

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2023-10-4-97-107>

Анализ экспрессии матричной РНК панели генов морфологически неизмененного эпителия прямой кишки как метод ранней диагностики патологии толстой кишки

В.К. Боженко¹, С.В. Гончаров¹, М.В. Захаренко¹, Я.Ю. Киселева¹, Т.А. Кармакова², Т.М. Кулинич¹,
У.С. Станоевич³, Н.В. Мельникова¹, А.Л. Сенчукова¹, И.Б. Грунин¹, О.П. Близнюков¹, В.А. Солодкий¹

¹ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Минздрава России; Россия, 117997 Москва, ул. Профсоюзная, 86;

²Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России; Россия, 125284 Москва, 2-й Боткинский проезд, 3;

³ОБУЗ «Курский онкологический научно-клинический центр им. Г.Е. Островерхова»; Россия, 305524 Курская обл., Курский район, Рышковский с/с, хутор Кислино, ул. Елисеева, 1

Контакты: Владимир Константинович Боженко vbojenko@mail.ru

Введение. Отсутствие специфических клинических симптомов на ранних стадиях развития колоректального рака приводит к тому, что четверть пациентов, впервые обращающихся за помощью, имеют метастатическую стадию заболевания. Для своевременного обнаружения предопухолевых нарушений или скрытых очагов малигнизации сегодня активно изучаются возможности современных молекулярно-биологических технологий.

Цель исследования – разработка метода диагностики опухолевых заболеваний толстой кишки на основе молекулярно-генетического анализа морфологически неизмененного кишечного эпителия, отдаленного от очага опухолевого поражения.

Материалы и методы. Исследован профиль экспрессии матричной РНК (мРНК) 63 генов-кандидатов, потенциально связанных с патогенезом неопластических изменений, в образцах слизистой оболочки прямой кишки. Образцы получены в ходе профилактической и/или диагностической видеокколоноскопии 122 пациентов, из которых у 41 в анамнезе не было заболеваний толстой кишки (группа «Норма»), у 32 – установлен диагноз «полипы толстой кишки» (группа «Полипоз»), у 49 – диагноз «карцинома толстой кишки» (группа «Колоректальный рак»). Экспрессию мРНК оценивали методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией.

Результаты. С помощью дискриминантного анализа установлено, что клеточный материал соскобов из прямой кишки в группе колоректального рака достоверно, с точностью выше 96 %, отличается по экспрессионному фенотипу от групп нормы и полипоза.

Заключение. Полученные данные являются предпосылкой к разработке малоинвазивного метода диагностики, который может быть использован в рамках амбулаторного обследования для оценки риска наличия опухолевого заболевания толстой кишки.

Ключевые слова: экспрессия генов, матричная РНК, полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией, неизменная слизистая оболочка толстой кишки, скрининг колоректального рака, диагностика колоректального рака

Для цитирования: Боженко В.К., Гончаров С.В., Захаренко М.В. и др. Анализ экспрессии матричной РНК панели генов морфологически неизмененного эпителия прямой кишки как метод ранней диагностики патологии толстой кишки. Успехи молекулярной онкологии 2023;10(4):97–107. DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2023-10-4-97-107>

Analysis of the expression of matrix RNA of a panel of genes of morphologically unchanged rectal epithelium as a method of early diagnosis of colon pathology

V.C. Bozhenko¹, S.V. Goncharov¹, M.V. Zakharenko¹, Ya. Yu. Kiseleva¹, T.A. Karmakova², T.M. Kulinich¹, U.S. Stanoevich³,
N.V. Melnikova¹, A.L. Senchukova¹, I.B. Grunin¹, O.P. Bliznyukov¹, V.A. Solodky¹

¹Russian Scientific Center of Roentgenoradiology; 86 Profsoyuznaya St., Moscow 117997, Russia;

²P.A. Herzen Moscow Research Oncological Institute – branch of the National Medical Research Center of Radiology, Ministry of Health of Russia; 3 2nd Botkinsky Proezd, Moscow 125284, Russia;

³G.E. Ostroverkhov Kursk Oncology Research and Clinical Center; 1 Eliseeva St., Kislino Hutor, Ryshkovsky s/s, Kursk Region, Kursk District 305524, Russia

Contacts: Vladimir Konstantinovich Bozhenko vbojenko@mail.ru

Introduction. The absence of specific clinical symptoms in the early stages of colorectal cancer development leads to the fact that a quarter of patients who seek help for the first time have a metastatic stage of the disease. For the timely detection of pre-tumor disorders or hidden foci of malignancy, the possibilities of modern molecular biological technologies are being actively studied today.

Aim. To develop a method for diagnosing tumor diseases of the colon based on molecular genetic analysis of morphologically unchanged intestinal epithelium distant from the focus of the tumor lesion.

Materials and methods. We examined the matrix RNA (mRNA) expression profile of 63 candidate genes potentially associated with the pathogenesis of neoplastic changes in rectal mucosal samples. Samples were obtained during prophylactic and/or diagnostic video colonoscopy of 122 patients, 41 of whom had no history of breast cancer ("Normal"), 32 patients were diagnosed with breast cancer polyps ("Polyposis") and 49 patients were diagnosed with breast cancer ("Colorectal cancer"). mRNA expression was assessed by reverse transcription polymerase chain reaction.

Results. Using the discriminant analysis method, it was established that the cellular material of scrapings from the rectum in the "Colorectal cancer" group reliably, with a classification accuracy above 96 %, differs in expression phenotype from the "Normal" and "Polyposis" groups.

Conclusion. The data obtained are a prerequisite for the development of a minimally invasive diagnostic method that can be used as part of an outpatient examination to assess the risk of colon tumor disease.

Keywords: gene expression, matrix RNA, reverse transcription polymerase chain reaction, unchanged colon mucosa, colorectal cancer screening, diagnosis of colorectal cancer

For citation: Bozhenko V.C., Goncharov S.V., Zakharenko M.V. et al. Analysis of the expression of matrix RNA of a panel of genes of morphologically unchanged rectal epithelium as a method of early diagnosis of colon pathology. *Uspehi Molekularnoj Onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2023;10(4):97–107. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2023-10-4-97-107>

ВВЕДЕНИЕ

Колоректальный рак (КРР) является одной из главных причин онкологической заболеваемости и смертности во всем мире. При своевременной ранней диагностике 5-летняя выживаемость достигает 90 %. Однако КРР диагностируется на I и II стадиях менее чем в 40 % случаев, что объясняет высокую смертность и низкие показатели безрецидивной выживаемости. Разработка и совершенствование методов лечения данной патологии способствуют снижению смертности и увеличению продолжительности жизни [1, 2]. Внедрение в ряде стран программ скрининга, включающих методы эндоскопической диагностики и исследование кала на скрытую кровь, позволило добиться снижения темпов роста заболеваемости КРР, повысить выявляемость этого злокачественного новообразования на ранних стадиях. Однако отсутствие специфических клинических симптомов опухолевого поражения толстой кишки (ТК) на ранних стадиях часто является причиной поздней диагностики заболевания, вследствие чего показатели смертности и безрецидивной выживаемости остаются неизменными на протяжении последних 10 лет [2].

Классические сывороточные маркеры, такие как раковый эмбриональный антиген и СА19–9, сегодня применяются для мониторинга больных КРР после лечения, однако их значимость для ранней диагностики опухоли невелика [3, 4]. Объективная сложность выполнения эндоскопического исследования при профилактических обследованиях и недостаточные чувствительность и специфичность лабораторных

тестов делают крайне востребованным появление новых информативных методов выявления данной патологии [3].

