

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ / ORIGINAL ARTICLE

УДК 616.345-006.55-079

<https://doi.org/10.5922/2223-2427-2024-9-4-2>

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ПОСЕГМЕНТАРНАЯ ОЦЕНКА МОЛЕКУЛЯРНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ТОЛСТОЙ КИШКИ ПРИ ВОРСИНЧАТЫХ АДЕНОМАХ

А. Г. Короткевич^{1,2}✉, С. Е. Титов^{3,4,5}, Н. М. Жилина¹
П. С. Деменков^{3,6}, Ю. А. Веряскина^{4,6}, О. И. Бондарев¹

¹Новокузнецкий государственный институт
совершенствования врачей,
654005, Россия, Новокузнецк, просп. Строителей, 5

²Новокузнецкая городская клиническая больница
имени А. А. Луцка,
654038, Россия, Новокузнецк, просп. Советской Армии, 49

³Новосибирский национальный исследовательский
государственный университет,
630090, Россия, Новосибирск, ул. Пирогова, 1

⁴Институт молекулярной и клеточной биологии Сибирского
отделения РАН,
630090, Россия, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 8/2

⁵«Вектор-Бест»,
630559, Россия, Новосибирская обл., пос. Кольцово,
Научно-производственная зона, 36

⁶Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН,
630090, Россия, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10

Поступила в редакцию: 23.07.2024 г.

Принята в печать: 12.09.2024 г.

Для цитирования: Короткевич А. Г., Титов С. Е., Жилина Н. М., Деменков П. С., Веряскина Ю. А., Бондарев О. И. Сравнительная посегментарная оценка молекулярных особенностей слизистой оболочки толстой кишки при ворсинчатых аденомах. *Хирургическая практика*. 2024;9(4):16–32. <https://doi.org/10.5922/2223-2427-2024-9-4-2>

Цель. Определить частоту проявления одиночных ворсинчатых аденом по сегментам толстой кишки и выполнить сравнение молекулярно-генетических особенностей ворсинчатых аденом со слизистой оболочкой индексного сегмента и между разными сегментами толстой кишки, а также характеристиками неизменной слизистой оболочки аналогичных сегментов толстой кишки.

Материал и методы. Сплошное поперечное ретроспективное исследование результатов 3086 колоноскопий. В исследовании изучены 347 клеточных образцов: ворсинчатых аденом — 109, слизистой оболочки индексного сегмента — 101, нормальной слизистой оболочки — 137. Детекцию мРНК и мРНК выполняли с помощью ПЦР в реальном времени. Детекцию соматических мутаций проводили с помощью аллель-специфичной ПЦР с гидролизующим зондом.

Результаты. Общая частота ворсинчатых аденом в структуре всех выявленных эпителиальных новообразований составила 3%. Ворсинчатые аденомы преобладали в сигмовидной кишке, в других сегментах толстой кишки их частота достоверно не различалась. Частота выявления тяжелой дисплазии была связана с диаметром аденомы. Генные мутации, аналогичные изменениям в ворсинчатых аденомах, выявлены в слизистой оболочке индексных сегментов в прямой, сигмовидной и нисходящей кишках. Оценка относительной экспрессии 9 мРНК и 9 белок-кодирующих генов, связанных с развитием КРР, в слизистой оболочке индексных сегментов и аналогичных сегментов слизистой оболочки без аденом не выявила достоверных различий. Выполнено сравнение между разными отделами толстой кишки медиан относительных уровней экспрессии наиболее интересных маркеров: генов NOX1, LGR5, MS4A12, TIMP, Ki-67 и TERT и мРНК-135b, -20a, -21, -31 и -34a.

Заключение. Полученные результаты указывают на то, что осмотр и биопсия неизменной слизистой оболочки даже в пределах индексного сегмента не могут дать представление о риске развития ворсинчатой аденомы.

Ключевые слова: колоноскопия, ворсинчатые аденомы, колоректальный рак, генные мутации, мРНК

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

UDK 616.345-006.55-079

<https://doi.org/10.5922/2223-2427-2024-9-4-2>

COMPARATIVE SEGMENTAL EVALUATION OF MOLECULAR FEATURES OF COLONIC MUCOSA IN VILLOUS ADENOMAS

A. G. Korotkevich^{1,2}✉, S. E. Titov^{3,4,5}, N. M. Zhilina¹
P. S. Demenkov^{3,6}, Y. A. Veryaskina^{4,6}, O. I. Bondarev¹

¹ Novokuznetsk State Institute of Advanced Medical Training,
5 Prospekt Stroiteley, Novokuznetsk, 654005, Russia

² Lutsik City Clinical Hospital of Novokuznetsk,
49 Prospekt Sovetskoy Armii, Novokuznetsk, 654038, Russia

³ Novosibirsk National Research State University,
1 Pirogova St, Novosibirsk, 630090, Russia

⁴ Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences,
10 Prospekt Lavrentieva, Novosibirsk, 630090, Russia

⁵ 36 Vector-Best Research and Industrial Park, Novosibirsk region,
Koltsovo, 630559, Russia

⁶ Institute of Molecular and Cell Biology, Siberian Branch of the Russian
Academy of Sciences,
8/2 Prospekt Lavrentieva, Novosibirsk, 630090, Russia

Received 23 July 2024

Accepted 12 September 2024

To cite this article: Korotkevich AG, Titov SE, Zhilina NM, Demenkov PS, Veryaskina YA, Bondarev OI. Comparative segmental evaluation of molecular features of colonic mucosa in villous adenomas. *Surgical practice (Russia)*. 2024;9(4):16–32. <https://doi.org/10.5922/2223-2427-2024-9-4-2>

© Dunaevskaya SS, Kosik AA, 2024

Aim. This study aims to determine the frequency of solitary villous adenomas by colon segment and to compare the molecular genetic features of villous adenomas with the mucosa of the indexed segment and between different colon segments, as well as to consider the characteristics of unchanged mucosa of similar colon segments.

Methods. A continuous cross-sectional retrospective study of 3,086 colonoscopy results was performed. In the study, 347 cellular specimens were analysed, including 109 villous adenomas, 101 index segment mucosa samples and 137 normal mucosa samples. Detection of miRNAs and mRNAs was conducted using real-time PCR. Somatic mutations were identified with allele-specific PCR and a hydrolysable probe.

