

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«НОВОСИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Архипова Анна Александровна

**ДИНАМИЧЕСКОЕ ЭНДОСКОПИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ
ОСЛОЖНЕННЫХ ЯЗВ ЖЕЛУДКА**

3.1.9. Хирургия

Диссертация на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Научный консультант:
доктор медицинских наук, доцент
Анищенко Владимир Владимирович

Новосибирск – 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.	4
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.	15
1.1 Краткая история развития первичного обследования бессимптомных лиц с целью выявления диспластических изменений слизистой оболочки желудка.	15
1.2 Применение эзофагогастродуоденоскопии в диагностике опухолевой трансформации слизистой оболочки желудка.	16
1.3 Предраковые изменения слизистой оболочки желудка на молекулярном и морфологическом уровне.	17
1.4 Эволюция здоровой слизистой оболочки в малигнизацию.	31
1.5 Современные представления о риске злокачественной трансформации при язве желудка.	32
1.5.1 Возможности предикции развития рака желудка у больных с язвой желудка (клиническая картина)	34
1.5.2 Факторы риска.	36
1.5.3 Возможности диагностики.	42
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.	61
2.1 Дизайн исследования.	61
2.2 Характеристика клинического материала.	63
2.3 Методы исследования.	67
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.	81
3.1 Результаты обследования пациентов основной группы.	81
3.2 Результаты обследования пациентов группы сравнения.	89
3.3 Результаты обследования пациентов в группе «рак желудка».	93
3.4 Молекулярно-генетическое исследование.	98
3.5 Анализ ошибок дифференциальной диагностики дисплазии и рака желудка.	146
ГЛАВА 4 ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.	153

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.	174
ВЫВОДЫ.	175
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.	177
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.	178
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.	179
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА.	208

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность избранной темы

Благодаря существующим международным и российским стандартам лечения язвенной болезни с учётом инфицирования *Helicobacter pylori* заболеваемость язвенной болезнью (и желудка, и двенадцатиперстной кишки) за последние 20 лет имеет положительную тенденцию к снижению [240]. По данным Росстата заболеваемость язвенной болезнью снизилась с 1 047,0 (2010 г.) до 848,3 (2016 г.) на 100 000 населения [15], в основном за счёт неосложнённых форм [174]. Тем не менее, язвы желудка остаются распространённым заболеванием, с которым сталкиваются как гастроэнтерологи, так и специалисты ургентной хирургии [108, 184, 192]. Ежегодная частота кровотечений при язвах в общей популяции варьирует от 19,4 до 57,0 случаев на 100 000 [222]. Факторы риска, способствующие развитию кровотечения, включают инфекцию *Helicobacter pylori*, приём нестероидных противовоспалительных препаратов, размер язвы от 2 см, курение, употребление алкоголя, пожилой возраст, сопутствующую патологию, несвоевременное и неадекватное лечение [135, 152, 199, 208, 222, 251]. Большая часть факторов риска развития кровотечения из язвы и развития рака желудка общие [28, 205, 206, 207]. При эндоскопической диагностике оцениваются размеры язвенного дефекта, так как среди язв со злокачественной трансформацией 86 % имеют диаметр, превышающий 3 см, и только 2 % – в пределах 1 см [82]. В Российских клинических рекомендациях по диагностике и лечению язвенной болезни от 2019 года отмечается, что малигнизация язвы желудка является не частым осложнением, однако, как часто наблюдается озлокачествление не указано [11]. В доступной литературе за последние 5 лет частота выявления малигнизации при язве желудка варьирует от 1,07 % до 37,8 % [114, 212]. Selinger С. Р. с соавторами (2016) считают, что контрольные эндоскопические исследования уменьшают количество диагностических ошибок и, вероятно, являются главной причиной разброса данных о частоте неопластической трансформации [109]. Wan. J. J. с соавторами (2018) показали

увеличение выявления раннего рака при язве желудка в три раза (экспериментальная группа 9 / 232 (3,88 %) и группа сравнения 3 / 281 (1,07 %), после выполнения повторной гастроскопии с биопсией краев и дна заживающего язвенного дефекта. Исследователи предполагают, что неопластическая трансформация в рубцующейся язве связана с мутацией клеток подслизистого слоя в дне дефекта. Далее, в процессе заживления язвы, клетки, подвергшиеся неопластической трансформации, постепенно переходят на поверхность слизистой оболочки, где со временем и под воздействием внешних и внутренних факторов прогрессируют до рака желудка [212]. Сегодня язву относят к фоновым заболеваниям, и, учитывая трудности диагностики неопластической трансформации, пациенты с язвой желудка подлежат диспансерному наблюдению как группа риска развития рака желудка в течение 5 лет после последнего обострения [11, 28, 82, 111]. В связи с этим разработка метода эндоскопической предикции и динамического наблюдения до сих пор остается актуальной и требует научного поиска.

Доброкачественный характер язвы желудка, осложненной кровотечением, определённый при первичной эзофагогастродуоденоскопии, не является постоянной характеристикой патологического процесса [109, 211], так как большинство обследований заканчивается без мультифокальной биопсии ввиду опасности рецидива геморрагии. При эндоскопической диагностике 80 % язв желудка локализируются на малой кривизне; как правило, к самым частым локализациям рака желудка относят антральный отдел и малую кривизну [6], то есть наиболее опасные в плане кровотечения анатомические области. При отсутствии возможности получения патоморфологического заключения возникает необходимость дополнительных тестов дифференциальной диагностики. В качестве перспективных биомаркеров в зарубежных публикациях рассматривают мРНК и миРНК [38, 141, 157, 194], которые регулируют все процессы жизнедеятельности клетки [72, 157, 189], к тому же они стабильны и легко извлекаются из различных биологических материалов, включая ткани, кровь, кал, слюну, асцитическую жидкость [97, 157, 180, 226]. Молекулярные маркеры (миРНК и мРНК) являются высокоспецифичными биомаркерами, со своим характерным профилем экспрессии для каждого вида ткани,

включая неопластическую, миРНК могут стать перспективными диагностическими маркерами для идентификации раннего рака и диспластических изменений в клинике при исследовании различных биологических материалов [39, 60, 75]. Высокий уровень значимости различий в экспрессии миРНК и мРНК между сравниваемыми группами образцов рака и нормальной ткани указывает на возможность использования этих данных для эффективного разделения образцов [10, 80], но на сегодняшний день не существует единого профиля миРНК [173, 165]. Используемые профили различаются по странам, регионам и расам [21], а полученные результаты требуют подтверждения в крупных исследованиях [38, 141, 157, 194].

Степень разработанности темы диссертации

В Российских клинических рекомендациях по диагностике и лечению язвы желудка сообщается о низкой частоте озлокачествления при наблюдении за пациентами с доброкачественной язвой желудка [11]. Gielisse E. A. R. с соавторами (2015) связывают низкую частоту выявления малигнизации при язвах желудка с тем, что наиболее часто причиной появления язвы на слизистой оболочке желудка и развития осложнения в виде кровотечения является приём ulcerогенных препаратов [115]. Исследователи предлагают не проводить контрольные эзофагогастродуоденоскопии (ЭГДС) пациентам, у которых исходно эндоскопическая и морфологическая картина соответствует доброкачественной язве [92, 115]. Вместе с тем доброкачественный характер язвы желудка, осложнённой кровотечением, определённый при первичной ЭГДС, не является постоянной характеристикой патологического процесса [109], т. к. большинство обследований заканчиваются без мультифокальной биопсии, а при проведении контрольных эндоскопических исследований отмечается увеличение количества выявлений раннего рака желудка в 3-4 раза [55, 212]. Вероятно, контрольные эндоскопические исследования с биопсией уменьшают количество диагностических ошибок, но ЭГДС является инвазивной, неудобной манипуляцией, в результате чего отмечается высокий уровень неявок на контрольные исследования [109].

Это послужило поводом для поиска путей улучшения существующих критериев наблюдения и дополнительных тестов дифференциальной диагностики. Среди эпигенетических механизмов регуляции воспаления выделяют миРНК, и рассматривают возможность их использования в качестве предикторов злокачественной трансформации. Уровни экспрессии миРНК различаются между клетками здоровых тканей и новообразований, а неоплазии разной локализации и морфологии имеют специфический профиль. Благодаря этим свойствам миРНК обладают огромным потенциалом в качестве биомаркеров [157].

Цель исследования

Разработать алгоритм динамического эндоскопического наблюдения с применением профилирования по миРНК и мРНК у пациентов с осложнённой язвой желудка, имеющих высокий риск неопластической трансформации.

Задачи исследования

1. Оценить эндоскопический, цитологический, морфологический, иммуногистохимический методы исследования, как возможные предикторы опухолевой трансформации.
2. Создать библиотеку профилей миРНК и мРНК в норме, при дисплазии, при раке желудка с использованием клеточного материала слизистой оболочки желудка, полученного при эзофагогастродуоденоскопии.
3. Провести анализ и создать классификатор, основанный на профилировании миРНК в норме, при дисплазии, при раке желудка с использованием гистологического материала, полученного при эндоскопическом исследовании.
4. Провести анализ и создать классификатор, основанный на профилировании миРНК и мРНК в цитологическом материале слизистой оболочки желудка, полученного при эндоскопическом исследовании.
5. Изучить результаты выполнения браш-биопсии из язвенного поражения желудка, осложненного кровотечением при II В, II С по J. Forrest (1974), и оценить

возможность профилирования по миРНК и мРНК при использовании цитологического материала, полученного при экстренной эзофагогастродуоденоскопии.

6. Сравнить результаты экспрессии миРНК, используемых при анализе гистологического и цитологического материала, полученного при эндоскопическом исследовании.

7. Оценить динамику профилей миРНК в отдаленном периоде лечения пациентов с осложненной язвой желудка.

8. Разработать алгоритм выявления групп риска по прогрессии заболевания в неоплазию.

Научная новизна

Впервые создана библиотека профилей миРНК/миРНК и мРНК в норме, при дисплазии, при раке желудка с использованием цитологического и морфологического материалов, полученных при эндоскопическом исследовании желудка.

Впервые из гастробиоптатов и браш-препаратов, полученных при эзофагогастродуоденоскопии, получены данные об экспрессии миРНК и мРНК. Используются молекулярные маркеры, играющие роль в развитии рака желудка, для выявления не только рака желудка, но и дисплазии слизистой оболочки желудка. Применен метод построения математической модели, основанный на профилировании молекулярных маркеров (миРНК и мРНК).

Впервые проведено сравнение результатов по десяти миРНК, которые были использованы для анализа и гистологического, и цитологического материалов полученных при эзофагогастродуоденоскопии. Установлен ряд различий между гистологическим и цитологическим материалом по экспрессии миРНК.

Впервые проведена оценка динамики профилей миРНК при язве с дисплазией и состоявшемся кровотечением, а также в отдаленном периоде. Установлено, что средний промежуток времени до выявления злокачественного характера язвенного поражения составил 9 месяцев, медиана 2 месяца с интерквартильным размахом от

2 до 12 месяцев. Биопсия при первичной ЭГДС ограничивалась 1-2 фрагментами, но, не смотря на малое количество взятых фрагментов, молекулярный классификатор определил 40 % неопластических поражений после первичной ЭГДС с щипцовой биопсией в группу рака желудка.

Анализ профиля миРНК при язвах желудка с дисплазией в отдалённом периоде, показал, что при выявлении профиля миРНК, соответствующего раку желудка, необходимо провести повторную эзофагогастродуоденоскопию с мультифокальной биопсией (при биопсии необходимо взять 3 и более фрагмента) и проведением молекулярно-генетического исследования.

Доказано, что браш-препарат, полученный при эзофагогастродуоденоскопии, дает адекватное количество материала для диагностики неоплазии.

Впервые, на основе проведенной работы, построен диагностический алгоритм выявления больных с диспластическими изменениями слизистой оболочки желудка и риском прогрессии заболевания.

Теоретическая и практическая значимость работы

1. Разработанная методика предикции неопластической трансформации при эндоскопическом исследовании позволяет выделить группу пациентов, нуждающихся в эндоскопическом динамическом наблюдении.

