

<https://doi.org/10.38181/2223-2427-2021-4-53-60>

УДК:616.33-006.6

© Анищенко В.В., Архипова А.А., Титов С.Е., Полоз Т.Л., Бубнов И.В., 2021

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ МИРНК И МРНК В КЛЕТОЧНОМ МАТЕРИАЛЕ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА, ПОЛУЧЕННОГО ПРИ ЭЗОФАГОГАСТРОДУОДЕНОСКОПИИ, ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ДИСПЛАЗИИ И РАКА ЖЕЛУДКА

АНИЩЕНКО В.В.^{1,2}, АРХИПОВА А.А.³, ТИТОВ С.Е.^{4,5}, ПОЛОЗ Т.Л.⁶, БУБНОВ И.В.¹

¹ АО медицинский центр Авиценна группы компаний «Мать и Дитя», Россия, 630007, г. Новосибирск, ул. Коммунистическая, 17

² Новосибирский государственный медицинский университет (ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России), Россия, 630091, г. Новосибирск, ул. Красный проспект, 52

³ ГАУЗ НСО «Городская клиническая поликлиника № 1», Россия, 630005, г. Новосибирск, ул. Лермонтова, 40

⁴ ГБУН «Институт молекулярной и клеточной биологии» Сибирского отделения РАН, Россия, 630090, г. Новосибирск, просп. акад. Лаврентьева, 8/2

⁵ АО «Вектор-Бест», Россия, 630559, Новосибирская область, р.п. Кольцово, р.п. Кольцово, Научно-производственная зона, 36

⁶ ЧУЗ «Клиническая больница «РЖД-Медицина», Россия, 630003 г. Новосибирск, ул.Владимировский спуск, 2а

Реферат:

миРНК и мРНК являются высокоспецифичными молекулярными маркерами, со своим уникальным профилем экспрессии для каждого вида ткани, в клинической практике они способны стать ценным инструментом в дополнение к рутинной эзофагогастроуденоскопии.

Цель. Изучить перспективность применения классификатора, основанного на профилировании миРНК и мРНК в цитологических образцах для выявления дисплазии и рака желудка, а также сравнить полученные данные с результатами профилирования по 7 миРНК использованных для анализа как гистологического, так и цитологического материала.

Материалы и методы. В исследовании был включен 221 цитологический препарат: 108 образцов аденокарциномы, 27 образцов дисплазии, 86 образцов нормальной слизистой оболочки. Уровень экспрессии миРНК-145-5р, -150-5р, -21,-20а, -31-5р, -34а-5р, -375, -125b, -196b, -106b и мРНК следующих генов: TERT, CDKN2A, CKS2, FN1 определяли с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в реальном времени. Сравнение двух независимых выборок по количественному признаку проводили при помощи критерия Манна-Уитни. Стратификацию образцов на разные группы проводили с помощью алгоритма C5.0

Результаты: при исследовании цитологических образцов в случаях миРНК-125b, 145, -196b, -21, -375 и мРНК TERT, CKS2, FN1 достигнут высокий уровень значимости различий в группе рак/норма; миРНК-375 и мРНК FN1 в группе рак/дисплазия и миРНК-145, -196b, -20а, мРНК CKS2, TERT в группах норма/дисплазия. При сравнении результатов по 7 миРНК, которые были использованы для анализа как гистологического, так и цитологического материала отмечается ряд различий.

Заключение. Практическое использование технологии интеллектуального анализа данных экспрессии миРНК и мРНК в цитологическом материале, не позволяет дифференцировать дисплазию и рак, но может помочь в выявлении «пациентов с высоким риском», которым следует повторить эзофагогастроуденоскопию с мультифокальной щипцовой биопсии, с обязательным проведением молекулярно-генетического исследования.

Ключевые слова: дисплазия, рак, миРНК, мРНК, диагностика.