Results. The overall frequency of villous adenomas in the structure of all detected epithelial neoplasms was 3%. The frequency of villous adenomas was predominant in the sigmoid colon, while in other segments of the colon their frequency did not differ significantly. The frequency of severe dysplasia was associated with the adenoma diameter. Gene mutations similar to changes in villous adenomas were detected in the mucosa of index segments in the rectum, sigmoid colon and descending colon. Evaluation of the relative expression of 9 miRNAs and 9 protein-coding genes associated with the development of CRC in the mucosa of index segments and similar mucosal segments without adenomas did not reveal significant differences. The medians of relative expression levels of the most relevant markers — NOX1, LGR5, S4A12, TIMP, Ki-67, and TERT genes, as well as miRNA-135b, -20a, -21, -31, and -34a — were compared between different colon sections.

Conclusion. The results suggest that inspecting and biopsying unchanged mucosa, even within the index segment, does not provide insight into the risk of developing villous adenoma.

Keywords: colonoscopy, villous adenomas, colorectal cancer, gene mutations, miRNAs

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

Введение

Гистологическое строение аденом толстой кишки (ТК) имеет вполне определенное значение в понимании онкориска / малигнизации [1; 2]. Известно, что увеличение доли ворсинчатого (папиллярного) компонента существенно повышает риск раковой трансформации [2–4]. Ворсинчатые аденомы (ВА) составляют от 5 до 15 % всех аденом [2], однако далеко не все ВА трансформируются в колоректальный рак (КРР). В ряде случаев в ТК встречаются разные гистологические типы аденом, как и сочетание аденом с колоректальным раком (КРР) [5].

Существует мало исследований, изучающих связь между характеристиками аденомы при исходной колоноскопии и КРР, и еще меньше исследований, в которых проводят анализ КРР по сегментам ТК [1]. Вместе с тем показано, что ВА чаще поражают дистальные отделы ТК [3]. В связи с мнением о преобладании частоты КРР в дистальных отделах ТК и связи с дисплазией возникает вопрос о связи именно ВА с КРР этой локализации [1]. С другой стороны, частота КРР в правой и левой половинах ТК имеет стабильно сохраняющиеся незначительные различия [6]. Некоторые авторы объясняют это преимущественным значением зубчатого пути КРР, особенно для правой половины ТК [4; 7; 8]. Важный вопрос об изменениях слизистой оболочки (СО) в индексных для ВА сегментах ТК и их идентичности изменениям в ВА остается открытым.

До сих пор внимание исследователей было обращено к поиску первопричины возникновения КРР, в том числе на уровне СО ТК [1; 9; 10]. Мы в своем исследовании проверяли факт и тождественность молекулярных изменений в ВА и СО индексного сегмента ТК. Воз-

можно, поиск различий или подтверждение одинаковости изменений на молекулярном уровне помогут в совершенствовании программ скрининга КРР или создании инструментов прогнозирования риска КРР.

Целью исследования было определение частоты одиночных ВА по сегментам ТК и сравнение молекулярно-генетических особенностей ВА со СО индексного сегмента и между разными сегментами ТК, как и характеристиками неизменной СО аналогичных сегментов ТК.

Материал и методы

Сплошное поперечное ретроспективное исследование результатов 3086 колоноскопий в отделении эндоскопии НГКБ № 29 им. А. А. Луцка в 2019–2020 гг. Проспективное исследование (2022–2023) СО ТК у 109 пациентов с ворсинчатыми аденомами. Исследование одобрено локальным этическим комитетом НГКБ № 29 от 19.04.2022 г. Материал был получен в соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации, принятой на 18-й Генеральной ассамблее ВМА, (Хельсинки, Финляндия, июнь 1964 г.), с последующими редакциями и положениями действующего законодательства РФ. От каждого пациента было получено информированное добровольное согласие, все данные были деперсонализированы. Использовали эндоскопы высокого разрешения с функцией виртуальной хромокопии. Биоптаты из каждого отдела толстой кишки помещали на предметное стекло, делали мазок, высушивали. Биоптат СО брали не ближе 10 см от аденомы из индексного сегмента. В мазках определяли относительные уровни экспрессии мРНК и мРНК. Всего в рамках данной работы было исследовано 347 клеточных образцов: ворсинчатых аденом — 109, СО индексного сегмента — 101, нормальной СО — 137 [табл. 1].

Таблица 1. Использованные в работе образцы

Table 1. Samples used in the study

Отдел ТК	Количество образцов							
	Ворсинчатая аденома		Слизистая индексного сегмента		Нормальная слизистая		Всего	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Слепая кишка	4	4	4	4	21	14	29	8
Поперечная ободочная кишка	6	6	6	6	31	23	43	12
Нисходящая ободочная кишка	7	6	10	10	31	23	48	14
Сигмовидная кишка	81	74	76	76	30	22	187	54
Прямая кишка	11	10	5	5	24	18	40	12
Итого	109	100	101	100	137	100	347	100

Для некоторых сравнений (при отсутствии различий между сегментами) образцы поперечной, нисходящей и сигмовидной ободочной кишки объединяли под аббревиатурой ПНС.

Выделение РНК. Цитологический препарат соскребали со стекла в пробирку и добавляли 600 мкл лизирующего буфера (4 М гуанидинизотиоцианат, 25 мМ цитрат натрия, 0,3 % саркозил, 3 % ДТТ). Далее выделение проводили, как описано в статье В. В. Анищенко [11].

Первичный отбор набора мРНК для анализа был осуществлен на основании анализа литературы. В итоге был сформирован список из 9 мРНК-маркеров, связанных с развитием КРР: миР-135b-5р, -141-3р, -143-3р, -200a-3р, -20a-5р, -21-5р, -31-5р, -34a-5р, -92a-3р, в качестве референса для них использовалась малая ядерная (мя) РНК U6, а также

миРНК-16-5p и -191-5p. Помимо миРНК в данной работе в качестве маркеров были использованы мРНК следующих генов: MUC2, CDX2, NOX1, LGR5, SMAD4, MS4A12, TIMP1, Ki-67, TERT с нормировкой на гены домашнего хозяйства PGK1 и PUM1.

