

УДК 616.316-006.55-071-076:577.214/.215]-047.44:311.16

DOI 10.11603/2311-9624.2020.4.11714

©І. С. Бродецький

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

e-mail: sergey.brodetsky@ukr.net

Клініко-генетичний та міжгенетичний кореляційний аналіз за експресією miR-29a у хворих на плеоморфні аденоми слинних залоз

ІНФОРМАЦІЯ

Надійшла до редакції/Received:
10.10.2020 р.**Ключові слова:** плеоморфні аденоми; генетичні дослідження; miR-29a; апоптоз; клініко-генетичні кореляції; міжгенетичні кореляції.

АНОТАЦІЯ

Резюме. Найбільш поширеною пухлиною слинних залоз залишається плеоморфна аденома (ПА) – 60–90 % від усіх доброякісних пухлин слинних залоз. Сучасним генетичним напрямком у діагностиці пухлин є вивчення ролі молекул мікроРНК. МікроРНК – це малі некодуєчі РНК, які регулюють контроль клітинного циклу, апоптоз, метаболізм, розвиток та диференціацію клітин. Найбільший інтерес серед них становить проапоптозна miR-29a. Вона експресується у 84 % плеоморфних аденом слинних залоз. Статей, в яких описано клініко-генетичні та міжгенетичні кореляції miR-29a в інших біоптатах, окрім пухлини, – прилегла до пухлини тканина слинної залози, інтактна залоза (група контролю), та кров, не знайдено.**Мета дослідження** – провести клініко-генетичний та міжгенетичний (за експресією miR-29a) кореляційний аналіз у тканинах плеоморфних аденом великих слинних залоз, тканині слинної залози, прилеглої до пухлини та в інтактній тканині слинної залози, що не мала зв'язку з пухлиною, та венозній крові.**Матеріали і методи.** Матеріалом дослідження було 22 хворих на доброякісні пухлини великих слинних залоз (плеоморфні аденоми). Експресію miR-29a оцінювали за допомогою зворотної транскрипції та кількісної полімеразної ланцюгової реакції (qPCR) у режимі реального часу.**Результати досліджень та їх обговорення.** Проведений аналіз рівня експресії 29a мікроРНК виявив, що серед 4-х груп показників (тканина пухлини, тканина слинної залози, прилегла до пухлини, інтактна тканина слинної залози, що не мала зв'язку з пухлиною, та венозна кров) у пацієнтів із плеоморфними аденомами великих слинних залоз найбільша експресія відмічалась у групі – тканина слинної залози, прилегла до пухлини, – 111,93±56,97.**Висновки.** Проведений кореляційний аналіз клінічних (вік, тривалість захворювання, розмір пухлини, відстань від поверхні шкіри до пухлини) та генетичних показників за рівнем експресії miR-29a в різних біологічних тканинах (тканина пухлини, тканина слинної залози, прилегла до пухлини, інтактна тканина слинної залози, що не мала зв'язку з пухлиною, та венозна кров) у хворих на ПА великих слинних залоз виявив наявність однієї статистично-значущої асоціації (miR-29a). При проведенні міжгенетичного кореляційного аналізу хворих на ПА великих слинних залоз за експресією miR-29a з різними фрагментами біопсійного матеріалу інших статистично значимих асоціацій не виявлено.**Вступ.** Плеоморфна аденома (ПА) – є найпоширенішою пухлиною (60–90 %) слинних залоз серед усіх доброякісних новоутворень

слинних залоз [1]. Вона має типову клінічну картину, що не викликає, переважно, складнощів у діагностиці. Незважаючи на це, у 41,81

% [2] спостерігається відсутність співпадання клінічного та патогістологічного діагнозів. Тому все більше науковців та лікарів використовують у практичній діяльності сучасні методи діагностики пухлин – імуногістохімічні та генетичні. Зокрема, 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 [24].

Імуногістохімічне дослідження плеоморфних аденом слинних залоз є досить поширеним методом. Вже відома достатня кількість різноманітних прогностичних маркерів плеоморфної аденоми: етіологічні – PLAG 1 (ген плеоморфної аденоми № 1), вірусні – ВПЛ (вірус папіломи людини) та ЕБВ (вірус Епштейна – Барр), гормональні – естрогенові, прогестеронові рецептори та ін. [3].