В настоящее время ведется активный поиск биологических маркеров, ассоциированных с КРР, доступных для определения в крови или содержимом кишечника. В число маркеров-кандидатов входят некоторые соматические мутации и зоны метилирования ДНК, некодирующие РНК, белки, регулирующие процессы пролиферации, адгезии и неоангиогенеза, аутоантитела, цитокины, метаболиты и состав микробиома [5]. Современный уровень развития молекулярно-биологических технологий, накопленные знания о молекулярном патогенезе КРР, ставшее рутинным использование молекулярно-генетических методов анализа в клинической практике создают многообещающие предпосылки для развития этого направления.

Необходимо подчеркнуть, что хотя КРР — одно из наиболее изучаемых злокачественных новообразований, механизмы возникновения его спорадических форм еще далеки от понимания. Нацеленность на обнаружение предопуховых изменений или скрытых очагов малигнизации обуславливает интерес к изучению морфологически неизменной слизистой оболочки, как перитуморальной, так и располагающейся на удалении от опухоли [6, 7]. Фенотипические (молекулярные) особенности, обнаруживаемые в неизменных тканях, могут являться предикторами злокачественной трансформации или способствовать прогрессированию патологических нарушений [8, 9]. Ранее было показано, что по данным молекулярно-генетического

и транскриптомного анализов морфологически нормальный эпителий ТК больных КРР отличается от кишечного эпителия здоровых лиц и пациентов с полипами или колитом [10]. Эти результаты нашли подтверждение в работах других авторов [11]. Изменения, регистрируемые в здоровой слизистой оболочке при развитии онкологического процесса, затрагивают самые разные функциональные характеристики ткани: от пролиферации и метаболизма клеток до активности провоспалительных сигналов [12–14]. Таким образом, сведения, полученные при анализе морфологически неизмененных тканей пораженного органа, могут быть основой для поиска новых методов диагностики патологического процесса. Ранее было показано, что при развитии КРР молекулярные изменения в морфологически неизмененном эпителии обнаруживаются во всех отделах ТК, однако наибольший интерес с точки зрения диагностики представляют те, что происходят в прямой кишке (ПК) [15]. Клеточный материал слизистой ПК человека является наиболее доступным, поскольку существует возможность малоинвазивного способа его получения в виде соскоба при ректальном исследовании, что в дальнейшем может существенно облегчить разработку диагностического метода.

Цель исследования – разработка метода диагностики заболеваний ТК на основе молекулярно-генетического анализа морфологически неизмененного эпителия ПК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выполнен сравнительный анализ профилей экспрессии генов в клеточном материале соскобов ($n = 122$) морфологически неизмененной слизистой оболочки ПК у лиц без патологии ТК, пациентов с полипами ТК и установленным диагнозом КРР.

В исследование включены образцы пациентов, проходивших обследование и лечение в Российском научном центре рентгенодиагностики ($n = 91$) и Курском онкологическом научно-клиническом центре им. Г.Е. Островерхова ($n = 31$) с 2018 по 2019 г. У 49 больных был морфологически подтвержденный диагноз «аденокарцинома ТК», у 32 – гиперпластические и аденоматозные полипы ТК, у 41 – не выявлено гиперпролиферативной или воспалительной патологии ТК и онкологических заболеваний в анамнезе. Для анализа использовали материал соскобов, взятых со слизистой оболочки ПК в ходе профилактической и/или диагностической видеокOLONоскопии. Мазки брали с помощью уrogenитального зонда типа D «Цитощетка» из ампулярного отдела ПК на расстоянии 6–10 см от ануса.

Были сформированы 3 группы: в 1-ю вошли пациенты со злокачественными новообразованиями ободочной кишки и ПК (группа «КРР»), во 2-ю – с доброкачественной гиперпролиферативной патологией ТК (группа «Полипоз»), в 3-ю – без патологии ТК (группа

Таблица 1. Клинико-морфологические характеристики пациентов с колоректальным раком и полипозом

Table 1. Clinical and morphological characteristics of patients with colorectal cancer and polyposis

Характеристика Characteristic	Частота случаев, % Frequency of cases, %
Колоректальный рак Colorectal cancer	
Стадия заболевания: Disease stage:	
I	13,3
II	24,5
III	31,1
IV	31,1
Степень распространенности первичной опухоли: Degree of prevalence of the first tumor:	
T1	4,4
T2	8,9
T3	68,9
T4	17,8
Наличие лимфогенных метастазов: Presence of lymphogenous metastases:	
N0	46,6
N1–3	53,4
Наличие отдаленных метастазов: Presence of distant metastases:	
M0	68,9
M1	31,1
Степень злокачественности опухоли: Tumor grade:	
G ₁	59,1
G ₂	22,7
G ₃	4,5
не оценивалась not assessed	13,7
Полипоз Polyposis	
Тип полипа: Polyp type:	
гиперпластический полип hyperplastic polyp	35,5
тубулярная аденома tubular adenoma	29
тубуловорсинчатая аденома tubulovillous adenoma	22,6
зубчатый полип serrated polyp	12,9
Степень дисплазии: Dysplasia grade:	
без дисплазии without dysplasia	31,8
легкая lightweight	36,4
умеренная moderate	13,6
тяжелая heavy	18,2

«Норма»). Средний возраст больных группы «КРР» (39 % женщин, 61 % мужчин) составил $65,9 \pm 10,3$ года, группы «Полипоз» (37,5 % женщин, 62,5 % мужчин) – $62,1 \pm 11,4$ года, группы «Норма» (87,8 % женщин, 12,2 % мужчин) – $54,5 \pm 13,3$ года.

Диагноз установлен по данным клинических, инструментальных и морфологических методов исследования. Стадия КРР определена по международной классификации Tumor, Nodus and Metastasis. Клинико-морфологическая характеристика пациентов с КРР и полипозом представлена в табл. 1, а локализация патологического процесса в отделах кишечника у больных КРР и с полипами ТК – в табл. 2. В связи с небольшим количеством образцов из проксимальных отделов ТК при локализации патологического процесса в печеночном углу и восходящем отделе образцы объединили в группу «Восходящий отдел», при расположении опухоли в селезеночном углу и нисходящем отделе – в группу «Нисходящий отдел» (см. табл. 2).

Таблица 2. Распределение образцов в группах в зависимости от локализации доброкачественного и злокачественного опухолевого поражения толстой кишки

Table 2. Distribution of samples in groups depending on the location of benign and malignant tumor lesions of the colon

Отдел толстой кишки Colon section	Полипы, абс. (n = 32) Polyps, abs. (n = 32)	Колоректальный рак, абс. (n = 49) Colorectal cancer, abs. (n = 49)
Восходящий Rising	6	10
Нисходящий Descending	5	6
Сигмовидный Sigmoid	6	14
Прямая кишка Rectum	15	19

Образцы клеточного материала помещали в стабилизирующий РНК раствор Ever Fresh RNA («Клоноген», Россия). Выделение суммарной РНК проводили с помощью набора RNeasy Mini Kit (QIAGEN, Германия) согласно протоколу производителя. РНК элюировали в 100 мкл DEPC-обработанной воды. Концентрация РНК в конечном растворе составляла 35–40 мкг/мл. Из протокола был исключен этап обработки ДНКазой I, так как в качестве затравок для последующей обратной транскрипции (ОТ) использовали праймеры, специфические для сплайсированной мРНК исследуемых генов, разработанные компанией «НПФ ДНК-Технология» (Россия). Реакцию ОТ проводили с помощью ген-специфичных праймеров, наборов реагентов, протоколов и оборудования «НПФ ДНК-Технология» (Россия). Экспрессию мРНК измеряли в относительных единицах,

определяемых методом сравнения индикаторных циклов (Cp), как описано ранее [16, 17]. В результате анализа в каждом образце клеточного материала выявлен относительный уровень экспрессии мРНК 63 генов, относящихся к разным функциональным кластерам (табл. 3).