2. Создана библиотека профилей нормы, дисплазии и рака желудка, что позволяет дифференцировать образцы слизистой, полученные при эзофагогастродуоденоскопии, для выявления группы риска по неопластической трансформации.

3. Использование браш-биопсии в случае язвы желудка, осложненной кровотечением (Forrest II B, II C), является безопасной эндоскопической манипуляцией и позволяет в течение 2 дней после первичной эзофагогастродуоденоскопии определить доброкачественный характер язвенного поражения в 94,85 % случаев, и в 100 % – верно установить характер поражения при злокачественном изъязвлении.

5. Обосновано определение профиля миРНК и мРНК в клеточном материале, полученном при экстренном эндоскопическом исследовании; результаты определения профиля могут быть использованы для эффективного выявления у «пациентов с высоким риском» прогрессии заболевания в неоплазию слизистой оболочки желудка.

6. Применение разработанного алгоритма определения групп риска по развитию рака желудка позволяет выявлять пациентов с неопластическими изменениями слизистой оболочки желудка, в том числе при обнаружении язвенного поражения желудка, осложнённого кровотечением типа II В, II С по J. Forrest при эзофагогастродуоденоскопии.

Методология и методы диссертационного исследования

Проведено исследование по промежутку времени наблюдения, которое включало в себя ретроспективное и проспективное исследование групп пациентов. Исследование было направлено на разработку алгоритма динамического эндоскопического наблюдения пациентов с осложнённой язвой желудка, имеющих высокий риск неопластической трансформации, а также на разработку и практическое клиническое применение метода профилирования по миРНК и мРНК в норме, при дисплазии, при раке с использованием морфологического и цитологического материала, полученного при эзофагогастродуоденоскопии у 491 пациента.

Весь объём полученных данных подвергался статистическому анализу в программе Excel (Microsoft, США). Стратификацию образцов на разные группы проводили методом построения дерева принятия решений C-RT (Classification and Regression Tree) и C5.0.

Положения, выносимые на защиту

1. Создана библиотека профилей миРНК в норме, при дисплазии, при раке с использованием гастробиоптатов, полученных при эзофагогастродуоденоскопии.

Создана библиотека профилей миРНК и мРНК в норме, при дисплазии, при раке с использованием браш-препаратов полученных при эндоскопическом исследовании.

2. Браш-биопсия является безопасным методом при язве желудка, осложненной кровотечением при гемостазе Forrest II В, II С, соскоб позволяет получить материал с большей площади собственной пластинки слизистой оболочки, чем щипцовая биопсия, и за короткое время определить характер язвенного поражения.

3. Высокий уровень значимости различий, полученный в гистологическом материале при сравнении экспрессии миРНК-21, -34а, -196b, -221, -451 в группах РЖ/норма; миРНК-150, -31, -375, -125а в группах РЖ/дисплазия и миРНК-150, -21, -31, -34а, -106b, -125а, -196b, -221, -141, -451 в группах дисплазия/норма, указывает на возможность использования этих данных для эффективного разделения образцов с опухолевыми и диспластическими изменениями ткани желудка в гистологическом материале.

4. Высокий уровень значимости различий в экспрессии получен в случаях миРНК-125b, -145, -196b, -21, -375 и мРНК TERT, SKS2, FN1 в группах рак/норма; миРНК-375 и мРНК FN1 в группах рак/дисплазия и миРНК-145, -196b, -20а, мРНК SKS2, TERT в группах норма/дисплазия, что указывает на возможность использования этих данных для эффективного разделения образцов с опухолевыми изменениями ткани желудка и нормой в цитологическом материале.

5. При выявлении на эзофагогастродуоденоскопии язвы, осложненной кровотечением Forrest II В, II С, целесообразно заменить щипцовую биопсию на браш-биопсию с определением профилей миРНК и мРНК.

6. При выявлении профилей миРНК и мРНК, соответствующих раку желудка, после снятия угрозы рецидива кровотечения необходимо провести повторную эзофагогастродуоденоскопию с мультифокальной биопсией и молекулярно-генетическим исследованием, с последующим наблюдением пациентов согласно предложенному алгоритму.

Степень достоверности

Достоверность результатов диссертации основывается на обследовании 491 пациента с осложненной язвой желудка, раком желудка и нормальной слизистой оболочкой, о чем свидетельствуют записи в медицинских картах стационарных и амбулаторных больных, предоставленные на проверку первичной документации. Перед проведением молекулярно-генетического исследования была проведена экспертная оценка гистологического и цитологического материала. Критериями эффективности предложенного алгоритма являются диагностические характеристики разработанных математических моделей (специфичность, чувствительность, общая точность, предсказательная ценность положительного результата, предсказательная ценность отрицательного результата) при выявлении дисплазии и рака. Для обоснования корректности сравнения уровней экспрессии между разными группами (рак, дисплазия, норма) изучены уровни экспрессии молекулярных маркеров и подтверждена значимость различий с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни при попарном сравнении экспрессии миРНК и мРНК в группах Рак/Норма, Рак/Дисплазия, Норма/Дисплазия в гистологическом, цитологическом материале, что подтверждает диагностическую ценность исследования. Сроки наблюдения пациентов после проведенного исследования – больше 24 месяцев.

Апробация работы

Основные положения диссертационного исследования доложены и обсуждены на Национальном хирургическом конгрессе совместно с 20-м юбилейным съездом Российского общества эндоскопической хирургии (Москва, 2017), на Хирургическом обществе Новосибирской области и города Новосибирска (Новосибирск, 2017), на городской научно-практической конференции, посвященной 85-летию 2-й городской клинической больницы г.Новосибирска (Новосибирск, 2018), на 13-ом Сибирском гастроэнтерологическом научном форуме «Новые рубежи гастроэнтерологии» (г. Новосибирск, 2019); на Общероссийском хирургическом форуме-2020 (online, 2020), на 7-м Московском

международном фестивале эндоскопии и хирургии-2020 (Москва, 2020), на научно-практической межрегиональной конференции «Актуальные вопросы современной хирургии-2021» в рамках цикла конференций, посвященных 300-летию Кузбасса, а так же 60-летию хирургического отделения № 1 Новокузнецкой городской клинической больницы № 1 имени Г. П. Курбатова (Новокузнецк, 2021), на 8-м Московском международном фестивале эндоскопии и хирургии-2021 (Москва, 2021).

Диссертационная работа апробирована на заседании проблемной комиссии «Актуальные проблемы хирургических методов лечения заболеваний» ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (Новосибирск, 2021).

Диссертационная работа выполнена в соответствии с утвержденным направлением научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России по теме: «Разработка и совершенствование методов профилактики, раннего выявления и хирургического лечения повреждений и заболеваний органов грудной и брюшной полости, органов головы, шеи и опорно-двигательного аппарата», номер государственной регистрации АААА-А15-115120910167-4.

Внедрение результатов исследования

Результаты диссертационного исследования применяются в работе эндоскопического отделения ГБУЗ НСО «Городская клиническая больница № 2» для верификации характера язвенного поражения желудка, осложненного кровотечением, и при формировании групп риска по неопластической трансформации слизистой оболочки желудка.

Основные положения диссертационной работы применяются в учебном процессе на кафедре хирургии (ФПК и ППВ) ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 13 научных работ, в том числе 11 статей в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, из них 6 статей в журналах, входящих в международную реферативную базу данных и систем цитирования (Scopus).

Структура и объём диссертации

Диссертация изложена на 217 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, включающих обзор литературы, материал и методы исследования, результаты собственных исследований, обсуждение полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и списка иллюстративного материала. Список литературы представлен 255 источниками, из которых 219 – в зарубежных изданиях. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 78 таблиц и 42 рисунков.

Личный вклад автора

Материал, изложенный в диссертации, обработан и проанализирован лично автором. Автор выполняла эзофагогастродуоденоскопию и проводила забор материала методом браш-биопсии и щипцовой биопсии, а также лично участвовала в создании сравнительной базы.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Краткая история развития первичного обследования бессимптомных лиц с целью выявления диспластических изменений слизистой оболочки желудка

Из-за дороговизны скрининга рака желудка организованные программы существуют только в Японии и Южной Корее, для стран Восточной Азии это необходимая мера, так как около 60 % выявленных случаев рака желудка приходится на Японию, Китай и Южную Корею [46].

В Японии программа скрининга была запущена в 1960 году в префектуре Мияги и осуществлялась с помощью ежегодной фотофлюорографии с двойным контрастированием [36, 120]. С 1983 года рентгенографический метод включен в государственную программу обследования лиц пожилого возраста в соответствии с законом о здравоохранении. В качестве альтернативного метода с 1990 года применяется определение уровней пепсиногенов в сыворотке крови, но при использовании данных биомаркеров отмечено большое количество ложных результатов, в связи с чем метод определения сывороточных пепсиногенов не рекомендован в качестве скрининга [120]. С 2003 года в городе Ниигата эндоскопическое обследование было добавлено к программам скрининга рака желудка. Однако, из-за высокой частоты осложнений (87,4 на 100 000) и зарегистрированных случаев смерти эндоскопический метод используется только в условиях клиник, а фотофлюорографию продолжают проводить как программу массового обследования с помощью мобильных и автомобильных установок в пригородах Японии [120, 187].

В 1999 году в Южной Корее инициирована программа скрининга населения, которая продемонстрировала снижение смертности от рака желудка на 47 %, в качестве основного метода использовалась эзофагогастродуоденоскопия. С 2016 года эндоскопический метод стал главной политикой скрининга в Японии [53].

1.2 Применение эзофагогастродуоденоскопии в диагностике опухолевой трансформации слизистой оболочки желудка

По данным GLOBOCAN в 2018 году рак желудка занял второе место как причина смерти среди 36 видов рака в 185 странах мира [116]. Лидеры внутрисветной эндоскопии – специалисты из Японии, где более 60 % рака желудка выявляется на ранней стадии, рекомендуют для рутинной диагностики использовать усовершенствованное эндоскопическое оборудование, которое даёт возможность увеличивать изображение, проводить осмотр капилляров слизистой оболочки, производить серию фотографий. Считается, что Япония обладает лучшими диагностическими возможностями для раннего выявления рака желудка и предраковых состояний [46]. Однако часть населения Японии отказывается принимать участие в программе массового скрининга, кроме того, в странах Восточной Азии по-прежнему самые высокие показатели смертности от рака (28,1 на 100 000 у мужчин и 13 на 100 000 у женщин), это указывает на то, что проблема ранней диагностики не решена.

В Северной Америке показатели смертности от рака желудка низкие (2,8 на 100 000 у мужчин и 1,5 на 100 000 у женщин). В Европе и США экономически нецелесообразно организовывать эндоскопические скрининговые программы из-за низкой заболеваемости, и как следствие рак желудка в этих странах редко выявляется на ранних стадиях [30].

В настоящее время для идентификации пациентов с высоким риском рака желудка консенсусом «Маастрихт-4» рекомендовано определение концентрации пепсиногена 1 и пепсиногена 2 в сыворотке крови, но прогностическая ценность пепсиногенов как биомаркеров снижается после эрадикации *Helicobacter pylori* [7]. Таким образом, главным методом диагностики поражений слизистой оболочки желудка остается эзофагогастродуоденоскопия с биопсией, при раке желудка чувствительность и специфичность эзофагогастродуоденоскопии превышает 90 % [27]. В России Национальной программы эндоскопического скрининга рака и предраковых состояний желудка нет. Это связано с тем, что

Российская Федерация – большое по площади государство; доступность эндоскопических технологий и возможности врачей в регионах ограничены, кроме того отсутствуют критерии формирования групп риска, поэтому рак желудка на ранней стадии чаще всего выявляется случайно. В 2019 году в России рак желудка занял второе место среди локализаций злокачественных новообразований, диагностируемых на IV стадии [33]. Поиск эффективных и рентабельных инструментов прогноза и ранней диагностики в нашей стране по-прежнему актуален.

