

Для цитирования: Анищенко В.В., Титов С.Е., Полоз Т.Л., Веряскина Ю.А., Архипова А.А., Бубнов И.В. Динамический скрининг предраковых состояний пищевода с помощью молекулярно-генетического анализа. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(6): 38–45. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-38-45.

For citation: Anishchenko V.V., Titov S.E., Poloz T.L., Veryaskina Yu.A., Arkhipova A.A., Bubnov I.V. Dinamic screening of precancerous esophagus using molecular genetic analysis. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(6): 38–45. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-38-45.

ДИНАМИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ ПРЕДРАКОВЫХ СОСТОЯНИЙ ПИЩЕВОДА С ПОМОЩЬЮ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

В.В. Анищенко^{1,2}, С.Е.Титов^{3,4}, Т.Л. Полоз⁵, Ю.А. Веряскина³,
А.А. Архипова⁶, И.В. Бубнов¹

АО медицинский центр Авиценна группы компаний «Мать и Дитя», г. Новосибирск, Россия¹

Россия, г. Новосибирск, 630007, ул. Коммунистическая, 17. E-mail: avv1110@yandex.ru¹

Новосибирский государственный медицинский университет, г. Новосибирск, Россия²

Россия, г. Новосибирск, 630091, Красный проспект, 52²

ГБУН «Институт молекулярной и клеточной биологии» Сибирского отделения РАН,

г. Новосибирск, Россия³

Россия, г. Новосибирск, 630090, просп. акад. Лаврентьева, 8/2³

АО «Вектор-Бест», Новосибирская область, р.п. Кольцово, Россия⁴

Россия, Новосибирская область, 630559, р.п. Кольцово, Научно-производственная зона, 36⁴

ЧУЗ «Клиническая больница «РЖД-Медицина», г. Новосибирск, Россия⁵

Россия, г. Новосибирск, 630003, Владимировский спуск, 2а⁵

ГБУЗ Новосибирской области «Городская клиническая больница №2», г. Новосибирск, Россия⁶

Россия, г. Новосибирск, 630051, ул. Ползунова, 21⁶

Аннотация

Введение. Специализированный кишечный эпителий с признаками атипической гиперплазии при пищеводе Барретта наиболее часто подвергается малигнизации и является предшественником аденокарциномы пищевода, аналогично тому, как в желудке кишечная метаплазия трансформируется в аденокарциному. Атипия при внутриэпителиальной неоплазии в пищеводе Барретта трудно отличима от реактивных и регенераторных изменений, особенно при эрозированной слизистой пищевода. Анализ молекулярных маркеров является перспективным подходом в качестве дополнения к морфологическому исследованию при эндоскопическом скрининге пищевода Барретта. **Цель исследования** – изучение перспективности применения классификатора, основанного на профилировании миРНК в гистологических образцах пищевода Барретта, для определения риска злокачественности и тактики лечения.

Материал и методы. В работе было использовано 119 образцов архивного гистологического материала в виде парафиновых блоков: 89 образцов язв желудка с дисплазией и 30 образцов пищевода Барретта. Уровень экспрессии микроРНК-145-5р, -150-5р, -20а-5р, -21-5р, -31-5р, -34а-5р, -375 определялся с помощью ОТ-ПЦР в реальном времени. Стратификацию образцов на разные группы проводили с помощью алгоритма построения дерева принятия решений C-RT. **Результаты.** С помощью экспрессии предложенного набора миРНК 26,7 % образцов пищевода Барретта были классифицированы как рак, что может свидетельствовать о потенциальном развитии злокачественной опухоли в слизистой пищевода, когда морфологические изменения еще не найдены.

Ключевые слова: пищевод Барретта, аденокарцинома пищевода, дисплазия, эндоскопический скрининг, миРНК, молекулярная диагностика.

DINAMIC SCREENING OF PRECANCEROUS ESOPHAGUS USING MOLECULAR GENETIC ANALYSIS

V.V. Anishchenko^{1,2}, S.E. Titov^{3,4}, T.L. Poloz⁵, Yu.A. Veryaskina³,
A.A. Arkhipova⁶, I.V. Bubnov¹

AO Medical Centre Avicenna, group of companies «Mother and Child», Novosibirsk, Russia¹

17, Kommunisticheskaya str., 630007, Novosibirsk, Russia. E-mail: avv1110@yandex.ru¹

Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia²

52, Krasnyi Prospect, 630091, Novosibirsk, Russia²

Institute of Molecular and Cellular Biology SB RAS, Novosibirsk, Russia³

8/2, Akad. Lavrentyeva pr., 630090, Novosibirsk, Russia³

AO Vector-Best, Novosibirsk region, Koltsovo, Russia⁴

36, Scientific and Production Zone, 630559, Koltsovo, Novosibirsk region, Russia⁴

Private healthcare institution Clinical Hospital RZD-Medicine, Novosibirsk, Russia⁵