Детекция миРНК и мРНК с помощью ОТ-ПЦР-РВ. Для выявления зрелых миРНК и малой РНК U6 использовали метод, предложенный С. Chen с соавт. в 2005 г. 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) [12]. Для каждой миРНК отдельно проводили реакцию обратной транскрипции с последующей ПЦР-РВ. Нормировку содержания миРНК проводили на среднее содержание малой ядерной РНК U6, а также миРНК-16 и -191 в образце с помощью метода $2^{-\Delta C_q}$ [13]. Выявление мРНК U6 осуществлялось 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 генов домашнего хозяйства PGK1 и PUM1, используемых для нормировки данных. Уровень относительной экспрессии рассчитывали с помощью метода $2^{-\Delta C_q}$.

Детекцию соматических мутаций осуществляли с помощью аллель-специфичной ПЦР с гидролизующим зондом. Протокол ПЦР: предварительный прогрев при 95 °C — 2 мин, 50 циклов: денатурация при 94 °C — 10 с, отжиг и элонгация: 60 °C — 15 с.

Статистический анализ проведен с использованием пакета IBM SPSS Statistics-22 и STATISTICA 10 (TIBCO Software, США). По результатам исследования создана база данных, выполнен ее первичный анализ. Сравнение двух независимых выборок по количественному признаку делали при помощи критерия Манна — Уитни, качественных признаков при помощи критерия χ^2 . Критический уровень значимости был принят равным 0,000308 с учетом поправки Бонферрони.

Результаты

Общая частота ВА в структуре всех выявленных эпителиальных новообразований представлена на рисунке 1.



Рис. 1. Структура выявленных эпителиальных новообразований ТК

Fig. 1. Structure of detected colorectal epithelial neoplasms

Анализ частоты ВА по отделам кишки показал преобладание ВА в сигмовидной кишке. Вместе с тем доля ВА в структуре эпителиальных новообразований поперечной и восходящей кишки были одинаковы, но достоверно от нисходящей и прямой кишки не отличались (рис. 2).

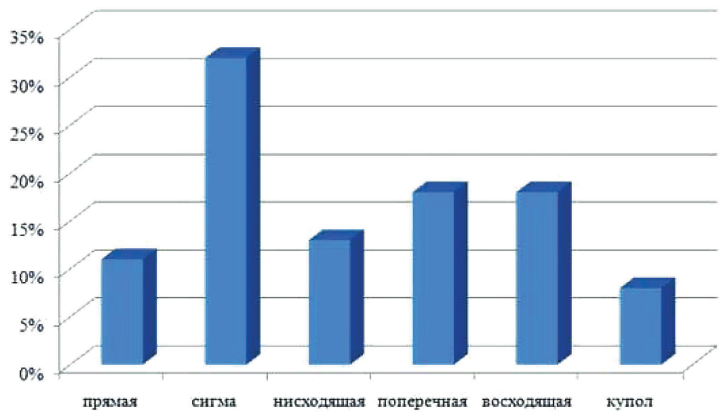


Рис. 2. Частота одиночных ВА по сегментам ТК

Fig. 2. Frequency of single VAs by colon segments

Гистологическая оценка ВА в соотношении с их диаметром подтвердила известную зависимость увеличения доли тяжелой дисплазии от размера ВА (рис. 3).

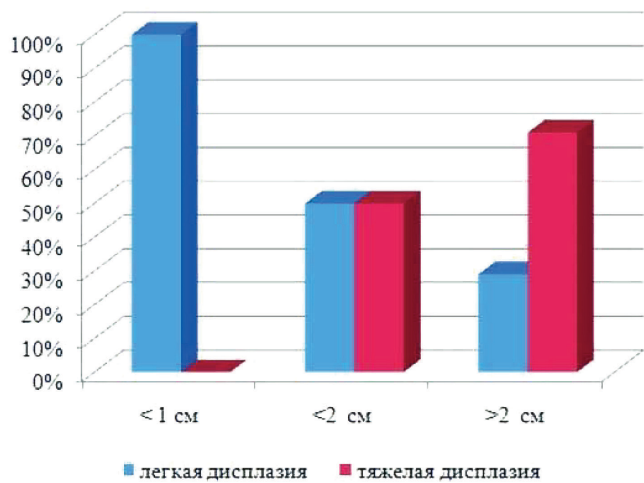


Рис. 3. Частота и тяжесть дисплазии в зависимости от диаметра ВА

Fig. 3. Frequency and severity of dysplasia as a function of VA diameter

В исследуемой выборке образцов мы выявляли соматические мутации в 600-м кодоне гена BRAF, 12/13-м и 61-м кодонах генов KRAS и NRAS, а также статус микросателлитной нестабильности (MSI/MSS). Среди ворсинчатых аденом чаще всего выявлялась мутация в 12/13-х кодонах гена KRAS — 37,6 %, далее по частоте встречаемости следует мутация в 600-м кодоне гена BRAF — 4,6 % и мутация в 61-м кодоне гена KRAS — 2,8 %, остальные мутации, включая микросателлитную нестабильность, встретились в 1,8 % случаев. Также мутации в 12/13-м кодонах гена KRAS встретились в 1,2 % нормальной СО ТК (пациенты без

ВА) и 3,0 % СО ТК пациентов с ВА, в последней группе в 1% случаев обнаружилась мутация в 12/13-м кодонах гена NRAS. Распределение выявленных мутаций между разными типами образцов и разными отделами ТК приведены на рисунке 4.

