

DOI: 10.18499/2225-7357-2020-9-4-70-77



УДК 616–091.811

14.03.02 – патологическая анатомия

© Коллектив авторов, 2020

Оценка экспрессии miR-21 в слизистой оболочке желудка при хроническом гастрите как предиктор риска развития рака желудка

В. А. Рубцов¹, Е. Г. Поморгайло^{1*}, С. И. Мозговой¹, А. В. Кононов¹,
А. Г. Шиманская¹, Ю. А. Федотова¹, М. В. Маркелова¹, М. К. Иванов²,
С. Е. Титов²

¹ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, Омск, Россия

²АО «Вектор-Бест», Новосибирск, Россия

Цель – оценить потенциал уровня экспрессии miR-21 в слизистой оболочке желудка как молекулярного маркера риска развития и ранней диагностики аденокарциномы желудка.

Материал и методы. Объекты исследования: первая группа – операционный материал 60 желудков, резецированных по поводу рака желудка кишечного типа, в каждом случае проводили взятие 1 фрагмента ткани опухоли и 4 фрагментов слизистой оболочки желудка дистантной зоны (2 – антрального отдела и 2 – тела желудка), вторая группа – 62 случая эндоскопического биопсийного материала слизистой оболочки желудка пациентов с хроническим гастритом с забором 5 фрагментов (биоптатов) ткани по протоколу исследования OLGA-system. Уровень экспрессии miR-21 в тканях определили методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией.

Результаты. Установлено, что экспрессия miR-21 в образцах дистантной зоны операционного материала при раке желудка значимо выше (Me – 158, p=0.0006) в сравнении с группой эндоскопических биоптатов слизистой оболочки желудка (Me – 42). Наиболее высокий уровень экспрессии отмечался в тканях аденокарциномы (Me – 270), при этом достоверные различия при сравнении его с уровнем экспрессии miR-21 в образцах слизистой оболочки дистантной зоны отсутствуют (p=0.2). Повышение экспрессии miR-21 позволяет констатировать высокий риск развития аденокарциномы желудка, вероятно, до проявления гистологических признаков неоплазии.

Заключение. Проведенный для подтверждения предиктивной способности экспрессии miR-21 регрессионный анализ показал увеличение риска ассоциации с аденокарциномой в 13 раз при повышении уровня miR-21 на каждые 50 единиц относительной экспрессии, нормированной на малую РНК U6. Построенная статистическая модель, включающая морфологические критерии оценки слизистой оболочки желудка и экспрессию miR-21, отражающую степень нарушения эпигенетической регуляции молекулярных путей клетки, позволяет повысить прогностическую ценность биопсийного исследования и точность стратифицированной оценки риска развития аденокарциномы желудка при хроническом гастрите.

Ключевые слова: хронический гастрит, рак желудка, микроРНК.

Evaluation of miR-21 Expression in the Gastric Mucosa of Patients with Chronic Gastritis as the Predictive Factor of Gastric Cancer

© V. A. Rubtsov¹, E. G. Pomorgailo^{1*}, S. I. Mozgovoi¹, A. V. Kononov¹, A. G. Shimanskaya¹, Yu. A. Fedotova¹, M. V. Markelova¹, M. K. Ivanov², S. E. Titov², 2020

¹Omsk State Medical University, Omsk, Russia

²Vektor-Best, Novosibirsk, Russia

The aim of the study was to evaluate the potential of miR-21 expression in the gastric mucosa as the marker of early stage gastric adenocarcinoma and cancer development.

Material and methods. The study included the following materials: the first group consisted of surgical material of 60 stomachs (gastric cancer of intestinal type), in each case, 1 fragment of tumor tissue and 4 specimens of the gastric mucosa of the distant zone (2 – antrum mucosa and 2 – fundal mucosa) were taken; the second group consisted of biopsy material of 62 cases in patients with chronic gastritis (5 specimens according to the OLGA-system protocol). The level of miR-21 expression in tissues was determined by reverse transcription polymerase chain reaction.

Results. miR-21 expression in samples with gastric cancer was significantly higher (median – 158, p=0.0006) compared with the group of endoscopic biopsies of the gastric mucosa (median – 42). The highest level of expression was observed in adenocarcinoma tissues (median – 270), while there were no significant differences when comparing it with the level of miR-21 expression in samples of the distant zone mucosa (p=0.2). Increased miR-21 expression may indicate the high risk group of developing gastric adenocarcinoma, probably before the appearance of histological signs of neoplasia.

Conclusion. Regression analysis performed to confirm the predictive potential of miR-21 expression demonstrated 13-fold increased risk of adenocarcinoma development associated with an increase in miR-21 levels for every 50 units of relative expression normalized to small U6 RNA. The constructed statistical model, which

includes morphological criteria for evaluating the gastric mucosa and miR-21 expression, may reflect the degree of violation of cellular epigenetic molecular pathways and allows increasing the prognostic value of a biopsy investigation and the accuracy of a stratified assessment of the gastric adenocarcinoma risk development.