ANALYSIS OF EXPRESSION OF MIRNA AND MRNA IN THE CELLULAR MATERIAL OF THE STOMACH LINING OBTAINED BY ESOPHAGOGASTRODUODENOSCOPY IN ORDER TO DETECT DYSPLASIA AND STOMACH CANCER

ANISCHENKO V.V.^{1,2}, ARKHIPOVA A.A.³, TITOV S.E.^{4,5}, POLOZ T.L.⁶, BUBNOV I.V.¹

¹ JSC Avicenna medical centre of the group of companies "Mother and Child", Russia, 630007, Novosibirsk, Kommunisticheskaya Str., 17

² State Budgetary Educational Institute of Higher Professional Education «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health» of Russia), Russia, 630091, Novosibirsk, Krasniy Prospekt, 52

³ Autonomous Public Health Care Institution of the Novosibirsk Region "City clinical polyclinic No. 1», Russia, 630005, Novosibirsk, Lermontova Str., 40

⁴ Institute of Molecular and Cellular Biology of the Siberian Branch of the RAS, Russia, 630090, Novosibirsk, Ac. Lavrentieva ave., 8/2

⁵ JSC "Vector-Best", Russia, 630559, Novosibirsk region, Koltsovo, Research and Production Zone, 36

⁶ Private medical institution "Russian Railways-Medicine" Clinical hospital" Russia, 630003 Novosibirsk, 630003, Vladimirovskiy spusk, 2a

Abstract:

miRNA and mRNA are highly specific molecular markers, with their own unique expression profile for each type of tissue. They can become a valuable tool in clinical practice in addition to routine esophagogastroduodenoscopy.

Purpose. To study the prospects of using a classifier based on miRNA and mRNA profiling in cytological samples for detecting dysplasia and stomach cancer, as well as to compare the obtained data with the results of profiling of 7 miRNAs used for the analysis of both histological and cytological material.

Materials and methods. The study included 221 cytological preparations: 108 samples of adenocarcinoma, 27 samples of dysplasia, 86 samples of normal mucosa. The expression level of miRNA-145-5p, -150-5p, -21,-20a, -31-5p, -34a-5p, -375, -125b, -196b, -106b and mRNA of the following genes: TERT, CDKN2A, CKS2, FN1, was determined using real-time reverse transcription polymerase chain reaction. Quantitative comparison of two independent samples for was performed using the Mann-Whitney test. The samples were stratified into different groups using the C5.0 algorithm.

Results: when examining cytological samples in cases of miRNA-125b, 145, -196b, -21, -375 and TERT, CKS2, FN1 mRNA, there was achieved a high level of significance of differences in the cancer/norm group; miRNA-375 and FN1 mRNA in the cancer/dysplasia group and miRNA-145, -196b, -20a, and CKS2, TERT mRNA in the norm/dysplasia groups. When comparing the results for the 7 miRNAs that were used to analyze both histological and cytological material, several differences was noted.

Conclusion. The practical use of miRNA and mRNA expression (in cytological material data mining technology does not allow differentiating dysplasia and cancer but can help in identifying "high-risk patients" who should repeat esophagogastroduodenoscopy with multifocal forceps biopsy, with mandatory molecular genetic research.

Keywords: dysplasia, cancer, miRNA, mRNA, diagnostics.

Введение

Морфологическое исследование биоптатов полученных при эндоскопическом исследовании желудка считается методом выбора для диагностики предраковых изменений слизистой оболочки и рака желудка [1]. Однако большая часть очагов дисплазии и ранний рак являются плоскими поражениями [2], при массовой эндоскопической диагностике такие поражения часто остаются незамеченными [3], а проведение множественной щипцовой биопсии для каждого человека не реально, так как Российская Федерация большое по площади государство, доступность эндоскопических технологий и возможности врачей в регионах ограничены, кроме того, отсутствуют критерии формирования групп риска в связи с чем рак желудка на ранней стадии чаще всего выявляется случайно [4]. К тому же многие пациенты принимают антикоагулянтные препараты, это может стать причиной кровотечения при заборе большого количества фрагментов [5].

В качестве одного из способов получения материала при эзофагогастроуденоскопии может быть использована браш-биопсия. Соскоб нейлоновой щеткой позволяет получить материал с большой площади собственной пластинки слизистой оболочки и не приводит к фиброзу, а само цитологическое исследование может быть альтернативой гистологическому. При одновременном применении цитологического исследования и дополнительных методик (иммуноцитохимия, селективные окраски, молекулярные исследования) эффективность диагностики, согласно данным литературы, приближается к 100% [6]. Немаловажно и то, что

цитологическое заключение может быть получено значительно раньше, чем морфологическое [6,7]. Однако у цитологического исследования есть свои «пределы возможности», прежде всего, это невозможность увидеть инвазию при подозрении на злокачественный характер, к тому же стекла-мазки не всегда обеспечивают репрезентативность разных участков гетерогенной опухоли, а сам клеточный материал чувствителен к внешним воздействиям. Большинство препаратов утрачивают мелкие структурные детали, если от момента приготовления препарата до его окрашивания прошло более 6 часов. [6]. Для повышения точности и надежности диагностики, в дополнение к цитологическому анализу, было бы желательно анализировать образцы на другие типы маркеров. В их качестве могут выступать как матричные РНК (мРНК) белок-кодирующих генов, так и микроРНК (миРНК).