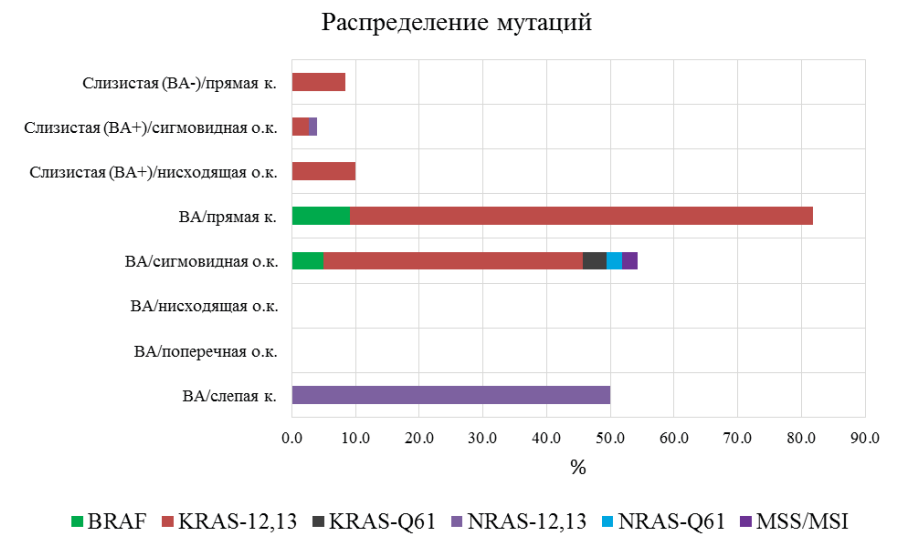


Рис. 4. Распределение мутаций в разных типах образцов и в разных отделах ТК

Примечание: слизистая (ВА +) – нормальная слизистая ТК пациентов с ворсинчатыми аденомами; слизистая (ВА –) – нормальная слизистая ТК пациентов безворсинчатых аденом; к. – кишка; о. к. – ободочная кишка.

Fig. 4. Distribution of mutations in different types of samples and in different parts of the colon
Mucosa [BA +]: normal colonic mucosa of patients with villous adenomas; Mucosa [BA –]: normal colonic mucosa of patients without villous adenomas; к. stands for the intestine; о. к. for the colon.

С помощью ОТ-ПЦР-РВ мы определили относительную экспрессию 9 миРНК и 9 белок-кодирующих генов, связанных с развитием КРР. В таблицах 2–4 приведены данные по статистической значимости различий между экспрессией миРНК/мРНК в участках СО, относящихся к разным типам образцов и разным отделам толстой кишки.

Таблица 2. Уровень значимости статистических различий при попарном сравнении экспрессии миРНК/мРНК в разных типах образцов, относящихся к слепой кишке
Table 2. Significance level of statistical differences in pairwise comparisons of miRNA/mRNA expression in different types of specimens related to the cecum

Маркер	Значение P при сравнении групп		
	ВА	ВА	Слизистая (ВА +)
	Слизистая (ВА +)	Слизистая (ВА –)	Слизистая (ВА –)
миР-135b	2,86E-02	1,58E-04*	0,543083
миР-141	2,86E-02	6,32E-04	0,409170
миР-143	2,86E-02	1,11E-03	0,914783

Окончание табл. 2

Маркер	Значение P при сравнении групп		
	BA	BA	Слизистая (BA +)
	Слизистая (BA +)	Слизистая (BA -)	Слизистая (BA -)
миР-200a	2,86E-02	4,27E-03	0,496443
миР-20a	2,86E-02	3,16E-04	0,747826
миР-21	2,86E-02	6,32E-04	0,914783
миР-31	2,86E-02	1,58E-04*	0,409170
миР-34a	2,86E-02	1,58E-04*	0,914783
миР-92a	2,86E-02	8,38E-03	0,543083
MUC2	1,000000	0,113360	2,85E-03
CDX2	0,885714	0,231304	0,113360
NOX1	2,86E-02	1,58E-04*	0,914783
LGR5	2,86E-02	4,27E-03	0,203162
SMAD	0,685714	0,409170	0,295178
MS4A12	2,86E-02	1,58E-04*	0,591937
TIMP1	0,114286	3,07E-02	0,747826
Ki-67	0,342857	0,081423	0,971383
TERT	0,114286	0,543083	0,409170

Примечание: * выделены значимые ($p < 0,000308$) различия.

Таблица 3. Уровень значимости статистических различий при попарном сравнении экспрессии миРНК/мРНК в разных типах образцов, относящихся к поперечной, нисходящей, сигмовидной ободочной кишке

Table 3. Significance level of statistical differences in pairwise comparison of miRNA/mRNA expression in different types of samples related to the transverse / descending / sigmoid colon

Маркер	Значение P при сравнении групп		
	BA	BA	Слизистая (BA +)
	Слизистая (BA +)	Слизистая (BA -)	Слизистая (BA -)
миР-135b	1,67E-20*	5,70E-30*	1,53E-11*
миР-141	0,072850	0,596234	6,11E-03
миР-143	4,25E-09*	2,09E-17*	2,45E-03
миР-200a	5,17E-04	2,87E-03	0,350145
миР-20a	2,19E-09*	1,98E-05*	1,62E-04*
миР-21	2,76E-11*	4,40E-17*	0,096994
миР-31	9,85E-13*	3,41E-13*	0,467419
миР-34a	9,20E-17*	3,41E-19*	0,340242
миР-92a	7,02E-06*	4,58E-06*	0,353008
MUC2	2,87E-03	0,088404	4,98E-03
CDX2	4,87E-03	4,85E-05*	0,108661

Окончание табл. 3

Маркер	Значение Р при сравнении групп		
	ВА	ВА	Слизистая (ВА +)
	Слизистая (ВА +)	Слизистая (ВА -)	Слизистая (ВА -)
NOX1	2,58E-04*	2,60E-10*	6,72E-04
LGR5	4,67E-10*	9,32E-15*	1,86E-02
SMAD	0,061857	0,496729	0,155162
MS4A12	2,85E-20*	1,24E-24*	0,065429
TIMP1	1,80E-20*	3,50E-27*	3,65E-02
Ki-67	6,26E-05*	1,68E-12*	1,26E-02
TERT	3,28E-05*	4,31E-16*	1,61E-09*

Примечание: * выделены значимые (p < 0,000308) различия.