Key words: *chronic gastritis, stomach cancer, microRNA.*

***Автор для переписки:**

Поморгайло Елена Геннадьевна
Омский государственный медицинский университет, ул.
Партизанская, 20, Омск, 644099, Российская Федерация

***Corresponding author:**

Elena Pomorgailo
Omsk State Medical University, ul. Partizanskaya, 20, Omsk,
644099, Russian Federation

E-mail: elenapom@bk.ru

Введение

Рак желудка занимает пятое место по частоте и третье по уровню смертности от злокачественных опухолей в мире, при этом кумулятивный риск возникновения рака желудка в течение жизни для мужчин равен 1.87%, для женщин – 0.79% [15]. Самая частая форма рака желудка – аденокарцинома кишечного типа, ассоциирована с персистирующей воспалительной инфильтрацией слизистой оболочки желудка, в 90% случаев запускаемой *Helicobacter pylori* (*H. pylori*-ассоциированный хронический гастрит), приводящей к атрофии, затем интраэпителиальной неоплазии в слизистой оболочке желудка и, в финале, аденокарциноме кишечного типа (каскад P. Correa) [9, 12]. Основой существующих методов предикции рака желудка является морфологическая диагностика необратимых этапов каскада канцерогенеза – атрофии и интраэпителиальной неоплазии при исследовании биоптатов слизистой оболочки желудка. Но возможность практического применения наиболее широко принятых способов гистологической оценки риска развития рака желудка – систем OLGA/OLGIM ограничена за счет нарушения протокола забора и подготовки материала для проведения исследования [5].

Решением проблемы персонифицированной оценки риска развития рака желудка могут быть детекция молекулярных маркеров, изменения в показателях, которые ассоциированы с канцерогенезом. В качестве таких перспективных молекулярных маркеров предикции риска развития и ранней диагностики злокачественных опухолей можно рассматривать микроРНК, которые эпигенетически ингибируя экспрессию большого количества генов, подавляют синтез белков из ключевых сигнальных путей клетки, за счет чего участвуют в регуляции пролиферации и дифференцировки [7, 13], апоптоза клеток [1], эпителиально-мезенхимального перехода [3] – процессов, играющих ключевую роль в канцерогенезе, что подтверждается aberrантной экспрессией микроРНК во многих опухолях, в том числе и при раке желудка [1, 4, 14]. При этом, одной из наиболее значимых, по данным ряда

публикаций, в том числе мета-анализов, при раке желудка представляется роль miR-21 [10, 14–16]. Участие miR-21 в молекулярных механизмах, имеющих ключевое значение в канцерогенезе, делает оценку их уровня в эпителиальных клетках слизистой оболочки желудка актуальной в аспекте поиска молекулярных маркеров предикции, ранней диагностики рака желудка кишечного типа.

Цель исследования – оценить потенциал уровня экспрессии miR-21 в слизистой оболочке желудка как молекулярного маркера риска развития и ранней диагностики аденокарциномы желудка.

Материал и методы исследования

Объектами исследования были фрагменты слизистой оболочки желудка.

Первая группа – операционный материал 60 желудков, резецированных по поводу рака желудка кишечного типа. На каждый случай был взят 1 фрагмент ткани аденокарциномы и по 4 фрагмента слизистой оболочки желудка дистантной зоны, на расстоянии не менее 10 мм от границы опухолевого роста (2 – антрального отдела и 2 – тела желудка). Локализация аденокарциномы в 36 случаях приходилась на антральный отдел желудка, в 24 – на тело желудка. Самым частым вариантом по степени дифференцировки опухоли являлась низкодифференцированная аденокарцинома – 31 случай, вторым по частоте встречаемости была умеренная степень дифференцировки – 21 случай, наиболее редко встречалась высокодифференцированная аденокарцинома – 8 случаев.

Вторая группа – 62 случая эндоскопического биопсийного исследования слизистой оболочки желудка, на каждый из которых было забрано по 5 фрагментов. Локализация забора фрагментов в обеих группах соответствовала протоколу системы классификации хронического гастрита OLGA [11].

При проведении сравнения статистических значимых отличий между исследуемыми группами по возрастному (*t* критерий Стьюдента, $p=0.055$) и половому (Пирсон χ^2 , $p=0.41$) распределению выявлено не было.

Во всех случаях было получено информированное согласие пациентов на проведение молекулярно-генетического исследования. Исследования было одобрено локальным этическим комитетом ОмГМУ.