Сучасним напрямком у генетиці пухлин є вивчення ролі мікроРНК. МікроРНК – це малі некодуєчі РНК, які складаються з 21–23 нуклеотидів. На сьогодні відомо близько 2588 мікроРНК, які регулюють такі біологічні процеси, як контроль клітинного циклу [4], апоптоз [5], метаболізм [6] розвиток та диференціацію клітин [7]. При цьому здатні впливати на розвиток різноманітних захворювань – невродегенеративні [8] та метаболічні розлади [9], рак [10].

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. Так, Ксіонг та ін. [11] 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. [12] визначили роль супресора пухлини для miR-29a при плоскоклітинній карциномі голови та шиї через їх здатність до пригнічення інвазії пухлинних клітин.

Окрім використання генетичних методів у діагностиці плеоморфних аденом слинних залоз, необхідно враховувати їх взаємозв'язок

з клінічними показниками. Відомо, що різні клінічні показники мають певний вплив та дають різний прогноз на перебіг пухлинного процесу. Зокрема, в осіб старшого віку повільніше перебігають метаболічні процеси, що продовжує тривалість їх життя, порівняно з молодими пацієнтами, особливо у випадках із злоякісними пухлинами. Тривалість захворювання допомагає спрогнозувати його перебіг та можливість виникнення рецидивів після проведення оперативного втручання. Визначення розміру пухлини має допомогти лікарю визначитися із лікувальною тактикою – хірургічне або консервативне, локалізація біля життєво важливих органів і судин. Глибина розташування пухлини відносно поверхні шкіри є важливим діагностичним критерієм, оскільки чим ближче пухлина до шкіри, тим швидше пацієнт зверне увагу на наявність новоутворення і звернеться до лікаря [13].

Втім, є лише одна наукова робота, в якій визначали експресію miR-29a мікроРНК використовуючи лише біоптат пухлини, порівнюючи рівень експресії її між аденокарциномами та плеоморфними аденомами з відсутністю контрольної групи [14]. У доступних наукових джерелах не виявлено інформації про наукові дослідження з клініко-генетичних та міжгенетичних кореляційних асоціацій за експресією miR-29a у різних біоптатах – пухлині, тканині слинної залози, прилеглий до пухлини, інтактній залозі (група контролю), венозної крові.

Метою дослідження було провести клініко-генетичний та міжгенетичний (за експресією miR-29a) кореляційний аналіз в тканинах плеоморфних аденом великих слинних залоз, тканині слинної залози, прилеглий до пухлини, інтактній тканині слинної залози, що не мала зв'язку з пухлиною, та у венозній крові.

Матеріали і методи. Досліджено 22 хворих (чоловіків – 5 (22,72 %), жінок – 17 (77,27 %) з плеоморфними аденомами великих слинних залоз: привушних – 20 (90,9 %) та підщелепних – 2 (9,09 %). Середній вік пацієнтів – (39,7±14,91) року. Усім хворим проведені загальноклінічні обстеження (лабораторні, КТ або МРТ, УЗД). Для виконання кореляційного аналізу визначали наступні клінічні показники: вік, тривалість захворювання, розмір пухлини, відстань від поверхні шкіри до пухлини. Останні два показники (розмір пухлини, відстань від поверхні шкіри до пухлини) визначали за даними КТ (комп'ютерної томографії).

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 венозної крові методом екстракції фенол-хлороформ. Після цього виміряли концентрацію та чистоту РНК спектрофотометром ND1000 (NanoDrop Technologies Inc, США).

Експресію miR-29a оцінювали за допомогою зворотної транскрипції та кількісної ланцюгової реакції полімерази (qPCR) у режимі реального часу. Зворотню 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 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 с та 60 °C – 60 с. Рівень експресії мікроРНК нормалізувався до U6 snRNA та представлений у відносних одиницях (RU). Ампліфікацію проводили за допомогою ПЛР у режимі реального часу 7500Fast (Applied Biosystems, США). Отримані результати проаналізовані за допомогою програмного пакета ПЛР у режимі реального часу 7500Fast та представлені у вигляді графіків та діаграм [15].