Таблица 3. Гены, включенные в анализ

Table 3. Genes included in the analysis

Гены Genes	Биологическая функция Biological function
<i>Ki-67, CCND1, CCNB1, PTEN, STK-15 (AURKA), P16INK4A, P14ARF, HER2/neu (C-erbB2), TERT</i>	Пролиферация Proliferation
<i>BCL2, BAX, BAG1, NDRG1, BIRC5</i>	Апоптоз Apoptosis
<i>C-MYC, MYBL2</i>	Транскрипция Transcription
<i>MMP2, MMP7, MMP8, MMP9, MMP11, CTSL2, PAPP, TPA</i>	Межклеточные взаимодействия Intercellular interactions
<i>ESR1, PGR, CYP19A1, GRB7, CD45, CD56, CD68, CD69</i>	Дифференцировка клеток Cell differentiation
<i>VEGFA121, VEGFA165, VEGFA189, SCUBE2, IGF1, IGF2, TGFβ</i>	Факторы роста Growth factors
<i>IL1β, IL2, IL6, IL7, IL8, IL10, IL12α, IL15, COX-2, TNFα, TLR2, TLR4, TLR7, IFNγ, GNLy, HLA-G1, HLA-G5, LIF, LIFR, LGALS1, GATA3, IL2Ra, GREM1</i>	Регуляция иммунного ответа Regulation of the immune response
<i>GSTM1</i>	Метаболизм Metabolism

Статистический анализ базы данных выполнен с помощью программных пакетов Microsoft Excel и Statistica 13 (США). Были использованы параметрические методы (*t*-критерий Стьюдента для нормального распределения) и дискриминантный анализ с пошаговым включением/исключением переменных. Принцип дискриминантного анализа описан ранее [17]. Различия между группами считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Диагностически значимые гены выделяли по статистически значимым различиям между группами ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

На первом этапе исследования выполнено сравнение профиля экспрессии мРНК 62 генов в неизменной слизистой оболочке ПК между группами «КРР» и «Норма». Использование серии *t*-критериев при сравнении групп по каждому гену в зависимости от локализации опухолевого процесса в ТК позволило

выявить 34 гена с достоверными ($p < 0,05$) различиями уровня экспрессии мРНК (табл. 4).

У пациентов с раком ПК по сравнению с контрольной группой отмечены достоверно более высокие

Таблица 4. Значения относительного уровня экспрессии матричной РНК исследуемых генов в группах «Норма» и «Колоректальный рак» в зависимости от локализации опухоли в отделах толстой кишки, $\mu \pm \sigma$

Table 4. Values of the relative level of matrix RNA expression of the studied genes in the "Norm" group and in the "Colorectal cancer" group depending on the location of the tumor in the sections of the colon, $\mu \pm \sigma$

Ген Gene	Норма (n = 41) Norm (n = 41)	ПК (n = 19) R (n = 19)	СОК (n = 14) SC (n = 14)	НОК (n = 6) DC (n = 6)	ВОК (n = 10) AC (n = 10)
BAG1	5,0 ± 1,0	5,0 ± 1,3	4,4 ± 0,8*	4,8 ± 0,9	5,1 ± 0,7
BAX	8,4 ± 4,6	11,3 ± 1,3*	6,8 ± 5,4	10,9 ± 0,8	7,6 ± 5,4
CCNB1	6,1 ± 3,2	7,9 ± 1,5*	6,5 ± 2,8	7,5 ± 0,8	6,4 ± 4,1
CD45	6,9 ± 3,2	9,1 ± 1,9**	7,61 ± 3,0	9,2 ± 1,5	5,6 ± 4,1
CD56	1,5 ± 2,4	3,3 ± 3,7*	3,2 ± 4,2	2,7 ± 3,5	2,2 ± 3,6
CD69	5,9 ± 2,8	8,0 ± 2,3**	6,4 ± 3,5	8,0 ± 2,5*	4,9 ± 3,6
COX-2	12,2 ± 5,4	16,1 ± 3,0**	12,9 ± 5,8	15,9 ± 3,1	11,0 ± 6,6
CTSL2	11,4 ± 1,6	9,9 ± 2,7**	10,8 ± 1,7	11,7 ± 1,4	10,9 ± 2,0
GNLY	10,4 ± 7,8	16,0 ± 4,3**	12,8 ± 7,2	17,7 ± 2,4*	10,1 ± 8,8
GRB7	17,5 ± 1,2	16,6 ± 1,2*	17,3 ± 1,0	17,3 ± 1,1	17,3 ± 1,7
GREM1	3,7 ± 5,5	8,4 ± 4,4**	4,1 ± 4,5	8,3 ± 5,3	7,7 ± 5,4*
HLA-G1	5,2 ± 5,4	9,9 ± 5,1**	5,91 ± 6,24	11,4 ± 2,9**	5,1 ± 6,9
IFNg	4,8 ± 5,5	9,3 ± 4,4**	7,9 ± 5,52	8,7 ± 4,7	5,2 ± 5,5
IGF2	1,5 ± 3,4	4,2 ± 5,9*	1,8 ± 4,6	3,8 ± 5,9	4,2 ± 5,5
IL2	0,2 ± 1,0	1,67 ± 3,0**	2,8 ± 4,1***	1,2 ± 2,9	1,9 ± 3,2**
IL6	4,9 ± 6,1	9,1 ± 6,1*	4,5 ± 5,8	7,3 ± 8,2	5,2 ± 6,9
KI67	4,7 ± 2,3	6,3 ± 1,6*	6,0 ± 2,4	5,5 ± 0,7	4,8 ± 3,5
LGALS1	9,8 ± 4,4	12,1 ± 1,9*	10,2 ± 3,6	12,0 ± 1,7	8,9 ± 6,3
LIF	6,2 ± 5,3	8,5 ± 5,1	2,7 ± 5,4*	7,6 ± 6,1	5,4 ± 5,7
MMP8	4,4 ± 6,0	10,0 ± 5,8**	9,2 ± 6,2*	12,2 ± 1,5**	6,7 ± 7,3
MMP9	11,1 ± 5,4	13,7 ± 1,9*	13,5 ± 2,4	13,3 ± 2,0	11,8 ± 4,8
MYBL2	4,1 ± 2,6	5,8 ± 1,7*	5,2 ± 2,5	4,2 ± 1,6	6,1 ± 2,5*
MYC	2,9 ± 1,3	3,7 ± 1,2*	4,0 ± 2,1*	3,0 ± 0,7	4,4 ± 1,6**
P14ARF	11,7 ± 4,7	11,0 ± 3,5	10,3 ± 3,8	10,4 ± 5,9	7,3 ± 6,4*
P16INK4A	12,4 ± 1,9	11,5 ± 1,8	11,0 ± 2,3*	12,0 ± 2,0	11,9 ± 2,4
PGR	0,5 ± 1,4	2,1 ± 3,7*	—	3,4 ± 3,8**	3,0 ± 4,8**
PTEN	18,1 ± 0,6	18,1 ± 0,8	18,2 ± 0,9	18,4 ± 0,4	17,6 ± 0,5*
SCUBE2	1,8 ± 3,5	3,8 ± 3,6*	1,8 ± 3,2	1,5 ± 2,4	1,7 ± 3,7
STK15	2,7 ± 1,2	3,5 ± 0,9*	3,1 ± 1,7	2,7 ± 0,9	2,9 ± 2,0
TGFb	8,2 ± 3,2	9,8 ± 1,1*	8,9 ± 1,6	9,6 ± 1,7	9,1 ± 1,9
TLR2	10,7 ± 5,4	13,6 ± 2,2*	9,6 ± 5,7	13,9 ± 2,2	9,0 ± 6,5
TLR4	8,1 ± 3,9	10,7 ± 2,2**	8,7 ± 4,0	11,1 ± 2,0	6,1 ± 4,6
TLR7	3,4 ± 3,0	4,9 ± 2,1*	3,1 ± 3,0	4,0 ± 2,8	4,0 ± 3,9
VEGFA121	4,2 ± 1,4	4,8 ± 1,4	5,0 ± 0,6*	4,6 ± 1,06	5,1 ± 1,3