Таблица 4. Уровень значимости статистических различий при попарном сравнении экспрессии миРНК/мРНК в разных типах образцов, относящихся к прямой кишке

Table 4. Significance level of statistical differences in pairwise comparison of miRNA/mRNA expression in different types of samples related to the rectum

Маркер	Значение Р при сравнении групп		
	ВА	ВА	Слизистая (ВА +)
	Слизистая (ВА +)	Слизистая (ВА -)	Слизистая (ВА -)
миР-135b	4,58E-04	4,65E-07*	1,57E-02
миР-141	8,70E-03	0,084873	2,70E-02
миР-143	0,221154	9,49E-03	0,633826
миР-200a	0,377289	0,051794	0,518395
миР-20a	5,49E-03	6,66E-07*	0,414231
миР-21	8,70E-03	1,30E-06*	0,245093
миР-31	5,49E-03	1,54E-05*	0,801280
миР-34a	4,58E-04	4,79E-09*	0,674464
миР-92a	5,49E-03	6,30E-04	0,482304
MUC2	1,000000	0,370496	0,555699
CDX2	3,21E-03	4,34E-02	0,180708
NOX1	1,92E-02	1,64E-02	0,245093
LGR5	8,70E-03	1,54E-05*	0,058979
SMAD	1,000000	0,152209	0,322934
MS4A12	4,58E-04	4,79E-09*	0,977694
TIMP1	3,21E-03	3,24E-04	0,758301
Ki-67	1,000000	0,237932	0,322934
TERT	2,75E-02	0,098978	0,162098

Примечание: * выделены значимые (p < 0,000308) различия.

Наибольшее количество отличий было получено для поперечной, нисходящей, сигмовидной ободочной кишки (ПНС), что, видимо, связано с наибольшим количеством образцов в этой группе. Наибольшее количество статистически значимых различий было выявлено для миРНК-135b, -31, -34a и гена MS4A12. Только для ПНС была зафиксирована статистически значимая разница между СО пациентов с ВА и СО пациентов без ВА для миРНК-135b, -20a и гена TERT.

С использованием данных относительной экспрессии миРНК и мРНК были рассчитаны значения AUC ROC для оценки способности различения ВА и неизменной СО соответствующего отдела ТК с помощью каждого молекулярного маркера в отдельности (табл. 5).

Таблица 5. AUC ROC всех миРНК и мРНК, рассчитанные для оценки способности различения ВА и неизменной СО соответствующего отдела ТК

Table 5. AUC ROC for all miRNAs and mRNAs, calculated to assess their ability to distinguish between villous adenomas and unaltered mucosa in the respective colon segment

Маркер	Слепая кишка	ПНС	Прямая кишка
миР-135b	1,000*	0,983*	0,966*
миР-141	0,976*	0,522	0,687
миР-143	0,964*	0,860*	0,773
миР-200a	0,929*	0,627	0,710
миР-20a	0,988*	0,681	0,964*
миР-21	0,976*	0,857*	0,955*
миР-31	1,000*	0,809*	0,920*
миР-34a	1,000*	0,880*	1,000*
миР-92a	0,905*	0,695	0,848
MUC2	0,762	0,572	0,598
CDX2	0,702	0,673	0,718
NOX1	1,000*	0,768	0,756
LGR5	0,857	0,829*	0,922*
SMAD	0,643	0,529	0,653
MS4A12	1,000*	0,935*	1,000*
TIMP1	0,839	0,958*	0,864*
Ki-67	0,792	0,802*	0,627
TERT	0,524	0,838*	0,701

Примечание: * выделены значения AUCROC > 0,8 и 95 % ДИ < 0,25.

Значения AUCROC, равные 1 для слепой и прямой кишки, связаны, по-видимому, с небольшим объемом выборок для этих отделов, тем не менее для ПНС, где объем выборки значительный, AUCROC > 0,9 получился для трех маркеров: миР-135b, MS4A12 и TIMP1.

Сравнение между разными отделами ТК медиан относительных уровней экспрессии наиболее интересных маркеров: генов NOX1, LGR5, S4A12, TIMP, Ki-67 и TERT и миРНК-135b, -20a, -21, -31 и -34a — представлено на рисунках 5 и 6.

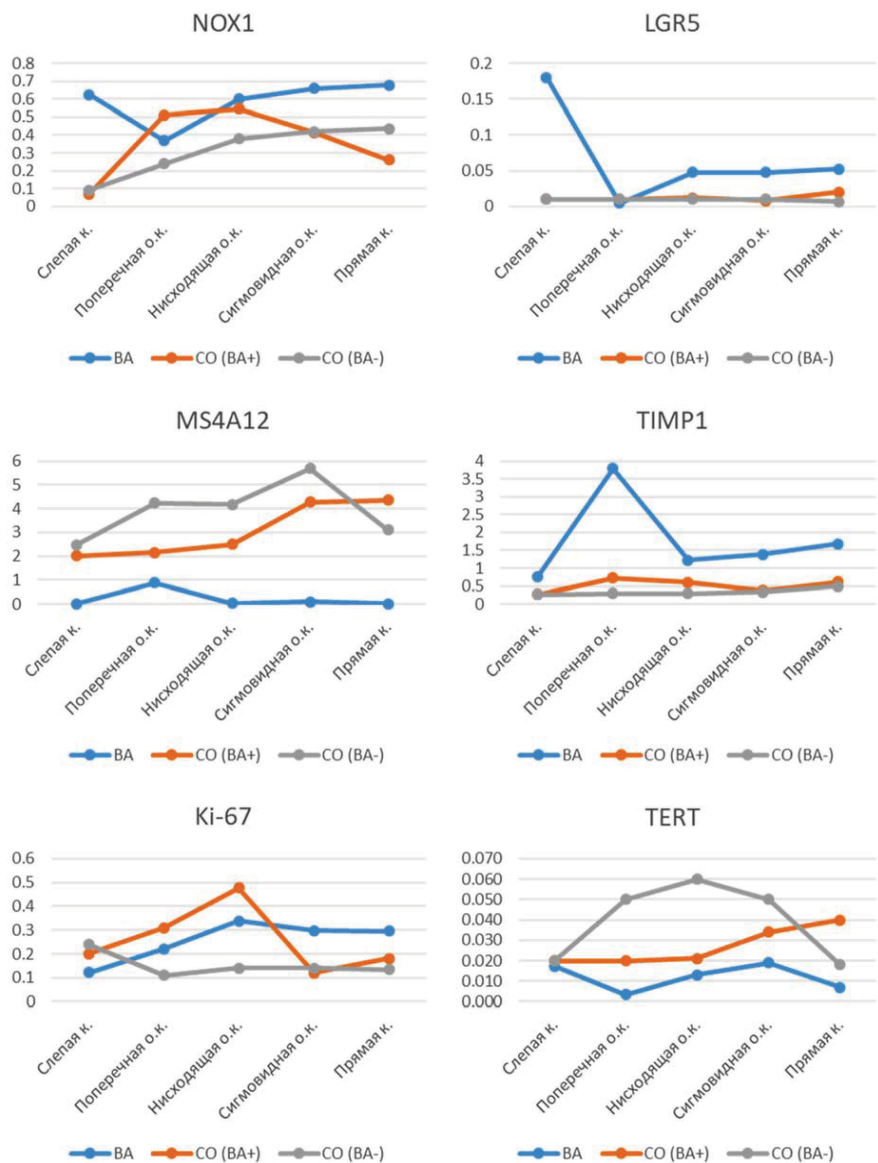


Рис. 5. Медианные значения экспрессии генов NOX1, LGR5, MS4A12, TIMP1, Ki-67 и TERT в разных отделах ТК

