

© Коллектив авторов, 2016
УДК [616.33-018.73-007.43-032:611.329]:616-06:616-006.66-037:577.217.35

А. З. Цицкарава, М. И. Зарайский, Д. И. Василевский, А. С. Лапшин,
В. Ф. Попова, А. А. Смирнов, М. Е. Любченко

РОЛЬ МИКРО-РНК В ПРОГНОЗИРОВАНИИ РАЗВИТИЯ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ПРИ ПИЩЕВОДЕ БАРРЕТТА

Кафедра факультетской хирургии (зав. — проф. В. М. Седов), НИИ хирургии и неотложной медицины (дир. — академик РАН проф. С. Ф. Багненко), ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» Минздрава РФ

Ключевые слова: микро-РНК, пищевод Барретта, аденокарцинома пищевода, цилиндروктеточная метаплазия, гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь

Введение. Пищевод Барретта — цилиндруктеточная (желудочная или кишечная) метаплазия слизистой оболочки пищевода. В настоящее время пищевод Барретта считается непосредственным осложнением гастроэзофагеальной рефлюксной болезни и рассматривается как факультативное предраковое заболевание с многоэтапной неопластической трансформацией. Статистический риск возникновения аденокарциномы пищевода при цилиндруктеточной метаплазии составляет 0,5–0,7% в год или 5–8% в течение жизни. Распространенность пищевода Барретта и аденокарциномы пищевода в России изучена недостаточно [1, 2].

Для определения риска развития аденокарциномы при пищеводе Барретта в течение последних десятилетий идет поиск различных генетических маркеров канцерогенеза, в том числе микро-РНК [3, 4]. Микро-РНК — некодирующие небольшие (18–25 нуклеотидов) молекулы РНК, участвующие в транскрипционной и посттранскрипционной регуляции экспрессии генов. В настоящее время известны более 1800 микро-РНК человека. Доказана роль дисфункции отдельных типов микро-РНК (miRNA-143, miRNA-145, miRNA-194, miRNA-192–5p, miRNA-215–5p, miRNA-21) в развитии ряда заболеваний, включая онкологические (хро-

нический лимфолейкоз, глиобластома, лимфома Ходжкина, рак легкого и молочной железы, колоректальный рак).

Проводятся исследования и роли микро-РНК в развитии аденокарциномы пищевода, однако прямых доказательств значения данного механизма в неопластической трансформации при пищеводе Барретта до настоящего времени не получено.

Материал и методы. Проведено пилотное исследование экспрессии микро-РНК при различных типах морфологических проявлений гастроэзофагеальной рефлюксной болезни. Контрольные группы включали пациентов с эрозивным эзофагитом, цилиндруктеточной метаплазией слизистой оболочки пищевода, цилиндруктеточной метаплазией с интраэпителиальной неоплазией, аденокарциномой пищевода, а также с отсутствием гистологических и визуальных (эндоскопических) изменений слизистой оболочки пищевода.

Были обследованы 25 пациентов в возрасте от 31 до 81 года. Из них 14 мужчин, 11 женщин. Средний возраст составил 52 года. Данные о пациентах и результаты исследований представлены в табл. 1.

Программа обследования включала оценку жалоб и анамнеза заболевания, видеоэзофагогастродуоденоскопию (с мультифокальной биопсией), гистологическое исследование биопсийного материала, а также определение уровня экспрессии микро-РНК-21 в биоптатах слизистой оболочки пищевода.

Выделение тотальной РНК производили фенол-хлороформным методом с использованием реактива «Trizagent» (MRC, США). Реакцию обратной транскрипции для приготовления «копийной» ДНК проводили по технологии «StemLoop». Полимеразную цепную реакцию выполняли с помощью «Набора реагентов для проведения ПЦР-РВ»

Сведения об авторах:

Цицкарава Александра Зуриковна (e-mail: alexis.karava@yandex.ru), Зарайский Михаил Игоревич (e-mail: mzaraiski@yandex.ru), Василевский Дмитрий Игоревич (e-mail: vasilevsky1969@gmail.com), Лапшин Александр Степанович (e-mail: lapshingh2@mail.ru), Попова Влада Феликсовна (e-mail: vladamed@mail.ru), Смирнов Александр Александрович (e-mail: smirnov-1959@yandex.ru), Любченко Мария Евгеньевна (e-mail: mashulka.87@mail.ru), кафедра факультетской хирургии, НИИ хирургии и неотложной медицины, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, 197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, 6–8

Таблица 1

**Группы пациентов по морфологическим
изменениям пищевода**

Тип морфологических изменений	Мужчины	Женщины	Итого
Норма	3	3	6
Эрозивный эзофагит	2	2	4
Цилиндроклеточная метаплазия	5	4	9
Цилиндроклеточная метаплазия с неоплазией	3	1	4
Аденокарцинома пищевода	1	1	2
Всего	14	11	25

в присутствии «EvaGreen» («Синтол», Москва) в режиме реального времени в конечном объеме 25 мкл.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью корреляционно-регрессионного метода.