* $p < 0,05$. ** $p < 0,01$. *** $p < 0,001$.

Примечание. Здесь и в табл. 5: ПК — прямая кишка; СОК — сигмовидная ободочная кишка; НОК — нисходящая ободочная кишка и селезеночный угол; ВОК — восходящая ободочная кишка и печеночный угол.

Note. Here and in Table 5: R — rectum; SC — sigmoid colon; DC — descending colon and splenic angle; AC — ascending colon and hepatic angle.

средние значения уровня экспрессии мРНК 26 генов разных функциональных групп ($p < 0,05$) и более низкие 2 генов (*CTSL2* и *GRB7*). Взятие материала в этих случаях осуществлялось на относительно небольшом расстоянии от опухоли (до 15 см). При раке сигмовидной кишки (расстояние от опухоли до места взятия материала 20–70 см) обнаружены достоверные различия в экспрессии 7 генов (*MYC*, *BAG1*, *P16INK4A*, *IL2*, *MMP8*, *VEGFA121*, *LIF*), при раке нисходящей ободочной кишки (расстояние до места взятия материала 70–90 см) – 5 генов (*PGR*, *GNLY*, *MMP8*, *CD69*, *HLA-G1*), при раке восходящей ободочной кишки (расстояние до 150 см) – 7 генов (*MYC*, *PTEN*, *PGR*, *MYBL2*, *P14ARF*, *GREM1*, *IL2*) (см. табл. 4). Для 8 генов (*CD69*, *GNLY*, *HLA-G1*, *IL2*, *MMP8*, *MYBL2*, *MYC*, *PGR*) отмечены достоверные отличия от материала нормы при локализации опухоли в 2 и более отделах. В отношении генов *IL2*, *MMP8*, *MYC*, *PGR* выявлен достоверно более высокий уровень экспрессии при локализации опухоли в 3 различных анатомических отделах ТК. Таким образом, можно предположить, что наличие злокачественной опухоли оказывает наибольшее влияние на функциональную активность данных генов в морфологически неизмененных тканях.

Уровни экспрессии генов, кодирующих фактор транскрипции *MYC* и цитокин интерлейкин-2 (*IL-2*), достоверно отличались от нормы при локализации опухоли в ПК, сигмовидном и восходящем отделах. Увеличение уровня экспрессии цитокина *IL-2* при развитии КРР, возможно, является следствием изменения его функциональной активности, направленной на поддержание гастроинтестинального барьера и предотвращение хронического воспаления в кишечном тракте [18]. Онкоген *MYC* играет большую роль в канцерогенезе; нарушение его экспрессии через активированный сигнальный путь Wnt/ β -катенин отмечается более чем в 70 % опухолей различных локализаций [19]. Для гена *MMP8* обнаружены достоверные различия при локализации новообразования в ПК, сигмовидном и нисходящем отделах. Белок *MMP8* главным образом вырабатывается нейтрофилами при воспалительных реакциях, обнаруживается при злокачественных опухолях и, как считается, участвует в перестройке межклеточного матрикса. Белки матриксных металлопротеаз (matrix metalloproteinases, ММР) посредством сложных механизмов, включающих индукцию многих молекулярных сигнальных путей и в частности процесс эпителиально-мезенхимального перехода, играют большую роль в трансформации предраковых поражений и полипов в прогрессирующий КРР [20]. На рис. 1 показаны достоверные изменения экспрессии генов, кодирующих *MMP-8*, фактор транскрипции *MYC* и цитокин *IL-2*, по мере изменения расстояния от опухоли до места забора материала ($p < 0,05$).

Аналогичный статистический анализ уровней экспрессии при полипозе ТК в зависимости от локализации полипа выявил достоверные ($p < 0,05$) отличия

от нормы уровня экспрессии 6 генов из функциональных кластеров регуляции дифференцировки клеток (*PGR*), факторов роста (*IGF1*), иммунного ответа (*IL1b*, *IL2*, *IL8*), регуляции метаболических реакций (*GSTM1*) (табл. 5).

Глутатион-S-трансферазы (*GST*) представляют собой семейство ферментов, ответственных за метаболизм широкого спектра ксенобиотиков и канцерогенов. В литературе показано, что экспрессия *GSTM1* может быть изменена при КРР [21]. В тканях неизмененной слизистой при полипозе был обнаружен достоверно более высокий уровень *GSTM1* при локализации