Аналіз даних проведено за допомогою статистичного середовища R (версії 3.5) [16]. Усі кількісні фактори перевірені щодо нормальності розподілу даних за допомогою

Таблиця. Експресія miR-29a у групах (тканина пухлини, тканина слинної залози, прилегла до пухлини, інтактна тканина слинної залози, що не мала зв'язку з пухлиною).

Група 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
Кров	13	4,31	4,6	1,32

Для з'ясування відмінностей між середніми значеннями дисперсії експресії miR-29a у дослідних групах використано критерій Левеня (3,35) [18], який засвідчив відмінності у дисперсії між групами: отриманий показник статистичної значущості – 0,022 ($p < 0,05$). Отриманий результат дає підстави визначити різницю між середніми значеннями рівня ек-

тесту Колмогорова – Смірнова [17]. Тест Левеня використаний для перевірки рівності дисперсій між групами [18]. Для з'ясування відмінностей між середніми значеннями в групах застосований однофакторний дисперсійний аналіз (One way ANOVA) [19] для змінних, у яких простежувалась рівність дисперсій між групами, а також тести Уелча та Брауна – Форсайта [20, 21] у випадку, коли дисперсії суттєво відрізнялись. Апостеріорні тести Бонфероні [22] використані для корекції множинності тестів. Кореляційний аналіз із використанням коефіцієнта кореляції Пірсона (r) [23] застосовувався для оцінки зв'язку між кількісними змінними. Статистично значущими результати вважались при $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. Аналіз результатів клінічного дослідження хворих із плеоморфними аденомами великих слинних залоз засвідчив: середній вік хворих складав – (39,7±14,91) року, тривалість захворювання – (66,075±30,58) місяця, розмір пухлини – (6,27±4,66) см, відстань від поверхні шкіри до пухлини – (5,6±2,739) мм ($n=22$).

Для проведення подальшого клініко-генетичного кореляційного аналізу були визначені результати експресії miR-29a у групах (тканина пухлини, тканина слинної залози, прилегла до пухлини, інтактна тканина слинної залози, що не мала зв'язку з пухлиною). Так, найбільшою експресією miR-29a була у групах – тканина слинної залози, прилегла до пухлини, та пухлина – 111,93±56,97 і 80,58±37,49 відповідно, а найменшою в інтактній залозі та крові – 8,12±4,4 і 4,31±1,32 відповідно (табл.).

пресії miR-29a за допомогою тестів Уелча [20] та Брауна – Форсайта [21]. Отримані показники застосування однофакторного дисперсійного аналізу, виявили статистичнозначущу різницю в рівні експресії miR-29a: тест Уелча (0,035) – $p < 0,05$; тест Брауна – Форсайта (0,011), $p < 0,05$.

Відмінності між групами визначено на підставі тестів Бонфероні (визначення корекції на

множинність) [22]. Отримані результати засвідчили, що рівень експресії miR-29a статистичнозначущим виявився лише в групі «прилегла залоза – інтактна тканина слинної залози», де різниця в середніх значеннях становила 103,81, а статистична значущість – 0,025 ($p < 0,05$).

На підставі результатів вищепроведених досліджень створено графічну модель клініко-генетичних та міжгенетичних кореляцій за експресією miR-29a у хворих на плеоморфні аденоми великих слинних залоз (рис.).