МиРНК относятся к классу малых (около 22 нуклеотидов) некодирующих РНК, которые принимают участие в регулировании экспрессии генов, играя важную роль в широком спектре физиологических и патологических процессов [8]. Ранее нами была разработана методика на основе профилирования 7 миРНК (-145, -150, -21,-20a, -34a, -31 и -375), для дифференциальной диагностики дисплазии и рака желудка (РЖ), по сравнению с нормальной слизистой в образцах гистологического материала [9,10]. Для диагностики, основанной на анализе цитологических образцов, мы решили добавить еще три миРНК в работу: миРНК-106b, -125b, -196b [11].

Кроме миРНК в данной работе мы использовали мРНК в качестве маркеров трансформации клеток.

мРНК содержат информацию о последовательности аминокислот в белке и являются посредниками, переносящими информацию из ядра в цитоплазму. На посттранскрипционном уровне миРНК регулируют экспрессию генов за счет спаривания со специфическими нуклеотидными последовательностями мРНК [11].

В качестве генов-кандидатов, ассоциированных с раком желудка, мы взяли Telomerase Reverse Transcriptase (TERT), Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2A (CDKN2A), CDC28 Protein Kinase Regulatory Subunit 2 (CKS2), Fibronectin 1 (FN1). В раковых клетках происходит гиперметилирование CpG-островка промотора гена TERT, это приводит к увеличению его экспрессии, которая влияет на пролиферацию опухолевых клеток [12]. Экспрессия опухолевого супрессора CDKN2A наоборот подавляется гиперметилированием CpG-островка – это является ранним событием гастроинтестинального канцерогенеза, так как гиперметилирование гена отмечается в участках предраковых изменений (в районах кишечной метаплазии) [11]. CKS2 в клетках злокачественных новообразований активируется, подавляет супрессоры опухолей p53 и p21, что способствует росту раковых клеток [13]. FN1 является членом семейства гликопротеинов, участвует в процессах клеточной адгезии, миграции, подавлении апоптоза, в неопластической ткани отмечается повышение его экспрессии по сравнению с нормально тканью [14].

Цель исследования: Изучение перспективности применения классификатора, основанного на профилировании миРНК и мРНК в цитологических образцах для выявления предраковых состояний (дисплазии) и рака желудка, а также сравнение с результатами профилирования по 7 миРНК, использованных для анализа как гистологического, так и цитологического материала.

Материалы и методы

Клинический материал. В исследование был включен 221 цитологический препарат в виде мазков нормальной и патологически измененной ткани слизистой оболочки желудка на предметном стекле, полученном при браш-биопсии. Материал был представлен: 108 образцами аденокарциномы желудка, 27 образцами дисплазии и 86 образцами нормальной слизистой оболочки. От каждого пациента было получено информированное согласие на использование его биологического материала. Диагнозы, относящиеся к раку желудка и дисплазии были подтверждены гистологически и цитологически. Перед проведением молекулярно-генетического исследования была проведена экспертная оценка цитологических препаратов.

При эзофагогастроуденоскопии выполняли соскоб нейлоновой щеткой с поверхности всех участков нетипичной структуры эпителия, также соскоб выполнялся в области малой кривизны тела желудка, в антральном отделе и в области угла желудка.

Выделение суммарной РНК. Цитологический препарат переносили со стекла в пробирку и добавляли 600 мкл лизирующего буфера (4 М гуанидин изотиоцианат, 25 mM цитрат натрия, 0,3% саркозил, 3% ДТТ), расфасованного в бескислородной атмосфере (АО “Вектор-Бест”, Россия). Пробирки помещали в термошейкер на 10 мин при 65о С. Раствор центрифугировали 2 мин. при 10 000 g., переносили супернатант в новые пробирки и добавляли к нему равный объем изопропанола, перемешивали и оставляли при комнатной температуре на 5 мин. Центрифугировали 10 мин при 12 000 g, супернатант сливали, осадок промывали: 500 мкл 70% этанола, затем 300 мкл ацетона. РНК растворяли в 200 мкл деионизированной воды.