2a, Vladimirovskiy spusk 630003, Novosibirsk, Russia⁵

City Clinical Hospital №2, Novosibirsk, Russia⁶

21, Polzunova str. 630051, Novosibirsk, Russia⁶

Abstract

Introduction. Esophageal adenocarcinoma develops from areas of intestinal metaplasia in Barrett's esophagus, similar to how intestinal metaplasia transforms into gastric adenocarcinomas in the stomach. Atypia with intraepithelial neoplasia is difficult to distinguish from reactive and regenerative changes, especially in erosive mucosa of the esophagus. Observation of patients with Barrett's esophagus allows the identification of adenocarcinoma in the earlier, more curable stages in many patients. **The aim of our study** was to study the prospects of using a classifier based on miRNA profiling in histological samples of Barrett's esophagus to determine the risk of malignancy and treatment tactics. **Material and Methods.** In this study, 119 samples of archival histological material in the form of paraffin blocks were used: 89 samples of gastric mucosa with dysplasia and 30 samples of Barrett's esophagus. The expression level of miRNA-145-5p, -150-5p, -20a-5p, -21-5p, -31-5p, -34a-5p, -375 was determined using real-time RT-PCR. Samples were stratified into different groups using the C-RT decision tree algorithm. **Results.** 26.7 % of Barrett's esophagus samples were classified by expression of the proposed miRNAs as cancer, which may indicate a potential development of a malignant tumor in the mucosa of the esophagus when morphological changes have not yet been found.

Key words: Barrett's esophagus, esophagus adenocarcinoma, dysplasia, endoscopic screening, miRNA, molecular diagnostics.

Введение

Среди злокачественных опухолей проксимальных двух третей пищевода наиболее распространен плоскоклеточный рак; аденокарцинома – самая частая злокачественная опухоль в дистальной трети пищевода. Заболеваемость аденокарциномой пищевода (АП) в западных странах резко возросла в последние десятилетия – почти в 6 раз, в то время как медиана выживаемости в среднем не превышает 1 года [1]. Параллельно увеличению частоты аденокарциномы кардиального и субкардиального отделов желудка АП становится доминирующим гистологическим подтипом рака пищевода, при котором пятилетняя выживаемость составляет менее 20 % в случаях, диагностированных после появления симптомов. При наличии симптомов заболевания почти у 50 % пациентов диагностируют неизлечимый процесс, требующий паллиативных мер. С другой стороны, пятилетняя выживаемость пациентов, у которых АП была выявлена на ранней бессимптомной стадии, значительно выше [2].

АП обычно возникает в столбчатом метапластическом эпителии пищевода, который известен как пищевод Барретта (ПБ). Установленные факторы риска для АП и ПБ включают симптоматическую гастроэзофагеальную рефлюксную болезнь, европейское происхождение, мужской пол, ожирение и курение табака [3].

При ПБ плоский эпителий в нижней части пищевода замещается эпителием кишечного типа, распространяясь выше нижнего пищеводного сфинктера в дистальную часть пищевода, образуя островки железистой ткани по всей окружности. В ПБ часто развивается внутриэпителиальная неоплазия (ВЭН), являющаяся предшественником аденокарциномы. Однако сам по себе факт обнаружения ПБ не может говорить о развитии АП, поскольку атипия при ВЭН бывает трудноотличима от реактивных и регенераторных изменений, особенно при эрозивной слизистой пищевода. Специализированный кишечный эпителий с признаками атипической гиперплазии наиболее

часто подвергается малигнизации и является предшественником АП, аналогично тому, как в желудке кишечная метаплазия трансформируется в аденокарциному желудка.

Несмотря на то, что АП диагностируется только в 5–8 % случаев на фоне ПБ, динамическое наблюдение за пациентами с этим заболеванием рекомендуется медицинскими сообществами и активно практикуется в течение последних двух десятилетий. Связано это с тем, что хотя только 7 % пациентов в популяции, наблюдающихся по поводу ПБ, умирают от АП, отмечено, что 66,5 % АП возникают в течение 1 года после первоначального эндоскопического диагноза ПБ [3].

Эзофагогастродуоденоскопия с четырьмя квадрантными биопсиями для выявления дисплазии и ранней инвазивной аденокарциномы является единственным методом скрининга, который в настоящее время рекомендуется для пациентов с ПБ [4, 5]. При этом, несмотря на значительное увеличение использования эндоскопии, клинически в популяции выявляется только треть пациентов с ПБ, а остальные остаются недиагностированными. Основными ограничениями при использовании диагноза дисплазии слизистой при ПБ в качестве маркера потенциального развития АП являются субъективность при оценке степени дисплазии и значительные расхождения среди патологов при диагностике предраковых изменений слизистой при морфологическом исследовании. При этом различие национальных клинических рекомендаций по отношению к дисплазии легкой степени ПБ и по отношению к желудочной метаплазии ПБ обуславливает субоптимальное согласие между экспертами. Даже среди опытных патологов в диагностике дисплазии у пациентов с ПБ имеются разногласия [6]. Низкая выявляемость и высокая стоимость скрининга требуют поиска более эффективных методов и биомаркеров для выявления пациентов с высоким риском прогрессирования ПБ в АП. Такими маркерами могут выступать микроРНК (миРНК), небольшие некодирующие РНК, задействованные в посттранскрипционной регуляции генов. При развитии онкологического процесса они могут выступать и как онкогены, и как опухолевые супрессоры в различных тканях [7]. МиРНК, помимо всего прочего, связаны с воспалительными процессами [8], которые могут играть важную роль в развитии ПБ. Также предполагается, что миРНК можно использовать для прогноза развития заболевания [9].