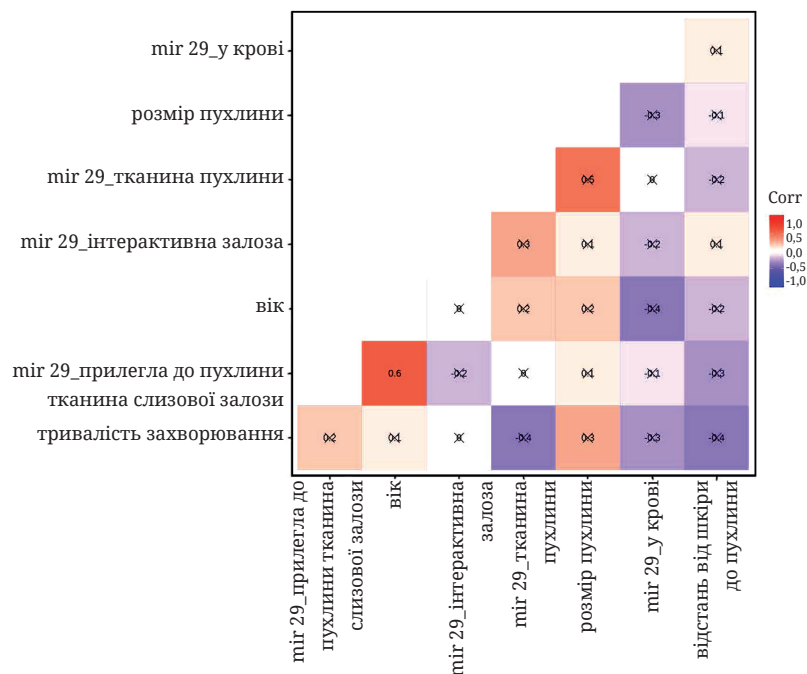


Рис. Клініко-генетичні та міжгенетичні кореляції за експресією miR-29a у хворих на плеоморфні аденоми великих слинних залоз.

Як видно з рисунка, кореляційний аналіз клінічних (вік, тривалість захворювання, розмір пухлини, відстань від поверхні шкіри до пухлини) та генетичних показників за рівнем експресії miR-29a в різних біологічних тканинах (тканина пухлини, тканина слинної залози, прилегла до пухлини, інтактна тканина слинної залози, що не мала зв'язку з пухлиною, та венозна кров) у хворих на ПА великих слинних залоз виявив наявність однієї статистичнозначущої асоціації miR-29a (у віковому розрізі – тканина слинної залози, прилегла до пухлини, – 0,6 ($p < 0,05$)). При аналізі міжгенетичних показників за експресією miR-29a у хворих на плеоморфні аденоми великих слинних залоз спостерігали відсутність статистичнозначущих кореляцій між дослідними групами.

Отже, на підставі аналізу наукових джерел і власних досліджень встановлено, що у діагностиці пухлин слинних залоз можна використовувати велику кількість молекул мікроРНК від 22 до 95, що значно розширює діапазон їх верифікації та дає можливість створити різні групи лікарських засобів, впливаючи на різ-

ні ланки пухлиногенезу [25]. Серед більшості мікроРНК для пухлин слинних залоз значний інтерес становлять ті молекули, які відповідають за контроль апоптозу (проапоптозні), серед яких є miR-29a.

На сьогодні існує багато клінічних показників організму (вік, тривалість захворювання, розмір пухлини, відстань від поверхні шкіри до пухлини та ін.), які першими формують уявлення лікаря про перебіг патологічного процесу та дозволяють встановити попередній діагноз. Втім, лише клінічний аналіз не дає чіткої відповіді в прогнозі перебігу пухлинного процесу. Можливість провести кореляційний аналіз традиційних клінічних показників із сучасним генетичним дослідженням пухлин дозволить отримати нові достовірні дані, які пояснюють особливості перебігу того чи іншого виду пухлин.

Так, проведений кореляційний аналіз клініко-генетичних показників хворих на плеоморфні аденоми слинних залоз, виявив, що єдиним клінічним показником, який має статистично значущу кореляцію з рівнем експресії miR-29a виявився вік хворих. Було встанов-

лено, що з підвищенням віку хворих рівень експресії miR-29a в тканині залози, прилеглий до пухлини, збільшується. Це свідчить про те, з віком у людини формуються захисні протиухлинні механізми в приграничній зоні слинної залози, що знаходиться поруч з пухлиною. А з іншого боку, високий рівень експресії проапоптозної miR-29a в тканині слинної залози, прилеглий до пухлини, у хворих на ПА великих слинних залоз, порівняно з нормою (інтактна тканина слинної залози) ($111,93 \pm 56,97$ проти $8,12 \pm 4,4$), свідчить про певні генетичні порушення, які можуть бути однією з причин рецидиву та прогресування росту пухлини. Отже, необхідність проведення субтотальної паротидектомії (видалення, окрім пухлини, прилеглої частини слинної залози), на відміну від енуклеації пухлини (видалення лише пухлинного вузла), підтверджується генетичними дослідженнями. А відсутність статистичнозначущих асоціацій між генетичними

показниками (за експресією miR-29a) в різних групах біологічних тканин свідчить про те, що підвищення вмісту miR-29a у кожній зоні (пухлина, тканина слинної залози, прилегла до пухлини) не є взаємозалежним процесом, а отже, можливо існують додаткові фактори впливу, що відповідають за підвищення експресії miR-29a.