Проводку материала, заливку в парафин, приготовление парафиновых срезов, окраску гематоксилином и эозином проводили по общепринятой методике. Морфологиче-

Распределение случаев по степени хронического гастрита

Исследуемые группы	Степень хронического гастрита Количество случаев (% от общего числа)					Точный критерий Фишера
	0	I	II	III	IV	
Дистантная зона, n=60	–	1 (2%)	20 (33%)	33 (55%)	6 (10%)	(p=0.0001)
Биопсийное исследование, n=62	–	18 (29%)	23 (37%)	18 (29%)	4 (5%)	

ские изменения слизистой оболочки желудка оценивали по гистологическим препаратам, окрашенным гематоксилином и эозином. Степень и стадию хронического гастрита, индекс преобладания гастрита тела в случаях группы биопсийного и дистантной зоны операционного материала оценивали при помощи визуально-аналоговых шкал Российского пересмотра Международной классификации хронического гастрита OLGA [2]. Гистологический тип опухоли, степень ее дифференцировки определяли в соответствии с «Классификацией опухолей системы пищеварения ВОЗ» 5-е издание. Для выявления колонизации слизистой оболочки желудка *H. pylori* применялась гистобактериоскопия с окраской 0.1% толуидиновым синим.

Уровень экспрессии miR-21 в тканях определяли методом полуколичественной шпильной полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) в реальном времени с использованием олигонуклеотидных праймеров к miR-21, флуоресцент-меченного зонда и наборов реактивов производства АО «Вектор-Бест (г. Новосибирск) на амплификаторе CFX96 (BioRad, США). С учетом данных оценка экспрессии miR-21 проводилась в 1 фрагменте слизистой оболочки антрального отдела желудка на случай группы биопсийного исследования и дистантной зоны операционного материала, в группе фрагментов ткани опухоли также оценивали 1 образец на исследуемый случай. Нормализация полученных значений проводилась на малую РНК U6 с количественным преобразованием методом $2^{-\Delta Ct}$ с использованием формулы:

$$\Delta Ct = 2^{(Ct_{U6} - Ct_{miR21})}$$

где Ct_{U6} – пороговое значение цикла ПЦР малой РНК U6, Ct_{miR21} – пороговое значение цикла ПЦР miR-21.

Описательная статистика отображена в виде медианы, 25 и 75 перцентиля, максимального и минимального значения (количественные данные, распределение отличное от нормального); процентной доли вариант (номинальные данные и порядковыпри менее 10 возможных вариант).

Аналитическая статистика выполнялась в пакете Statistika 10.0. Оценка соответствия нормальному распределению проводилась с помощью критериев Колмогорова–Смирнова и Шапиро–Уилка. При сравнении двух независимых выборок применялись: точный кри-

терий Фишера (порядковые данные, менее 10 возможных вариант, малое количество случаев в одной или более групп), U-критерий Манна–Уитни (количественные данные, при отличии распределения от нормального). При сравнении 3 и более групп применялся критерий Краскела–Уоллиса с апостериорным попарным сравнением с использованием критерия Манна–Уитни с поправкой Бонферрони для множественных сравнений. Нулевой считалась гипотеза о совпадении медианных значений двух независимых групп. Критическим уровнем значимости при проверке статистических гипотез при сравнении двух групп принимали $p \leq 0.05$, трех – $p = 0.017$.

Для оценки прогностического и диагностического потенциала перемешных использовался метод простого и множественного регрессионного анализа. Для построения алгоритма и номограммы оценки риска развития рака желудка использовались значения $P(Y)$ уравнения множественной логистической регрессии при различных значениях предикторных переменных, при оценке достоверности модели и значимости предикторных переменных использовались критерий согласия χ^2 , p-значение критерия Вальда χ^2 , критерий R^2 Хосмера–Лемешова, четырехпольные таблицы, ROC-анализ, показатель отношения шансов (ОШ) с 95% доверительными интервалами (ДИ), чувствительность и специфичность, диагностическая точность модели при оптимальном пороге отсечения. Критическим уровнем значимости принимали $p \leq 0.05$.

Результаты и их обсуждение

Гистопатологическая оценка и сравнение морфологического фенотипа

По результатам оценки выраженности воспаления и сравнения распределения случаев по степени хронического гастрита в группах биопсийного материала и дистантной зоны, III и IV степень статистически достоверно чаще встречалась в группе дистантной зоны операционного материала ($p = 0.0001$), тогда как в группе биопсийного материала самым частым вариантом оказалась II степень хронического гастрита (табл. 1).

При оценке выраженности атрофии, стадия хронического гастрита в случаях группы дистантной зоны была статистически

Таблица 2

Распределение случаев по стадиям хронического гастрита

Исследуемые группы	Стадия хронического гастрита Количество случаев (% от общего числа)					Точный критерий Фишера
	0	I	II	III	IV	
Дистантная зона, n=60	5 (8%)	9 (15%)	13 (22%)	20 (33%)	13 (22%)	(p=0.00004)
Биопсийное исследование, n=62	14 (23%)	20 (32%)	20 (32%)	6 (10%)	2 (3%)	