В предыдущих исследованиях нами была разработана методика на основе профилирования 6 миРНК (-150, -20a, -34a, -31, -145 и -375) для дифференциальной диагностики дисплазии и рака желудка (РЖ) по сравнению с нормальной слизистой в образцах гистологического материала. Поскольку при ПБ эпителий в нижней части пищевода замещается кишечным эпителием, мы

предположили, что данную методику можно использовать для стратификации ПБ по степени злокачественности.

Цель исследования – изучение перспективности применения классификатора, основанного на профилировании миРНК, для исследования гистологических образцов ПБ для определения риска злокачественности и тактики лечения.

Материал и методы

В работе было использовано 119 образцов архивного гистологического материала в виде парафиновых блоков: 89 образцов язв желудка с дисплазией и 30 образцов ПБ. Гистологический материал был получен в соответствии с законодательством РФ, от каждого пациента было получено информированное согласие на его использование, все данные были деперсонализированы. Диагнозы, относящиеся к язвам желудка, подтверждены гистологически в послеоперационном материале. До выполнения молекулярно-генетического исследования проведена независимая экспертная оценка гистологических образцов.

Выделение РНК. К 2–3 5-мкм срезам парафинового блока добавляли 1 мл белого парафинового масла (класс вязкости ISO VG 15), инкубировали в термошейкере при 65 °С 2 мин. Центрифугировали при 13000 g в течение 2 мин. К осадку добавляли 700 мкл лизирующего гуанидинового буфера (4 М гуанидин изотиоцианат; 25 мМ цитрат натрия; 0,3 % саркозил; 100 мМ Трис-НСl pH 6,5; 0,1 % 2-меркаптоэтанол) и оставляли в термошейкере при 90 °С на 60 мин. Центрифугировали при 13000 g в течение 2 мин, после чего супернатант переносили в новые пробирки. Далее в пробирки добавляли 600 мкл изопропанола, перемешивали и оставляли при комнатной температуре на 5 мин. Центрифугировали 10 мин при 13000 g, затем супернатант сливали, осадок промывали сначала 500 мкл 70 % этанола, а затем 300 мкл ацетона. РНК растворяли в 200 мкл деионизированной воды.

Выявление микроРНК. Детекцию 7 миРНК и малой ядерной РНК (мяРНК) U6 с помощью ОТ-ПЦР-РВ проводили для всех типов образцов. Для выявления зрелых миРНК использовали метод stem-loop ОТ-ПЦР. Для каждой миРНК отдельно проводили реакцию обратной транскрипции с последующей ПЦР-РВ [10]. Для каждого образца анализ проводили в одном повторе. Нормировку содержания миРНК проводили на содержание мяРНК U6 в образце с помощью метода $2^{-\Delta C_q}$ с учетом эффективности реакций. Выявление мяРНК U6 проводилось по той же схеме stem-loop ОТ-ПЦР, которая использовалась для миРНК.

Классификатор. Образцы изначально были классифицированы так, как описано ранее [11]. Дерево принятия решения выглядело следующим образом:

миР-150 > -14,12
 миР-31 > -39,41
 миР-145 > -3,19 Диагноз = РЖ
 миР-145 ≤ -3,19 Диагноз = Дисплазия
 миР-31 ≤ -39,41 Диагноз = РЖ
 миР-150 ≤ -14,12
 миР-34а > -49,18
 миР-21 > -3,08 Диагноз = РЖ
 миР-21 ≤ -3,08 Диагноз = Норма
 миР-34а ≤ -49,18
 миР-375 > -22,82 Диагноз = Норма
 миР-375 ≤ -22,82 Диагноз = Дисплазия

В процессе работы выборка образцов язвы желудка с дисплазией увеличилась и дерево принятия решения было перестроено.

Обработку данных проводили в программе Excel (Microsoft, США). Стратификацию образцов на разные группы проводили методом построения дерева принятия решений C-RT (Classification and Regression Tree) [12].