Висновки. 1. Клініко-генетичний кореляційний аналіз у хворих на ПА великих слинних залоз виявив ефективність у діагностиці захворювання за віковим критерієм за рахунок експериментально підтвердженої статистичнозначущої асоціації miR-29a у тканині слинної залози, прилеглий до пухлини.

2. Міжгенетичний кореляційний аналіз хворих на ПА великих слинних залоз виявив відсутність статистичнозначущих асоціацій, що свідчить про існування додаткових факторів, відповідальних за підвищення експресії miR-29a, що є предметом подальших досліджень.

©И. С. Бродецкий

Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев

Клинико-генетический и межгенетический корреляционный анализ с экспрессией miR-29a у больных плеоморфными аденомами слюнных желез

Резюме. Наиболее распространенной опухолью слюнных желез остается плеоморфная аденома (ПА) – 60–90 % всех доброкачественных опухолей слюнных желез. Современным генетическим направлением в диагностике опухолей является изучение роли молекул микроРНК. МикроРНК это малые некодирующие РНК, которые регулируют контроль клеточного цикла, апоптоз, метаболизм, развитие и дифференциацию клеток. Наибольший интерес среди них представляет проапоптозная miR-29a. Она экспрессируется в 84 % плеоморфных аденом слюнных желез. Статей, в которых бы описывали клинико-генетические и межгенетические корреляции miR-29a в других биоптатах, кроме опухоли, – прилегающая к опухоли ткань слюнной железы, интактная железа (группа контроля), и кровь, не найдено.

Цель исследования – провести клинико-генетический и межгенетический (с экспрессией miR-29a) корреляционный анализ в тканях плеоморфных аденом больших слюнных желез, прилегающей к опухоли ткани слюнной железы и в интактной ткани слюнной железы, не имеющей связи с опухолью, и венозной крови.

Материалы и методы. Материалом исследования было 22 больных доброкачественными опухолями больших слюнных желез (плеоморфные аденомы). Экспрессию miR-29a оценивали с помощью обратной транскрипции и количественной полимеразной цепной реакции (qPCR) в режиме реального времени.

Результаты исследований и их обсуждение. Проведенный анализ уровня экспрессии 29a микроРНК обнаружил, что среди 4-х групп показателей (ткань опухоли, прилегающая к опухоли ткань слюнной железы, интактная ткань слюнной железы, не имеющая связи с опухолью и венозная кровь) у больных с плеоморфными аденомами больших слюнных желез самая экспрессия отмечалась в группе – ткань слюнной железы, прилегающая к опухоли, – $111,93 \pm 56,97$.

Выводы. Проведенный корреляционный анализ клинических (возраст, длительность заболевания, размер опухоли, расстояние от поверхности кожи к опухоли) и генетических показателей по уровню экспрессии miR-29a в различных биологических тканях (ткань опухоли, прилегающая к опухоли ткань слюнной железы, интактная ткань слюнной железы, которая не имела связи с опухолью и

венозная кровь) у больных ПА больших слюнных желез выявил наличие одной статистически значимой ассоциации (miR-29a). При проведении межгенетического корреляционного анализа больных ПА больших слюнных желез с экспрессией miR-29a с различными фрагментами биопсионного материала других статистически значимых асоциаций не обнаружено.

Ключевые слова: плеоморфные аденомы; генетические исследования; miR-29a; апоптоз; клинико-генетические корреляции; межгенетические корреляции.

©I. S. Brodetsky

O. Bohomolets National Medical University, Kyiv

Clinical-genetic and inter-genetic correlation analysis with expression of miR-29a in patients with pleomorphic adenomas of the salivary glands

SUMMARY. The most common tumor remains pleomorphic adenoma – 60–90 % of all benign tumors of the salivary glands. The modern genetic area of focus in the diagnosis of salivary gland tumors is the study of the role of miRNA molecules. MiRNAs are small non-coding RNAs that regulate the cell cycle, apoptosis, metabolism, cell development and differentiation. Of the greatest interest among them is proapoptotic miR-29a. It is expressed in 84 % of the pleomorphic adenomas of the salivary glands. There are no articles that would describe the clinical-genetic and inter-genetic correlations with miR-29a in other biopsy specimens, except for the tumor – the salivary gland tissue adjacent to the tumor, the intact gland (control group), and blood.

