНК. Фактично в 2014 році була створена єдина база мікроРНК, яка налічує 2588 мікроРНК людини, та 1915 мікроРНК мишей. Також було відмічено, що мікроРНК регулює приблизно 60 % людських генів [7]. Вони регулюють такі біологічні процеси, як контроль клітинного циклу [8], апоптоз [9], метаболізм [10] розвиток та диференціацію клітин [11]. А також втягнуті в розвиток різноманітних захворювань, таких як невродегенеративні [12] та метаболічні розлади [13], рак [14].

МікроРНК відповідають за постраскрипційну експресію генів та поділяються на дві групи – проапоптозні (miR15a, miR-16-1, miR-29, miR-34a, miR-34b, miR-34c, miR-1, та miR-214) та антиапоптозні (miR-17-5p, miR-20a, miR-21, miR-133, miR146a, miR-146b, miR-191, miR-14, miR-1d, miR-7, miR-148, miR-204, miR-210, miR-216, miR-296, and miR-Lat). Найбільший інтерес серед них становить проапоптозна мікроРНК - 29a. Ця мікроРНК експресується у 84 % плеоморфних аденом слинних залоз [15]. Так, Ксіонг та ін. [16] припустили, що при гепатоцелюлярній карциномі miR-29 може сприяти апоптозу через мітохондріальний шлях, що включає MCL1 і BCL2 білки. За іншою думкою, Кіношита та ін. [17] запропонували роль супресора пухлини для miR-29a при плоскоклітинній карциномі голови та шиї через їх здатність до пригнічення інвазії пухлинних клітин.

Втім, є лише одна наукова робота в якій для визначення експресії 29a мікроРНК використовували лише біоптат пухлини, порівнюючи рівень експресії обох молекул між аденокарциномами та плеоморфними аденомами з відсутністю контрольної групи [15]. Статей, які би описували експресію, саме 29a мікроРНК у інших біоптатах, окрім пухлини, - прилегла до пухлини тканина слинної залози, інтактна залоза (група контролю), та кров відсутні. Це й обумовило мету нашого дослідження.

Мета дослідження

Визначення експресії 29a мікроРНК в тканинах плеоморфних аденом великих слинних залоз, прилеглих до пухлини тканині слинної залози, інтактній тканині слинної залози, що не мала зв'язку з пухлиною та венозній крові.

Матеріали та методи дослідження

Матеріалом обстеження було 20 хворих з доброякісними пухлинами великих слинних залоз (привушні – 18 (90%) та підщелепні – 2 (10%)) – плеоморфні аденоми. Чоловіки склали – 5 (25%), жінки – 15 (75%). Середній вік хворих – 39,7±14,91. Усі хворі пройшли загальноклінічні обстеження (лабораторні, КТ або МРТ, УЗД).

Загальну РНК виділили з тканин доброякісних пухлин (плеоморфні аденоми) великих слинних залоз (тканина пухлини, прилегла до пухлини тканина слинної залози, інтактна тканина слинної залози, що не мала зв'язку з пухлиною) та венозній крові методом екстракції фенол-хлороформ. Потім ми виміряли концентрацію та чистоту РНК спектрофотометром ND1000 (NanoDrop Technologies Inc, США).

Експресію MicroRNA-29a оцінювали за допомогою зворотної транскрипції та кількісної ланцюгової реакції полімерази (qPCR) у режимі реального часу. Зворотну транскрипцію проводили за допомогою набору зворотної транскрипції TaqMan MicroRNA (Applied Biosystems, США) зі специфічним праймером для мікроРНК та 10 нг

загальної РНК. У реальному часі були використані аналізи мікроРНК qPCR TaqMan (Applied Biosystems, США): U6 snRNA, ID 001973 (як ендогенний контроль), hsa-miR-29a, аналіз ID002447 (Applied Biosystems, США). Температурні цикли були такими: стадія початкової денатуралізації 95 ° C 10 хв; 50 циклів 95 ° C - 15 сек та 60 ° C - 60 сек. Рівень експресії мікроРНК нормалізувався до U6 snRNA та був представлений у відносних одиницях (RU). Ампліфікацію проводили за допомогою ПЛР у режимі реального часу 7500Fast (Applied Biosystems, США). Отримані результати були проаналізовані за допомогою програмного пакету ПЛР у режимі реального часу 7500Fast та представлені у вигляді графіків та діаграм.