Выбор набора молекулярных маркеров. Из своей предыдущей работы мы использовали 7 миРНК-маркеров злокачественности (миРНК-145-5p, -150-5p, -21,-20a, -31-5p, -34a-5p, -375), для которых в качестве референса использовалась малая ядерная РНК U6. В данной работе мы добавили к ним миРНК-106b, -125b, -196b выбранные на основании анализа доступной литературы. Помимо миРНК, в данной работе в качестве маркеров были использованы мРНК следующих генов: TERT, CDKN2A, CKS2, FN1 с нормировкой на ген PGK1.

Детекция миРНК и мРНК с помощью ОТ-ПЦР-РВ. Для выявления зрелых миРНК и малой РНК U6 использовали метод, предложенный Chen C. и соавторами в 2005 году [15]. Метод включает в себя обратную транскрипцию зрелой миРНК с помощью длинного праймера со шпилькой, с последующей детекцией полученной кДНК с помощью ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) (Chen C., 2005). Для каждой миРНК отдельно проводили реакцию обратной транскрипции с последующей ПЦР-РВ. Нормировку содержания миРНК проводили на содержание малой ядерной РНК U6 в образце с помощью метода 2-ΔCq [16]. Выявление мРНК U6 проводилось по той же схеме stem-loop ОТ-ПЦР, которая использовалась для миРНК.

Полуколичественную оценку содержания мРНК проводили методом ОТ-ПЦР-РВ со специфическими праймерами и флуоресцентно-мечеными зондами для выявления мРНК соответствующих генов и гена PGK1 (фосфолицераткиназа), используемого в качестве нор-

мализатора. Уровень относительной экспрессии рассчитывали с помощью метода 2-ΔCq.

Статистическую обработку данных проводили в программе STATISTICA 10 (StatSoft Inc., США) и Excel (Microsoft, США). Сравнение двух независимых выборок по количественному признаку проводили при помощи критерия Манна-Уитни. Критический уровень значимости был принят равным 0,0012 с учетом поправки Бонферрони. Стратификацию образцов на разные группы проводили с помощью алгоритма построения дерева принятия решений C5.0.

Результаты

С помощью ОТ-ПЦР-РВ мы определили экспрессию 10 классификаторных миРНК и 4 мРНК в 221 цитологическом образце. В таблице 1 приведены данные по статистической значимости различий между экспрессией миРНК и мРНК между группами норма/рак/дисплазия. Парное сравнение было выполнено с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни.

Из таблицы 1, видно, что в случаях миРНК-125b, 145, -196b, -21, -375 и мРНК TERT, CKS2, FN1 достигнут высокий уровень значимости различий в группе рак/норма; миРНК-375 и мРНК FN1 в группе рак/дисплазия и миРНК-145, -196b, -20a, мРНК CKS2, TERT в группах норма/дисплазия.

На основании данных, относящихся к цитологическим

образцам, было построено новое дерево принятия решения, с использованием алгоритма C5.0:

миР-375 <= -14.273: Диагноз = Рак
 миР-375 > -14.273:
 ...CKS2 > 1.853221: Диагноз = Норма
 CKS2 <= 1.853221:
 ...миР-196b <= -30894.83: Диагноз = Норма
 миР-196b > -30894.83:
 ...миР-145 > -37.9232:
 ...FN1 > 0.2643117: Диагноз = Рак
 : FN1 <= 0.2643117:
 : ...TERT <= 0.02677348: Диагноз = Рак
 : TERT > 0.02677348: Диагноз = Норма
 миР-145 <= -37.9232:
 ...миР-125b > -9.207474: Диагноз = Дисплазия
 миР-125b <= -9.207474:
 ...FN1 <= 0.01168407: Диагноз = Норма
 FN1 > 0.01168407:
 ...TERT <= 0.00008631: Диагноз = Норма
 TERT > 0.00008631:
 ...миР-145 <= -412.5019: Диагноз = Дисплазия
 миР-145 > -412.5019:
 ...миР-20a > -4.228479: Диагноз = Рак
 миР-20a <= -4.228479:
 ...миР-21 <= 1.656485: Диагноз = Рак
 миР-21 > 1.656485: Диагноз = Дисплазия

Таблица 1.
Уровень значимости при попарном сравнении экспрессии миРНК и мРНК в цитологических образцах

Significance level for pairwise comparison of miRNA and mRNA expression in cytological samples

Table 1.

