



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

В. А. Рубцов<sup>1</sup>, Е. Г. Поморгайло<sup>1\*</sup>, С. И. Мозговой<sup>1</sup>, А. В. Кононов<sup>1</sup>,  
А. Г. Шиманская<sup>1</sup>, Ю. А. Федотова<sup>1</sup>, М. В. Маркелова<sup>1</sup>, М. К. Иванов<sup>2</sup>,  
С. Е. Титов<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, Омск, Россия

<sup>2</sup>АО «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. Rubtsov<sup>1</sup>, E. G. Pomorgailo<sup>1\*</sup>, S. I. Mozgovoi<sup>1</sup>, A. V. Kononov<sup>1</sup>, A. G. Shimanskaya<sup>1</sup>, Yu. A. Fedotova<sup>1</sup>, M. V. Markelova<sup>1</sup>, M. K. Ivanov<sup>2</sup>, S. E. Titov<sup>2</sup>, 2020

<sup>1</sup>Omsk State Medical University, Omsk, Russia

<sup>2</sup>Vektor-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  $\chi^2$ ,  $p=0.41$ ) 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-

Таблица 1

## 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 полуквантитативной 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  $2^{-\Delta C_t}$  с использованием формулы:

$$\Delta C_t = 2^{(C_{t_{U6}} - C_{t_{miR21}})}$$

где  $C_{t_{U6}}$  – пороговое значение цикла ПЦР малой РНК U6,  $C_{t_{miR21}}$  – 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 парным 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 переменных 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  $\chi^2$ ,  $p$ -значение критерия Вальда  $\chi^2$ , 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%)	

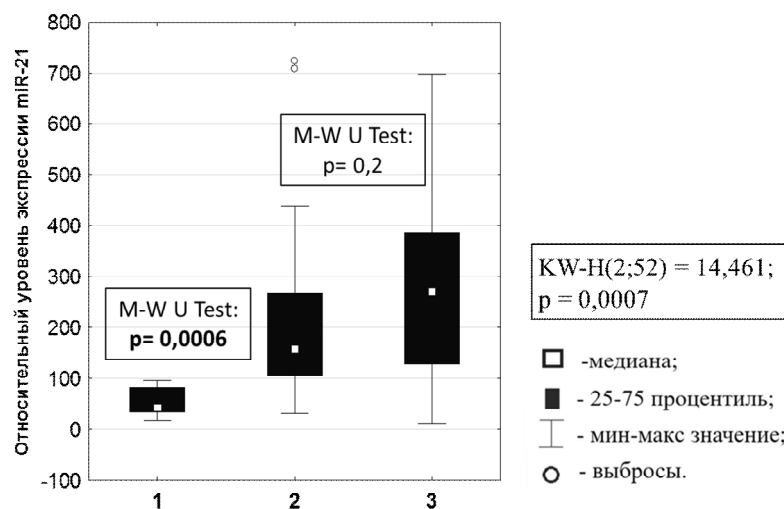


Рис. 1. Распределение значений уровня экспрессии miR-21 в тканях исследуемых групп: 1 – группа биоптатов слизистой оболочки желудка, 2 – дистантная зона группы операционного материала желудков, 3 – ткань аденокарциномы группы операционного материала желудков.

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 случаев 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];  $p=0.000002$ ). 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 (Bo)	Стадия хронического гастрита	Индекс преобладания гастрита тела	Уровень экспрессии miR-21
Коэффициент ( $\beta$ )	-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 $\chi^2$	28.97	6.13	10.38	22.72
p-значение	<b>0.00001</b>	<b>0.013</b>	<b>0.001</b>	<b>0.000002</b>
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 <sup>2</sup> 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%

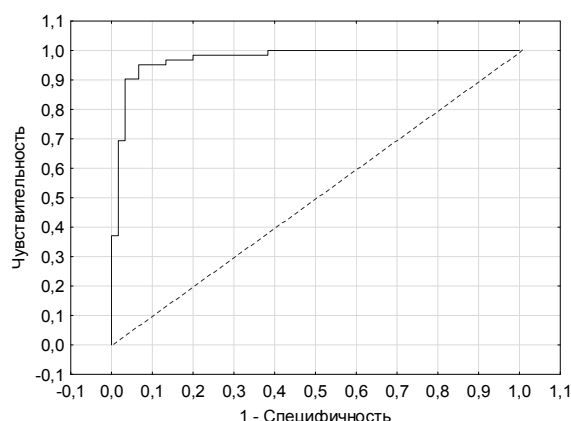


Рис. 2. ROC-кривая модели множественной логистической регрессии. Переменная отклика – ассоциация с аденокарциномой желудка, предикторные переменные – уровень экспрессии miR-21, стадия хронического гастрита, индекс преобладания гастрита тела.