Примечание: BA – ворсинчатая аденома; CO (BA +) – нормальная слизистая ТК пациентов с BA; CO (BA –) – нормальная слизистая ТК пациентов без BA; к. – кишка; о. к. – ободочная кишка.

Fig. 5. Median expression values for NOX1, LGR5, MS4A12, TIMP1, Ki-67 and TERT genes in different parts of the colon

Villous adenoma (VA); mucosa (BA +), normal colonic mucosa of patients with VA; mucosa (BA –), normal colonic mucosa of patients without VA; к. stands for the intestine; о. к. stands for the colon.

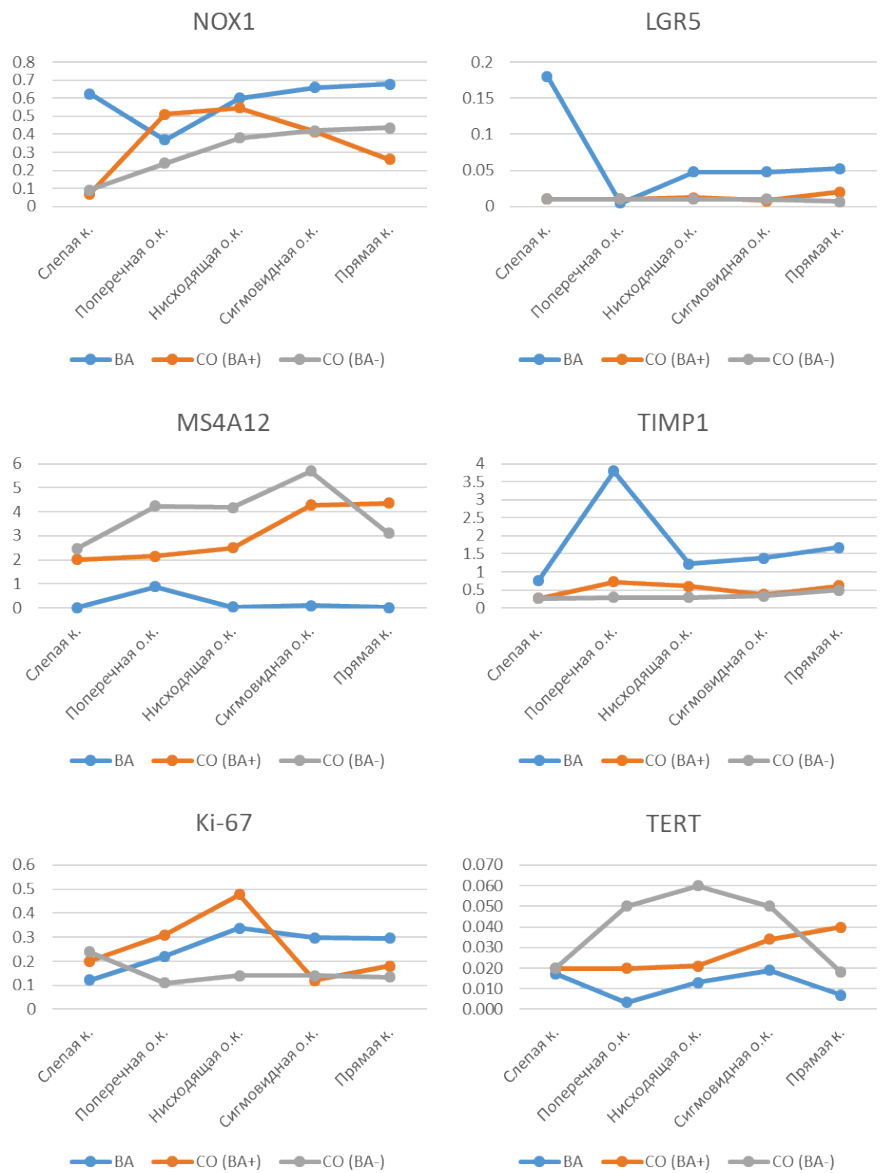


Рис. 6. Медианные значения экспрессии миРНК-135b, -20a, -21, -31 и -34в разных отделах ТК

Примечание: BA – ворсинчатая аденома; CO (BA+) – нормальная слизистая ТК пациентов с BA; CO (BA-) – нормальная слизистая ТК пациентов без BA; к. – кишка; о. к. – ободочная кишка

Fig. 6. Median expression values for miRNA-135b, -20a, -21, -31 and -34a in different parts of the colon

Villousadenoma (VA); mucosa (BA+), normal colonic mucosa of patients with VA; mucosa (BA-), normal colonic mucosa of patients without VA; к. stands for the intestine; о. к. stands for the colon.

Обсуждение

Аденоматозные полипы формируются преимущественно спорадически. Спорадический характер этих полипов является результатом либо мутации в генах, отвечающих за аденоматозный путь развития клетки, либо нарушения репарации ДНК [2; 8]. ВА, как тубуловорсинчатые (с долей ворсинчатого компонента < 75 %), так и ворсинчатые (с долей ворсинчатого компонента > 75 %), могут быть связаны с развитием поздних форм неоплазии [2; 3]. Считается, что ВА чаще появляются в ректосигмоидной области, но могут возникать и в других отделах ТК [1; 2]. Это подтверждается и нашими данными. Более крупные ВА с выраженной дисплазией преимущественно концентрируются в дистальном отделе толстой кишки (в левой ободочной и прямой кишке), в частности в нисходящей и сигмовидной частях [3].