1.3 Предраковые изменения слизистой оболочки желудка на молекулярном и морфологическом уровне

Длительно существующий хронический гастрит приводит к потере желёз и развитию «экологического» атрофического гастрита, основное отличие которого от аутоиммунного заключается в том, что он наиболее выражен в антральном отделе. Вначале в переходной зоне между антральным отделом и телом (угол желудка) в области малой кривизны возникают множественные очаги, а с течением времени поражается весь орган, при этом тело желудка остаётся относительно сохранным. Потеря специализированных клеток оказывает значительное влияние на функцию желудка, часто развивается гипохлоргирия. Повышение рН желудочного сока влияет на всасывание питательных веществ (таких, как железо) и оказывает значительное влияние на микробиом желудка. На данном этапе не ясно, является ли этот дисбактериоз предраковым фактором, способствующим канцерогенезу, или просто отражением изменений в микросреде желудка [66].

Ключевым фактором риска хронического воспаления является высвобождение большого количества активных форм кислорода и оксида азота, что связано с повреждением ДНК и увеличением частоты мутаций. Предыдущие исследования показали, что активные формы кислорода и азота, выделяемые

воспалительными и эпителиальными клетками, могут вызывать окислительное и нитратное повреждение ДНК, включая производство 8-Охо-7, 8-dihydro-2'-deoxyguanosine (8-oxodG), известного мутагена и 8-nitroguanine (8-NO₂G) [151]. Последний образуется inducible nitric oxide synthase (iNOS). Экспрессия генов iNOS регулируется путями Nuclear factor kappa B (NF-κB) и signal transducer and activator of transcription (STAT). Эти изменения могут приводить к мутациям ДНК, что способствует клеточным изменениям и канцерогенезу [147].

В 1975 году П. Корреа с соавт. описали развитие карциномы желудка путём прогрессирования предраковых изменений слизистой оболочки. Позже было обнаружено, что начальным этапом каскада Корреа является развитие хронического гастрита. *Helicobacter pylori* является основной причиной хронического гастрита. При этом одним из наиболее важных патогенных факторов являются штаммы, положительные по cytotoxin associated gene A (CagA). Практически все восточноазиатские штаммы и 60 % западных штаммов являются CagA (+), у инфицированных пациентов развиваются более выраженные воспаления, язвы желудка [182, 249]. Бактериальный белок CagA взаимодействует с рядом эпителиальных белков хозяина, включая apoptosis-stimulating of p53 protein 2 (ASPP2), RUNX family transcription factor 3 (RUNX3), phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), src homology region 2 domain-containing phosphatase-2 (SHP-2) и E-кадгерин, что приводит к деградации и инактивации p53 и RUNX3, нарушению регуляции путей phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (АКТ), Ras/extracellular-regulated kinase (ERK) и Wnt [60]. Было также показано, что CagA изменяет паттерны метилирования ДНК, дополнительно нарушая регуляцию паттернов экспрессии нормальных эпителиальных генов. Образцы ткани кишечной метаплазии имеют более высокие уровни метилирования, чем образцы атрофического гастрита [245].

Одним из основных генов, определяющих гастроанцерогенез, считается Cadherin 1 (CDH1), кодирующий E-кадгерин, который является белком клеточной адгезии. Он экспрессируется в эпителиальных клетках и нужен для развития и

дифференцировки эпителиоцитов, кроме того, необходим для поддержания архитектуры слоёв. Снижение экспрессии E-кадгерина прослеживается при прогрессировании предраковых поражений слизистой оболочки желудка. Подавление экспрессии E-кадгерина происходит при инактивации гена CDH1, почти в 50 % случаев происходит гиперметилирование его промоторной области. Эпигенетическую инактивацию CDH1 считают ранним событием гастроканцерогенеза.

К эпигенетическим механизмам регуляции генной экспрессии относятся метилирование ДНК, химическая модификация гистонов, приводящая к изменению конформации хроматина, РНК-интерференция. Эти механизмы, без изменения кодирующей последовательности генов, влияют на их экспрессию. В настоящее время считается, что эпигенетическая регуляция участвует в инициации и прогрессировании предопухолевых изменений как самостоятельно, так и совместно с другими механизмами.

Гиперметилирование ДНК промоторных районов генов, лучше всего охарактеризованные механизмы инактивации генной экспрессии. Хорошо известно, что инактивировать гены-супрессоры можно через гиперметилирование CpG-островка, расположенного в их промоторных районах. Процесс превращения в метил-цитозин при помощи присоединения метильной группы к цитозину может быть обратимым. Наиболее распространённым молекулярным событием, характеризующим опухолевые клетки, является метилирование/деметилирование ДНК. Для определения неопластических клеток может быть использовано aberrантное метилирование CpG-острков генов. Эпигенетические изменения обратимы, это делает их привлекательными объектами в плане воздействия на неопластические клетки различных модуляторов, которые могут ингибировать гистон-деацетилазу и деметилировать ДНК, что способствует возобновлению экспрессии генов. Регуляторы клеточного цикла, апоптоза, гены, регулирующие репарацию ДНК в эпителиальных неоплазиях желудка, их экспрессия подавляется гиперметилированием CpG-островка. К таким генам относятся: Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2A (CDKN2A (p16), O-6-Methylguanine-DNA Methyl transferase

(MGMT), CDH1 (E-кадхерин), Ras Association Domain Family Member 1 (RASSF1), Deleted in Liver Cancer 1 (DLC1), RUNX3. При исследовании хронического гастрита уже на этапах кишечной метаплазии и дисплазии происходит aberrантное метилирование, количество метилированных генов накапливается в процессе прогрессирования предраковых поражений в рак. Исследования эпигенетических изменений долгое время были направлены на изучение одного или нескольких генов, однако в последнее время с помощью применения методик полногеномного поиска обнаружены новые гены, эпигенетически инактивированные [21].

Ген RUNX3 (1p36), кодирует белок, относящийся к семейству транскрипционных факторов, содержащих Runt-домен. При инфекции *Helicobacter pylori* и при кишечной метаплазии показано гиперметилирование RUNX3. Его функция заключается в активации или подавлении транскрипции генов, вследствие образования комплекса, который связывается с определённой последовательностью ДНК, находящейся в энхансерных и промоторных областях генов. Этот белок может усиливать генную экспрессию, взаимодействуя с другими транскрипционными факторами. RUNX3 является супрессором, его активность впервые показана на эпителиоцитах желудка в мышинных моделях, имеющих нокаут этого гена. В слизистой оболочке желудка мышей, дефицитных по RUNX3, обнаружено усиление пролиферации, подавление апоптоза и снижение чувствительности к трансформирующему фактору роста- β (TGF- β). Ген RUNX3 является нижестоящим эффектором TGF- β -сигнального пути [21, 239], в ответ на действия TGF- β RUNX3 подавляет пролиферацию эпителия желудка, индуцируя экспрессию гена CDKN1A, а также усиливает проапоптотическую деятельность BCL2L11 (BIM).

Другим значимым геном при прогрессировании предраковых поражений слизистой желудка является Tumor Protein P53 (TP53) – ген супрессор опухолевого роста [21, 104]. Его функция заключается в задержке цикла клетки, в которой произошло повреждение ДНК, до момента репарации. Если исправление повреждения невозможно, то для этой клетки происходит индукция апоптоза.

Потеря функции гена связана с миссенс-мутацией одного из аллелей гена в сочетании с делецией второго аллеля. В гене имеется несколько кодонов (175, 213, 245, 248, 273, 282), называемых «горячими точками», в которых мутации встречаются чаще, чем в других. Обычно замены происходят в CG-динуклеотидах. Замена GC на AT является наиболее распространённым типом мутации гена TP53.

Давно известно, что в прогрессировании предраковых поражений слизистой оболочки желудка важную роль играет белок циклооксигеназа (ЦОГ-2), ген кодирует белок, участвующий в синтезе простагландинов, и не экспрессируется в нормальных тканях. Ген активирует свою экспрессию в ответ на действия провоспалительных медиаторов и онкогенных стимуляторов типа цитокинов, факторов роста и некоторых онкогенов. Ген ЦОГ-2 гиперэкспрессируется в неоплазиях желудка, считается, что его экспрессия индуцируется *Helicobacter pylori*. Повышение экспрессии является ранним событием при гастроканцерогенезе по кишечному типу. Полиморфные замены, выявленные в ДНК гена, могут играть важную роль в карцерогенезе желудка. Показано более чем двукратное повышение риска развития рака при генотипе 1195AACOX-2, а при инфицировании *Helicobacter pylori* и у курильщиков с этим генотипом риск развития новообразования значительно возрастает [21].

CDC28 Protein Kinase Regulatory Subunit 2 (CKS2) является мишенью miРНК-26а, при сверхэкспрессии miРНК-26а уровень матричной РНК и белка CKS2 снижается. CKS2 влияет на экспрессию циклина А, циклина В1, Cyclin Dependent Kinase 1 (CDK1). Циклин В1, CDK1 участвуют в митозе, в прохождении клетки фазы G2. При подавлении экспрессии CKS2 в пять раз увеличивается уровень каспазы-3 и BAX, эти результаты свидетельствуют о том, что апоптоз индуцируется ингибированием экспрессии CKS2. При иммуногистохимическом исследовании неопластической ткани было установлено, что белок экспрессируется в менее дифференцированных участках. Tanaka F., Matsuzaki S. (2011) показали, что уровень экспрессии также зависит от размера поражения. CKS2 активируется при различных злокачественных

новообразованиях в клетках, сверхэкспрессирующих CKS2, супрессоры опухолей p53 и p21 подавляются, это приводит к росту раковых клеток. You H. с соавторами (2015) сделали вывод о том, что CKS2 является онкогеном и может быть использован как биомаркер для прогноза исхода заболевания и при решении вопроса о раннем профилактическом лечении. CKS2 участвует в процессах клеточного цикла и пролиферации клеток. Кодированный ген CKS2 расположен в хромосоме 9q22 [31]. Геном-кандидатом, ассоциированным с раком желудка, считают Telomerase Reverse Transcriptase (TERT). В раковых клетках отмечается гиперметилирование CpG-островка промотора гена, это влечет увеличение экспрессии TERT. Экспрессия TERT приводит к пролиферации опухолевых клеток [69]. Fibronectin 1 (FN1) является членом семейства гликопротеинов, он участвует в процессах клеточной адгезии, миграции и подавляет апоптоз. Отмечено, что экспрессия FN1 повышена в неопластической ткани по сравнению с нормальной [85].

Кишечная метаплазия (KM) протекает бессимптомно, обычно обнаруживается случайно при морфологическом исследовании биоптатов. Она молекулярно неоднородна, гистологически выделяют полный и неполный типы. Полный тип (или тип I) напоминает эпителий тонкой кишки с бокаловидными клетками, клетками Панета, энтероцитами и щёточной каймой [148]; он связан с потерей маркеров муцина желудка (Mucin 1, Cell Surface Associated (MUC1), Mucin 5AC, Oligomeric Mucus/Gel-Forming (MUC5AC), MUC6) и экспрессией сиалового муцина кишечника (Mucin 2, Oligomeric Mucus/Gel-Forming MUC2). Полный тип кишечной метаплазии не склонен к малигнизации, поэтому его не относят к предраковым изменениям. Неполный тип больше напоминает эпителий толстой кишки, при нём отсутствуют абсорбирующие клетки, но присутствуют столбчатые клетки, которые напоминают фовеолярные клетки желудка. Он не имеет щёточной каймы и поддерживает экспрессию маркеров муцина желудка (MUC1, MUC5AC, MUC6) обычно вместе с MUC2 [144]. Неполный тип подразделяется на тип II, при котором клетки экспрессируют нейтральные муцины и кишечный сиаломуцин, и тип III, при котором клетки

экспрессируют сульфомуцин [148]. Как показывает практика, участки ткани слизистой оболочки желудка могут содержать элементы обоих подтипов. Различие между полным и неполным типом кишечной метаплазии является клинически важным, поскольку неполный тип несёт в себе более высокий риск злокачественной трансформации [137, 235, 244]. При этом типе метаплазии обнаруживаются нарушение созревания и абберрантная дифференциация клеток. Неполная кишечная метаплазия тесно коррелирует с развитием рака желудка, вероятность злокачественной трансформации при ней достигает 98 %. При морфологическом исследовании значение придается не только типу КМ, но и ее распространённости [1, 5].