Результаты

Перестройка дерева принятия решения. В своей предыдущей работе [11] мы описали алгоритм классификации образцов слизистой желудка на норму, дисплазию и рак с помощью данных об относительном содержании миРНК в образце. В ходе дальнейшей работы были получены еще 89 образцов, относящихся к язве желудка с дисплазией. На основании данных, относящихся к новым образцам, дерево принятия решения было перестроено:

миР-150 > -34,29
 миР-31 > -56,17
 миР-145 > -10,59
 миР-21 > -1,21 Диагноз = Дисплазия
 миР-21 ≤ -1,21 Диагноз = РЖ
 миР-145 ≤ -10,59
 миР-375 > -247,85 Диагноз =
 = Дисплазия
 миР-375 ≤ -247,85 Диагноз = Норма
 миР-31 ≤ -56,17 Диагноз = РЖ
 миР-150 ≤ -34,29
 миР-145 > -62,91
 миР-21 > -1,67 Диагноз = РЖ
 миР-21 ≤ -1,67
 миР-34а > -39,98 Диагноз = РЖ
 миР-34а ≤ -39,98 Диагноз = Норма
 миР-145 ≤ -62,91
 миР-20 > -10,47 Диагноз = РЖ
 миР-20 ≤ -10,47 Диагноз = Дисплазия

Таким образом, в дерево решений вошли все миРНК, включая миРНК-20а. Данные о диагностических характеристиках определения РЖ и дисплазии с помощью этого дерева решений в сравнении с предыдущей версией представлены в табл. 1.

Исследование гистологических образцов ПБ. При ПБ эпителий в нижней части пищевода замещается кишечным эпителием, поэтому мы предположили, что дерево принятия решения, полученное для слизистой желудка, можно использовать для

Таблица 1/Table 1

Диагностические характеристики выявления РЖ и дисплазии, полученные в данном и в предыдущих исследованиях

Diagnostic characteristics of the detection of gastric cancer and dysplasia obtained in this and in the previous study

Диагностические характеристики/ Diagnostic characteristics	Дерево принятия решения – данная работа/ Decision Tree – this study		Дерево принятия решения из работы [11]/ Decision Tree from the study [11]	
	РЖ (95 % ДИ)/ Gastric cancer (95 % CI)	Дисплазия (95 % ДИ)/ Dysplasia (95 % CI), %	РЖ (95 % ДИ)/ Gastric cancer (95 % CI)	Дисплазия (95 % ДИ)/ Dysplasia (95 % CI)
Специфичность/ Specificity	94 % (90–97 %)	92 % (83–97 %)	93 % (86–97 %)	97 % (90–99 %)
Чувствительность/ Sensitivity	94 % (80–99 %)	94 % (89–97 %)	91 % (76–98 %)	87 % (75–94 %)
Общая точность/ Accuracy	94 % (90–97 %)	94 % (90–97 %)	93 % (86–96 %)	93 % (86–96 %)
ПЦПР/ PPV	76 % (63–85 %)	96 % (92–98 %)	84 % (70–92 %)	96 % (85–99 %)
ПЦОР/ NPV	99 % (95–99 %)	89 % (80–94 %)	96 % (90–99 %)	90 % (82–95 %)

Примечание: ПЦПР – предсказательная ценность положительного результата; ПЦОР – предсказательная ценность отрицательного результата; ДИ – доверительный интервал.

Notes: PPV – positive predictive value; NPV – negative predictive value; CI – confidence interval.

Результаты стратификации образцов ПБ с помощью дерева принятия решения, полученного в данной работе

The results of stratification of Barrett's esophagus samples using the decision tree obtained in this study

Заключение на основании экспрессии миРНК/ Conclusion based on miRNA expression	Количество/Quantity
Нормальная слизистая/ Normal mucosa	3 (10 %)
Дисплазия/Dysplasia	19 (63,3 %)
Рак/Cancer	8 (26,7 %)

выявления предраковых изменений эпителия и аденокарциномы пищевода. Было исследовано 30 гистологических образцов ПБ, однако только 28 относились к разным пациентам, у одного пациента было 3 операционных образца с известным гистологическим заключением – аденокарцинома пищевода. Следует отметить, что те три образца, для которых был отмечен послеоперационный диагноз, попали в группу «Рак» (табл. 2).

Обсуждение

Аденокарцинома пищевода развивается из ПБ, при котором нормальный многослойный плоский эпителий заменяется специализированной кишечной метаплазией в ответ на хронический рефлюкс в пищевод желудочной кислоты. У части людей ПБ может прогрессировать до дисплазии низкой и высокой степени (low-grade и high-grade) и в конечном итоге приводить к внутриэпителиальной, а затем инвазивной карциноме. Молекулярные исследования ПБ показали, что при кишечной метаплазии возникают изменения, которые также присутствуют в слизистой пищевода при дисплазии и в АП. Как ПБ, так и АП характеризуются потерей гетерозиготности, анеуплоидией, специфическими генетическими мутациями и клональным разнообразием.

Национальные рекомендации по текущему ведению ПБ в Великобритании и США советуют повторять эндоскопическое исследование через регулярные интервалы наблюдения [3, 13]. Динамический скрининг направлен на увеличение доли пациентов, у которых опухолевые образования выявляются на ранних стадиях (ВЭН или неинвазивной карциномы), чтобы можно было проводить эндоскопическое лечение. За прошедшие годы появились противоречивые данные о пользе скрининга. В исследовании, отражающем повседневную клиническую практику, эндоскопическое наблюдение не привело к значительному снижению риска смерти от АП [4].