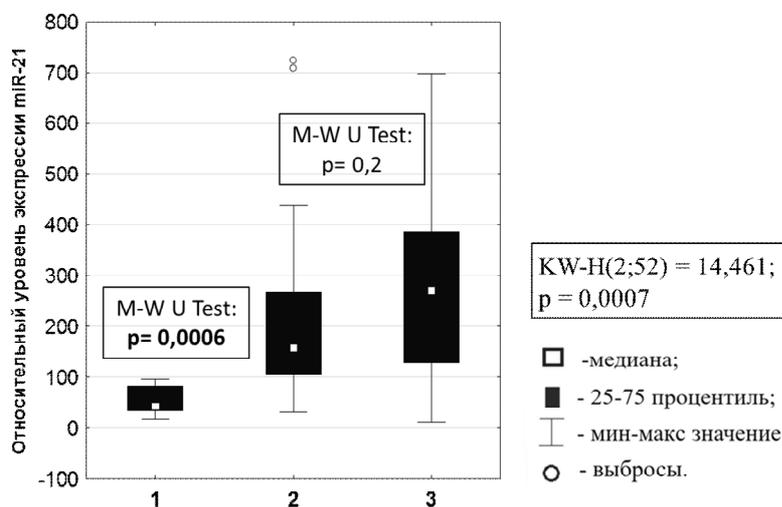


Рис. 1. Распределение значений уровня экспрессии miR-21 в тканях исследуемых групп: 1 – группа биоптатов слизистой оболочки желудка, 2 – дистантная зона группы операционного материала желудков, 3 – ткань аденокарциномы группы операционного материала желудков.

достоверно выше в сравнении со случаями биопсийного исследования ($p=0.00004$). Стадии III–IV, относящиеся к группе высокого риска развития рака желудка, преобладали в группе операционного материала – 33 случая (55%), тогда как в группе биопсийного материала III–IV стадия была представлена всего в 8 случаях, а подавляющее большинство составляли случаи со стадией 0–II – 54 случая (87%) (табл. 2).

При оценке случаев по выраженности активности воспаления, проведенной аналогичным образом, в группе операционного материала в 47 случаях не было выявлено нейтрофильных лейкоцитов в составе воспалительного инфильтрата, в 11 – отмечалась слабая, в 2 – умеренная активность. В группе биопсийного материала отсутствие инфильтрации собственной пластики нейтрофильными лейкоцитами отмечалось в 48 случаях, слабая степень – в 11, умеренная активность – в 3 случаях. При сравнении двух групп по признаку активности воспаления статистически значимых различий (точный критерий Фишера, $p=0.57$) выявлено не было.

При оценке индекса преобладания гастрита тела желудка в группе биоптатов слизистой оболочки желудка он был обнаружен в 10 случаях, в 52 случаях отмечалось его отсутствие. В группе дистантной зоны условиям наличия индекса отвечали 35 случаев, в 25 случаях отмечено его отсутствие. При проведении сравнения основной и группы биопсийного материала индекс преобладания

гастрита тела статистически достоверно чаще встречался в группе образцов дистантной зоны (точный критерий Фишера, $p=0.0001$).

Характеристика экспрессии miR-21 в тканях слизистой оболочки желудка при хроническом гастрите и аденокарциноме желудка

По результатам оценки экспрессии miR-21 в группе биоптатов слизистой оболочки желудка был выявлен низкий относительный уровень экспрессии miR-21: медиана – 42, интерквартильная ширина – от 33 до 83. В группе дистантной зоны операционного материала желудков уровень экспрессии miR-21 был значительно повышен: медиана – 158, при интерквартильной ширине – от 105 до 269. При этом, по результатам сравнения с использованием критерия Краскела–Уоллиса статистически значимые различия уровня экспрессии miR-21 как в группе биоптатов слизистой оболочки желудка, так и группы дистантной зоны операционного материала в зависимости от выраженности воспаления ($p=0.54$; $p=0.52$), атрофии ($p=0.17$; $p=0.16$), степени ($p=0.13$; $p=0.06$) и стадии ($p=0.3$; $p=0.08$), наличия и типа метаплазии ($p=0.55$; $p=0.21$), наличия индекса преобладания гастрита тела ($p=0.52$; $p=0.44$), обнаружены не были (рис. 1).

Максимальный уровень экспрессии был отмечен в тканях аденокарциномы желудка: медиана составила 270, интерквартильная

широта – от 130 до 385. При этом, статистически значимые различия в зависимости от степени дифференцировки ($p=0.54$) и локализации опухоли в отделе желудка ($p=0.41$) не обнаружены.

При сравнении значений уровня экспрессии miR-21 между исследуемыми группами с использованием критерия Краскела–Уоллиса было выявлено наличие статистически значимых различий ($p=0.0007$). При апостериорном попарном сравнении с использованием критерия Манна–Уитни с поправкой Бонферрони в образцах группы дистантной зоны уровень экспрессии miR-21 был статистически значимо ($p=0.0006$) выше, чем в образцах группы биопсийного материала слизистой оболочки желудка и при этом не имел статистически значимых отличий от экспрессии miR-21 в группе тканей аденокарциномы, где экспрессия miR-21 была наибольшей (рис. 1).