При метаплазии возникают значимые изменения генетической и эпигенетической программы стволовых клеток, клеток-предшественников, отмечается накопление генетических изменений, так взаимодействия CagA и E-кадгерина способствуют накоплению β -катенина, происходит гиперметилирование p16 (CDK2A) в участках предраковых изменений слизистой оболочки желудка, предполагается, что инфекция *Helicobacter pylori* индуцирует метилирование CpG-островка p16. Но пока нет однозначного мнения, может ли геномная нестабильность быть маркером для оценки потенциала злокачественности при наличии кишечной метаплазии.

Известно, что белок Sonic Hedgehog (SHH) является регулятором процессов формирования органов и тканей, а также центральным компонентом пути передачи сигналов Hh вместе с лигандами Indian hedgehog (IHH) и Desert hedgehog (DHH). Передача сигналов Hh активируется посредством связывания лиганда Hh с трансмембранным рецептором Patched 1 (PTCH1), который действует как регулятор рецептора, связанного с G-белком (SMO). Затем происходит подавление *smoothed, frizzledclassreceptor* (SMO), что активирует каскад, который приводит к транслокации нижестоящих факторов транскрипции GLI в ядро. Впоследствии активированные GLI индуцируют экспрессию различных генов-мишеней Hh, таких как BCL2 apoptosis regulator (BCL2), snail

family transcriptional repressor 1 (SNAI1), forkheadbox M1 (FOXM1), cMYC, cyclin D1 (CCND1).

Передача сигналов Hh участвует как критический фактор в органогенезе и дифференцировке желудочных желёз во время эмбрионального развития. Хотя все три лиганда Hh активируют идентичные сигнальные каскады путём связывания с *patched 1* (PTCH1), распределение этих лигандов проявляет тканевую специфичность. SHH и IHH наиболее высоко экспрессируются в желудочно-кишечном тракте [236], тогда как экспрессия DHH ограничена семенниками и нервной системой. В желудке взрослого человека путь Hh не только регулирует дифференцировку и созревание эпителиальных клеток желудка [217], но также важен для физиологии желудка [161]. Лиганды Hh (обычно SHH в желудке), секретлируемые эпителиальными клетками, распознаются рецепторами на стромальных клетках, что инициирует каскад передачи сигналов Hh в стромальных клетках и увеличивает транскрипцию нижестоящих генов-мишеней, продукты которых участвуют в поддержании микросреды эпителия [190].

При предраковых поражениях желудка баланс этой регуляции нарушается, что приводит к метапластической трансформации и росту фиброзной ткани с переходом к канцерогенезу. Интересно, что в условиях хронического воспалительного процесса, например, при инфекции *Helicobacter pylori*, экспрессия SHH снижается [84], в основном, из-за потери париетальных клеток и атрофии эпителия. Однако по мере прогрессирования поражения слизистой оболочки желудка показано увеличение экспрессии SHH, которое сопровождается регенерацией и пролиферацией эпителия [95]. Эти наблюдения подчёркивают важную роль передачи сигналов SHH и Hh в репарации и регенерации желудочного эпителия. Для клеток рака характерно увеличение экспрессии SHH и увеличение экспрессии рецептора PTCH1 [122]. Таким образом, избыток SHH стимулирует передачу сигналов Hh и способствует пролиферации и прогрессии предраковых изменений.

Ген *Caudal Type Homeobox 2* (CDX2) кодирует специфический для кишечника фактор транскрипции и определяет развитие кишечных клеток,

дифференцировку и поддержание кишечного фенотипа. Белок CDX2 стимулирует пролиферацию и дифференцировку клеток кишечного эпителия, активируя специфические кишечные гены, такие как предшественник муцина-2 (MUC2), ген сахароизомальтазы и генкарбоновой ангидразы (CA1). А также он блокирует рост клеток по средствам активации p21, циклинзависимого ингибитора киназы. В норме белок CDX2 экспрессируется в слизистой оболочке кишечника и не экспрессируется в эпителиоцитах желудка. В слизистой оболочке желудка при кишечной метаплазии и дисплазии стабильно отмечается эктопическая экспрессия гена CDX2. Это подтверждает, что его активация является ранним событием в гастроканцерогенезе.

Белок CDX2 связан SHH посредством сигнальных каскадов. *Helicobacter pylori* способствует снижению экспрессии SHH, это влечёт потерю дифференцировки слизистой оболочки, далее, за счёт повышения экспрессии кишечного-ассоциированных генов CDX2, MUC2, виллина, появляется более выраженный кишечный фенотип. Эктопическая экспрессия CDX2 индуцирует развитие кишечной метаплазии, а экспрессия SHH существенно повышается при дисплазии high-grade [151].

Было проведено исследование по определению того, как инфекция *Helicobacter pylori* приводит к образованию кишечной метаплазии при использовании генов SRY-Box transcription factor 2 (SOX2) и caudal type homeobox 2 (CDX2). SOX2 – это фактор транскрипции, участвующий в дифференцировке клеток желудка, его функция регулируется интерлейкином 4 через активацию фактора транскрипции signal transducer and activator of transcription 6 (STAT6) в желудочном эпителии. Под влиянием *Helicobacter pylori* происходит угнетение экспрессии SOX2 и активация транскрипционного фактора кишечной дифференциации CDX2. Было показано, что полный тип кишечной метаплазии преимущественно является SOX2-отрицательным (93 %), а неполный тип положительный по SOX2 (85%) [83, 123]. Более того, экспрессия CDX2 частично индуцируется посредством NF-κB-зависимого механизма после инфицирования *Helicobacter pylori* [57]. По данным опубликованных

исследований ведущую роль в трансдифференциации фундальных и пилорических клеток в кишечный эпителий играет нарушение регуляции семейства транскрипционных факторов SOX2, CDX2, pancreatic and duodenal homeobox 1(PDX1), sonic hedgehog и solute carrier family 22 member 1 (OCT1), которые занимают ключевое место в эмбриональном развитии тканей [9, 125].

Дуодено-гастральный рефлюкс – ещё один предполагаемый механизм, способствующий прогрессированию хронического гастрита и кишечной метаплазии [54]. В крупном исследовании, в котором приняли участие 2 283 пациента, была показана связь между возникновением кишечной метаплазии и рефлюксом желчи. В этом контексте развитие кишечной метаплазии является защитным механизмом, так как кишечный эпителий способен противостоять воздействию желчи, в отличие от нормальной слизистой оболочки желудка [203].

Для развития кишечной метаплазии имеет значение окружающая среда и наследственность [113], так как наследственный риск важен при оценке риска развития рака желудка даже без учёта основных генетических синдромов [99, 100, 145]. Было показано, что среди братьев и сестёр лиц, имеющих предраковые изменения слизистой оболочки в семейном анамнезе, отмечается увеличение риска некардиального рака с коэффициентом риска 2,5 по сравнению с братьями и сёстрами лиц с «нормальной слизистой» или с заключением «незначительные изменения». Информация о семейном анамнезе может быть полезной при оценке риска прогрессирования изменений слизистой оболочки [117].

Системы Operative Link on Gastritis Assessment (OLGA) и метаплазии (OLGIM) основаны на гистологической оценке мультифокальной биопсии, при этом материал берётся из антрального отдела: два фрагмента – большая и малая кривизна; два фрагмента – большая и малая кривизна в области тела, и один фрагмент из области угла желудка. Протоколы OLGA и OLGIM представляют собой стандарты для оценки стадии хронического воспаления желудка, атрофии и кишечной метаплазии. При использовании OLGA и OLGIM возможно установить не только выраженность изменений, но и их распространённость. Пациенты с

III/IV стадиями входят в группу риска развития некардиального рака желудка и нуждаются в частых и тщательных обследованиях [111, 186, 253].

Точка невозврата. Каскад Корреа называют линейной прогрессией, однако у большинства пациентов могут быть незначительные изменения в каскаде в течение многих лет, а у других наблюдается быстрое прогрессирование, минуя некоторые из предполагаемых стадий. Очевидно, что инфекция *Helicobacter pylori* и хроническое воспаление вызывают прогрессирование каскада, в связи с чем было сделано предположение, что успешная эрадикация может привести к регрессу гистологических изменений. Однако не всегда эрадикация приводит к регрессу и уменьшает риск прогрессирования поражения до рака. Эрадикация приводит к полному разрешению гистологических признаков воспаления и регрессу атрофических изменений в теле желудка (по сравнению с антральным отделом) [231], но такого же эффекта у пациентов с кишечной метаплазией не наблюдается. Именно КМ считают «точкой невозврата» [102, 105, 124]. После появления кишечной метаплазии эрадикация только частично снижает риск развития рака, предположительно генетические повреждения стволовых клеток желудка после появления кишечной метаплазии становятся необратимыми. Существует множество доказательств, подтверждающих существования «точки невозврата», но в некоторых когортах были доказательства регресса кишечной метаплазии [220].

Большой риск развития рака связан с неполным типом и обширными полями КМ в теле желудка. Считается, что кишечная метаплазия является ранним событием в развитии рака желудка и связана с микросателлитной нестабильностью [44].

Микросателлитами называют ди-, три-, тетра- и пентануклеотидные повторы, равномерно распределённые по всему геному. Изменения длины этих повторов, вызванное нарушением систем репарации неспаренных оснований ДНК, определяется как микросателлитная нестабильность. Микросателлитная нестабильность была определена как «любое изменение длины микросателлитной ДНК в опухолевой ткани вследствие появления или делеции повторяющихся

нуклеотидных групп по сравнению с нормальной тканью». Нестабильность возникает вследствие гиперметилирования ChG-островка, находящегося в промоторном районе гена *mutlhomolog 1* (MLH1). Считается, что около 44 % случаев развития неопластической трансформации слизистой оболочки желудка связаны с микросателлитной нестабильностью, при этом поражение расположено в антральном отделе и связано с кишечной метаплазией. Часто определяются мутации со сдвигом рамки считывания в генах, которые имеют микросателлитные последовательности в кодирующей области, так мутации TGF – β -рецепторе II (TGFBR2) – наблюдаются в 90 % случаев, E2F transcription factor 4 (E2F4) – в 61,3 %, VAX – в 61 %, *mut Shomolog 3* (hMSH3) – в 38,7 %. Накопление мутаций может распространяться на гены, участвующие в сохранении целостности генома, включая гены отвечающие за репарацию ДНК [21].

Прогрессирование изменений до дисплазии, а затем до рака, происходит нечасто, молекулярные механизмы, ответственные за прогрессирование, недостаточно исследованы. При изучении изменений возникает ряд проблем: во-первых, для прогрессирования поражения необходимо время; во-вторых, при эндоскопическом исследовании плоские поражения часто пропускаются. Известно, что кишечная метаплазия развивается из слизистой оболочки желудка [147, 160]. Со временем стволовые клетки желудка накапливают соматические мутации, а дальнейшие геномные изменения могут приводить к пролиферации или сохранению желёз кишечной метаплазии в течение продолжительного периода. На следующем этапе происходит формирование диспластических желёз, которые генетически связаны с кишечной метаплазией; образующиеся диспластические поля могут иметь общую фундаментальную мутацию, и таких полей в желудке может быть несколько [227].

Необходим целостный молекулярный подход для выяснения основных событий того, как предраковые поражения трансформируются в злокачественное новообразование [226]. При использовании полногеномного анализа Kimetal (2018) показали, что гиперметилирование рецепторов гормонов может быть ранним событием гастроканцерогенеза, так секреция гастрина влияет на

дифференцировку клеток и может участвовать в создании фона для злокачественной трансформации. Вероятно рак желудка является результатом множества событий, которые происходят одновременно, при этом некоторые события могут иметь место при всех подтипах рака как, например, хронический гастрит, а другие являются специфичными для конкретного подтипа как, например, нарушение клеточных механизмов, которые способствуют сохранению диплоидности и это приводит к хромосомной нестабильности [248].