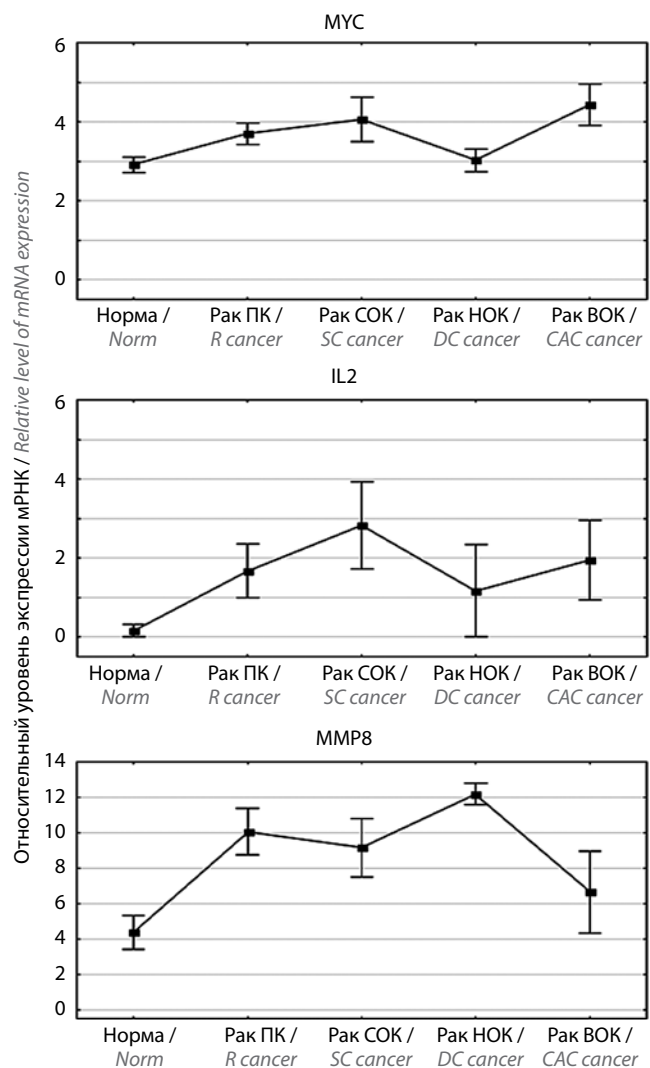


Рис. 1. Уровни экспрессии генов *MMP8*, *MYC* и *IL2* при локализации колоректального рака в разных отделах кишечника по сравнению с нормальной слизистой оболочкой прямой кишки. Данные представлены в виде средних значений и стандартной ошибки среднего. Норма – здоровая слизистая оболочка прямой кишки; ПК – прямая кишка; СОК – сигмовидная ободочная кишка; НОК – нисходящая ободочная кишка; ВОК – восходящая ободочная кишка; мРНК – матричная РНК
Fig. 1. Expression levels of *MMP8*, *MYC* and *IL2* genes when colorectal cancer is localized in different parts of the intestine in comparison with normal rectal mucosa. Data are presented as means and standard error of the mean. Normal – healthy rectal mucosa; R – rectal; SC – sigmoid colon; DC – descending colon; CAC ascending colon; mRNA – matrix RNA

Таблица 5. Экспрессия матричной РНК в группах «Норма» и «Полипоз» с различной локализацией полипа в отделах толстой кишки
Table 5. Expression of matrix RNA in the “Norm” and “Polyposis” groups with different localization of the polyp in parts of the colon

Ген Gene	Норма (n = 41) Norm (n = 41)	Полипоз Polyposis			
		ПК (n = 41) R (n = 15)	СОК (n = 41) SC (n = 6)	НОК (n = 41) DC (n = 5)	ВОК (n = 41) AC (n = 6)
<i>GSTM1</i>	1,9 ± 4,0	5,1 ± 5,0*	4,8 ± 5,6	3,4 ± 4,7	4,7 ± 5,1
<i>IGF1</i>	6,9 ± 5,8	7,3 ± 5,7	11,8 ± 1,7*	10,8 ± 0,8	7,6 ± 5,8
<i>IL1b</i>	22,8 ± 3,7	19,7 ± 3,5**	20,3 ± 2,9	19,7 ± 1,5	20,3 ± 1,2
<i>IL2</i>	0,2 ± 1,0	2,1 ± 3,6**	3,2 ± 4,9***	1,2 ± 2,7	—
<i>IL8</i>	16,9 ± 3,8	14,3 ± 3,1*	14,7 ± 2,0	14,6 ± 1,8	14,9 ± 2,5
<i>PGR</i>	0,5 ± 1,4	0,4 ± 1,6	—	1,2 ± 2,7	2,0 ± 3,2*

процесса в ПК и тенденции к его повышению при других локализациях. Интерлейкин-8 (IL-8) является основным медиатором воспалительной реакции. Он секретируется опухолевыми клетками, способствует миграции, инвазии, ангиогенезу и метастазированию опухоли. Сообщается также, что сывороточный IL-8 может рассматриваться в качестве биомаркера для выявления КРР [22]. Рецептор инсулиноподобного фактора роста 1 (insulin-like growth factor 1, IGF-1R) регулирует несколько сигнальных путей, ответственных за клеточную пролиферацию, выживание и апоптоз при карциномах ТК [23].

Таким образом, на первом этапе исследования было установлено, что достоверные различия уровня экспрессии мРНК генов разных функциональных групп при раке и полипозе ТК обнаруживаются в неизменной слизистой ПК при локализации патологического процесса в вышележащих отделах ТК (см. табл. 4, 5). Это послужило обоснованием к объединению данных по отделам в группы патологии «КРР» и «Полипоз» с последующим сопоставлением уровня экспрессии мРНК генов и типа патологии в ТК.

Попарное сравнение экспрессии мРНК в группах «Норма» и «КРР» показало достоверные различия уровня экспрессии 19 генов из разных функциональных кластеров (табл. 6). Уровень экспрессии мРНК 18 генов в группе «КРР» был достоверно выше, чем в группе «Норма», за исключением гена *CTSL2*. Для генов *GREM1*, *MMP8*, *IGF2* и *IL2* при КРР показано более чем двукратное увеличение экспрессии.

ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно данным литературы, повышенная экспрессия *GREM1* в криптах ТК подавляет регуляцию сигнальной системы морфогенетических белков BMP (bone morphogenetic proteins) [24]. Отсутствие сигналов BMP является важным фактором развития рака ТК

при ювенильном полипозе, непосредственно связанным с мутацией на хромосоме 15q13.3. У таких пациентов могут развиваться полипы множественной и смешанной морфологии, включая зубчатые поражения, полипы Пейтца–Егерса, ювенильные полипы, обычные аденомы и КРР. При этом у здоровых лиц экспрессия *GREM1* ограничена субэпителиальными миофибробластами кишечника в основании крипты. У пациентов с наследственным смешанным полипозом экспрессия *GREM1* распространяется и на эпителиальные клетки, преимущественно колоноциты [24]. Стоит отметить, что многофункциональный ген *GREM1* также негативно регулирует канонический сигнальный путь Wnt/ β -катенин, играющий ключевую роль в развитии КРР [25].

Сравнение групп «Норма» и «Полипоз» показало достоверные различия значений экспрессии мРНК 6 генов. При сравнении групп «Полипоз» и «КРР» выявлены достоверные различия средних значений экспрессии мРНК 16 генов (см. табл. 6).

Таким образом, результаты анализа показали изменения молекулярного фенотипа морфологически нормальной ткани органа, в котором локализуется опухоль. Подобные изменения могут являться возможным отражением фенотипического фона, на котором возникло новообразование, а также быть следствием влияния опухоли на нормальные ткани. При наличии доброкачественной опухоли (полипа) молекулярные изменения в морфологически неизмененных тканях также наблюдаются, но число достоверно отличающихся генов меньше, чем при развитии злокачественной патологии.

Для практического применения метода диагностики патологии ТК важен вопрос выбора генов-предикторов, поэтому следующим шагом была оценка возможности разделить образцы клеточного материала на группы: «Норма» (без патологии ТК), «Полипоз» и «КРР».