Статистичний аналіз

Аналіз даних був проведений за допомогою статистичного середовища R (версії 3.5). Усі кількісні фактори були перевірені щодо нормальності розподілу даних за допомогою тесту Колмогорова-Смірнова. Тест Левеня був використаний для перевірки рівності дисперсій між групами. Для з'ясування відмінностей між середніми значеннями в групах був застосований однофакторний дисперсійний аналіз (One way ANOVA) для змінних, у яких простежувалась рівність дисперсій між групами, а також тести Уелча та Брауна-Форсайта у випадку, коли дисперсії суттєво відрізнялись. Апостеріорні тести Бонфероні були використані для корекції множинності тестів. Кореляційний аналіз із використанням коефіцієнту кореляції Пірсона (r) застосовувався для оцінки зв'язку між кількісними змінними. Статистично значущими результати вважались при $p < 0.05$.

Результати дослідження та їх обговорення

Описова статистика рівня експресії 29a мікроРНК по групах (тканина пухлини, прилегла до пухлини тканина слинної залози, інтактна тканина слинної залози, інтактна тканина слинної залози, що не мала зв'язку з пухлиною) наведені у таблиці №1.

Таблиця 1

Групи біологічних тканин	Кількість (n)	Середнє значення	Стандартне відхилення	Стандартна похибка
Інтактна залоза	17	8,12	18,17	4,4
Пухлина	20	80,58	167,70	37,49
Прилегла залоза	13	111,93	205,43	56,97

Для оцінки рівності дисперсій у рівні експресії 29a мікроРНК між групами був використаний тест Левеня. Результати тесту Левеня наведені у таблиці №2.

Таблиця 2

Критерій Левеня	Статистична значущість
3.35	.022

Оскільки дисперсії між групами не рівні ($p < 0.05$), різниця між середніми значеннями рівня експресії 29а мікроРНК буде проаналізована за допомогою тестів Уелча та Брауна Форсайта, результати яких наведені у таблиці № 3.

Таблиця №3

	Статистична значущість
Тест Уелча	$p < 0.05$
Тест Брауна-Форсайта	$p < 0.05$

Таблиця 4

Групи порівняння	Різниця в середніх	Статистична значущість
Прилегла залоза - інтактна тканина слинної залози	103.81	$p < 0.05$

Як видно з результатів застосування однофакторного дисперсійного аналізу, ми виявили статистично-значущу різницю в рівні експресії 29а мікроРНК.

Для з'ясування, які самі групи відрізнялись між собою, нами були використані корекція на

множинність тестів Бонфероні. Результати наведені у таблиці № 4.

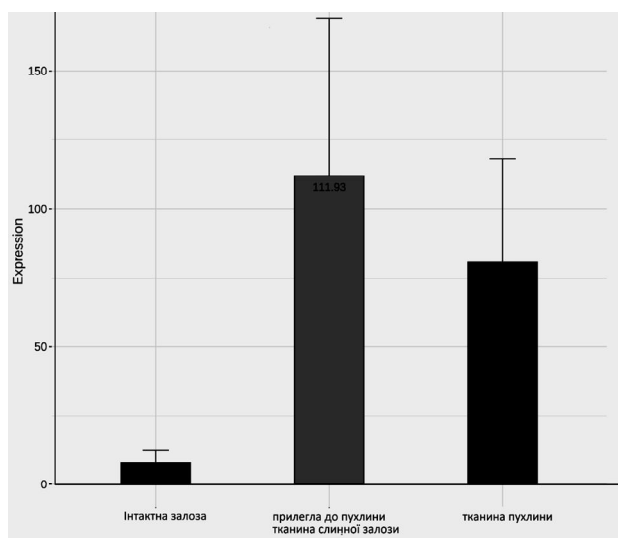
Отже, ми виявили, що рівень експресії 29а мікроРНК статистично-значущо відрізнявся лише в групі (прилегла залоза - інтактна тканина слинної залози).

Також було проведено визначення рівня експресії 29а мікроРНК в крові.