The aim of the study – clinical-genetic and inter-genetic (with expression of miR-29a) correlation analysis in tissue of pleomorphic adenomas of the large salivary glands that adjacent to the tumor of the tissue of the salivary gland, intact tissue of the salivary gland, was out of touch with the tumor and venous blood.

Materials and Methods. 22 patients with benign tumors of the large salivary glands (pleomorphic adenomas) were used examination materials. The expression of miR-29a was evaluated using reverse transcription and quantitative polymerase chain reaction (qPCR) in real time.

Results and Discussion. Conducted analysis of the level of expression of miRNA–29a revealed that among 4 groups of indicators (tumor, tissue adjacent to the tumor salivary gland tissue, intact salivary gland that was out of touch with the tumor and venous blood) in patients with pleomorphic adenoma of the large salivary gland the highest expression was noted in the group – salivary gland tissue adjacent to the tumor – (111.93±56.97).

Conclusions. Conducted correlation analysis of clinical (age, size of the tumor, duration of the disease, distance from the surface of the skin to the tumor) and genetic indices for the level of expression miR-29a in different biological tissues (tumor, tissue adjacent to the tumor salivary gland tissue, intact salivary gland that was out of touch with the tumor and venous blood) in patients with pleomorphic adenoma of the large salivary glands revealed presence one statistically significantly association (miR-29a). Inter-genetic correlation analysis of patients with PA of the large salivary glands (with level of expression miR-29a) with different fragments of biopsy material revealed absence of another statistically significantly association.

Key words: pleomorphic adenomas; genetic studies; miR-29a; apoptosis; clinical-genetic and inter-genetic correlation.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Матякин Е. Рецидивы смешанных опухолей околоушных слюнных желез / Е. Матякин, А. Дробышев, Р. Азизян // Стоматология. – 2010. – № 89. – С. 75–77.
2. Brodetskyi I. S. 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 / I. S. Brodetskyi, V. O. Malanchuk // J. Stomatology. – 2019. – Vol. 72 (2). – P. 70–76.
3. Brodetskyi I. S. Complex immunohistochemical evaluation of pleomorphic adenomas of the salivary glands / I. S. Brodetskyi, V. O. Malanchuk, M. S. Krotevych // Healthy Aging Res. – 2019. – Vol. 8 (9). – P. 1–6.
4. Carleton M. MicroRNAs and cell cycle regulation / M. Carleton, M. A. Cleary, P. S. Linsley // Cell Cycle. – 2007. – Vol. 6. – P. 2127–2132.
5. Jovanovic M. miRNAs and apoptosis: RNAs to die for / M. Jovanovic, M. O. Hengartner // Oncogene. – 2006. – Vol. 25 (46). – P. 6176–6187.
6. Boehm M. MicroRNA control of lifespan and metabolism / M. Boehm, F. J. Slack // Cell Cycle. – 2006. – Vol. 5 (8). – P. 837–840.
7. Harfe B. D. MicroRNAs in vertebrate development / B. D. Harfe // Curr. Opin. Genet. Dev. – 2005. – Vol. 15 (4). – P. 410–415.
8. Jin P. RNA and microRNAs in fragile X mental retardation / P. Jin, R. S. Alisch, S. T. Warren // Nat. Cell.

Biol. – 2004. – Vol. 6 (11). – P. 1048–1053.

9. A pancreatic islet-specific microRNA regulates insulin secretion / M. N. Poy, L. Eliasson, J. Krutzfeldt [et al.] // *Nature*. – 2004. – Vol. 432 (7014). – P. 226–230.

10. MicroRNA expression profiles classify human cancers / J. Lu, G. Getz, E. A. Miska [et al.] // *Nature*. – 2005. – Vol. 435. – P. 834–838.

11. Effects of microRNA-29 on apoptosis, tumorigenicity, and prognosis of hepatocellular carcinoma / Y. Xiong, J. H. Fang, J. P. Yun [et al.] // *Hepatology*. – 2010. – Vol. 51 (3). – P. 836–845.