Таблица 6. Результаты попарного сравнения экспрессии матричной РНК (мРНК) в группах «Колоректальный рак» (КРР), «Полипоз» и «Норма», $\mu \pm \sigma$

Table 6. Results of pairwise comparison of matrix RNA (mRNA) expression in the "Colorectal cancer" (CRC), "Polyposis" and "Norm" groups, $\mu \pm \sigma$

Ген Gene	Уровень экспрессии мРНК mRNA expression level			Уровень достоверности отличий (p) Level of significance of differences (p)		
	Норма (n = 41) Norm (n = 41)	Полипоз (n = 32) Polyposis (n = 32)	КРР (n = 49) CRC (n = 49)	Норма/полипоз Norm/polyposis	Норма/КРР Norm/colorectal cancer	КРР/полипоз Colorectal cancer/polyposis
CCND1	7,7 ± 2,0	8,0 ± 0,9	8,4 ± 0,9	0,56	0,04*	0,04*
CD45	6,9 ± 3,2	6,3 ± 2,6	8,0 ± 3,0	0,42	0,10	0,01*
CD56	1,5 ± 2,4	3,4 ± 3,8	3,0 ± 3,7	0,02*	0,04*	0,68
CD69	5,9 ± 2,8	5,6 ± 2,8	7,0 ± 3,2	0,59	0,10	0,04*
COX-2	12,2 ± 5,4	10,0 ± 4,2	14,1 ± 5,1	0,06	0,09	<0,001***
CTSL2	11,4 ± 1,6	11,3 ± 2,0	10,6 ± 2,2	0,74	0,04*	0,16
GNLY	10,4 ± 7,8	14,8 ± 6,1	14,1 ± 6,5	0,01*	0,017*	0,61
GRB7	17,5 ± 1,2	17,7 ± 0,7	17,1 ± 1,2	0,57	0,07	0,01*
GREM1	3,7 ± 5,5	2,3 ± 3,8	7,0 ± 5,0	0,24	<0,01**	<0,001***
GSTM1	1,9 ± 4,0	4,7 ± 4,9	3,1 ± 4,6	0,01*	0,202	0,15
HER2	9,0 ± 1,2	9,2 ± 1,0	8,7 ± 1,0	0,43	0,22	0,03*
HLA-G1	5,2 ± 5,4	6,9 ± 5,4	8,0 ± 6,0	0,18	0,03*	0,44
IFNg	4,8 ± 5,5	5,9 ± 5,7	8,0 ± 5,1	0,43	0,01**	0,08
IGF2	1,5 ± 3,4	0,9 ± 2,8	3,5 ± 5,4	0,44	0,042*	0,01
IL1b	22,8 ± 3,7	19,9 ± 2,7	23,4 ± 3,6	<0,001***	0,45	<0,001***
IL2	0,2 ± 1,0	1,8 ± 3,4	2,0 ± 3,3	<0,01**	0,00**	0,76
IL6	4,9 ± 6,1	2,9 ± 4,9	6,8 ± 6,6	0,13	0,17	0,01**
IL8	16,9 ± 3,8	14,5 ± 2,5	18,2 ± 3,2	<0,01**	0,08	<0,001***
KI67	4,7 ± 2,3	4,9 ± 2,3	5,8 ± 2,3	0,77	0,03*	0,08
MMP8	4,4 ± 6,0	2,0 ± 4,5	9,4 ± 6,0	0,07	0,00***	<0,001***
MMP9	11,1 ± 5,4	9,9 ± 3,8	13,2 ± 2,9	0,29	0,019*	0,001***
MYBL2	4,1 ± 2,6	4,4 ± 1,8	5,5 ± 2,1	0,57	0,01**	0,02*
MYC	2,9 ± 1,3	2,9 ± 1,2	3,9 ± 1,6	1,00	0,00**	<0,01**
PGR	0,4 ± 1,4	0,8 ± 2,1	1,8 ± 3,6	0,45	0,02*	0,13
P16INK4A	12,4 ± 1,9	11,7 ± 1,7	11,5 ± 2,1	0,12	0,04*	0,60
TGFb	8,2 ± 3,2	8,3 ± 2,3	9,4 ± 1,5	0,87	0,02*	0,01*
TNFa	11,0 ± 3,8	10,4 ± 2,5	12,2 ± 2,5	0,45	0,08	<0,01**
VEGFA121	4,2 ± 1,4	4,7 ± 0,9	4,9 ± 1,1	0,09	<0,01**	0,37
VEGFA165	7,3 ± 2,2	8,0 ± 0,9	8,2 ± 1,4	0,11	0,03*	0,53

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Примечание. Значения p получены с помощью t-критерия Стьюдента при попарном сравнении групп.

Note. p-value obtained using Student's t test for pairwise comparison of groups.

Анализ с пошаговым включением переменных (генов) в модель дискриминантных функций позволил определить 31 ген, вносящий наибольший вклад в разделение групп. Модель классификации показала возможность дифференцировки образцов, взятых из неизменной слизистой ПК пациентов с КРР, от образцов, полученных от лиц без патологии ТК, с общей точностью классификации 99 % (табл. 7; рис. 2).

Образцы клеточного материала, полученные у лиц контрольной группы, были правильно классифицированы в 100 % случаев. При КРР образцы правильно распределены в свою группу в 98 % случаев. При включении в дискриминантный анализ групп «КРР» и «Полипоз» образцы группы «Полипоз» были правильно распределены в свою группу в 97 % случаев, образцы группы «КРР» – в 96 % (табл. 8; рис. 2).

В модель классификации определяющий вклад в дискриминацию групп «Норма» и «КРР» вносит экспрессия генов *IL8*, *IL1b*, *P14ARF*, *GNLY*, а в разделение групп «КРР» и «Полипоз» – генов *IL8*, *TLR2*, *VEGFA165*, *IFN γ* и *GREM1*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе настоящего исследования впервые проведен анализ экспрессионного фенотипа материала соскобов слизистой оболочки ПК в зависимости от типа (рак или полипоз) и локализации патологического процесса в ТК. Установлено, что уровень экспрессии мРНК генов в неизменной слизистой оболочке ПК, независимо от локализации доброкачественной или злокачественной опухоли в ТК, отличается от экспрессии соответствующих генов у лиц без заболевания ТК. Метод дискриминантного анализа позволил классифицировать образцы на группы «Норма» (без патологии ТК), «Полипоз» и «КРР» с точностью выше 96 %, что свидетельствует о потенциально высокой диагностической значимости разработанного алгоритма. Малоинвазивный характер забора материала для исследования и возможность выполнения процедуры его получения в амбулаторных условиях создают предпосылки для использования данного подхода в сочетании с уже приме-

Таблица 7. Классификационная матрица дискриминантного анализа, включающая 23 гена: соответствие классификации образцов по молекулярному фенотипу их принадлежности к группам «Норма» и «Колоректальный рак» (КРР)

Table 7. Classification matrix of discriminant analysis, including 23 genes: correspondence of the classification of samples by molecular phenotype with their belonging to the "Normal" and "Colorectal cancer" (CRC) groups

Группа Group	Число правильно классифицированных случаев, % Number of correct classified cases, %	Распределение образцов в группы согласно дискриминантной модели, n Distribution of samples into groups according to the discriminant model, n	
		Норма Norm	КРР CRC
Норма Norm	100	41	0
КРР CRC	98	1	48
Всего Total	99	42	48

Примечание. Здесь и в табл. 8 представлено число корректно классифицированных образцов исследуемых групп и тех образцов, которые ошибочно отнесены по результатам классификации к другим группам.

Note. Here and in the table. Figure 8 shows the number of correctly classified samples of the studied groups and those samples that were erroneously assigned to other groups based on the classification results.