Среднее время прогрессирования кишечной метаплазии до рака составляет 6,1 года, а прогрессирование дисплазии низкой степени до рака занимает 2,6 года [210]. Недавнее исследование геномного и эпигеномного профилей кишечной метаплазии показало, что для неё характерны мутации в генах-супрессорах опухолей: F-Box And WD Repeat Domain Containing 7 (FBXW7), TP53 и AT-Rich Interaction Domain 1A (ARID1A). Изменения гена TP53 выявляется в 37,5 % случаев кишечной метаплазии и 58 % случаев диспластических поражений. Считается, что обнаружение миссенс-мутации гена TP53 может служить одним из ключевых показателей злокачественной трансформации [21]. При этом сверхэкспрессии белка p53 не всегда коррелирует с мутациями TP53 при кишечной метаплазии. В исследовании Huangetal (2018) пациенты, у которых развились дисплазия и рак, имели амплификации хромосомы 8q и укороченные теломеры [112]. Интересно, что пациенты, у которых кишечная метаплазия регрессировала, имели нормальные эпигеномные паттерны. Профилирование метилирования ДНК показало, что большинство пациентов с метаплазией в группе с высоким уровнем метилирования имели высокую мутационную нагрузку, частые вариации числа хромосомных копий, мутации FBXW7 и изменения локализовывались в основном в антральном отделе [151].

Венская классификация была разработана в 2000 году для стандартизации патогистологических отчётов, так как принятые японскими морфологами критерии диагностики отличаются от критериев, используемых в западных странах. В Японии для диагностики рака не требуется выявление инвазии, с чем могут быть связаны значительно лучшие результаты лечения раннего рака по

сравнению с западными странами. На основе этих наблюдений международный комитет принял согласованное определение эпителиальной неоплазии желудка, в которой выделяют неинвазивные и инвазивные изменения.

Венская классификация эпителиальных неоплазий пищеварительного тракта:

- 1) отсутствие неоплазии/дисплазии;
- 2) неоплазия/дисплазия неопределённая;
- 3) неоплазия неинвазивная низкой степени (аденома/дисплазия низкой степени);
- 4) аденома/дисплазия высокой степени:
 - рак не инвазивный (рак *insitu*);
 - подозрение на инвазивный рак;
- 5) неоплазия инвазивная:
 - рак внутрислизистый;
 - рак с инвазией в подслизистый слой.

На практике врачи морфологи используют категории 1, 2 и разделяют категорию 3 на low-grade и high-grade, причём последняя связана с более высоким риском злокачественной трансформации. Исследование с использованием целевого глубокого секвенирования ДНК 67 генов, связанное с раком, выявило мутации APC во всех случаях low-grade, а также в некоторых случаях high-grade [107, 140]. Однако APC и TP53 оказались взаимоисключающими, последний присутствует только в дисплазии high-grade и внутрислизистых карциномах (диаметр < 10 мм). Анализ частоты аллелей варианта опухоли показал, что мутация TP53 является исходным событием в TP53-мутированном внутрислизистом раке. Это исследование показало, что линейная эволюция low-grade в high-grade встречается редко, и что ранние мутационные события определяют эволюцию диспластических поражений. Ранние мутации APC приводят к low-grade, тогда как мутации TP53 приводят к high-grade, которые впоследствии прогрессируют до рака [151].

1.4 Эволюция здоровой слизистой оболочки в малигнизацию

В нормальном эпителии желудка популяции стволовых клеток дают начало эпителиальным клеткам, которые созревают, дифференцируются и мигрируют на поверхность [155]. Стволовые клетки желудка и кишечника имеют энтодермальное происхождение, из-за длительного хронического воспаления нарушается дифференцировка стволовых клеток желудка, в результате ткань слизистой оболочки желудка замещается метапластическим эпителием кишечного типа [228]. Хронический воспалительный процесс приводит к дальнейшему накоплению генетических повреждений в стволовых клетках, что в итоге приводит к дисплазии и раку. Было охарактеризовано несколько популяций стволовых клеток желудка, включая стволовые клетки Lgr5+ в антральном отделе взрослого, а также в теле и антральном отделе новорождённых, стволовые клетки Mist1+, обнаруженные в области перешейка желёз тела, и стволовые клетки Trov+, которые находятся в основании желёз тела [81, 181]. Примечательно, что разные области желудка имеют разные стволовые клетки, на основании эпидемиологических данных обнаружены гистологические и молекулярные подгруппы, это указывает на возможность заранее определить путь неопластической трансформации в конкретный рак. Так опухоли с микросателлитной нестабильностью чаще выявляются в теле и антральном отделе желудка, но редко в кардии [52].

Хотя стволовые клетки желудка могут быть кандидатами на роль опухолевых клеток, существует ещё один вероятный источник – клетки, происходящие из костного мозга. Они были идентифицированы в исследованиях мышинных моделей рака желудка, вызванного *Helicobacter pylori*. Стволовые клетки костномозгового происхождения при повреждении или воспалении могут мигрировать в периферические органы. Их дифференцировка и рост управляются сигналами локального микроокружения. Мезенхимальные стволовые клетки, выделенные из костного мозга, при смешивании их с метастатическими клетками карциномы молочной железы значительно увеличивают метастатический потенциал опухолевых клеток посредством стимуляции хемокина CCL5 *denovo*.

Учитывая их пластичность, было выдвинуто предположение, что стволовые клетки костного мозга могут участвовать в канцерогенезе желудка, если рак желудка связан с воспалением [21].

1.5 Современные представления о риске злокачественной трансформации при язве желудка

Язва желудка (ЯЖ) – распространённое в мире заболевание, частым осложнением и причиной госпитализации при котором является кровотечение [108]. У язвенной болезни и рака желудка общий этиологический фактор *Helicobacter pylori*, о риске злокачественных изменений при ЯЖ известно давно [109]. Но только у 15 %, инфицированных *Helicobacter pylori*, разовьётся язвенная болезнь, и лишь у 1 % – аденокарцинома [234]. В доступной литературе за последние пять лет частота выявления злокачественной трансформации при язвах желудка значительно варьирует от 2,4 % до 37,8% [55, 114]. В ряде исследований и в Российских клинических рекомендациях по диагностике и лечению язвы желудка сообщается о низкой частоте малигнизации при наблюдении за пациентами с ЯЖ [11, 55, 115], авторы связывают эту тенденцию с тем, что наиболее часто причиной ЯЖ является приём ульцерогенных препаратов, таких как нестероидные противовоспалительные средства и аспирин [115]. Исследователи предлагают не проводить контрольные эзофагогастродуоденоскопии пациентам, у которых исходно эндоскопическая и морфологическая картина соответствуют доброкачественной язве [92, 115], так как эта стратегия может снизить затраты на здравоохранение и избавить пациентов от инвазивного, неудобного исследования [115].

С другой стороны, есть исследования, в которых сообщается об увеличении количества выявления раннего рака желудка при проведении повторных эндоскопических исследований с биопсией краёв и дна заживающей язвы в 3 раза (экспериментальная группа 9 / 232 (3,88 %) и группа сравнения 3 / 281 (1,07 %)) и в 4 раза, 4,57 % против 1,07 %, $p < 0,05$ [55, 212]. Вероятно, контрольные

эндоскопические исследования уменьшают количество диагностических ошибок и являются главной причиной разброса данных о частоте злокачественной трансформации [109].

Расхождения в выводах исследований и мнениях исследователей нашли отражение в международных рекомендациях. В Великобритании согласно рекомендациям NICE (National Institute for Health and Clinical Excellence) необходимо выполнять повторную гастроскопию через 8 недель всем пациентам с язвой желудка, а вот Американское общество гастроинтестинальной эндоскопии, напротив, советует проводить эзофагогастродуоденоскопию только в отдельных клинических ситуациях, и ни в одном из руководящих указаний не говорится о необходимости проведения биопсии язвы желудка при эзофагогастродуоденоскопии или последующем наблюдении [109]. В нашей стране диспансерное наблюдение больных с язвой желудка рекомендуется проводить ежегодно в течение 5 лет с момента последнего обострения [11].

Хотя необходимость биопсии всех язв желудка до сих пор не признана международными рекомендациями, считается, что количество биоптатов, достаточное для диагностики рака и дисплазии, должно быть не менее 3 фрагментов (при этом чувствительность 95 %) при выявлении злокачественной трансформации [109, 188]. При получении 7 образцов чувствительность увеличивается до 100 % [109].

Selinger С. Р. с соавторами (2016) отмечают, что у язв с дисплазией отсутствуют эндоскопические признаки злокачественности. Поэтому при невозможности выполнения биопсии при первой ЭГДС её необходимо перенести, но обязательно выполнить при первой же возможности. Однако из-за того, что сама эндоскопическая диагностика является инвазивной, неудобной манипуляцией, пожилые пациенты с сопутствующими патологией плохо её переносят, отмечается высокий уровень неявок на контрольные исследования [109].

1.5.1 Возможности предикции развития рака желудка у больных с язвой желудка (клиническая картина)

Диагноз язвенной болезни основывается на клинической картине и эзофагогастродуоденоскопии с морфологическим исследованием биоптатов [11, 209]. Заключение о наличии дисплазии или малигнизации делается при гистологическом исследовании биоптатов, полученных из различных участков язвы [11]. Клинические признаки, симптомы при ЯЖ неспецифичны и могут встречаться при других заболеваниях [11, 209].

Типичным симптомом язвенной болезни являются жгучие боли в эпигастрии, боли могут иррадиировать вдоль грудины и грудной клетки вверх, в межлопаточную область, в лопаточную и надключичную области, в грудной или поясничный отдел позвоночника. А также боли могут возникать через 2–5 часов после еды или натощак. При локализации язвы в кардиальном отделе боли возникают сразу после еды, при локализации язвы в теле желудка – в течение часа после приёма пищи, при локализации язвы в препилорической области и в пилорическом канале боль появляется через 2–3 часа, после приёма пищи боли облегчаются, после приёма антисекреторных препаратов проходят [11, 200].

Характерная черта «язвенных» болей – локализация в эпигастрии по средней линии. При сборе анамнеза язвенную болезнь позволяют заподозрить следующие симптомы: эпизодические боли в эпигастрии, облегчение после приёма пищи и ночные пробуждения из-за боли. Однако у пожилых пациентов в 30 % случаев наблюдаются безболевые язвы [200].

Наряду с болевым синдромом могут быть сопутствующие симптомы, такие как отрыжка, изжога, тошнота, рвота, потеря аппетита, непереносимость жирной пищи, метеоризм, нарушение стула. Кроме диспепсических симптомов и нарушения стула для пациентов с язвенной болезнью характерно наличие признаков психического истощения, психической лабильности [8].

Характерной особенностью язвенной болезни является сезонность, появление болевого синдрома отмечается весной и осенью, это связывают с тем,

что симпатическая нервная система реагирует на изменения климата. Кроме того, обострение язвенной болезни может быть связано со стрессом, перенапряжением, приёмом нестероидных противовоспалительных средств и препаратов, снижающих свёртываемость крови, а также наблюдается при злоупотреблении алкоголем. При обострении язвенной болезни во время физикального обследования можно выявить локальную болезненность в эпигастральной области по средней линии, сочетающуюся с умеренной резистентностью мышц передней брюшной стенки [11].

Озлокачествление язвы желудка встречается в 2,4–37,8 % случаев [45, 55, 114], при этом отмечается утрата периодичности и сезонности обострений [11].

Около 80 % больных раком желудка на ранних стадиях не имеют симптомов [56]. Савицкий А. С. в 1951 году описал синдром «малых признаков», объединив начальные клинические проявления. В синдром включены следующие симптомы:

- быстрая утомляемость, общая немотивированная слабость;
- апатия, отчуждённость;
- анорексия – немотивированное снижение аппетита, отвращение к мясной пище;
- «желудочный дискомфорт» – ощущение переполнения желудка, чувство тяжести. Утрата чувства удовольствия от приёма пищи: больные становятся разборчивыми, «капризными» при выборе пищи;
- беспричинная потеря веса, сопровождающаяся анемией.

Однако потеря веса и анорексия предполагают наличие распространённого заболевания, при котором также отмечаются боли в эпигастрии, тошнота, рвота, быстрое насыщение, боль, мало зависящая от терапевтических мероприятий. Как правило, когда развиваются вышеперечисленные симптомы, заболевание уже является запущенным [26].