12. Tumour-suppressive microRNA-29s inhibit cancer cell migration and invasion by targeting laminin-integrin signalling in head and neck squamous cell carcinoma / T. Kinoshita, N. Nohata, T. Hanazawa [et al.] // *Br. J. Cancer*. – 2013. – Vol. 109 (10). – P. 2636–2645.

13. Маланчук В. О. Хірургічна стоматологія та щелепно-лицева хірургія / В. О. Маланчук, І. П. Логвіненко, Т. О. Маланчук. – К.: Логос, 2011. – 606 с.

14. Flores B. C. Altered expression of apoptosis-regulating miRNAs in salivary gland tumors suggests their involvement in salivary gland tumorigenesis / B. C. Flores, S. V. Lourenço, A. S. Damascena // *Virchows Arch.* – 2017. – Vol. 470 (3). – P. 291–299.

15. MicroRNA-15a expression measured in urine samples as a potential biomarker of renal cell carcinoma / Yu. Mytsyk, V. Dosenko, Yu. Borys [et al.] // *Int. Urol. Nephrol.* – 2018. – Vol. 50 (5). – P. 851–859.

16. Статистичне середовище R (версії 3.5). – URL:

<https://www.r-project.org> (Дата звернення 11.10.2019).

17. Тест Колмогорова-Смирнова. – URL: https://ru.wikipedia.org/wiki/Критерий_согласия_Колмогорова (Дата звернення 11.10.2019).

18. Тест Левеня. – URL: https://en.wikipedia.org/wiki/Levene%27s_test (Дата звернення 10.10.2019).

19. Дисперсійний аналіз (One way ANOVA). – URL: https://en.wikipedia.org/wiki/Analysis_of_variance (Дата звернення 11.10.2019).

20. Тест Уелча. – URL: https://en.wikipedia.org/wiki/Welch%27s_t-test (Дата звернення 11.10.2019).

21. Тест Брауна-Форсайта. – URL: https://en.wikipedia.org/wiki/Brown%E2%80%93Forsythe_test (Дата звернення 11.10.2019).

22. Тести Бонфероні. – URL: https://en.wikipedia.org/wiki/Bonferroni_correction (Дата звернення 11.10.2019).

23. Коефіцієнт кореляції Пірсона. – URL: <https://uk.wikipedia.org/wiki/К24>.

Коефіцієнт кореляції Пірсона (Дата звернення 11.10.2019).

24. MicroRNA and cancer – a brief overview / M. Acunzo, G. Romano, D. Wernicke, C. M. Croce // *Adv. Biol. Regul.* – 2015. – Vol. 57. – P. 1–9.

25. A microRNA signature for the differential diagnosis of salivary gland tumors / M. Denaro, E. Navari, C. Ugolini [et al.] // *PLoS ONE*. – 2019. – Vol. 14 (1). – P. e0210968.

REFERENCES

1. Matyakin, Ye.G., Drobyshev, A.Yu., & Azizyan, R.I. (2010). Retsidivny smeshannykh opukholey okoloushnykh slyunnykh zhelez [Relapses of mixed tumors of the parotid salivary glands]. *Stomatologiya – Dentistry*, 89 (1), 75–77 [in Russian].

2. Brodetskyi, I.S., & Malanchuk, V.O. (2019). 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. Stomatol.*, 72, 2, 70–76. DOI: <https://doi.org/10.5114/jos.2019.86986>.

3. Brodetskyi, I.S., Malanchuk, V.O., & Krotevych, M.S. (2019). Complex immunohistochemical evaluation of pleomorphic adenomas of the salivary glands. *Healthy Aging Res.*, 8, 9, 1–6. DOI:10.35248/har.2019.8.09.

4. Carleton, M., Cleary, M.A., & Linsley, P.S. (2007). MicroRNAs and cell cycle regulation. *Cell Cycle*, 6, 2127–2132. DOI:10.4161/cc.6.17.4641.

5. Jovanovic, M., & Hengartner, M.O. (2006). miRNAs and apoptosis: RNAs to die for. *Oncogene*, 25, 6176–6187. DOI:10.1038/sj.onc.1209912.

6. Boehm, M., & Slack, F.J. (2006). MicroRNA control of lifespan and metabolism. *Cell Cycle*, 5, 837–840. DOI:10.4161/cc.5.8.2688.