что свидетельствует о потенциально высокой диагностической значимости разработанного алгоритма. Малоинвазивный характер забора материала для исследования и возможность выполнения процедуры его получения в амбулаторных условиях создают предпосылки для использования данного подхода в сочетании с уже приме-

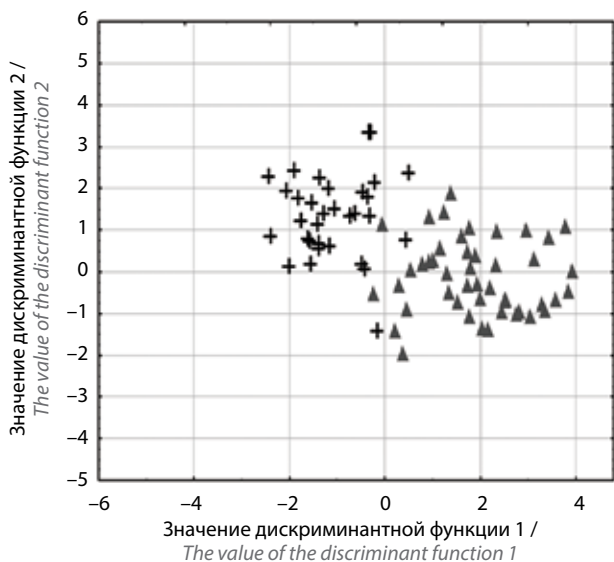


Рис. 2. График рассеяния: распределение образцов в пространстве дискриминантных функций. ○ – группа «Норма», + – группа «Полипоз», ▲ – группа «Колоректальный рак»

Fig. 2. Scatter plot: distribution of samples in discriminant function space. ○ – "Normal" group, + – "Polyposis" group, ▲ – "Colorectal cancer" group

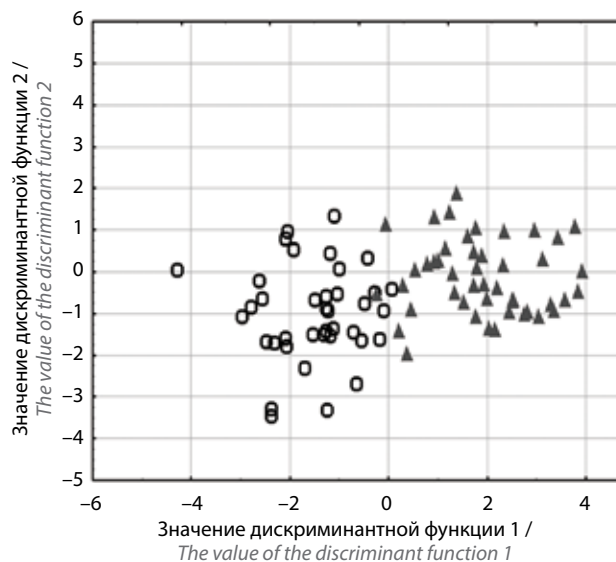


Таблица 8. Классификационная матрица дискриминантного анализа, включающая 21 ген: соответствие классификации образцов по молекулярному фенотипу их принадлежности к группам «Полипоз» и «Колоректальный рак» (КРР) согласно дискриминантной модели

Table 8. Classification matrix of discriminant analysis, including 21 genes: correspondence of the classification of samples by molecular phenotype with their belonging to the group "Polyposis" and "Colorectal cancer" (CRC) according to the discriminant model

Группа Group	Число правильно классифицированных случаев, % Number of correct classified cases, %	Распределение образцов в группы согласно дискриминантной модели, n Distribution of samples into groups according to the discriminant model, n	
		Полипоз Polyposis	КРР CRC
Полипоз Polyposis	96,9	31	1
КРР CRC	95,8	2	45
Всего Total	96,2	33	46

няющимися лабораторными тестами не только в целях уточняющей или дифференциальной диагностики, но и в формате скрининга. Для подтверждения получен-

ных результатов в дальнейшем планируется проведение исследования на валидационной когорте пациентов, а затем и в рамках клинических испытаний.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Shaukat A., Kahi C.J., Burke C.A. et al. ACG Clinical Guidelines: Colorectal Cancer Screening 2021. *Am J Gastroenterol* 2021;16(3):458–79. DOI: 10.14309/ajg.0000000000001122
- Состояние онкологической помощи населению России в 2021 году. Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2022. 239 с. The state of oncological care to the population of Russia in 2021. Ed. by A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, A.O. Shakhzadova. Moscow: P.A. Herzen Moscow State Medical Research Institute – branch of the Federal State Budgetary Institution "NMIC of Radiology" of the Ministry of Health of Russia, 2022. 239 p. (In Russ.).
- Swiderska M., Choromańska B., Dąbrowska E. et al. The diagnostics of colorectal cancer. *Contemp Oncol (Pozn)* 2014;18(1):1–6. DOI: 10.5114/wo.2013.39995
- Raginel T., Puvinel J., Ferrand O. et al. A population-based comparison of immunochemical fecal occult blood tests for colorectal cancer screening. *Gastroenterology* 2013;144(5):918–25. DOI: 10.1053/j.gastro.2013.01.042
- Wang X., Kuang Y.Y., Hu X.T. Advances in epigenetic biomarker research in colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2014;20(15):4276–87. DOI: 10.3748/wjg.v20.i15.4276
- Galandiuk S., Rodriguez-Justo M., Jeffery R. et al. Field cancerization in the intestinal epithelium of patients with Crohn's ileocolitis. *Gastroenterology* 2012;142(4):855–64. DOI: 10.1053/j.gastro.2011.12.004
- Dampier C.H., Devall M., Jennelle L.T. et al. Oncogenic features in histologically normal mucosa: novel insights into field effect from a mega-analysis of colorectal transcriptomes. *Clin Transl Gastroenterol* 2020;11(7):e00210. DOI: 10.14309/ctg.0000000000000210
- Hegde M., Ferber M., Mao R. et al. ACMG technical standards and guidelines for genetic testing for inherited colorectal cancer (Lynch syndrome, familial adenomatous polyposis, and MYH-associated polyposis). *Genet Med* 2014;16(1):101–16. DOI: 10.1038/gim.2013.166
- Bozic I., Antal T., Ohtsuki H. et al. Accumulation of driver and passenger mutations during tumor progression. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107(43):18545–50. DOI: 10.1073/pnas.1010978107
- Кулинич Т.М., Захаренко М.В., Джикия Е.Л. и др. Исследование уровня экспрессии генов-маркеров пролиферативной активности в слизистой оболочке толстой кишки при различной патологии. *Успехи молекулярной онкологии* 2020;7(2):39–46. DOI: 10.17650/2313-805X-2020-7-2-39-46
- Kulinich T.M., Zaharenko M.V., Dzhikiya E.L. et al. Investigation of the expression level of genes-markers of proliferative activity in the mucosa at normal and various pathologies of the colon. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2020;7(2):39–46. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2020-7-2-39-46
- Aran D., Camarda R., Odegaard J. et al. Comprehensive analysis of normal adjacent to tumor transcriptomes. *Nat Commun* 2017;8(1):1077. DOI: 10.1038/s41467-017-01027-z
- Hawthorn L., Lan L., Mojica W. Evidence for field effect cancerization in colorectal cancer. *Genomics* 2014;103(2–3):211–21. DOI: 10.1016/j.ygeno.2013.11.003
- Sanz-Pamplona R., Berenguer A., Cordero D. et al. Aberrant gene expression in mucosa adjacent to tumor reveals a molecular crosstalk in colon cancer. *Mol Cancer* 2014;13:46. DOI: 10.1186/1476-4598-13-46
- Russi S., Calice G., Ruggieri V. et al. Gastric normal adjacent mucosa versus healthy and cancer tissues: distinctive transcriptomic profiles and biological features. *Cancers (Basel)* 2019;11(9):1248. DOI: 10.3390/cancers11091248
- Боженко В.К., Захаренко М.В., Гончаров С.В. и др. Фенотипические изменения в морфологически нормальной ткани опухолевого окружения. Диагностические перспективы. Клиническая лабораторная диагностика 2021;66(S4):17–8. Bozhenko V.K., Zakharenko M.V., Goncharov S.V. et al. Phenotypic changes in morphologically normal tissue of the tumor environment. Diagnostic perspectives. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Clinical Laboratory Diagnostics* 2021;66(S4):17–8. (In Russ.).
- Боженко В.К., Станоевич У.С., Троценко И.Д. и др. Сравнение экспрессии мРНК матриксных металлопротеиназ в морфологически нормальной, неопластической и метастатической тканях толстого кишечника и в биоптатах здоровых доноров. *Биомедицинская химия* 2018;64(1):46–52.