С другой стороны, метаанализ 51 исследования, включающего более 11 000 пациентов, показал, что эндоскопическое наблюдение у больных с недиспластическим ПБ увеличивает вероятность раннего выявления опухоли и, следовательно, снижает риск смертности более чем на 61 % [5]. Эти данные были подтверждены результатами

проспективного многоцентрового когортного исследования из Нидерландов [14]. Таким образом, рекомендуется, чтобы у всех пациентов с ПБ целевые биопсии были взяты из участков видимых поражений, подозрительных на диспластические изменения слизистой оболочки, а также из четырех «случайных» фрагментов ткани с интервалами 2 см по всей протяженности сегмента ПБ – так называемый протокол Сиэтла [15].

Возможно, одним из наиболее важных вопросов при рассмотрении мониторинга пациентов является качество гистопатологического диагноза. В клинической практике выбор тактики лечения основан на субъективных оценках патоморфологов, которые могут иметь значительные расхождения в гистологическом диагнозе, особенно в отношении оценки степени дисплазии. Пока не будет разработан и утвержден более надежный инструмент диагностики, дополняющий морфологическое исследование, оценка должна проводиться двумя независимыми специалистами по патологии желудочно-кишечного тракта.

Прогрессирование ПБ в АП представляет собой патогенетический механизм, характеризующий процесс перехода в рак предшествующего патологического процесса. Геномные исследования ПБ показали, что это не просто метапластическая ткань, но что во многих случаях ПБ имеются соматические генетические изменения и почти при всех поражениях ПБ есть существенные эпигенетические изменения по сравнению с нормальной слизистой пищевода или кардии [16]. Анализ молекулярных изменений, отмеченных в процессе развития ПБ, был значительно улучшен благодаря значительному прогрессу в геномных технологиях, включая инструменты для изучения вариантов соматических мутаций, важные структурные изменения и эпигенетические изменения (метилирование ДНК, экспрессия миРНК) в раковых и предраковых клетках [17].

Одна из основных целей нашей работы состоит в оценке диагностической значимости миРНК в качестве потенциальных биомаркеров при скрининге изменений слизистой пищевода при кишечной метаплазии, для раннего выявления злокачественного поражения. Различные профили экспрессии миРНК для выявления РЖ определяют достаточно давно, однако результаты исследований нередко

противоречат друг другу, что мешает решить проблему ранней диагностики опухолей и предопухолевых процессов с помощью профилирования миРНК [9].

Как было показано в нашем предыдущем исследовании, небольшой набор из 6 миРНК позволяет дифференцировать РЖ и дисплазию слизистой желудка в гистологических образцах [11]. Учитывая факт возможной трансформации кишечной метаплазии в ПБ в аденокарциному, основной задачей представленного исследования была попытка использовать разработанную нами панель из 6 миРНК для классификации образцов с кишечной метаплазией при ПБ, чтобы выявить потенциальные раки и предраковые состояния на молекулярном уровне. В результате исследования 26,7 % образцов ПБ были классифицированы с помощью экспрессии предложенного набора миРНК как рак, что может свидетельствовать о потенциальном развитии злокачественной опухоли в слизистой пищевода, когда морфологические изменения еще не найдены.

Клинический пример

Мужчина, 43 лет. Диагноз при поступлении: Кардиоэзофагеальный рак TхNxM0 (I тип по Siewert). Из анамнеза известно, что в 2015 г. выявлена гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, ПБ. При гистологическом исследовании биоптатов из нижней трети слизистой пищевода обнаружены: кишечная метаплазия, циркулярное поражение, дисплазия легкой степени тяжести. Выполнена радиочастотная абляция, через 1 мес повторена биопсия слизистой пищевода и проведена лапароскопическая фундопликация. В дальнейшем продолжено консервативное лечение препаратами из группы ингибиторов протонной помпы.

При контрольной ФГС в апреле 2019 г. выявлен участок дисплазии на фоне желудочной метаплазии слизистой нижней трети пищевода, признаки хронического рефлюкс-эзофагита, состояние после фундопликации, эритематозная гастропатия. Выполнена эндоскопическая резекция слизистой. Гистологический диагноз: высокодифференцированная аденокарцинома нижней трети пищевода. Заключение на основе анализа миРНК: рак. При дополнительном обследовании, включающем фиброколоноскопию, компьютерную томографию с контрастированием, общеклинические исследования, отдаленных метастазов не выявлено. Дальнейшая тактика лечения обсуждена на мультисциплинарном консилиуме, принято решение об оперативном лечении в объеме проксимальной резекции желудка с нижней третью пищевода и расширенной лимфодиссекцией, с последующим решением вопроса о необходимости адъювантной системной терапии по данным плановой гистологической проводки операционного материала.