1.5.2 Факторы риска

К факторам риска, связанным в большей степени с развитием язвы желудка, осложненной кровотечением, относят прием НПВС и нервно-психические стрессы. Так нестероидные противовоспалительные препараты применяют во всём мире, их используют в качестве анальгетиков, жаропонижающих и противовоспалительных средств. Аспирин используется в низких дозах, как антиагрегантное средство. Нестероидные противовоспалительные препараты ингибируют продукцию простагландина E, уменьшают выработку бикарбонатов и слизи, влияют на повышение секреции пепсиногена и соляной кислоты, что приводит к эрозийно-язвенному повреждению слизистой желудка и двенадцатиперстной кишки. Эрозии и язвы на фоне приёма нестероидных противовоспалительных средств остаются безболевыми из-за анальгетического эффекта, и очень часто первым проявлением такого рода поражений является желудочно-кишечное кровотечение. Нестероидные противовоспалительные средства подавляют активность циклооксигеназы и синтез простагландинов. Ингибирование циклооксигеназы приводит к индукции апоптоза и ингибированию ангиогенеза, что обуславливает антиканцерогенный эффект при некоторых типах рака [47].

Множественные природные, социальные, биологические факторы способствуют возникновению психологических проблем, таких как нервно-психические стрессы, депрессия, суицидальные мысли, их считают важными факторами риска развития язвенной болезни. В 1998 году группа авторов из Японии опубликовали ретроспективное исследование, в котором они показали увеличение количества пациентов с язвами желудка, осложнёнными кровотечением, после землетрясения в Хансин-Авадзи [191, 225]. Считается, что у пациентов с депрессией активируется гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система, которая приводит к иммуновоспалительной реакции в слизистой оболочке желудка, а также оказывает влияние на моторику желудка. Кроме того, в состоянии стресса люди нерегулярно питаются и не следят за качеством

соединенной пищи. В связи с этим предполагается, что психологические проблемы тесно связаны с распространённостью язвенной болезни [202].

Согласно литературным данным точные механизмы неопластической трансформации пока не установлены, вероятно необходимо сочетание нескольких факторов: CagA-позитивного штамма *Helicobacter pylori*, генетической предрасположенности, образа жизни, диеты [21].

Потребление некрахмалистых овощей и фруктов защищает от рака желудка, так в Корее отмечено снижение риска возникновения рака желудка на 46 % при добавлении в диету лука и чеснока [77]. *Helicobacter pylori* вызывает интенсивную воспалительную реакцию, которая приводит к повреждению ДНК в результате производства активных форм кислорода и оксида азота. Овощи и фрукты содержат антиоксиданты: каротиноиды, витамин С, витамин Е и фенолы. Предположительно эти вещества удаляют мутагенные свободные радикалы и способствуют детоксикации. Поэтому потребление овощей и фруктов может противодействовать повреждению ДНК, а экстракт чеснока при регулярном употреблении обладает антимикробным действием на инфекцию *Helicobacter pylori* [14, 50, 70].

Антиоксидант бета-каротин содержится в свежих фруктах и овощах, он ингибирует окисление ДНК, РНК и предотвращает повреждение липидов в структуре клетки. А также, бета-каротин улучшает межклеточные связи, тем самым помогает контролировать рост предраковых клеток. В Китае было показано, что уровень бета-каротина отрицательно связан с заболеваемостью раком желудка [28].

В тоже время растительные продукты являются главным источником поступления в организм нитратов и нитритов, и если до 60-х годов прошлого века основной опасностью при использовании нитратов в качестве удобрений была метгемоглобинемия, то на сегодняшний день большее беспокойство вызывает их канцерогенный эффект на слизистую оболочку желудка. Нитраты всасываются в желудке, метаболизируются микрофлорой желудочно-кишечного тракта и, в зависимости от рН среды и питательных веществ, могут образовывать нитриты,

гидроксиламин, аммиак, оксиды азота. После всасывания нитраты секретируются слюнными железами и уже в слюне превращаются в нитриты. Попадая в желудок, нитриты взаимодействуют с аминами и с амидами, что приводит к синтезу высокотоксичных соединений нитрозаминов [18].

Из пищевых предпочтений избыточное потребление соли в виде вяленого, копченого, соленого мяса, рыбы, овощей считается фактором риска развития рака желудка и увеличения количества летальных исходов при язвенных поражениях желудка [214, 218]. И хотя проведенные исследования демонстрируют неоднозначные результаты, предполагается, что избыточное потребление поваренной соли приводит к воспалению, дегенеративным изменениям и изъязвлению слизистой оболочки желудка. А также избыточное употребление соленой пищи ассоциировано с увеличением инфицированности *Helicobacter pylori* [47, 31].

Риск неопластической трансформации увеличивается при преобладании в пище углеводов. Зерновые, крахмалистая пища повышают рН желудочного сока, это усиливает обсемененность слизистой оболочки желудка *Helicobacter pylori* [26].

К экзогенным факторам риска, способствующим неопластической трансформации желудка, относятся курение и употребление алкоголя. Риск коррелирует с частотой и продолжительностью курения сигарет. Почти в 5 раз увеличивается вероятность развития заболевания у людей, которые курят более 20 сигарет в сутки в течение 40 лет, и уменьшается при увеличении времени после прекращения курения ($P < 0,01$). А спустя 10 лет с момента отказа от курения риск заболеть раком желудка одинаков как в группе курильщиков, так и в группе некурящих [106, 154].

Что касается алкоголя, то связь между его употреблением и развитием рака желудка является биологически вероятной. Так в пиве суммарное содержание нитрозоаминов может достигать 12 мкг/л [18]. Кроме того, алкоголь стимулирует секрецию желудочного сока и моторику желудка. Употребление крепких спиртных напитков вызывает повреждение слизистой оболочки с одновременным

нарушением кровотока в сосудах желудка, снижением образования слизи, повышением активности противовоспалительных цитокинов. Почти в 5 раз увеличивается вероятность развития рака у людей, которые курят более 20 сигарет в день и употребляют алкоголь более двух раз в течение недели [43, 154].

При опросе чрезвычайно важно выяснить проходил ли больной когда-либо тестирование на наличие инфекции *Helicobacter pylori* (13С-дыхательный уреазный, фекальный или быстрый уреазный тест), так как именно *Helicobacter pylori* классифицирована Международным агентством по исследованию рака (МАИР) и подразделением Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), как канцероген I класса [42]. *Helicobacter pylori* является причиной хронического гастрита, причём особый интерес представляют штаммы положительные по гену А (*CagA*), у инфицированных пациентов развивается более выраженное воспаление с изъязвлением желудка [151]. Еще одним геном вирулентности *Helicobacter pylori* является вакуолизирующий цитотоксин, который вмешивается в активность Т-лимфоцитов, подавляет местный иммунитет и индуцирует апоптоз [21]. Хронический *Helicobacter*-гастрит способствует канцерогенезу через каскад Корреа: атрофические изменения слизистой оболочки желудка, кишечная метаплазия и дисплазия. Локализация язвы в желудке, как правило, соответствует расположению атрофии функционального слоя. Язва может располагаться не только в антральном отделе, но и в теле желудка при пангастрите [117].

В то же время, одной инфекции недостаточно для запуска канцерогенеза, так как из 100 % инфицированных *Helicobacter pylori* только у 1 % развивается аденокарцинома. Процент выявленных случаев рака желудка увеличивается с возрастом, достигая пика в интервале от 50 до 70 лет. Рак желудка в России относится к заболеваниям, формирующим основной объём контингента больных со злокачественными новообразованиями, причём 35,9 % – это пациенты трудоспособного возраста. Большинство смертей регистрируется в возрастной группе 55–75 лет. В России в 2018 году летальность на первом году жизни с момента установления диагноза «рак желудка» составила 47,4 %.

Распространённость рака желудка в пожилом возрасте исследователи связывают с накоплением соматических мутаций [32, 255]. Увеличение продолжительности жизни означает, что риск развития рака также возрастает. По прогнозам смертность от рака во всём мире будет продолжать расти, и в 2030 году достигнет 12 миллионов смертей в год [255].

Дальнейшие исследования, направленные на выявления факторов риска развития рака желудка, привели к выводу, что реакция на *Helicobacter pylori* и последующий характер воспаления зависит от генотипа пациента, изучение полиморфных вариантов в ДНК различных генов, как факторов, увеличивающих или снижающих риск развития заболеваний сегодня активно исследуются. Основное отличие между полиморфизмом и мутацией состоит в последующих изменениях ДНК. Полиморфизм не приводит к значительным проблемам генной экспрессии, он является причиной отличий (разный обмен веществ, ферменты, белки, подверженность заболеваниям). Полиморфизм совместим с жизнью и эффективным функционированием генома.

Генетические полиморфизмы связанные с риском развития рака желудка влияют на процессы защиты слизистой оболочки, осуществления противодействия воздействию канцерогенов, воспалительной реакции в ответ на *Helicobacter pylori*, репарации и пролиферации клеток [21].

Среди всех полиморфизмов наиболее полно исследовались варианты про- и противовоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин-1 (IL-1), интерлейкин-8 (IL-8) и интерлейкин-10 (IL-10), и фактор некроза опухоли (TNF- α). Ген, кодирующий TNF- α , находится в области гена III антигена лейкоцитов (HLA) хромосомы 6, между HLA-B и HLA-DR. TNF- α вырабатывается мононуклеарными макрофагами, Т-клетками и тучными клетками. В норме TNF- α регулирует иммунологические и метаболические функции организма, играет важную роль в защите хозяина от инфекционных заболеваний, однако его избыточная продукция может привести к выраженному воспалительному ответу, который способен влиять на развитие рака [234]. Так в Китае в 2016 году было проведено исследование; в него включили 47 семей, у членов которых был

выявлен рак желудка. В результате исследования установлено, что генотипы AA и GA ассоциированы с риском развития рака желудка [103].

Семейство генов IL-1 расположено на хромосоме 2q13-14, кодирует белки IL-1 α , IL-1 β и их природный ингибитор IL-1RN [252]. Интерлейкин-1 β (IL-1 β) – цитокин с молекулярной массой 17,5 кДа – продуцируется моноцитами и тканевыми макрофагами. IL-1 β является ключевым провоспалительным цитокином, он регулирует экспрессию нескольких генов, играет важную роль в инициации и усилении воспалительной реакции. Гиперпродукция IL-1 β ингибирует секрецию соляной кислоты, способствует адгезии и колонизации *Helicobacter pylori* в слизистой оболочке, что приводит к потере желёз и к развитию атрофического гастрита. Несколько полиморфизмов IL-1 β связаны с риском рака желудка. Метаанализ проведённый 2017 году группой китайских исследователей показал, что генотип IL-1B-31TT часто встречается у пациентов инфицированных *Helicobacter pylori*, а полиморфизм гена IL-1B-511-C/T ассоциирован с язвенной болезнью и раком желудка [221].

Ген IL-8 расположен в регионе 13q-21q 4-й хромосомы. Однонуклеотидный полиморфизм TA в -251 (T-251A, rs4073) области промотора связан с увеличением продукции IL-8. Инфекция *Helicobacter pylori* стимулирует экспрессию гена IL-8 и повышает уровень одноимённого цитокина в эпителиальных клетках желудка. IL-8 усиливает пролиферацию, миграцию клеток, действует, как хемоаттрактант для «проопухолевых» нейтрофилов, которые создают микроокружение и способствуют канцерогенезу. Ramis I. В соавторах полагает, что генотипы AA и TA в -251 IL8 связаны с риском развития язвенной болезни, атрофического гастрита и рака желудка у пациентов с *Helicobacter pylori* [64, 51].

IL-10 представляет собой многофункциональный противовоспалительный цитокин, который подавляет клеточно-опосредованный иммунный ответ и цитотоксические воспалительные реакции. Ген, кодирующий IL-10, расположен на хромосоме 1 в регионе 31q-32q. Сообщалось о двух одиночных нуклеотидных полиморфизмах: rs1800871 (-819C > T) и rs1800872 (-592C > A), в области

промотора гена IL-10, которые связаны с низкой продукцией одноимённого цитокина. Низкая продукция IL-10 сопряжена с увеличением интенсивности воспаления слизистой оболочки желудка и повышенным риском развития рака у пациентов, инфицированных *Helicobacter pylori* [90, 142, 195].