Таблиця 5

Групи біологічних тканин	Кількість (n)	Середнє значення	Стандартне відхилення	Стандартна похибка
Кров за 29а мікроРНК	13	4,31	4,6	1,32

Як, видно з нижче приведених даних таблиці 1 та 5, рівень експресії 29а мікроРНК є нижчим ніж в групі - інтактна залоза. Таким чином, використання крові, як діагностичного маркеру для ПА за 29а мікроРНК не є можливим.



Рівень експресії 29а мікроРНК наведений на рисунку 1.

Таким чином, проведений аналіз рівня експресії 29а мікроРНК виявив, що серед 4-ох груп показників (тканина пухлини, прилегла до пухлини тканина слинної залози, інтактна тканина слинної залози, що не мала зв'язку з пухлиною та венозна кров) у хворих з ПА великих слинних залоз найбільша експресія відмічалась у групі - прилегла до пухлини тканина слинної залози (111,93±56,97 проти 8,12±4,4).

Результати та їх обговорення

Генетичні дослідження – перспективний метод обстеження, який набирає оберти в сучасній науці та медицині. Серед його переваг можна виокремити не тільки можливість провести верифікацію пухлин різної локалізації, а й розробити новітні фармакологічні засоби лікування пухлин [18].

В діагностиці ПСЗ (пухлин слинних залоз) можна використовувати велику кількість молекул мікроРНК від 22 до 95, що значно розширює діа-

пазон верифікації ПСЗ та дає можливість створити різні групи лікарських засобів, впливаючи на різні ланки пухлиногенезу [19]. Серед більшості мікроРНК для ПСЗ значний інтерес становлять ті молекули, які відповідають за контроль апоптозу (проапоптозні) - miR15a, miR-16-1, miR-29, miR-34a, miR-34b, miR-34c, miR-1, та miR-214.

Проведений нами аналіз рівня експресії 29а мікроРНК серед пацієнтів з ПА великих слинних залоз показав, що найбільша експресія спостерігалась у прилеглий до пухлини тканині слинної залози, що майже в 10 разів була більшою, ніж у тканині інтактної залози, що не межувала з пухлиною (111,93±56,97 проти 8,12±4,4). А рівень експресії 29а мікроРНК в тканинах пухлини був більшим в 10 разів, ніж у тканині інтактної залози (80,58±37,49 проти 8,12±4,4). Аналіз даних Flores et al. 2017р. показав експресію мікроРНК 29а в тканинах пухлини на рівні 6 (умовних оди-

ниць) [15]. Якщо ж порівнювати ці дві групи (прилегла до пухлини тканина слинної залози та тканина пухлини), то різниця між ними наближується до 1,37 рази для 29а мікроРНК ($111,93 \pm 56,97$ проти $80,58 \pm 37,49$). Таке підвищення експресії 29а мікроРНК у тканинах залози прилеглої до пухлини може бути пов'язано із захисною (стримуючою) функцією організму, щодо розповсюдження пухлинних клітин на оточуючі тканини слинної залози. 29а мікроРНК відноситься до проапоптозних, таким чином посилення апоптозу може бути одним із стримуючих факторів поширення пухлин. З іншої сторони підвищення процесів проліферації та диференціації клітин у прилеглий до пухлини слинній залозі є проявом підвищеної активності (метаболізму) клітин залози і одним із проявів переродження та трансформації їх у пухлинний компонент. Ці дослідження ще раз підтверджують на генетичному рівні необхідність не тільки енуклеації пухлини (часткової паротидектомії), але й проводити субтотальну резекцію з видаленням прилеглої до пухлини слинної залози, поза як окрім бар'єрної функції (підвищений апоптоз в цій ділянці), відбуваються активні проліферативні зміни. Такий показник біоматеріалу, як кров, показав рівень експресії 29а мікроРНК нижче по відношенню до норми (інтактна залоза) ($4,317 \pm 1,329$ проти $8,12 \pm 4,4$) та не є статистично достовірним, а отже не може бути діагностичним критерієм для генетичної верифікації ПА на доопераційному етапі. В свою же чергу, достатньо високий рівень експресії 29а мікроРНК у тканинах пухлини ПА великих слинних залоз у порівнянні з нормою (інтактна тканина слинної залози) ($80,58 \pm 37,49$ проти $8,12 \pm 4,4$), може бути використаний як генетичний маркер для верифікації (ідентифікації) цього виду пухлин. Високий рівень експресії проапоптозної 29а мікроРНК в прилеглий до пухлини тканині слинної залози у хворих з ПА великих слинних залоз у порівнянні з нормою (інтактна тканина слинної залози) ($111,93 \pm 56,97$ проти $8,12 \pm 4,4$) свідчить про ураження пухлинними клітинами цієї ділянки слинної залози, а отже може бути однією з причин рецидиву та прогресування росту пухлини.