Наша оценка частоты встречаемости ВА по сегментам ТК показала существенное преобладание их только в сигмовидной кишке, в прочих сегментах ВА встречались одинаково часто. Вместе с тем сочетания ВА и КРР отличаются по локализации, имеют явную связь с возрастом и дистальным расположением в ТК [4; 10].

Помимо собственно ворсинчатого строения аденом повышение риска развития КРР связано с диаметром опухоли и с их количеством [2; 3; 14]. Возможно, именно большой диаметр ВА, сопровождающийся тяжелой дисплазией, является причиной запущенного КРР. Тем не менее папиллярная структура новообразования определяет условный потенциал злокачественности, требующий поиска и изучения факторов, реализующих развитие КРР. В наших наблюдениях все ВА имели признаки дисплазии разной степени.

Конечно, регулярная колоноскопия доказала свою эффективность в предупреждении КРР путем выявления и удаления всех эпителиальных новообразований [1; 3]. Вместе с тем для формирования групп риска и программ индивидуальной профилактики, на наш взгляд, важным является поиск предикторов в СО, позволяющих при первичном эндоскопическом осмотре и анализе биоптата СО сформировать эти группы.

Сравнение молекулярно-генетических характеристик ВА и СО индексного сегмента показало достоверные различия экспрессии для довольно большого количества маркеров — миР-135b, -143, -20a, -21, -31, -34a, -92a, NOX1, LGR5, MS4A12, TIMP1, Ki-67, TERT, но только для сигмовидной кишки, что, видимо, связано с достаточно большим количеством образцов в этой группе.

Аналогичное сравнение характеристик СО индексного и аналогичного нормального сегмента ТК показало наиболее выраженные изменения СО в ПНС. Там была зафиксирована статистически значимая разница между СО пациентов с ВА и СО пациентов без ВА для миРНК-135b, -20a и гена TERT. В других отделах СО не имела существенных изменений в сравнении с нормальной. Также можно отметить, что направление изменений экспрессии исследованных маркеров в различных отделах СО пациентов с ВА было гораздо ближе к таковому в СО пациентов без ВА, чем собственно в ВА. Исключений для данного наблюдения три, и они относятся к экспрессии белок-кодирующих генов, а не миРНК: экспрессия гена NOX1 в поперечной и нисходящей ободочной кишке, экспрессия гена TERT в поперечной, нисходящей и сигмовидной ободочной кишке и экспрессия гена Ki-67 в поперечной и нисходящей ободочной кишке.

Другими словами, молекулярно-генетическая характеристика ВА не соответствует как СО индексного сегмента, так и нормальной СО соответствующего сегмента ТК. Это ставит под сомнение теорию предраковых полей, созданную на основе анализа метакронных аденом [15].

Заключение

Таким образом, осмотр и биопсия неизмененной СО даже в пределах индексного сегмента не могут дать представление о риске развития ВА. С другой стороны, выявленные различия в СО по трем молекулярным маркерам, особенно по экспрессии гена TERT, позволяют выделить ПНС как область высокого риска формирования ВА на основе изменений СО этих сегментов ТК.

Список литературы / References

1. Harewood R, Wooldrage K, Robbins EC, Kinross J, von Wagner C, Cross AJ. Adenoma characteristics associated with post-polypectomy proximal colon cancer incidence: a retrospective cohort study. *British Journal of Cancer*. 2022;126(12):1744–1754. <https://doi.org/10.1038/s41416-022-01719-4>
2. Myers DJ, Arora K. Villous Adenoma. 2023. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470272/> [дата обращения: 10.07.2024].
3. Bains L, Lal P, Vindal A, Singh M. Giant villous adenoma of rectum- what is the malignant potential and what is the optimal treatment? A case and review of literature. *World Journal of Surgical Oncology*. 2019;17(1):109. <https://doi.org/10.1186/s12957-019-1650-4>
4. Лейфер О. В., Иванов И. В., Савчук К. С., Коростелев М. Ю. Рак толстой кишки: вопросы онкогенеза и эпидемиологии на примере Новгородской области. *Вестник Новгородского государственного университета*. 2021;3(124):103–106.
[Leyfer OV, Ivanov IV, Savchuk KS, Korostelev MY. Colon cancer: issues of oncogenesis and epidemiology using the example of the Novgorod region. *Bulletin of Novgorod State University*. 2021;3(124):103–106 [in Russ.]. [https://doi.org/10.34680/2076-8052.2021.3\(124\).103-106](https://doi.org/10.34680/2076-8052.2021.3(124).103-106)]
5. Hao Y, Wang Y, Qi M, He X, Zhu Y, Hong J. Risk Factors for Recurrent Colorectal Polyps. *Gut Liver*. 2020;14(4):399–411. <https://doi.org/10.5009/gnl19097>
6. Федянин М. Ю., Трякин А. А., Тюляндин С. А. Локализация первичной опухоли толстой кишки: есть ли принципиальные отличия? *Онкологическая колопроктология*. 2017;7(3):35–48.
[Fedyanin MY, Tryakin AA, Tyulyandin SA. Localization of the primary colon tumor: are there any fundamental differences? *Oncological proctology*. 2017;7(3):35–48 [in Russ.]. <https://doi.org/10.17650/2220-3478-2017-7-3-35-48>]
7. Unlu M, UzunE, BengiG, Sagol O, Sarioglu S. Molecular characteristics of colorectal hyperplastic polyp subgroups. *Turkish Journal of Gastroenterology*. 2020;31(8):573–580. <https://doi.org/10.5152/tjg.2020.19322>
8. Taherian M, Lotfollahzadeh S, Daneshpajouhnejad P, Arora K. Tubular Adenoma. 2023. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK553180/> [дата обращения: 10.06.2024].
9. Planutis K, Planutiene M, Nguyen AV, Moyer MP, Holcombe RF. Invasive colon cancer, but not non-invasive adenomas induce a gradient effect of Wnt pathway receptor frizzled 1 (Fz1) expression in the tumor microenvironment. *Journal of Translational Medicine*. 2013;11:50. <https://doi.org/10.1186/1479-5876-11-50>
10. Song M, Emilsson L, Bozorg SR, Nguyen LH, Joshi AD, Staller K, Nayor J, Chan AT, Ludvigsson JF. Risk of colorectal cancer incidence and mortality after polypectomy: a Swedish record-linkage study. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*. 2020;5(6):537–547. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(20\)30009-1](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(20)30009-1)
11. Анищенко В. В., Архипова А. А., Титов С. Е., Полоз Т. Л., Бубнов И. В. Анализ экспрессии мРНК и мРНК в клеточном материале слизистой оболочки желудка, полученного при эзофагогастродуоденоскопии, для выявления дисплазии и рака желудка. *Хирургическая практика*. 2021;(4):53–60.
[Anishchenko VV, Arkhipova AA, Titov SE, Poloz TL, Bubnov IV. Analysis of the expression of miRNA and mRNA in the cellular material of the gastric mucosa obtained during esophagogastroduodenoscopy to detect dysplasia and gastric cancer. *Surgical practice*. 2021;(4):53–60 [in Russ.]. <https://doi.org/10.38181/2223-2427-2021-4-53-60>]