Отсутствие достоверных различий при оценке экспрессии miR-21 между тканями аденокарциномы желудка и образцами слизистой оболочки дистантной зоны, исключая возможность применения в качестве диагностического маркера, также свидетельствует о наличии предиктивного потенциала экспрессии miR-21. Еще больше подтверждает прогностическую значимость miR-21 значимо больший уровень miR-21 в образцах дистантной зоны операционного материала, в сравнении с группой биоптатов слизистой оболочки желудка, сопоставимых с ними по морфологическим проявлениям хронического гастрита. При этом, с учетом показанного нами отсутствия влияния на экспрессию miR-21 выраженности воспалительной инфильтрации и атрофии, вклад клеток воспалительного ряда и соединительной ткани собственной пластинки в уровень экспрессии miR-21 в тканях слизистой оболочки желудка, вероятно, следует считать не значимым. Отсутствие влияния выраженности атрофии также свидетельствует, что именно ассоциация с наличием аденокарциномы в этой группе является причиной повышения экспрессии miR-21. Таким образом, можно высказать предположение, что повышение экспрессии miR-21 позволяет указать на высокий риск развития рака желудка вне зависимости и, вероятно, до возникновения морфологически выявляемых изменений в слизистой оболочке желудка.

Регрессионный анализ экспрессии miR-21 в образцах дистантной зоны операционного материала и биоптатах слизистой оболочки желудка

Для оценки потенциальной значимости в качестве предикторов риска развития аденокарциномы желудка был проведен регрессионный анализ с построением модели множественной логистической регрессии.

В качестве независимых предикторных переменных были выбраны факторы, продемонстрировавшие значимые различия при сравнении группы образцов, ассоциированных с наличием аденокарциномы желудка (группа дистантной зоны операционного материала) и группы, где такой ассоциации не было (биопсийный материал слизистой оболочки желудка): стадия хронического гастрита, индекс преобладания гастрита тела желудка, уровень относительной экспрессии miR-21. Для проведения анализа переменная стадия хронического гастрита была преобразована в бинарную: стадия 0–II (категория 0), стадия III–IV (категория 1). В связи с малым объемом выборки уровень относительной экспрессии miR-21 был также трансформирован в порядковую переменную, где категории «0» соответствовали значения уровня экспрессии miR-21 от 0 до 50.0; «1» – от 50.1 до 100.0; «2» – от 100.1 до 150.0; «3» – от 150.1 до 200.0 и так далее. При оценке все предикторные переменные показали статистически значимую положительную связь с переменной отклика: стадия хронического гастрита (ОШ=8.07, ДИ=[1.52–42.85]; $p=0.013$), индекс преобладания гастрита тела (ОШ=11.77, ДИ=[2.59–53.6]; $p=0.001$) и уровень относительной экспрессии miR-21 (ОШ=13.56, ДИ=[4.6–40.04]; $p=0.00002$). Показатели построенной модели представлены в табл. 3.

Наибольшую положительную предиктивную ассоциацию с аденокарциномой желудка, согласно показателям отношения шансов, имела переменная уровня экспрессии miR-21. Высокая точность модели подтверждается низким значением $-2 \text{ Loglikelihood}=58.3$ и высоким – критерия согласия $\chi^2(3)=110.84$ ($p=0.00001$), а также хорошим соответствием исходным данным, отражающимся в диагностической точности, достигающей 92% (табл. 4).

При внесении вычисленных значений константы W_0 и коэффициентов регрессии предикторных переменных уравнение множественной логистической регрессии имело вид:

$$P(Y) = \frac{1}{1 + e^{-(-4,5 + 2,1 \times x_1 + 2,5 \times x_2 + 2,6 \times x_3)}}$$

где: $P(Y)$ – вероятность принадлежности к группе, ассоциированной с аденокарциномой желудка; e – основание натурального логарифма; x_1 – значение стадии хронического гастрита; x_2 – значение индекса преобладания гастрита тела; x_3 – значение уровня относительной экспрессии miR-21.

Для дополнительной оценки эффективности модели был проведен ROC-анализ, по результатам которого площадь под кривой AUC составила 0.97 (рис. 2).

На основании полученных показателей модели и вычисления уровня риска при различных значениях предиктивных перемен-

Таблица 3

Модель множественной логистической регрессии, переменная отклика – ассоциация с аденокарциномой желудка, предикторные переменные: стадия хронического гастрита, индекс преобладания гастрита тела желудка, уровень экспрессии miR-21

Основные параметры модели: -2 Loglikelihood=58.3; критерий согласия $\chi^2(3)=110.84$; $p=0.00001$				
Параметры	Константа (Во)	Стадия хронического гастрита	Индекс преобладания гастрита тела	Уровень экспрессии miR-21
Коэффициент (β)	-4.46	2.09	2.47	2.6
Стандартная ошибка	0.83	0.84	0.77	0.55
p-значение	0.00001	0.015	0.0016	0.000005
-95%ДИ	-6.1	0.42	0.95	1.52
+95%ДИ	-2.82	3.76	3.98	3.69
Критерий Вальда χ^2	28.97	6.13	10.38	22.72
p-значение	0.00001	0.013	0.001	0.000002
Отношение шансов	0.012	8.07	11.77	13.56
-95%ДИ	0.002	1.52	2.59	4.6
+95%ДИ	0.06	42.85	53.6	40.04
R ² Хосмера–Лемешова	–	0.20	0.14	0.49