Результаты и обсуждение. Уровень экспрессии микро-РНК-21 оказался зависимым от наличия и степени выраженности неопластических изменений слизистой оболочки пищевода. Среднее значение экспрессии микро-РНК-21 в контрольной группе составило 0,02. При эрозивном эзофагите отмечено незначительное повышение показателя экспрессии (до 1,2). Значимое повышение экспрессии микро-РНК-21 отмечено у пациентов с цилиндроклеточной метаплазией и интраэпителиальной неоплазией — от 4,3 до 4,9. При аденокарциноме пищевода значение микро-РНК в 7 раз и более превышало показатели нормы.

При расчете непараметрических критериев (Манна—Уитни) различия показателей экспрессии микро-РНК-21 во всех сравниваемых группах оказались статистически значимыми ($p < 0,05$) (табл. 2).

Выявленные нами различия в показателях экспрессии микро-РНК-21 могут быть перспективными при поиске молекулярно-генетических предикторов неопластических изменений слизистой оболочки пищевода при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни. Дальнейшее исследование корреляции экспрессии данного маркера у более широких групп пациентов с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью позволит сформировать окончательное представление о его клинической ценности при оценке риска развития аденокарциномы пищевода.

Выводы. 1. Уровень экспрессии микро-РНК-21 в биоптатах слизистой оболочки пищевода может указывать на возникновение и прогрессию неопластических изменений слизистой оболочки пищевода при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни.

Таблица 2

Среднее значение экспрессии микро-РНК-21

Тип морфологических изменений	Показатель экспрессии микро-РНК-21
Норма	1,1
Эрозивный эзофагит	3,2
Цилиндроклеточная метаплазия	3,7
Цилиндроклеточная метаплазия с неоплазией	4,9
Аденокарцинома пищевода	64

2. Оценка уровня экспрессии микро-РНК-21 в биоптатах слизистой оболочки пищевода у пациентов с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью в совокупности с другими критериями может применяться для определения лечебной стратегии.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Василевский Д.И., Скурихин С.С., Дворецкий С.Ю. и др. Цилиндроклеточная метаплазия пищевода — аденокарцинома Барретта. Миф или реальность для России? // Вестн. Санкт-Петербургск. ун-та. 2015. № 3. С. 45–54.
2. Лазебник Л.В., Машарова А.А., Бордин Д.С. и др. Многоцентровое исследование «Эпидемиология гастроэзофагеальной рефлюксной болезни в России» (МЭГРЕ): первые итоги // Экспер. и клин. гастроэнтерол. 2009. № 6. С. 4–11.
3. Buas M., Onstad L., Levine D. et al. MiRNA-related SNPs and risk of esophageal adenocarcinoma and Barrett's esophagus: post genome-wide association analysis in the BEACON Consortium // PLoS one. 2015. Vol. 10. P. 28–32.
4. Fassan M., Volinia S., Palatini J. et al. MicroRNA expression profiling in the histological subtypes of Barrett's metaplasia // Clin. Translation Gastroenterol. 2013. Vol. 4. P. 1–8.

Поступила в редакцию 06.04.2016 г.

A.Z. Tsitskarava, M.I. Zarskiy, D.I. Vasilevskiy,
A.S. Lapshin, V.F. Popova, A.A. Smirnov,
M.E. Lyubchenko

**ROLE OF MICRORNA IN PREDICTING
OF ADENOCARCINOMA DEVELOPMENT
IN BARRETT'S ESOPHAGUS**

I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University

Barrett's esophagus is considered as a predictor of esophageal adenocarcinoma with multistage neoplastic progression at present time. The research assessed an expression of microRNA-21 in 25 patients with different degree of metaplasia and dysplasia of mucous coat of esophagus. The level of expression of microRNA depended on the presence and degree of expression of neoplastic changes of mucous coat of esophagus. The expression rising of microRNA was noted in patients with columnar-celled metaplasia and intraepithelial neoplasia and in case of esophageal adenocarcinoma. The treatment strategy could be determined by the method of estimation of the level of microRNA expression in biopsy material from mucous coat of esophagus in patients with gastroesophageal reflux disease and using other criteria.

Key words: *microRNA, Barrett's esophagus, esophageal adenocarcinoma, columnar-celled metaplasia, gastroesophageal reflux disease*