7. Harfe, B.D. (2005). MicroRNAs in vertebrate development. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 15, 410–415. DOI:10.1016/j.gde.2005.06.012.

8. Jin, P., Alisch, R.S., & Warren, S.T. (2004). RNA and microRNAs in fragile X mental retardation. *Nat. Cell Biol.*, 6, 1048–1053. DOI:10.1038/ncb1104-1048.

9. Poy, M.N., Eliasson, L., Krutzfeldt, J., Kuwajima, S.,

Ma, X.S., MacDonald, P.E., ..., & Stoffel, M. (2004). A pancreatic islet-specific microRNA regulates insulin secretion. *Nature*, 432 (7014), 226–230. DOI:10.1038/nature03076.

10. Lu, J., Getz, G., Miska, E.A., Alvarez-Saavedra, E., Lamb, J., Peck, D., ..., & Golub, T.R. (2005). MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature*, 435, 834–838. DOI:10.1038/nature03702.

11. Xiong, Y., Fang, J.H., Yun, J.P., Yang, J., Zhang, Y., Jia, W.H., & Zhuang, S.-M. (2010). Effects of microRNA-29 on apoptosis, tumorigenicity, and prognosis of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 51 (3), 836–845. DOI:10.1002/hep.23380.

12. Kinoshita, T., Nohata, N., Hanazawa, T., Kikkawa, N., Yamamoto, N., Yoshino, H., ..., & Seki, N. (2013). 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*, 109 (10), 2636–2645. DOI:10.1038/bjc.2013.607.

13. Malanchuk, V.O., Lohvinenko, I.P., & Malanchuk, T.O. (2011). *Khirurgichna stomatolohiia ta shchelopnytseva khirurhiia [Oral and maxillofacial surgery]*. Kyiv: Lohos [in Ukrainian].

14. Flores, B.C., Lourenço, S.V., & Damascena, A.S. (2017). Altered expression of apoptosis-regulating miRNAs in salivary gland tumors suggests their involvement in salivary gland tumorigenesis. *Virchows Arch.*, 470 (3), 291–299. DOI: 10.1007/s00428-016-2049-z.

15. Mytsyk, Yu., Dosenko, V., Borys, Yu., Kucher, A., Gazdikova, K., Busselberg, D., ..., & Manyuk, L. (2018). MicroRNA-15a expression measured in urine samples as

- a potential biomarker of renal cell carcinoma. *Int. Urol. Nephrol.*, 50 (5), 851-859. DOI: 10.1007/s11255-018-1841-x.
16. R statistical environment (version 3.5). Retrieved from: <https://www.r-project.org> (Last accessed: 11.10.2019).
17. Kolmogorov-Smirnov test. Retrieved from: https://ru.wikipedia.org/wiki/Kolmogorov'sconsent_criterion (Last accessed: 11.10.2019).
18. Levene's test. Retrieved from: https://en.wikipedia.org/wiki/Levene%27s_test (Last accessed: 11.10.2019).
19. Analysis of variance (Oneway ANOVA). Retrieved from: https://en.wikipedia.org/wiki/Analysis_of_variance (Last accessed: 11.10.2019).
20. Welch test. Retrieved from: https://en.wikipedia.org/wiki/Welch%27s_t-test (Last accessed: 11.10.2019).
21. Brown-Forsythe test. Retrieved from: https://en.wikipedia.org/wiki/Brown%E2%80%93Forsythe_test (Last accessed: 11.10.2019).
22. Bonferroni test. Retrieved from: https://en.wikipedia.org/wiki/Bonferroni_correction (Last accessed: 11.10.2019).
23. Pearson correlation coefficient. Retrieved from: https://uk.wikipedia.org/wiki/Pearson_correlation_coefficient (Last accessed: 11.10.2019).
24. Acunzo, M., Romano, G., Wernicke, D., & Croce, C.M. (2015). MicroRNA and cancer-a brief overview. *Adv. Biol. Regul.*, 57, 1-9. DOI: 10.1016/j.jbior.2014.09.013.
25. Denaro, M., Navari, E., Ugolini, C., Seccia, V., Donati, V., Casani, A.P., & Basolo, F. (2019). A microRNA signature for the differential diagnosis of salivary gland tumors. *PLoS ONE*, 14 (1), e0210968. DOI:10.1371/journal.pone.0210968.