Таблица 4

Сопоставление предсказанных моделью значений с исходными данными

ОШ: 216,33. Диагностическая точность: 91,8%			
Фактические значения	Прогнозируемые значения		Процент совпадения
	Биоптаты	Дистантная зона	
Биоптаты	56	6	90.3%
Дистантная зона	4	56	93.3%

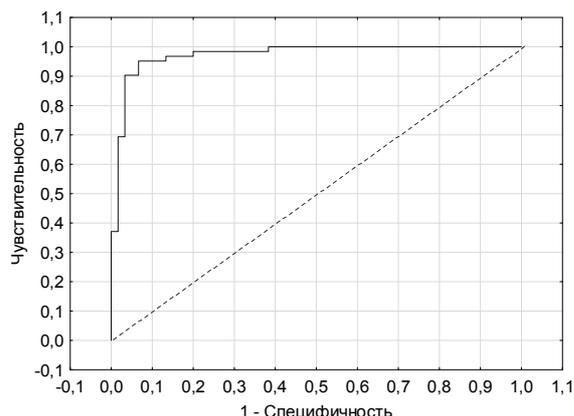


Рис. 2. ROC-кривая модели множественной логистической регрессии. Переменная отклика – ассоциация с аденокарциномой желудка, предикторные переменные – уровень экспрессии miR-21, стадия хронического гастрита, индекс преобладания гастрита тела.

ных, был построен алгоритм стратифицированной оценки риска ассоциации с аденокарциномой желудка (рис. 3).

Полагаем, что данный алгоритм за счет комбинации нормированного количественного значения экспрессии miR-21 в слизистой оболочке желудка в анализ с морфологическими предиктивными системами (индекс преобладания гастрита тела желудка, стадии хронического гастрита по OLGA-system) позволяет дать стратифицированную оценку риска развития аденокарциномы желудка. Для наглядной визуализации и упрощения расчетов была построена номограмма, позволяющая провести стратифицированную оценку риска ассоциации хронического гастрита с

аденокарциномой желудка. При соединении прямой линией значения стадии хронического гастрита на правой оси с уровнем экспрессии miR-21 на левой оси номограммы точка, где проводимая линия пересекает среднюю ось – «1» в случае наличия индекса преобладания гастрита тела и «0» при его отсутствии указывает на риск развития рака желудка (рис. 4).

Таким образом, предложенная модель показала высокий уровень чувствительности и специфичности, диагностической точности в отношении разделения образцов слизистой оболочки желудка, ассоциированных с аденокарциномой (группа дистантной зоны операционного материала) и сопоставимых с ними по морфологическим признакам образцов слизистой оболочки желудка без такой ассоциации (группа эндоскопических биопсий). Одновременное применение морфологических показателей (стадия хронического гастрита, индекс преобладания гастрита тела) и тканевой экспрессии miR-21 в построенной модели позволяет дать стратифицированную оценку риска развития аденокарциномы желудка, при этом наибольший вклад в предсказательную способность модели вносит предикторная переменная уровень относительной экспрессии miR-21.

Заключение

Повышение экспрессии miR-21 позволяет констатировать высокий риск развития аденокарциномы желудка вне зависимости и, вероятно, до проявления гистологических признаков неоплазии. Проведенный нами для

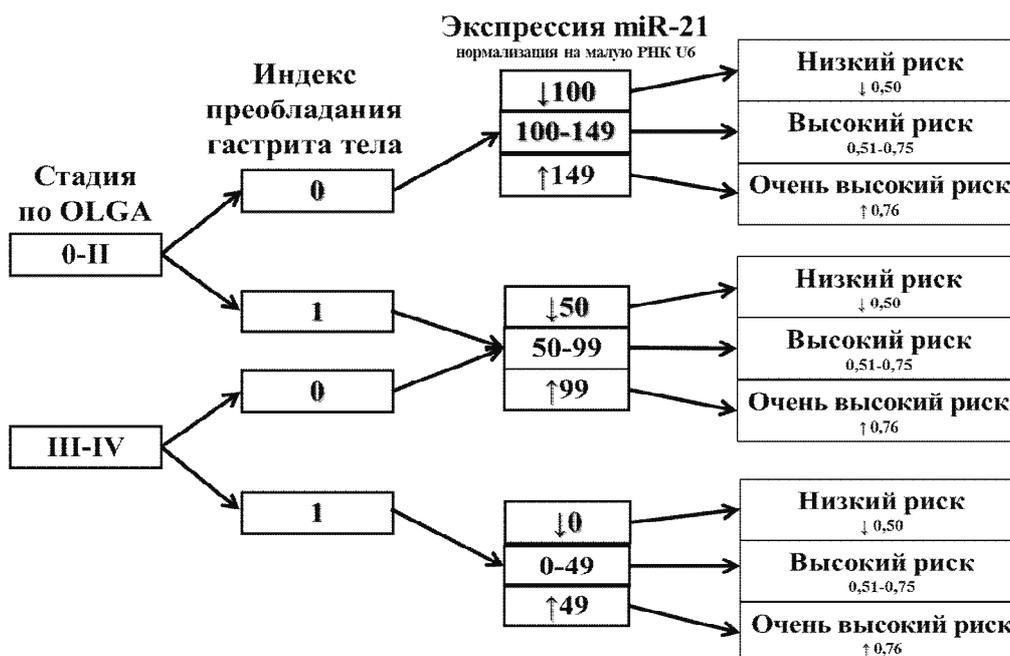


Рис. 3. Алгоритм оценки риска ассоциации с аденокарциномой желудка.