Варианты белков организма могут выступать в роли факторов, определяющих риск развития заболевания, взаимодействие между генными продуктами и полиморфизмами в сочетании с факторами окружающей среды, и могут содержать ключ к пониманию уровня риска в популяции [21].

Известно, что язвенные формы раннего рака желудка протекают более агрессивно, нежели приподнятые [230]. А ранняя диагностика рака желудка улучшает прогноз и 5-летнюю выживаемость до 90 % [212]. В связи с этим необходимо знать, что с увеличением размера язвенного дефекта увеличивается вероятность того, что это поражение со злокачественной трансформацией, так у больных с язвами 3,0 см и больше частота выявления рака достигла 37,8 % [114]. Следовательно, необходимо иметь четкое представление о предраковых и неопластических поражениях желудка на уровне визуальной оценки.

1.5.3 Возможности диагностики

В клинической практике в план обследования при неясном характере язвенного поражения желудка обязательно включают лучевые методы диагностики.

Рентгенологический метод при язвенном поражении не всегда имеет строгую необходимость, его проведение рекомендовано больным, которым невозможно выполнение эзофагогастродуоденоскопии [11].

Первым рентгенологическим симптомом при неопластической трансформации поражения является локальное утолщение, которое соответствует зоне инфильтрации. Зона инфильтрации, как правило, плоская или несколько углубленная, имеет неровные края, не ограничена от здоровой слизистой

оболочки. Складки могут конвергировать к пораженному участку или обрываться у его краев. К признакам, вызывающим настороженность, также относят асимметрию инфильтративного вала, отсутствие складок слизистой оболочки непосредственно у изъязвления, сама язвенная ниша имеет неровные контуры и погружена в утолщенную инфильтрированную стенку. При доброкачественной язве длинник оси перпендикулярен оси желудка, а в случае злокачественной трансформации длинник язвенного кратера параллелен оси желудка. Немаловажное значение имеет локализация; язвы и рак кишечного типа локализуются, как правило, в препилорическом и пилорическом отделах [26].

Характерными признаками доброкачественной язвы являются: ограниченность процесса, четкие контуры, симметричность воспалительного вала [16].

Компьютерную томографию (КТ) при язве желудка в основном используют при подозрении на перфорацию, а при подозрении на неопластическую трансформацию можно оценить местное распространение (категория T). При внутривенном введении контрастного вещества желудочная стенка приобретает вид трехслойной структуры. Внутренний слой имеет толщину 1–3 мм, интенсивно накапливает контрастное вещество и соответствует слизистой оболочке. Средний слой гиподенсный соответствует подслизистой оболочке. Наружный слой менее интенсивно, чем внутренний, накапливает контрастное вещество, толщина его 2–4 мм и соответствует мышечному, субсерозному и серозному слоям. Структура неоплазии в стенке характеризуется неоднородностью за счет расположенных хаотично участков разной плотности в портальную и в артериальную фазы исследования; обнаруживается нарушение слоистости [13].

Характерными КТ-признаками доброкачественной язвы являются ровные четкие контуры, ограниченное утолщение стенки, которое не превышает 8 мм. Для язвы с неопластической трансформацией характерно утолщение стенки 1,5–2,0 см.

При динамическом наблюдении в случае доброкачественной язвы в месте поражения отмечается полное восстановление послойного строения стенки, исчезновение инфильтрата и дефекта. При неопластическом процессе

наблюдается увеличение размера инфильтрата даже после рубцевания язвенного дефекта [16].

Во многих странах рак желудка при гастроскопии диагностируется как правило на поздних стадиях. На долю рака желудка I стадии в 2018 году в России пришлось 12,4 % [32]. Лидеры гибкой внутрисветной эндоскопии – специалисты из Японии, где более 60 % рака желудка выявляется на ранней стадии, рекомендуют для диагностики использовать усовершенствованное эндоскопическое оборудование, которое даёт возможность увеличивать изображение и проводить осмотр капилляров слизистой оболочки желудка в режиме узкого спектра. Обязательна подготовка желудка к исследованию, которая позволяет удалить пенистую слизь с поверхности слизистой оболочки. С этой целью за тридцать минут до процедуры пациенты принимают смесь воды с муколитическими препаратами и пеногасителями. Для решения проблемы «слепых зон» во время самой гастроскопии просвет желудка в достаточной мере раздувают путём инсуффляции воздуха, остатки пенистой слизи смывают путём подачи воды через инструментальный канал, а также производят серию фотографий. Всего в серию входит 22 эндоскопические фотографии – это минимальный требуемый стандарт. При осмотре самой слизистой оболочки желудка необходимо определить наличия факторов риска развития рака, таких как гастрит, ассоциированный с *Helicobacter pylori*, атрофический гастрит и кишечная метаплазия. Обращают внимание на видимые сосуды, сглаженность складок, диффузную гиперемию, отёк, зернистость. Обнаруженные при эндоскопии поражения разделяют на три типа: гастритоподобные (0-IIa, 0-IIb, 0-IIc), язвенные (0-III) и полипоидные (0-I) [76]. При осмотре подозрительных по неопластической трансформации поражений обращают внимание на наличие гиперемии, её симметричность, обязательно отмечают наличие спонтанной кровоточивости, измеряют размеры поражения и указывают, какова поверхность неоплазии. С целью повышения информативности эндоскопического исследования используют метод узкоспектральной визуализации, который позволяет оценить структуру поверхности слизистой оболочки в области

поражения и вокруг неё, рассмотреть микрососудистый рисунок, и определить границу неоплазии [224]. А также активно интегрируется в эндоскопию искусственный интеллект. Гастроскопия с помощью искусственного интеллекта основана на компьютерных алгоритмах, которые работают как человеческий мозг. Основопологающим принципом этой технологии является «машинное обучение», которое выступает как общий термин для обучения компьютерных алгоритмов распознаванию закономерностей в данных. Он компенсирует ошибки и ограниченные возможности людей, обеспечивает большую точность. Искусственный интеллект обладает потенциалом для улучшения качества исследований, уже сегодня его используют для прогнозирования наличия инфекции *Helicobacter pylori*, для проведения дифференциальной диагностики между доброкачественными поражениями и ранним раком, для оценки глубины инвазии [119].

У пациентов с определяемым поражением производят биопсию, её выполняют прицельно, важно получить достаточное количество ткани. Для этого используют: щипцы с гигантскими браншами, резекцию слизистой, а для более точного прицеливания: хромоскопию, узкоспектральную визуализацию, ультрасонографию. Немаловажно количество фрагментов, в ранних исследованиях рекомендовалось 6–10 фрагментов [71], однако многие пациенты принимают антиагрегантные или антикоагулянтные препараты для профилактики, или лечения сердечно-сосудистых заболеваний, по этой причине, забор большого количества фрагментов при биопсии может привести к кровотечению [242].

В отличие от запущенного рака, который легко обнаружить во время эндоскопического исследования, дисплазия и ранний рак желудка часто проявляются в виде тонких деликатных изменений на поверхности слизистой оболочки. Чтобы не пропустить их при эндоскопии, необходимо проводить осмотр тщательно и хорошо знать их визуальные характеристики. Наиболее распространенным типом таких поражений является тип с депрессией (Ic и II) обнаруживается более чем в 70 % случаев [89, 159, 197]:

- тип Пс – слегка углубленное поражение; характеризуется слегка углубленным поверхностным изъязвлением или эрозией, западение ниже уровня окружающей слизистой оболочки не более чем на 0,5 мм;

- тип III – углубленный; язвенный, с деструкцией стенки глубиной более 0,5 мм [26].

При проведении эндоскопического осмотра в белом свете обращают внимание на незначительные изменения цвета слизистой оболочки (гиперемию или бледность), отсутствие характерного сосудистого рисунка, истончение и разрывы складок слизистой оболочки, а также спонтанное кровотечение. Если обнаружено поражение, то после небольшой десуффляции просвета определяют эластичность стенки желудка и локальное уплотнение. Затем производят инсуффляцию и измеряют размер поражения, глубину дефекта. Плоские, углубленные формы поражений имеют вид отграниченного утолщения слизистой оболочки с поверхностным изъязвлением с несколько утолщёнными краями [250].

Доброкачественные язвы располагаются на визуально неизменной слизистой оболочке, имеют округлую или овальную форму, ровные края и симметричный воспалительный вал [16].

Для улучшения визуализации деликатных изменений слизистой оболочки широко используют хромоэндоскопию, обычно 0,1 %-ый раствор индигокармина распыляется через инструментальный канал или катетер над зоной интереса, краситель стараются широко распылить на окружающую поражение слизистой оболочку. Поражения диагностируют путем сравнения с окружающей слизистой оболочкой. Краситель, растекаясь по поверхности слизистой, скапливается в складках и углублениях, эрозиях, язвах, тем самым контрастируя рельеф. Однако если поражение имеет незначительные изменения цвета или небольшие различия в глубине, то распыление индигокармина может затруднить верификацию [4].

Для диагностики деликатных изменений слизистой оболочки желудка используется узкоспектральная эндоскопия (Narrow Band Image – NBI). Узкоспектральная визуализация является оптической цифровой технологией, которая позволяет улучшить изображение, усилить видимость поверхностно

расположенных сосудов в толще слизистой оболочки за счёт узкополосного света, спектр которого состоит из синего света с длиной волны 415 нм и зеленого света с длиной волны 540 нм. Они хорошо поглощаются гемоглобином. При осмотре с увеличением и узкоспектральной визуализацией (M-NBI) можно верифицировать микрососудистые структуры и рисунок микроповерхности слизистой оболочки желудка. На основе этих паттернов, локализованных в пределах демаркационной линии, Yao K. с соавторами (2009) создали диагностическую систему рака желудка, которая была названа классификацией Vessels and surface (сосуды и поверхность). Этот метод при интерпретации эндоскопических данных использует следующие анатомические термины: микрососудистый рисунок (субэпителиальный капилляр, собирательные вены, патологические микрососуды) и микроповерхность (маргинальный эпителий крипт, открытые ямки крипт эпителия, промежуточная часть между ямками эпителия). Микрососудистые структуры и рисунок микроповерхности целесообразно анализировать независимо друг от друга.

Различают 3 типа микрососудистых структур:

- 1) регулярный: капилляры одинаковой формы и размера, могут быть с открытыми петлями или закрытыми; расположены симметрично, регулярно;
- 2) нерегулярный: сосуды различаются по форме, могут быть закрытые (полигональные) или разомкнутые петли, извилистые, ветвистые, причудливой формы, с сеткой или без нее. Размер сосудов неоднородный, расположение неправильное и асимметричное;
- 3) отсутствие микрососудистого рисунка: рисунок микрососудов не виден из-за наличия белого непрозрачного налета (WOS – white opaque substance) на поверхностной части слизистой оболочки.

Различают 3 типа рисунка микроповерхности:

- 1) регулярный: морфология эпителия крипты представлена однородной изогнутой/линейной/круглой/овальной структурой. Ширина и длина крипт постоянна. Расположение правильное и симметричное;

2) нерегулярный: морфология крипты представлена неправильной тубулярной/виллезной/овальной/круглой/линейной структурой. Длина и ширина крипт неоднородна. Расположение неправильное, распределение ассиметричное. В присутствии WOS определяется его ассиметричное распределение в пятнистом/сетчатом рисунке;

3) отсутствие: ни эпителиальная структура, ни WOS не определяются [247].

Эта классификация доказала свою эффективность в реальной клинической практике при дифференциальной диагностике раннего рака желудка и доброкачественных изменений. Проспективное рандомизированное контролируемое исследование, в котором изучалась дифференциальная диагностика раннего рака желудка с депрессией и доброкачественные поражения с депрессией размером менее 1 см, показало, что точность при осмотре с увеличением и узкоспектральной визуализацией (M-NBI) выше, чем при традиционной эндоскопии в белом свете; M-NBI показал чувствительность и специфичность более 95 %. M-NBI и классификация Vessels and surface позволяют сократить количество ненужных биопсий [158].