Не дивлячись на підвищення вмісту проапоптозної 29а мікроРНК у пухлині та прилеглий до пухлини тканині залози, розвиток пухлини продовжується. Таким чином, виникає питання, чому при підвищенні в 10 разів вмісту мікроРНК в пухлині в порівнянні з нормою, протипухлинні механізми людини, зокрема і апоптоз, не спричиняють регрес пухлини? Можливою відповіддю на це питання є наявність додаткових механізмів захисту у самій пухлині, що самовдосконалюється та адаптується в організмі людини. Як правило, злоякісні пухлини пригнічують процес апоптозу, зменшуючи експресію більшості проапоптозних мікроРНК, що дозволяє швидко рости, прогресувати пухлині та сприяючи швидкій інвазії на сусідні ділянки. Можна припустити, що ви-

сокий вміст проапоптозних мікроРНК в доброякісних пухлинах ПА, свідчить про активні захисні механізми організму стримуючи активний ріст пухлини. Клінічно це виражається в повільному рості пухлини протягом тривалого часу, повільній інвазії на сусідні ділянки інтактної залози.

Таким чином, проведення генетичного дослідження плеоморфних аденом слинних залоз із використанням 29а мікроРНК дозволяє визначити можливі шляхи впливу цього маркера на патогенез плеоморфних аденом та підтверджує, на генетичному рівні, необхідність проведення субтотальної резекції слинної залози.

Висновки

1. Проведений аналіз рівня експресії 29а мікроРНК в крові є нижче по відношенню до норми (інтактна залоза) в 1,88 разів, а отже не може бути діагностичним критерієм для генетичної верифікації ПА на доопераційному етапі. Тому для визначення експресії 29а мікроРНК необхідно використовувати лише тканини біопсійного матеріалу пухлини.

2. Достатньо високий рівень експресії 29а мікроРНК в тканинах пухлини ПА великих слинних залоз у порівнянні з нормою (інтактна тканина слинної залози) – в 10 разів може бути використаний як генетичний маркер для верифікації (ідентифікації) цього виду пухлин.

3. При проведенні кореляційного аналізу хворих з ПА великих слинних залоз з різними фрагментами біопсійного матеріалу ми виявили, що рівень експресії 29а мікроРНК мав статистично-значущу різницю лише в одній групі (прилегла залоза - інтактна тканина слинної залози).

4. Проведені дослідження біопсійного матеріалу від хворих з ПА великих слинних залоз на генетичному рівні (за експресією 29а мікроРНК), ще раз підтверджують, необхідність не тільки енуклеації пухлини (часткової паротидектомії), але й проводити субтотальну резекцію з видаленням прилеглої до пухлини слинної залози.

Література

- To VS, Chan JY, Tsang RK, Wei WI. Review of salivary gland neoplasms. ISRN Otolaryngol. 2012 Feb 16; 2012:872982. doi: 10.5402/2012/872982.
- Licitra L, Grandi C, Prott FJ, Schornagel J H, Bruzzi P, Molinari R. Major and minor salivary glands tumours. Critical Reviews in Oncology/Hematology. 2003;45(2): 215–225. [https://doi.org/10.1016/S1040-8428\(02\)00005-7](https://doi.org/10.1016/S1040-8428(02)00005-7).
- Adelstein DJ, Koyfman SA, El-Naggar AK, Hanna EY. Biology and management of salivary gland cancers. Seminars in Radiation Oncology. 2012; 22(3):245–253. <https://doi.org/10.1016/j.semradonc.2012.03.009>.
- Matjakin EG, Drobyshch A Ju, Azizjan RI. Recidivy smeshannyh opuholej okoloushnyh sljunnyh zhelez [relapses of mixed salivary gland tumors]. Stomatologija. 2010; 89(1):75–77. (Russian).
- Brodetskyi IS, Malanchuk VO. Analysis of archive material of patients with salivary gland neoplasms according to the department of O.O. Bogomolets National Medical University for the last five years. J Stoma 2019; 72, 2: 70–76. doi:10.5114/jos.2019.86986.
- Brodetskyi IS, Malanchuk VO, Krotevych MS. Healthy Aging Research. 2019; 8:1-6. DOI: 10.35248/har.2019.8.09.
- Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. Cell. 2009, 23;136(2):215–33. doi: 10.1016/j.cell.2009.01.002.
- Carleton M, Cleary MA, Linsley PS. MicroRNAs and cell cycle regulation. Cell Cycle 2007;6:2127e32. DOI: 10.4161/cc.6.17.4641.