миРНК	РЖ/Норма	РЖ/Дисплазия	Норма/Дисплазия
миРНК-125b	5,56*10⁻⁶	0,5491	0,0620
миРНК-145	1,87*10⁻⁸	0,1165	4,84*10⁻⁹
миРНК-196b	1,62*10⁻¹²	0,0486	0,0005
миРНК-20a	0,0713	0,0928	0,0002
миРНК-150	1,03*10⁻⁹	0,3557	1,93*10⁻⁵
миРНК-21	4,40*10⁻¹⁰	0,0385	0,0079
миРНК-375	5,08*10⁻⁹	2,93*10⁻⁹	0,0007
миРНК-106b	0,5174	0,3674	0,5609
миРНК-31	3,71*10⁰	0,0281	0,0475
миРНК-34a	3,74*10⁻⁷	0,6937	6,80*10⁻⁵
мРНК TERT	4,34*10⁻⁸	0,4407	2,26*10⁻⁵
мРНК CKS2	2,78*10⁻¹¹	0,4490	2,15*10⁻⁷
мРНК FN1	2,18*10⁻¹²	2,38*10⁻⁵	0,4705
мРНК CDKN2A	1,48*10 ⁻⁵	0,1868	0,1033

Примечание. Жирным шрифтом выделены значимые (p<0,0012) различия
 Note. Significant (p < 0.0012) differences are in bold

Таким образом, в дерево решений вошли миРНК-125b, -145, -196b, -21, -20a и -375 и мРНК генов SKS2, TERT и FN1 т.е. все, для которых были показаны достоверные отличия в экспрессии.

Диагностические характеристики выявления рака и дисплазии с помощью этого дерева принятия решения представлены в таблице 2.

Из 108 образцов рака классификатор отнес 105 образцов (97,2%) к раку, 2 (1,9 %) к дисплазии и 1 (0,9 %) к норме.

Обсуждение

В наших предыдущих работах [9,10] мы описали алгоритм классификации образцов слизистой желудка на норму, дисплазию и рак с помощью данных об относительном содержании миРНК в гистологическом материале. Мы тестировали семь миРНК (-145, -150, -20a, -21, -20a, -31, -34a, -375) из которых пять (кроме миРНК-20a) вошли в дерево принятия решения. В данной работе мы хотели решить подобную задачу на

цитологических образцах, добавив дополнительные маркеры: три миРНК (-106b, -125b, -196b) и четыре мРНК генов TERT, CDKN2A, SKS2, FN1. В первую очередь интересно сравнить результаты по тем миРНК, которые были использованы для анализа и гистологического и цитологического материала. Результаты сопоставления достоверности различий между группами для цитологического и гистологического материала приведены в таблице 3.

Из таблицы 3 следует, что существуют различия между гистологическим и цитологическим материалом по экспрессии семи миРНК. Часть из них связана с разными структурами выборок: в работе по гистологическому материалу было 34 образца рака, 54 дисплазии и 34 нормы, а в данной работе (по цитологическому материалу): 108 образцов рака, 27 дисплазии и 86 нормы. Т.е. соотношение между группами получается разным, размер выборки тоже отличается. Кроме того, материал для гистологического исследования фиксирован в 10%-ном

Таблица 2.

Диагностические характеристики выявления рака и дисплазии на основании данных об экспрессии мРНК и миРНК в цитологических образцах

Table 2.

Diagnostic characteristics of detecting cancer and dysplasia based on data on the expression of mRNA and miRNA in cytological samples

Параметры	Рак желудка, %	Дисплазия, %
Специфичность	92,04	98,96
Чувствительность	97,22	67,86
Общая точность	94,57	95,02
ПЦПР	92,11	90,48
ПЦОР	97,20	95,50

Таблица 3.

Сопоставление уровней значимости различий между группами для цитологического и гистологического материала

Table 3.