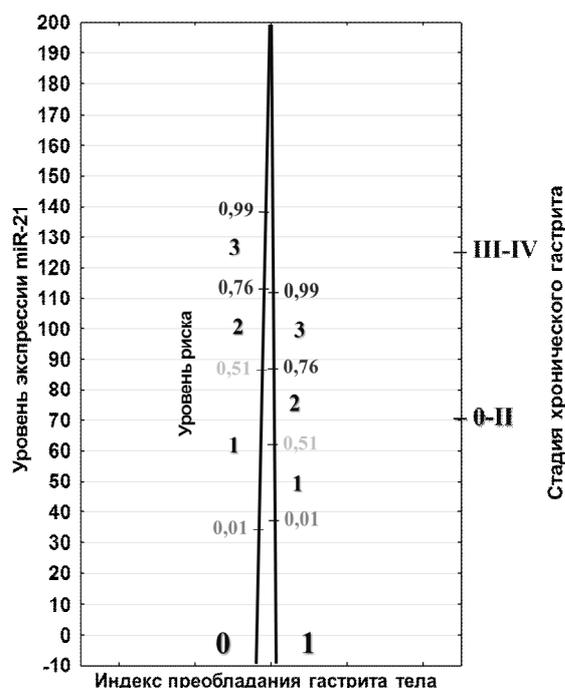


Рис. 4. Номограмма оценки риска развития аденокарциномы желудка при хроническом гастрите: 1 – низкий риск, 2 – высокий риск, 3 – очень высокий риск.

подтверждения предиктивной способности экспрессии miR-21 регрессионный анализ показал увеличение риска ассоциации с аденокарциномой в 13 раз при повышении уровня miR-21 на каждые 50 единиц относительной экспрессии. Таким образом, в рамках построенной модели с учетом медианных значений групп биопсийного материала и образцов дистантной зоны дает показание повышения риска в более чем в 40 раз, что значительно превышает аналогичное значение для III-IV стадии хронического гастрита по OLGA-system

и индекса преобладания гастрита тела. При этом статистическая модель и построенная на ее основании номограмма, включающая морфологические критерии оценки слизистой оболочки желудка и экспрессию miR-21 (степень нарушения эпигенетической регуляции молекулярных путей клетки), позволяет повысить прогностическую ценность биопсийного исследования и точность стратифицированной оценки риска развития аденокарциномы желудка при хроническом гастрите.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы / References

1. Кипкеева Ф.М., Музаффарова Т.А., Никулин М.П., Апанович П.В., Нариманов М.Н., Малихова О.А., и др. Группа микроРНК в качестве кандидатов в прогностические биомаркеры метастазирования рака желудка. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2020;1(169):84–7. [Kipkeeva FM, Muzaffarova TA, Nikulin MP, Apanovich PV, Narimanov MN, Malikhova OA, et al. A Group of miRNA as Candidates for Prognostic Biomarkers of Gastric Cancer Metastasis. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2020 May;169(1):77–80. doi: 10.1007/s10517-020-04828-3] (in Russian).
2. Кононов А.В., Мозговой С.И., Шиманская А.Г., Маркелова М.В., Осинцева И.Л., и др. Российский пересмотр классификации хронического гастрита: воспроизводимость оценки патоморфологической картины. Архив патологии. 2011;4(73):52–6 [Kononov AV, Mozgovoy SI, Shimanskaya AG, Markelova MV, Osintseva IL, et al. Russian revision of the classification of chronic gastritis: reproducibility of the assessment of the pathomorphological picture. Archives of pathology. 2011;4(73):52–6] (in Russian).