9. Jovanovic M, Hengartner MO. miRNAs and apoptosis: RNAs to die for. *Oncogene* 2006;25:6176e87. DOI: 10.1038/sj.onc.1209912.
10. Boehm M, Slack FJ. MicroRNA control of lifespan and metabolism. *Cell Cycle* 2006;5:837e40. DOI: 10.4161/cc.5.8.2688.
11. Harfe BD. MicroRNAs in vertebrate development. *Curr Opin Genet Dev* 2005;15:410e5. DOI: 10.1016/j.gde.2005.06.012.
12. Jin P, Alisch RS, Warren ST. RNA and microRNAs in fragile X mental retardation. *Nat Cell Biol* 2004;6:1048e53. DOI: 10.1038/ncb1104-1048.
13. Poy MN, Eliasson L, Krutzfeldt J, Kuwajima S, Ma XS, MacDonald PE, et al. A pancreatic islet-specific microRNA regulates insulin secretion. *Nature* 2004;432:226e30. DOI: 10.1038/nature03076.
14. Lu J, Getz G, Miska EA, Alvarez-Saavedra E, Lamb J, Peck D, et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature* 2005;435:834e8. DOI: 10.1038/nature03702.
15. Flores BC, Lourenço SV, Damascena AS. Altered expression of apoptosis-regulating miRNAs in salivary gland tumors suggests their involvement in salivary gland tumorigenesis. *Virchows Arch* 2017;470(3):291-299. doi: 10.1007/s00428-016-2049-z.
16. Xiong Y, Fang JH, Yun JP, Yang J, Zhang Y, Jia WH et al. Effects of microRNA-29 on apoptosis, tumorigenicity, and prognosis of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2010; 51(3):836–845. DOI: 10.1002/hep.23380.
17. Kinoshita T, Nohata N, Hanazawa T, Kikkawa N, Yamamoto N, Yoshino H, et al. Virchows Arch Seki N. Tumour-suppressive microRNA-29s inhibit cancer cell migration and invasion by targeting laminin-integrin signalling in head and neck squamous cell carcinoma. *Br J Cancer*. 2013; 109: 2636–45. DOI:10.1038/bjc.2013.607
18. Acunzo M, Romano G, Wernicke D, Croce CM. MicroRNA and cancer—a brief overview. *Adv Biol Regul*. 2015; 57:1-9. doi: 10.1016/j.jbior.2014.09.013.
19. Denaro M, Navari E, Ugolini C, Seccia V, Donati V, Casani AP, et al. A microRNA signature for the differential diagnosis of salivary gland tumors. *PLoS ONE*. 2019; 14(1): e0210968. Doi:10.1371/journal.pone.0210968

Реферат

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ 29А МИКРОРНК ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ПЛЕОМОРФНЫХ АДЕНОМ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ

Бродецкий И. С., Маланчук В. А., Досенко В. Е.

Ключевые слова: плеоморфные аденомы, генетические исследования, 29а микроРНК, апоптоз, корреляционный анализ.

Вступление. Наиболее распространенной опухолью слюнных желез остается плеоморфная аденома - 60-90% всех доброкачественных опухолей слюнных желез. Современным генетическим направлением в диагностике опухолей слюнных желез является изучение роли молекул микроРНК. Наибольший интерес среди них представляет проапоптотная микроРНК - 29а. Она экспрессируется в 84% плеоморфных аденом слюнных желез.