тидисциплинарном консилиуме, принято решение об оперативном лечении в объеме проксимальной резекции желудка с нижней третью пищевода и расширенной лимфодиссекцией, с последующим решением вопроса о необходимости адъювантной системной терапии по данным плановой гистологической проводки операционного материала.

Заключение

Эндоскопическое лечение влечет за собой резекцию слизистой оболочки любого видимого поражения с последующей абляцией всего сегмента ПБ, что может быть достигнуто с использованием нескольких методов, включая радиочастотную абляцию и аргоно-плазменную коагуляцию [18]. На основании рандомизированного контролируемого исследования пациентам с диагнозом ВЭН решение о проведении хирургического лечения должно быть подтверждено двумя независимыми патологами для исключения больных с доброкачественным процессом [19].

Учитывая высокую специфичность экспрессии миРНК для каждого вида ткани, включая опухолевую, данную диагностическую панель можно использовать в качестве онкомаркеров для идентификации раннего рака пищевода по результатам исследования биопсийного материала. Результаты применения классификатора из набора 7 миРНК (145, -150, -20а, -21, -31, -34а, -375) при исследовании образцов слизистой у пациентов с ПБ указывают на возможность их использования при дифференциальной диагностике опухолевых и предраковых изменений.

Данные, полученные в проведенном исследовании, позволяют высказать мнение, что кишечная метаплазия кардиоэзофагеальной зоны практически в каждом 4-м случае по молекулярному профилю соответствует раку желудка. Больным из этой группы показано более «агрессивное» лечение для предупреждения развития аденокарциномы. Дальнейшие исследования с увеличением выборки пациентов и расширением панели применяемых миРНК позволят предложить метод молекулярного анализа в качестве скрининга ПБ и, возможно, для более раннего выявления злокачественной трансформации слизистой оболочки в зоне кардиоэзофагеального перехода. Наличие профиля микроРНК, который будет соответствовать аденокарциноме пищевода, может рассматриваться в качестве показаний для эндоскопической резекции слизистой у больных с пищеводом Барретта.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Wani S., Drahos J., Cook M.B., Rastogi A., Bansal A., Yen R., Sharma P., Das A. Comparison of endoscopic therapies and surgical resection in patients with early esophageal cancer: a population-based study. *Gastrointest Endosc.* 2014 Feb; 79(2): 224–232.e1. doi: 10.1016/j.gie.2013.08.002.
2. Pech O., May A., Manner H., Behrens A., Pohl J., Weferling M., Hartmann U., Manner N., Huijsmans J., Gossner L., Rabenstein T., Vieth M., Stolte M., Ell C. Long-term efficacy and safety of endoscopic resection for patients with mucosal adenocarcinoma of the esophagus. *Gastroenterology.* 2014 Mar; 146(3): 652–660.e1. doi: 10.1053/j.gastro.2013.11.006.

3. Fitzgerald R.C., di Pietro M., Ragunath K., Ang Y., Kang J.Y., Watson P., Trudgill N., Patel P., Kaye P.V., Sanders S., O'Donovan M., Bird-Lieberman E., Bhandari P., Jankowski J.A., Atwood S., Parsons S.L., Loft D., Lagergren J., Moayyedi P., Lyraztopoulos G., de Caestecker J.; *British Society of Gastroenterology.* British Society of Gastroenterology guidelines on the diagnosis and management of Barrett's oesophagus. *Gut.* 2014 Jan; 63(1): 7–42. doi: 10.1136/gutjnl-2013-305372.

4. Corley D.A., Mehtani K., Quesenberry C., Zhao W., de Boer J., Weiss N.S. Impact of endoscopic surveillance on mortality from Barrett's esophagus-associated esophageal adenocarcinomas. *Gastroenterology.* 2013 Aug; 145(2): 312–9.e1. doi: 10.1053/j.gastro.2013.05.004.