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

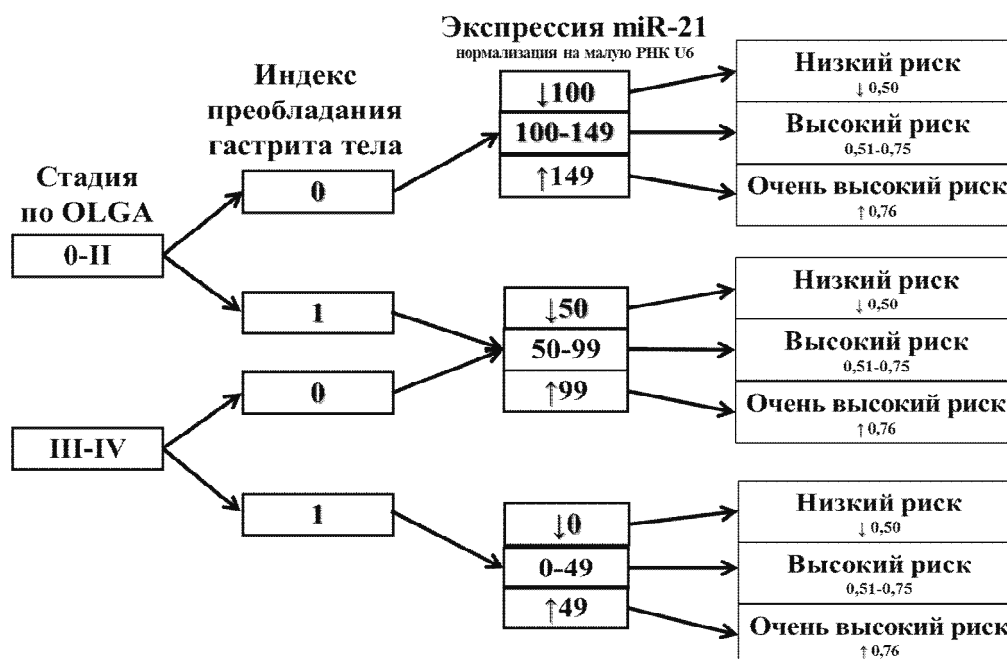


Рис. 3. Алгоритм оценки риска ассоциации с аденокарциномой желудка.

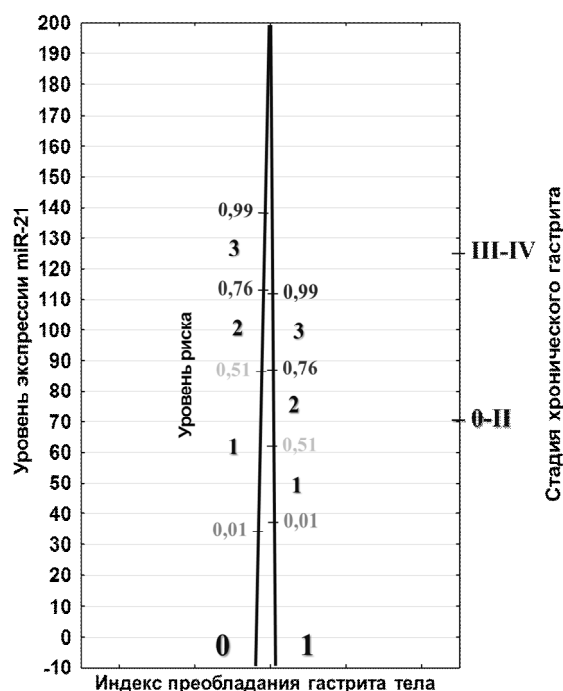


Рис. 4. Номограмма оценки риска развития аденокарциномы желудка при хроническом гастрите: 1 – низкий риск, 2 – высокий риск, 3 – очень высокий риск.

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), позволяющая 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 Ц., 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 JL, 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. Rugge 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. Rugge 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., Mozgovo 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