Цель исследования. Определение экспрессии 29а микроРНК в тканях плеоморфных аденом больших слюнных желез, прилегающей к опухоли ткани слюнной железы, интактной ткани слюнной железы, которая не имела связи с опухолью и венозной крови.

Материалы и методы. Материалом обследования было 20 больных с доброкачественными опухолями больших слюнных желез (плеоморфные аденомы). Экспрессию 29а-микроРНК оценивали с помощью обратной транскрипции и количественной полимеразной цепной реакции (qPCR) в режиме реального времени.

Результаты исследования. Проведенный анализ уровня экспрессии 29а микроРНК обнаружил, что среди 4-х групп показателей (ткань опухоли, прилегающая к опухоли ткань слюнной железы, интактная ткань слюнной железы, которая не имела связи с опухолью и венозная кровь) у больных с плеоморфными аденомами больших слюнных желез самая большая экспрессия отмечалась в группе - прилегающая к опухоли ткань слюнной железы (111,93±56,97 против 8,12±4,4). При проведении корреляционного анализа больных с плеоморфными аденомами больших слюнных желез с различными фрагментами биопсионного материала мы обнаружили, что уровень экспрессии 29а микроРНК имел статистически значимую разницу только в одной группе (прилегающая железа - интактная ткань слюнной железы).

Выводы. Достаточно высокий уровень экспрессии 29а микроРНК в тканях опухолей плеоморфных аденом больших слюнных желез по сравнению с нормой (интактная ткань слюнной железы) - в 10 раз может быть использован как генетический маркер для верификации этого вида опухолей. Проведенные исследования биопсионного материала от больных с плеоморфными аденомами больших слюнных желез на генетическом уровне (по экспрессии 29а микроРНК), еще раз подтверждают, необходимость не только энуклеации опухоли (частичной паротидэктомии), но и проводить субтотальную резекцию с удалением прилегающей к опухоли слюнной железы.

Summary

USE OF 29A MICRO-RNA FOR DIAGNOSIS OF PLEOMORPHIC ADENOMAS OF SALIVARY GLANDS

Brodetskyi I. S., Malanchuk V. A., Dosenko V. E

Key words: pleomorphic adenomas, genetic studies, microRNAs-29a, apoptosis, correlation analysis.

Introduction. Pleomorphic adenoma is known as the most common tumour in salivary glands that makes up 60-90% of all benign tumours of the salivary glands. The modern genetic tendency towards the diagnosis of salivary gland tumours is the study of the role of microRNA molecules, and miRNA-29a in the focus of the great researchers' interest. It is expressed in 84 % of the pleomorphic adenomas of the salivary glands. Objectives. Determination of expression of miRNA-29a in tissues of pleomorphic adenomas of the large salivary glands that adjacent to the tumour of the tissue of the salivary gland, intact tissue of the salivary gland, was out of touch with the tumour and venous blood. Materials and methods. The study included 20 patients with benign tumours of the large salivary glands (pleomorphic adenomas). The expression of miRNA-29a was evaluated by using reverse transcription and quantitative polymerase chain reaction (qPCR) in real time.

Results. The analysis of the level of miRNA-29a expression revealed that among 4 groups of indicators (tumour tissue, tissues adjacent to the tumour salivary gland tissue, intact salivary gland, which was out of touch with the tumour and venous blood) in patients with pleomorphic adenoma of the large salivary gland,

the highest expression was noted in the group, where salivary gland tissue was adjacent to the salivary gland tumour (111, 93±56, 97 versus 8,12±4,4). Correlation analysis of patients with pleomorphic adenoma of the large salivary glands with different fragments of tissues samples demonstrated that the expression level of miRNA-29a differed significantly between the groups (adjacent gland - intact salivary tissue).

Conclusions. A sufficiently high level of miRNA-29a expression in the tissues of pleomorphic adenoma in the large salivary glands compared with the normal (intact salivary gland tissue), 10 times as much can be used as a genetic marker for verification (identification) of this type of tumours. Studies of biopsy material from patients with pleomorphic adenoma in the large salivary glands at the genetic level (by expression of miRNAs-29a) confirm the need not only in enucleating of the tumour (partial parotidectomy), but also in performing of subtotal resection with removal of salivary gland adjacent to the tumour.