5. Qiao Y, Hyder A, Bae S.J., Zarin W, O'Neill T.J., Marcon N.E., Stein L., Thein H.H. Surveillance in Patients With Barrett's Esophagus for Early Detection of Esophageal Adenocarcinoma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Clin Transl Gastroenterol*. 2015 Dec 10; 6(12): e131. doi: 10.1038/ctg.2015.58.
6. Vennalaganti P, Kanakadandi V, Goldblum J.R., Mathur S.C., Patil D.T., Offerhaus G.J., Meijer S.L., Vieth M., Odze R.D., Shreyas S., Parasa S., Gupta N., Repici A., Bansal A., Mohammad T., Sharma P. Discordance Among Pathologists in the United States and Europe in Diagnosis of Low-Grade Dysplasia for Patients With Barrett's Esophagus. *Gastroenterology*. 2017 Feb; 152(3): 564–570.e4. doi: 10.1053/j.gastro.2016.10.041.
7. Di Leva G., Garofalo M., Croce C.M. MicroRNAs in cancer. *Annu Rev Pathol*. 2014; 9: 287–314. doi: 10.1146/annurev-pathol-012513-104715.
8. Pereira A.L., Magalhães L., Moreira F.C., Reis-das-Mercês L., Vidal A.F., Ribeiro-Dos-Santos A.M., Demachki S., Anaissi A.K.M., Burbano R.M.R., Albuquerque P., Dos Santos S.E.B., de Assumpção P.P., Ribeiro-Dos-Santos A.K.C. Epigenetic Field Cancerization in Gastric Cancer: microRNAs as Promising Biomarkers. *J Cancer*. 2019 Feb 26; 10(6): 1560–1569. doi: 10.7150/jca.27457.
9. Hwang J., Min B.H., Jang J., Kang S.Y., Bae H., Jang S.S., Kim J.I., Kim K.M. MicroRNA Expression Profiles in Gastric Carcinogenesis. *Sci Rep*. 2018 Sep 26; 8(1): 14393. doi: 10.1038/s41598-018-32782-8.
10. Titov S.E., Ivanov M.K., Karpinskaya E.V., Tsvilikova E.V., Shevchenko S.P., Veryaskina Y.A., Akhmerova L.G., Poloz T.L., Klimova O.A., Gulyaeva L.F., Zhimulev I.F., Kolesnikov N.N. miRNA profiling, detection of BRAF V600E mutation and RET-PTC1 translocation in patients from Novosibirsk oblast (Russia) with different types of thyroid tumors. *BMC Cancer*. 2016 Mar 9; 16: 201. doi: 10.1186/s12885-016-2240-2.
11. Титов С.Е., Анищенко В.В., Полоз Т.Л., Веряскина Ю.А., Архипова А.А., Устинов С.Н. Возможности дифференциальной диагностики рака желудка и предраковых изменений слизистой желудка с помощью анализа экспрессии шести микроРНК. Клиническая лабораторная диагностика. 2020; 65(2): 131–136. [Titov S.E., Anishchenko V.V., Poloz T.L., Veryaskina Yu.A., Arkhipova A.A., Ustinov S.N. Differential Diagnostics of Gastric Cancer and Precancerous Changes of the Gastric Mucosa Using Analysis of Expression of Six Micrnas. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2020; 65(2): 131–136. (in Russian)]. doi: 10.18821/0869-2084-2020-65-2-131-136.
12. Krzywinski M., Altman N.S. Classification and regression trees. *Nature Methods*. 2017; 14(8): 757–758. doi: 10.1038/nmeth.4370.
13. American Gastroenterological Association, Spechler S.J., Sharma P., Souza R.F., Inadomi J.M., Shaheen N.J. American Gastroenterological Association medical position statement on the management of Barrett's esophagus. *Gastroenterology*. 2011; 140(3): 1084–91. doi: 10.1053/j.gastro.2011.01.030.
14. Kastelein F., van Olphen S.H., Steyerberg E.W., Spaander M.C., Bruno M.J.; ProBar-Study Group. Impact of surveillance for Barrett's oesophagus on tumour stage and survival of patients with neoplastic progression. *Gut*. 2016 Apr; 65(4): 54854. doi: 10.1136/gutjnl-2014-308802.
15. Levine D.S., Blount P.L., Rudolph R.E., Reid B.J. Safety of a systematic endoscopic biopsy protocol in patients with Barrett's esophagus. *Am J Gastroenterol*. 2000; 95(5): 1152–7. doi: 10.1111/j.1572-0241.2000.02002.x.
16. Grady W.M., Yu M. Molecular Evolution of Metaplasia to Adenocarcinoma in the Esophagus. *Dig Dis Sci*. 2018 Aug; 63(8): 2059–69. doi: 10.1007/s10620-018-5090-8.
17. Contino G., Vaughan T.L., Whiteman D., Fitzgerald R.C. The Evolving Genomic Landscape of Barrett's Esophagus and Esophageal Adenocarcinoma. *Gastroenterology*. 2017; 153(3): 657–3.e1. doi: 10.1053/j.gastro.2017.07.007.
18. Haidry R.J., Dunn J.M., Butt M.A., Burnell M.G., Gupta A., Green S., Miah H., Smart H.L., Bhandari P., Smith L.A., Willert R., Fullarton G., Morris J., Di Pietro M., Gordon C., Penman I., Barr H., Patel P., Boger P., Kapoor N., Mahon B., Hoare J., Narayanamy R., O'Toole D., Cheong E., Direkze N.C., Ang Y., Novelli M., Banks M.R., Lovat L.B. Radiofrequency ablation and endoscopic mucosal resection for dysplastic Barrett's esophagus and early esophageal adenocarcinoma: outcomes of the UK National Halo RFA Registry. *Gastroenterology*. 2013 Jul; 145(1): 87–95. doi: 10.1053/j.gastro.2013.03.045.
19. Phoa K.N., van Vilsteren F.G., Weusten B.L., Bisschops R., Schoon E.J., Ragunath K., Fullarton G., Di Pietro M., Ravi N., Visser M., Offerhaus G.J., Seldenrijk C.A., Meijer S.L., ten Kate F.J., Tijssen J.G., Bergman J.J. Radiofrequency ablation vs endoscopic surveillance for patients with Barrett esophagus and low-grade dysplasia: a randomized clinical trial. *JAMA*. 2014 Mar 26; 311(12): 1209–17. doi: 10.1001/jama.2014.2511.