12. Chen C, Ridzon DA, Broomer AJ. Real-time quantification of microRNAs by stem-loop RT-PCR. *Nucleic Acids Research*. 2005;33:e179. <https://doi.org/10.1093/nar/gni178>

13. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method. *Methods*. 2001;25:402–408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>

14. Koyuncuer A, Zen T. New Classification of Benign Epithelial Tumors: Colorectal Polyps and Synchronous Neoplasms: An Update and Critical Assessment: An Analysis of 678 Consecutive Cases and 1137 Polyps. *Medeniyet Medical Journal*. 2023;38(1):39–44. <https://doi.org/10.4274/MMJ.galenos.2023.22755>

15. Rosser R, Corfe BM, Chapple KS. Metachronous Colorectal Adenomas Occur Close to the Index Lesion. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 2023;57(9):937–944. <https://doi.org/10.1097/MCG.0000000000001758>

Об авторах

Алексей Григорьевич Короткевич, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры хирургии, урологии, эндоскопии и детской хирургии, Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей, Россия; заведующий отделением эндоскопии, Новокузнецкая городская клиническая больница имени А. А. Луцика, Россия.

E-mail: alkorot@mail.ru

<http://orcid.org/0000-0002-6286-8193>

Сергей Евгеньевич Титов, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела структуры и функции хромосом, Институт молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения РАН, Россия.

E-mail: Titov@vector-best.ru

<https://orcid.org/0000-0001-9401-5737>

Наталья Михайловна Жилина, доктор технических наук, доцент, заведующая кафедрой медицинской кибернетики и информатики, Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей, Россия.

E-mail: zhilina.ngiuv@yandex.ru

<http://orcid.org/0000-0001-7871-3885>

Павел Сергеевич Деменков, кандидат технических наук, доцент, научный сотрудник геномного центра, Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН, Россия.

E-mail: demps@bionet.nsc.ru

<https://orcid.org/0000-0001-9433-8341>

Юлия Андреевна Веряскина, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории геномной инженерии, Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН, Россия.

E-mail: juliaver@mcb.nsc.ru

<https://orcid.org/0000-0002-3799-9407>

Олег Иванович Бондарев, доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой патологической анатомии и судебной медицины, Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей, Россия.

E-mail: gis.bondarev@yandex.ru

<http://orcid.org/0000-0002-5821-3100>

Для корреспонденции:

Алексей Григорьевич Короткевич, Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей, Россия, 654005, Новокузнецк, просп. Строителей, 5.

E-mail: alkorot@mail.ru

The authors

Prof. Alexey G. Korotkevich, Professor, Department of Surgery, Urology, Endoscopy and Pediatric Surgery, Institute of Advanced Medical Training, Russia; Head of the Endoscopy Department, Lutsik City Clinical Hospital of Novokuznetsk, Russia.

E-mail: alkorot@mail.ru

<http://orcid.org/0000-0002-6286-8193>

Natalya M. Zhilina, Associate Professor, Head of the Department of Medical Cybernetics and Informatics, Novokuznetsk State Institute of Advanced Medical Training, Russia.

E-mail: zhilina.ngiuv@yandex.ru

<http://orcid.org/0000-0001-7871-3885>

Pavel S. Demenkov, Associate Professor, Department of Discrete Mathematics and Computer Science, Novosibirsk National Research State University, Russia; Researcher, Federal Research Centre Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Russia.

E-mail: demps@bionet.nsc.ru

<https://orcid.org/0000-0001-9433-8341>

Yulia A. Veryaskina, Researcher, Laboratory of Genetic Engineering, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Russia; Department of Chromosome Structure and Function, Institute of Molecular and Cell Biology, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Russia.

E-mail: juliaver@mcb.nsc.ru

<https://orcid.org/0000-0002-3799-9407>

Sergey E. Titov, Senior Researcher, Department of Chromosome Structure and Function, Institute of Molecular and Cell Biology, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Russia.

E-mail: Titov@vector-best.ru

<https://orcid.org/0000-0001-9401-5737>

Oleg I. Bondarev, Associate Professor, Head of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Novokuznetsk State Institute of Advanced Medical Training, Russia.

E-mail: gis.bondarev@yandex.ru

<http://orcid.org/0000-0002-5821-3100>

For correspondence:

Alexey G. Korotkevich, Institute of Advanced Medical Training, 5 Prospekt Stroiteley, Novokuznetsk, 654005, Russia.

E-mail: alkorot@mail.ru

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования: А. Г. Короткевич, С. Е. Титов

Сбор и обработка материалов: А. Г. Короткевич, П. С. Деменков, Ю. А. Веряскина,
О. И. Бондарев

Статистическая обработка: Н. М. Жилина, П. С. Деменков

Написание текста: А. Г. Короткевич, С. Е. Титов

Редактирование: А. Г. Короткевич, С. Е. Титов

Authors contribution:

Concept and design of the study: Alexey G. Korotkevich, Sergey E. Titov

Collection and processing of materials: Alexey G. Korotkevich, Pavel S. Demenkov,
Yulia A. Veryaskina, Oleg I. Bondarev

Statistical processing: Natalia M. Zhilina, Pavel S. Demenkov

Text preparation: Alexey G. Korotkevich, Sergey E. Titov

Editing: Alexey G. Korotkevich, Sergey E. Titov