DOI 10.31718/2077-1096.20.1.154

УДК 617.53-006.2.-007.253-053.2-07.-08-037

Ткаченко П.І., Старченко І.І., Білоконь С.О., Резвіна К.Ю., Швець А.І.

МЕТОДОЛОГІЧНИЙ ПІДХІД ДО ДІАГНОСТИКИ І ЛІКУВАННЯ БІЧНИХ КІСТ ТА НОРИЦЬ ШИЇ У ДІТЕЙ

Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава

У статті проаналізовано фундаментальні наукові праці та публікації в періодичних виданнях.

На підставі даних ретроспективного аналізу 67 архівних історій хвороб тематичних пацієнтів, які перебували на лікуванні в хірургічному відділенні дитячої міської клінічної лікарні м. Полтави за 10-річний період співробітниками кафедри дитячої хірургічної стоматології встановлювалася частота виникнення бічних кіст шиї і бічних свищів шиї. Для встановлення клінічного діагнозу використовували загальноклінічні, додаткові і спеціальні методи обстеження - діагностичну пункцію. При сумнівних і складних випадках проводили ультразвукову діагностику і магнітно-резонансну томографію, а при наявності нориці - фістулографії в прямій і бічній проекціях. Мікроскопічна будова бічних кіст шиї і бічних свищів шиї вивчали співробітники кафедри патологічної анатомії з секційним курсом на препаратах, виготовлених з післяопераційного матеріалу за загальноприйнятими методиками. Бічні кісти і нориці шиї у дітей зустрічаються в різних вікових групах і складають 31,3% в структурі кісток м'яких тканин щелепно-лицевої ділянки. Маючи непросту анатомо-топографічну локалізацію і своєрідну клініко-морфологічну картину, вони викликають певні труднощі в діагностиці та ускладнення при їх хірургічному лікуванні. Бічні свищі шиї, в залежності від причин виникнення, відрізняються довжиною, анатомічної локалізації, спрямованості їх ходу і будовою, звичайно вимагає використання сучасних інформативних додаткових маніпуляцій і діагностичних заходів, що забезпечують успіх при проведенні оперативних втручань при оптимальному варіанті їх планування.

Ключові слова: кісти шиї, нориці шиї, діти, лікування, діагностика.

Робота є фрагментом НДР «Інтегративно-диференційоване обґрунтування вибору оптимальних методик оперативних втручань та обсягу лікувальних заходів при хірургічній патології щелепно-лицевої ділянки», державний реєстраційний номер 0116U003821.

Вступ

В структурі стоматологічних захворювань чільне місце займають кістозні утворення щелепно-лицевої ділянки (ЩЛД). При цьому найбільш поширеними серед кіст м'яких тканин (КМТ) ЩЛД є бічні кісти шиї (БКШ), які зустрічаються в 25% від усіх кіст м'яких тканин цієї локалізації, а в останні роки спостерігається тенденція до збільшення їх кількості, особливо в молодшому і старшому шкільному вікових періодах [8, 9, 10].

Незважаючи на розповсюдженість даних утворень, навіть до теперішнього часу ведуться дискусії щодо походження БКШ, однак переважна більшість науковців вважає їх дизонтогенетичною патологією, зазначаючи, що гормональна перебудова дитячого організму, особливо в пубертатному періоді, найчастіше обумовлює активізацію росту та прояви клінічних ознак БКШ [3, 12, 14].

Виявлення та діагностування БКШ і нориць, що не функціонують, як й інших КМТ, розташованих безпосередньо в ЩЛД у дітей, викликає певні труднощі, обумовлюючи високу частоту діагностичних помилок [4, 5, 8, 11, 13].

Мета дослідження

Визначення частоти виявлення БКШ та бокових нориць шиї (БНШ) у дітей і проведення порівняльної характеристики результатів особистих напрацювань з науковими дослідженнями стосовно їх клініко-морфологічних особливостей та принципів лікування.

Матеріали та методи дослідження

Нами ретельно проаналізовано фундаментальні наукові праці і публікації в періодичних виданнях щодо зазначеної мети.

На підставі даних ретроспективного аналізу 67 архівних історій хвороб тематичних пацієнтів, що