Comparison of significance of differences between groups for cytological and histological material

миРНК	РЖ/Норма		РЖ/Дисплазия		Норма/Дисплазия	
	Гистология	Цитология	Гистология	Цитология	Гистология	Цитология
миР-145	0,658799	1,87*10 ⁻⁸	0,0244	0,1165	0,020678	4,84*10 ⁻⁹
миР-150	0,001427	1,03*10 ⁻⁹	2,39*10 ⁻⁹	0,3557	1,6*10 ⁻¹²	1,93*10 ⁻⁵
миР-20a	0,0870	0,0713	0,0053	0,0928	1,84*10 ⁻⁴	0,0002
миР-21	1,62*10 ⁻⁷	4,40*10 ⁻¹⁰	0,0024	0,0385	7,27*10 ⁻⁹	0,0079
миР-31	0,397360	3,71*10 ⁻⁷	1,0*10 ⁻⁶	0,0281	1,19*10 ⁻¹⁰	0,0475
миР-34a	4,69*10 ⁻¹¹	3,74*10 ⁻⁷	0,007694	0,6937	1,89*10 ⁻¹¹	6,80*10 ⁻⁵
миР-375	0,001012	5,08*10 ⁻⁹	7,0*10 ⁻⁶	2,93*10 ⁻⁹	0,078223	0,0007

растворе формалина, затем проведена специальная обработка и заключение в парафин, а цитологический материал высушивается на воздухе и окрашивается по Романовскому-Гимзе [17]. Клеточный состав также отличается, так в мазках, полученных щеткой, присутствуют сохранные и отмирающие слизивающиеся клетки покровно-ямочного эпителия, а полученный щипцами гастробиоптат представлен тканью слизистой и подслизистой оболочки желудка [3,6].

Частично по этим причинам из семи мРНК, вошедших в гистологический классификатор, в цитологический вошли только три: мРНК-145, -21 и -375. В большей степени в цитологический классификатор вошли новые маркеры: мРНК-125b, -196b и мРНК TERT, CKS2, FN1, для которых получились различия с высоким уровнем значимости между группами рак/норма и дисплазия/норма. Между группами рак/дисплазия значимые различия оказались только для двух маркеров (мРНК-375, мРНК FN1), поэтому при высокой специфичности выявления дисплазии, чувствительность оказалась заметно ниже. Результаты морфологического и молекулярного анализа могут не совпадать в силу того, что молекулярные маркеры злокачественности появляются раньше морфологических изменений, соответствующих раку [11].

Практическое применение молекулярных маркеров пока не позволяет со 100% точностью дифференцировать предраковые изменения и рак, но мРНК и мРНК способны стать ценным инструментом в дополнение к рутинной диагностике. Для ранней диагностики рака желудка требуются дополнительные исследования, в частности, расширения выборки образцов. Тем не менее, полученные результаты показывают, что профилирование мРНК и мРНК в клеточном материале со слизистой желудка позволяет сформировать группу риска, увеличить точность раннего выявления злокачественных поражений, в более короткие сроки подтвердить или опровергнуть диагноз рака и определить показания к оперативному лечению.

Заключение

Высокий уровень статистической значимости различий в случаях мРНК-125b, 145, -196b, -21, -375 и мРНК TERT, CKS2, FN1 в группе рак/норма и в случаях мРНК-145, -196b, -20a, мРНК CKS2, TERT в группах норма/дисплазия свидетельствует о возможности использовать эти данные для эффективного выявления предраковых изменений и рака слизистой оболочки желудка. Практическое использование технологии интеллектуального анализа данных экспрессии мРНК и

мРНК в цитологическом материале, не позволяет дифференцировать дисплазию и рак, но может помочь в выявлении «пациентов с высоким риском», которым следует повторить эзофагогастроуденоскопию с мультифокальной щипцовой биопсии, с обязательным проведением молекулярно-генетического исследования.