3. Фэн П., Ван С., Чжу В., Чэнь С., Фэн Ч. МикроРНК 630 сдерживает эпителиально-мезенхимальную трансформацию, контролируя экспрессию FoxM1 в клетках рака желудка человека. *Биохимия*. 2017;6(82):934–43 [Feng J, Wang X, Zhu W, Chen S, Feng C. MicroRNA-630 suppresses epithelial-to-mesenchymal transition by regulating FoxM1 in gastric cancer cells. *Biochemistry (Moscow)*. 2017 Jun;82(6):707–14. doi: 10.1134/S0006297917060074] (in Russian).
4. Шикеева А.А., Кекеева Т.В., Завалишина Л.Э., Андреева Ю.Ю., Залетаев Д.В., Франк Г.А. Экспрессия микроРНК let-7a, miR-155, miR-205 в опухолевой и смежной морфологически нормальной ткани у пациентов немелкоклеточным раком легкого. *Архив патологии*. 2016;78(3):3–10 [Shikeeva AA, Kekeeva TV, Zavalishina LE, Andreeva YuYu, Zaletaev DV, Frank GA. Expression of microRNA let-7a, miR-155, and miR-205 in tumor and tumor-adjacent histologically normal tissue in patients with non-small cell lung cancer. *Arkhiv patologii*. 2016;78(3):3–10. doi: 10.17116/patol20167833-10] (in Russian).
5. Шиманская А.Г. Морфологические методы и экспертный подход при верификации атрофии слизистой оболочки желудка в биопсийной диагностике атрофического гастрита. *Молодой ученый*. 2012;4:496–505. [Shimanskaya A. G. Morfologicheskie metody i ekspertnyi podkhod pri verifikatsii atrofii slizистой obolochki zheludka v biopsiinoi diagnostike atroficheskogo gastrita. *Molodoi uchenyi*. 2012;4:496–505] (in Russian).
6. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2018 Sep 12;68(6):394–42. doi: 10.3322/caac.21492
7. Farazi TA, Hoell JI, Morozov P, Tuschl T. MicroRNAs in Human Cancer. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2012 Dec 19;774:1–20. doi: 10.1007/978-94-007-5590-1_1
8. Kawasaki H, Taira K. RETRACTED ARTICLE: Hes1 is a target of microRNA-23 during retinoic-acid-induced neuronal differentiation of NT2 cells. *Nature*. 2003 Jun 8;423(6942):838–42. doi: 10.1038/nature01730
9. Plummer M, Franceschi S, Vignat J, Forman D, de Martel C. Global burden of gastric cancer attributable to *Helicobacter pylori*. *International Journal of Cancer*. 2014 Jun 11;136(2):487–90. doi: 10.1002/ijc.28999
10. Ren J, Kuang TH, Chen J, Yang J-W, Liu Y-X. The diagnostic and prognostic values of microRNA-21 in patients with gastric cancer: a meta-analysis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2017;21(1):120–30.
11. Ruge M, Correa P, Di Mario F, El-Omar E, Fiocca R, Geboes K, et al. OLGA staging for gastritis: A tutorial. *Digestive and Liver Disease*. 2008 Aug;40(8):650–8. doi: 10.1016/j.dld.2008.02.030
12. Ruge M, Genta RM, Graham DY, Di Mario F, Vaz Coelho LG, Kim N, et al. Chronicles of a cancer foretold: 35 years of gastric cancer risk assessment. *Gut*. 2016 Feb 29;65(5):721–5. doi: 10.1136/gutjnl-2015-310846
13. Schmitz U, Zinovyev A, Morozova N, et al. Proposed MicroRNA Cancer Regulation: Advanced Concepts, Bioinformatics and Systems Biology Tools. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Springer. 2012;774(7):189–224.
14. Stojanovic J, Tognetto A, Tiziano DF, Leoncini E, Posteraro B, Pastorino R, et al. MicroRNAs expression profiles as diagnostic biomarkers of gastric cancer: a systematic literature review. *Biomarkers*. 2018 Nov 15;24(2):110–9. doi: 10.1080/1354750x.2018.1539765
15. Zare A, Ganji M, Omrani MD, Alipoor B, Ghaedi H. Gastric Cancer MicroRNAs Meta-signature. *Int J Mol Cell Med*. 2019;8(2):94–102.
16. Zheng Q, Chen C, Guan H, Kang W, Yu C. Prognostic role of microRNAs in human gastrointestinal cancer: A systematic review and meta-analysis. *Oncotarget*. 2017 Mar 29;8(28):46611–23. doi: 10.18632/oncotarget.16679

Поступила в редакцию 21.09.2020
Принята в печать 27.11.2020

Received 21.09.2020
Accepted 27.11.2020

Для цитирования: Рубцов В.А., Поморгайло Е.Г., Мозговой С.И., Кононов А.В., Шиманская А.Г., Федотова Ю.А., Маркелова М.В., Иванов М.К., Титов С.Е. Оценка экспрессии miR-21 в слизистой оболочке желудка при хроническом гастрите как предиктор риска развития рака желудка. *Журнал анатомии и гистопатологии*. 2020; 9(4): 70–77. doi: 10.18499/2225-7357-2020-9-4-70-77

For citation: Rubtsov V.A., Pomorgailo E.G., Mozgovoï S.I., Kononov A.V., Shimanskaya A.G., Fedotova Yu.A., Markelova M.V., Ivanov M.K., Titov S.E. Evaluation of miR-21 expression in the gastric mucosa of patients with chronic gastritis as the predictive factor of gastric cancer. *Journal of Anatomy and Histopathology*. 2020; 9(4): 70–77. doi: 10.18499/2225-7357-2020-9-4-70-77