- Bozhenko V.K., Stanoevich U.S., Trotsenko I.D. et al. Comparison of mRNA expression of matrix metalloproteinases in morphologically normal, neoplastic and metastatic colon tissues and in biopsies of healthy donors. *Biomedicinskaya himiya = Biomedical Chemistry* 2018;64(1):46–52. (In Russ.).
17. Захаренко М.В., Боженко В.К., Киселева Я.Ю. и др. Исследование профилей экспрессии мРНК генов, участвующих в регуляции основных клеточных функций в неизменённом эпителии толстой кишки у здоровых доноров. *Биомедицинская химия* 2021;67(4):366–73.
Zakharenko M.V., Bozhenko V.K., Kiseleva Ya.Yu. et al. Investigation of mRNA expression profiles of genes involved in the regulation of basic cellular functions in unchanged colon epithelium in healthy donors. *Biomedicinskaya himiya = Biomedical Chemistry* 2021;67(4):366–73. (In Russ.).
 18. Zhou L., Chu C., Teng F. et al. Innate lymphoid cells support regulatory T cells in the intestine through interleukin-2. *Nature* 2019;568(7752):405–9. DOI: 10.1038/s41586-019-1082-x
 19. Ren L., Zhou T., Wang Y. et al. RNF8 induces β -catenin-mediated c-Myc expression and promotes colon cancer proliferation. *Int J Biol Sci* 2020;16(12):2051–62. DOI: 10.7150/ijbs.44119
 20. Pezeshkian Z., Nobili S., Peyravian N. et al. Insights into the role of matrix metalloproteinases in precancerous conditions and in colorectal cancer. *Cancers (Basel)* 2021;13(24):6226. DOI: 10.3390/cancers13246226
 21. Zhong S., Wyllie A.H., Barnes D. et al. Relationship between the GSTM1 genetic polymorphism and susceptibility to bladder, breast and colon cancer. *Carcinogenesis* 1993;14(9):1821–4. DOI: 10.1093/carcin/14.9.1821
 22. Jin W.J., Xu J.M., Xu W.L. et al. Diagnostic value of interleukin-8 in colorectal cancer: a case-control study and meta-analysis. *World J Gastroenterol* 2014;20(43):16334–42. DOI: 10.3748/wjg.v20.i43.16334
 23. Wang Q., Zhang Y., Zhu J. et al. IGF-1R inhibition induces MEK phosphorylation to promote survival in colon carcinomas. *Signal Transduct Target Ther* 2020;5(1):53. DOI: 10.1038/s41392-020-0204-0
 24. Jaeger E., Leedham S., Lewis A. et al. Hereditary mixed polyposis syndrome is caused by a 40-kb upstream duplication that leads to increased and ectopic expression of the BMP antagonist GREM1. *Nat Genet* 2012;44(6):699–703. DOI: 10.1038/ng.2263
 25. Zhang Y., Wang, X. Targeting the Wnt/ β -catenin signaling pathway in cancer. *Hematol Oncol* 2020;13(1):165. DOI: 10.1186/s13045-020-00990-3

Вклад авторов

В.К. Боженко, В.А. Солодкий: разработка концепции и дизайна исследования, анализ научной работы, редактирование, написание текста статьи; С.В. Гончаров: разработка концепции и дизайна исследования, сбор биологического материала, формирование базы данных, статистическая обработка, написание текста статьи;

М.В. Захаренко: выделение мРНК из биологического материала, проведение ОТ-ПЦР, формирование базы данных, анализ научной работы, написание текста статьи;

Я.Ю. Киселева, Т.А. Кармакова, Т.М. Кулинич, Н.В. Мельникова: анализ научной работы, редактирование, подготовка рукописи;

У.С. Станоевич: сбор биологического материала, формирование базы данных, статистическая обработка материала;

А.Л. Сенчукова: выделение мРНК из биологического материала, проведение ОТ-ПЦР, формирование базы данных;

И.Б. Грунин: сбор биологического материала;

О.П. Близняков: выполнение морфологического исследования, редактирование.

Authors' contributions

V.C. Bozhenko, V.A. Solodky: development of the concept and design of research, analysis of scientific work, editing, article writing;

S.V. Goncharov: development of the concept and design of research, collection of biological material, database formation, statistical processing, article writing;

M.V. Zakharenko: isolation of RNA from biological material, conducting RT-PCR, database formation, analysis of scientific work, article writing;

Ya.Yu. Kiseleva, T.A. Karmakova, T.M. Kulnich, N.V. Melnikova: analysis of scientific work, editing, preparation of the manuscript;

U.S. Stanoevich: collection of biological material, database formation, statistical processing of material;

A.L. Senchukova: mRNA isolation from biological material, RT-PCR, database formation;

I.B. Grunin: collection of biological material;

O.P. Bliznyukov: performing morphological research, editing.

ORCID авторов / ORCID of authors

В.К. Боженко / V.C. Bozhenko: <https://orcid.org/0000-0001-8351-8152>

С.В. Гончаров / S.V. Goncharov: <https://orcid.org/0000-0001-7914-1882>

М.В. Захаренко / M.V. Zakharenko: <https://orcid.org/0000-0003-2480-4145>

Я.Ю. Киселева / Ya.Yu. Kiseleva: <https://orcid.org/0000-0002-8352-4787>

Т.А. Кармакова / T.A. Karmakova: <https://orcid.org/0000-0002-8017-5657>

Т.М. Кулинич / T.M. Kulnich: <https://orcid.org/0000-0003-2331-5753>

У.С. Станоевич / U.S. Stanoevich: <https://orcid.org/0000-0002-9057-6227>

Н.В. Мельникова / N.V. Melnikova: <https://orcid.org/0000-0003-1193-352X>

А.Л. Сенчукова / A.L. Senchukova: <https://orcid.org/0000-0001-9268-3221>

О.П. Близняков / O.P. Bliznyukov: <https://orcid.org/0000-0003-2401-5007>

В.А. Солодкий / V.A. Solodky: <https://orcid.org/0000-0002-1641-6452>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Funding. The study was performed without external funding.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики. Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Минздрава России (протокол № 4 от 26.04.2018).

Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with the rights and principles of bioethics. The study protocol was approved by the Biomedical Ethics Committee of the Russian Scientific Center of Roentgenoradiology (protocol No. 4 of 04.26.18).

The patients gave written informed consent to the publication of their data.

Статья поступила: 10.10.2023. **Принята к публикации:** 22.10.2023.

Article submitted: 10.10.2023. **Accepted for publication:** 22.10.2023.