Список литературы/References

1. Рак желудка. Клинические рекомендации. МЗ РФ; 2018. 34 с. [Gastric Cancer. Clinical Recommendations. Ministry of Health of the Russian Federation; 2018. 34 p. (in Russian)]
2. Yada T., Yokoi C., Uemura N. The current state of diagnosis and treatment for early gastric cancer. *Diagnostic and Therapeutic Endoscopy*. 2013;2013:241320. <https://doi.org/10.1155/2013/241320>
3. Автандилов Г.Г., Купрюшина Н.В. Гистоплоидометрическая диагностика новообразований желудка по гастробиоптатам. Руководство. Новые гистоцитологические диагностические технологии. Книга 4. Москва: РМАПО, 2008.-126. [Avtandilov G.G., Kupryushina N.V. Histoploidometry diagnostics of gastric neoplasms in biopsy samples. Moscow: Izdanie RMAPO; 2008.126 (in Russian)].
4. Состояние онкологической помощи населению России в 2019 году/под ред. Каприна А. Д., Старинского В. В., Шахзадова А. О. 2020; 239 [State of cancer care to the population of Russia in 2019 ed. Caprin A.D., Starinsky V.V., Shahzadova A.O. Oncology Research Center. 2020; 239. (In Russian)]
5. Kwack W.G., Ho W.J., Ho W.J., Kim J.H., Lee J.H., Kim E.J., Kang H.W., et al. Understanding the Diagnostic Yield of Current Endoscopic Biopsy for Gastric Neoplasm: A Prospective Single-Center Analysis Based on Tumor Characteristics Stratified by Biopsy Number and Site. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(30):4196. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000004196>
6. Клиническая цитология: Практическое руководство / Н.Ю. Полонская. – М.: Практическая медицина, 2018. 144с. [Clinical cytology: A practical guide / N.Yu. Polonskaya. – М.: Practical Medicine, 2018; 144]
7. Архипова А.А., Анищенко В.В. Дисплазия легкой степени, эндоскопические предикторы, тактика ведения. *Хирургическая практика*. 2020;(2):10-14. [Arkhipova A.A., Anischenko V.V. Low-grade dysplasia, endoscopic predictors, management tactics. *Surgical practice*. 2020;(2):10-14. (in Russian)] <https://doi.org/10.38181/2223-2427-2020-2-10-14>

8. Link A., Schirrmeister W., Langner C., Varbanova M., Bornschein J., Wex T., et al. Differential expression of microRNAs in preneoplastic gastric mucosa. *Scientific Reports*. 2015; 5: 8270. <https://doi.org/10.1038/srep08270>

9. Титов С.Е., Анищенко В.В., Полоз Т.Л., Веряскина Ю.А., Архипова А.А., Устинов С.Н. Возможности дифференциальной диагностики рака желудка и предраковых изменений слизистой желудка с помощью анализа экспрессии шести микроРНК. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020; 65(2): 131–136. [Titov S.E., Anishchenko V.V., Poloz T.L., Veryaskina Yu.A., Arkhipova A.A., Ustinov S.N. Differential diagnostics of gastric cancer and precancerous changes of the gastric mucosa using analysis of expression of six microRNAs.] *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika – Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2020; 65 (2): 131-136. (in Russ.)). <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-2-131-136>

10. Анищенко В.В., Титов С.Е., Полоз Т.Л., Веряскина Ю.А., Архипова А.А., Бубнов И.В. Динамический скрининг предраковых состояний пищевода с помощью молекулярно-генетического анализа. *Сибирский онкологический журнал*. 2020;19(6):38-45. [Anishchenko V.V., Titov S.E., Poloz T.L., Veryaskina Yu.A., Arkhipova A.A., Bubnov I.V. Dynamic screening of precancerous esophagus using molecular genetic analysis. *Siberian journal of oncology*. 2020;19(6):38-45 (In Russ.)). <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2020-19-6-38-45>

11. Молекулярно-генетические маркеры опухолей / Под редакцией Н.Е. Кушлинского, Н.Н. Мазуренко, М.В. Немцовой. М.: Издательство РАМН, 2016. 612с. [Molecular genetic markers of tumors / Edited by N.Ye. Kushlinsky, N.N. Mazurenko, M.V. Nemtsova. Moscow: RAMS Publishing House, 2016; 612]

12. de Jesus B.B., Blasco M.A. Telomerase at the intersection of cancer and aging. *Trends in Genetics*. 2013;29(9):513-2. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2013.06.007>

13. Tanaka F, Matsuzaki S, Mimori K, Kita Y, Inoue H, Mori M. Clinicopathological and biological significance of CDC28 protein kinase regulatory subunit 2 overexpression in human gastric cancer. *International Journal of Oncology*. 2011;39(2):361-72. <https://doi.org/10.3892/ijo.2011.1056>

14. Cai X, Liu C, Zhang TN, Zhu YW, Dong X, Xue P. Down-regulation of FN1 inhibits colorectal carcinogenesis by suppressing proliferation, migration, and invasion. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2018;6:4717-4728 <https://doi.org/10.1002/jcb.26651>

15. Chen C., Ridzon D.A., Broomer A.J., Zhou Z.,

Lee D.H., Nguyen J.T., Barbisin M., Xu N.L., Mahuvakar V.R., Andersen M.R., Lao K.Q., Livak K.J., Guegler K.J. Real-time quantification of microRNAs by stem-loop RT-PCR. *Nucleic Acids Research*. 2005;33:179 <https://doi.org/10.1093/nar/gni178>.

16. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta C_t$ method. *Methods*. 2001;25:402-8. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>.

17. Архипова А.А., Анищенко В.В. Характеристика язв желудка, осложненных кровотечением. Characteristic of stomach ulcers, complicated by bleeding. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 2020; 5(1): 5(1): 42-46 [Arkhipova A.A., Anishchenko V.V. Characteristic of stomach ulcers, complicated by bleeding. Characteristic of stomach ulcers, complicated by bleeding. *Acta biomedica scientifica*. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 2020; 5(1): 5(1): 42-46(In Russ.)). <https://doi.org/10.29413/ABS.2020-5.1.5>

Информация об авторах

Анищенко Владимир Владимирович – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой хирургии факультета усовершенствования врачей, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, г. Новосибирск, Россия; AVV1110@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1178-5205>

Архипова Анна Александровна – к.м.н., врач-эндоскопист, отделение хирургического дневного стационара, ГАУЗ НСО «ГКП № 1», г. Новосибирск, Россия; ierusalimova@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-5653-2960>

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

Полоз Татьяна Львовна – д.м.н., заведующая цитологической лабораторией, ЧУЗ «Клиническая больница» РЖД-Медицина, г. Новосибирск, Россия. <https://orcid.org/0000-0003-4006-7560>.

Бубнов Иван Валерьевич – врач эндоскопического отделения, АО медицинского центра Авиценна группы

компаний «Мать и Дитя» г. Новосибирск, Россия.
<https://orcid.org/0000-0001-7828-2878>.

Для корреспонденции

Архипова Анна Александровна – к.м.н., врач-эндоскопист, отделение хирургического дневного стационара, ГАУЗ НСО «ГКП № 1» Россия; г. Новосибирск, 630005, ул. Лермонтова, д. 40; +7 (383) 201-48-88; ierusalimova@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-5653-2960>

Information about authors

Vladimir V. Anischenko – Dr. Sci., Professor, Chairman of Surgery Department of the Faculty of Continuing Medical Education, Novosibirsk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Novosibirsk, Russia; AVV1110@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1178-5205>

Anna A. Arkhipova – PhD, endoscopist of the department of the day surgical hospital of the "Outpatient surgery centre" of the Autonomous Public Health Care Institution "City clinical polyclinic No. 1", Novosibirsk, Russia; ierusalimova@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-5653-2960>

Sergey E. Titov – PhD, Senior Researcher of the PCR Laboratory, JSC "Vector-Best"; Senior Researcher of the Laboratory of the Molecular Genetics, Institute of Molecular and Cellular Biology of Siberian Branch of RAS; Engineer of the Laboratory of Structural, Functional and Comparative Genomics, NSU (Novosibirsk, Russia). SPIN: 4924-8365. <https://orcid.org/0000-0001-9401-5737>. Research ID (WOS): O-5808-2015. Author ID (Scopus): 57159107200.

Tatyana L. Poloz – Dr. Sci., Head of the Cytology Laboratory, Private Healthcare Institution Clinical Hospital "RZD-Medicine", Novosibirsk, Russia. <https://orcid.org/0000-0003-4006-7560>

Ivan V. Bubnov – MD, Endoscopy Department AO Medical Centre Avicenna, group of companies «Mother and Child» Novosibirsk, Russia. <https://orcid.org/0000-0001-7828-2878>

For correspondence

Anna A. Arkhipova – PhD, endoscopist of the department of the day surgical hospital of the "Outpatient surgery centre" of the Autonomous Public Health Care Institution "City clinical polyclinic No. 1", Novosibirsk, Russia, 630005, Lermontova Str., 40; +7(383) 201-48-88; ierusalimova@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-5653-2960>

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflicts of interest.