Поступила/Received 06.04.2020
Принята в печать/Accepted 28.05.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Анищенко Владимир Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, научный руководитель клиники хирургии АО медицинского центра Авиценна группы компаний «Мать и Дитя»; заведующий кафедрой хирургии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки врачей, НГМУ (г. Новосибирск, Россия). E-mail: avv1110@yandex.ru. ORCID: 0000-0003-1178-5205.

Титов Сергей Евгеньевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории ПЦР, АО «Вектор-Бест»; старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики, ФГБУН «Институт молекулярной и клеточной биологии» СО РАН; инженер лаборатории структурной, функциональной и сравнительной геномики, НГУ (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 4924-8365. ORCID: 0000-0001-9401-5737. Research ID (WOS): O-5808-2015. Author ID (Scopus): 57159107200.

Полоз Татьяна Львовна, доктор медицинских наук, заведующая цитологической лабораторией, ЧУЗ «Клиническая больница» РЖД-Медицина (г. Новосибирск, Россия). ORCID: 0000-0003-4006-7560.

Веряскина Юлия Андреевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики, ФГБУН «Институт молекулярной и клеточной биологии» СО РАН (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 7989-6099. ORCID: 0000-0002-3799-9407. Research ID (WOS): N-7020-2015. Author ID (Scopus): 57160188400.

Архипова Анна Александровна, кандидат медицинских наук, заведующая эндоскопическим отделением, ГБУ ЗНО «Городская клиническая больница № 2» (г. Новосибирск, Россия). ORCID: 0000-0001-5653-2960.

Бубнов Иван Валерьевич, врач эндоскопического отделения, АО медицинского центра Авиценна группы компаний «Мать и Дитя» (г. Новосибирск, Россия). ORCID: 0000-0001-7828-2878.

ВКЛАД АВТОРОВ

Анищенко Владимир Владимирович: разработка концепции научной работы, составление черновика рукописи, критический пересмотр рукописи.

Титов Сергей Евгеньевич: разработка концепции научной работы, составление черновика рукописи, молекулярно-генетический анализ гистологического материала, статистическая обработка данных.

Полоз Татьяна Львовна: разработка концепции научной работы, составление черновика рукописи, морфологический анализ материала, редактирование текста.

Веряскина Юлия Андреевна: обработка и анализ гистологического материала, статистическая обработка данных.

Архипова Анна Александровна: сбор, обработка и молекулярно-генетический анализ клинического материала.

Бубнов Иван Валерьевич: сбор, обработка и анализ клинического материала.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Vladimir V. Anishchenko, MD, DSc, Professor, Head of Scientific Department AO Medical Centre Avicenna, group of companies «Mother and Child», Head of the Postgraduate Education Faculty Surgery Department, Novosibirsk State Medical University (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0003-1178-5205

Sergey E. Titov, PhD, Senior Researcher of the Laboratory of PCR, AO Vector-Best (Koltsovo, Russia); Senior Assistant of the Laboratory of Molecular Genetics, Institute of Molecular and Cell Biology SB RAS (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0001-9401-5737. Research ID (WOS): O-5808-2015. Author ID (Scopus): 57159107200.

Tatiana L. Poloz, MD, DSc, Head of Cytological Laboratory, Private Healthcare Institution «Clinical Hospital «RZD-Medicine» (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0003-4006-7560.

Yuliya A. Veryaskina, PhD, Researcher of the Laboratory of Gene Engineering, Institute of Cytology and Genetics SB RAS; Researcher of the Laboratory of Molecular Genetics, Institute of Molecular and Cell Biology SB RAS (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0002-3799-9407. Research ID (WOS): N-7020-2015. Author ID (Scopus): 57160188400.

Anna A. Arkhipova, MD, PhD, Head of Endoscopy Department, State Public Health Service of the Novosibirsk Region «City Clinical Hospital № 2» (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0001-5653-2960.

Ivan V. Bubnov, MD, Endoscopy Department AO Medical Centre Avicenna, group of companies «Mother and Child» (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0001-7828-2878.

AUTHOR CONTRIBUTION

Vladimir V. Anishchenko: study design, drafting of the manuscript, critical review of the manuscript.

Sergey E. Titov: study design, drafting of the manuscript, molecular-genetic analysis of histologic samples, statistical data analysis.

Tatiana L. Poloz: study design, drafting of the manuscript, morphological analysis, editing of the manuscript.

Yuliya A. Veryaskina: processing and molecular-genetic analysis of histologic samples, statistical data analysis.

Anna A. Arkhipova: collection, processing and analysis of clinical data.

Ivan V. Bubnov: collection, processing and analysis of clinical data.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.