Однако метод M-NBI имеет свои ограничения, а именно при локализации неопластических изменений на уровне шейки железы внутри собственной пластинки слизистой оболочки поверхность неоплазии остается покрытой нормальным эпителием. В этих ситуациях M-NBI не выявит характерных паттернов [250].

Последние годы в клинической практике при подозрении на неопластическую трансформацию поражения все чаще применяется эндоскопическая ультрасонография, для проведения исследования используют ультразвуковой сканер, видеопроцессор, УЗ-эндоскоп. Эхоэндоскоп после проведения в желудок позиционируется напротив поражения, затем выполняют десуффляцию и заполняют просвет желудка дистиллированной водой в объеме 400 мл. При локализации поражения в антральном отделе датчик закрывают баллоном, затем заполняют баллон водой для создания фокусного расстояния

равного 2 см. Сканирование проводится с частотой 7,5 МГц, 12 МГц. Измеряют размер поражения, оценивают васкуляризацию. Данный метод применяют при дисплазии и раннем раке желудка, он позволяет планировать органосохранное эндоскопическое лечение. Чаще всего его используют при поражениях I, IIa–b типа, в случаях поражений с депрессией; при незначительной инвазии в подслизистую оболочку и поражениях, расположенных в верхней трети желудка возможности метода ограничены [27, 243, 250].

Эхо картина при доброкачественной язве характеризуется локализацией язвенной ямки в проекции первого или второго слоя, при этом контуры ниши ровные, четкие, а также дифференцируются все слои стенки на периферии воспалительного инфильтрата. Главным критерием в диагностике доброкачественной язвы является протяженность, толщина, симметричность околоязвенного инфильтрата.

Не смотря на все современные возможности инструментальных методов диагностики, ошибки в интерпретации визуальной картины язвы достигают 12 %, и пока только гистологическое исследование ставит точку в диагностике [16]. Активно используются цитологические методы, так исследование мазков значительно улучшает и обогащает гистологическую диагностику. К тому же все заключения при использовании цитологического метода возможно получить в течение двух дней.

Согласно данным литературы, клетки при злокачественной трансформации не имеют специфических цитохимических и морфологических признаков, но, опираясь на комплекс цитологических критериев атипии, с высокой степенью достоверности можно проводить дифференциальную диагностику между доброкачественной патологией и неопластической [34]. Для картины воспаления характерно преобладание элементов воспалительного экссудата (лимфоидные элементы, плазматические клетки, лейкоциты нейтрофильные), могут присутствовать клеточный детрит (часто при эрозиях) и микроорганизмы. В самих клетках ткани, где развилось воспаление, определяются гиперпластические изменения, которые отражают регенерацию эпителия. При хроническом гастрите

видны клетки, напоминающие бокаловидные (кишечная метаплазия), не редко отмечают неоднородность цитоплазмы и пикноз ядер, что является признаком дистрофических изменений.

Цитологическая картина при язве содержит некротические обломки, обнаруживаются эритроциты, макрофаги с гемосидерином, характерно скопление эпителиоцитов расположенных «бок о бок». Сами эпителиальные клетки имеют полигональную форму и непрозрачную цитоплазму, их ядра увеличены, темные, могут содержать несколько ядрышек различного размера. Кишечная метаплазия сочетается с хроническим гастритом, составляет основу пептического изъязвления.

В случаях развития внутриэпителиальной неоплазии (ВЭН) выявляется клеточная атипия, дезорганизация структуры, нарушение дифференцировки, кроме того, в ВЭН выделяют две степени: к первой относят дисплазию легкой степени, а ко второй – умеренную, тяжелую дисплазию и рак без инвазии.

При ВЭН лёгкой степени желудочные ямки удлинены, сами клетки имеют цилиндрическую или кубическую форму, ядра гомогенные, округлой или вытянутой формы, хроматин зернистый, ядрышки мелкие.

При ВЭН тяжёлой степени может обнаруживаться дисплазия умеренной степени, при которой клетки и ядра крупные, полиморфные, увеличено ядерно-цитоплазматическое соотношение, умеренный гиперхроматоз ядер, подчёркнута ядерная оболочка, появляются митозы.

Цитологическая картина дисплазии тяжёлой степени и карциномы без инвазии похожи, поэтому проводить дифференциальную диагностику сложно; ключ кроется в степени выраженности морфологических изменений ядер (тёмное ядро, полиморфизм, полярность ядер отсутствует).

При раке цитологическая картина часто содержит элементы некроза и воспаления. Мазок многоклеточный, клетки варьируют от цилиндрической формы до полиморфной; формируют «толстые» комплексы. Цитоплазма в клетках расположена «апикально», ядро – «базально». В ядрах бледный

мелкокозернистый хроматин, размер и число ядрышек разнообразное. Часто обнаруживаются гигантские многоядерные клетки рака, «голые ядра» [34].

Морфологически большинство ранних раков желудка – это дифференцированные аденокарциномы. Преимущественно неоплазии тубулярного типа (93%), реже папиллярного. Муцинозная аденокарцинома встречается в 1 % от всех ранних раков желудка. Перстневидноклеточный рак и низкодифференцированная аденокарцинома составляют 5 % и 30 % случаев, и обычно это углублённый или язвенные типы (II с или III) [20].

На фоне рака кишечного типа в желудке, как правило, присутствуют: атрофический гастрит, кишечная метаплазия и дисплазия. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) определяет дисплазию эпителия слизистой оболочки желудка по трём признакам – это клеточная атипия, нарушение дифференцировки клеток, структурные аномалии. Более подробно критерии дисплазии охарактеризовал Т. Nagayo, разделив изменения на три степени (легкая, средняя, тяжелая):

1) Клеточная атипия. Ядра эпителиальных клеток гиперхромные, вытянутые, расположены близко друг к другу, увеличено ядерно-цитоплазматическое соотношение; обнаруживается полиморфизм ядер; изменения полярности.

2) Нарушение дифференцировки (уменьшение секреции муцина и изменения продолжительности жизни клетки).

3) Нарушение строения слизистой оболочки: потеря гладкости поверхности слизистой оболочки, удлинение, ветвление, расширение ямок, расширение желёз; повреждение собственной мышечной пластинки.

От того насколько выражены вышеописанные изменения выделяли лёгкую, умеренную или тяжелую степень дисплазии [183].

Дисплазия лёгкой степени часто связана с воспалением и усилением клеточного обновления. При легкой степени отмечается регулярное распределение крипт без сильного ветвления, почкования или заметного скопления желез; клетки высокие столбчатые с плотными веретеновидными

гиперхромными ядрами, обильной цитоплазмой и редкими митотическими фигурами.

Дисплазия умеренной степени не имеет чётких морфологических критериев, из-за чего происходит большое количество разночтений одного и того же гистологического материала. При умеренной степени дисплазии железы расположены тесно, обнаруживается удлинение и ветвление желез. Гиперхроматоз и анизокариоз ядер, псевдостратификация.

Для дисплазии тяжёлой степени характерны дезорганизация структур слизистой оболочки; вариабельность формы клеток; ядра сильно увеличены, округлой формы; отмечается гиперхроматоз, митозы; заметно увеличенно ядерно-цитоплазматическое соотношение; потеря ядерной полярности. Количество желез увеличено, форма их вариабельна, расположены железы близко друг к другу [22, 34].

В 5-м издании классификации новообразований пищеварительной системы ВОЗ приводятся две степени дисплазии low-grade и high-grade [223]. К low-grade относят дисплазию легкой степени, к high-grade – дисплазию тяжёлой степени и карциному без инвазии. Low-grade регрессирует в 53,3 % случаев, персистирует в 31,1 %, трансформируется в high-grade в 6,6 %, а в аденокарциному 8,8 % случаев. High-grade трансформируется в инвазивный рак в 69–75 % [22, 129, 130].

Регрессию дисплазии при low-grade ставят, если:

а) имеются два отрицательных результата эзофагогастродуоденоскопии с биопсией;

б) срок наблюдения не менее 12 месяцев с первого отрицательного морфологического исследования биопсийного материала [22].

Одной из главных задач, которые стоят перед современным специалистом гистологом, является проведение дифференциальной диагностики между дисплазией высокой степени и ранним раком. Задача осложняется тем, что существуют различия в интерпретации неопластических поражений желудка европейскими и японскими патологоанатомами, а существующие публикации в большинстве своём посвящены раку желудка [19].

Есть сообщения о том, что с помощью иммуногистохимического исследования возможно проводить дифференциальную диагностику. Так уровень экспрессии транскрипционного фактора белка p53 повышается при нарушении дифференцировки эпителия и, вместе с антиапоптотическим белком bcl-2, может обнаруживаться в периульцерозной области, детерминируя процессы апоптоза. Одновременно с высоким индексом пролиферации Ki-67 они приводят к нарушению процессов обновления и дифференцировки клеток эпителия слизистой оболочки желудка в околоживной зоне.

Среди биологических маркеров, тестируемых в качестве вероятных предикторов рака желудка, рассматривают ген p53, который является геном-супрессором и регулирует клеточный цикл. Инфекция *Helicobacter pylori* участвует в мутагенезе p53 у пациентов с кишечной метаплазией и дисплазией. Ген p53 активируется при повреждении ДНК. Это приводит к остановке клеточного цикла в G1-фазе и восстановлению повреждённой ДНК или апоптозу клетки. Если ген p53 повреждён, он может позволить клетке перейти от нормального к неконтролируемому росту, что приводит к онкогенезу. Белок p53 дикого типа имеет очень короткий период полураспада, около 5–20 минут, и не накапливается внутри клеток. Однако повреждённый ген p53 может вызвать выработку белка с длительным периодом полураспада, который остаётся в клетке в течение продолжительного времени.

В исследовании M. Fassan et al. (2014) продемонстрировал релевантную роль TP53 в прогрессировании до инвазивного фенотипа [128]. В шести из девяти поражений, где рак желудка сосуществовал с неоплазией высокой степени, был мутирован ген-онкосупрессор TP53, и сверхэкспрессия TP53 увеличивалась по мере прогрессирования предракового поражения в независимом наборе из 75 образцов биопсии. Восемь из девяти мутантных случаев TP53 показали сильную ядерную иммунореакцию p53. Интересно, что p53-отрицательный образец представлял собой мутацию R196stop, которая также предполагает одновременную потерю комплементарного аллеля.

Имеющиеся данные указывают на вовлечение дисрегуляции p53 в гастроканцерогенез кишечного типа и подтверждают клиническое использование иммуногистохимической оценки p53 в качестве суррогата соматической мутации TP53 в случаях неоплазии высокой степени для выявления склонных к раку случаев дисплазии желудка, которые требуют более тщательного наблюдения или агрессивной терапии. Известный факт, что не все случаи мутации TP53 являются p53 иммуногистохимически положительными из-за недостаточной экспрессии мутированного белка и потери нормального аллеля, поэтому предполагается сначала выполнение иммуногистохимического окрашивания и в случае получения отрицательного результата, проверка мутационного статуса TP53 в клинических условиях.

Другим маркером, участвующим в прогрессировании рака, считают антиген Ki-67. Клетки экспрессируют Ki-67 во время фаз G1, S, G2 и M. Экспрессия Ki-67 увеличивается во многих опухолях. Считается, что индекс пролиферации Ki-67 повышается на всех этапах гастроканцерогенеза, включая промежуточные стадии: кишечную метаплазию и дисплазию [134].

Однако, несмотря на растущее понимание генетических и эпигенетических событий, предшествующих раку желудка, до сих пор отсутствуют неинвазивные методы и надёжные биомаркеры для ранней его идентификации. С продолжающейся технической революцией есть надежда найти подходящий способ решить эту задачу. Некодирующие РНК и, в частности, микроРНК уже более 10 лет находятся на «арене исследования рака» и рассматриваются как биомаркеры, которые могут помочь в дифференциальной диагностике дисплазии и раннего рака [157].

МикроРНК – это одноцепочечные РНК, имеющие длину от 21 до 25 нуклеотидов и обладающие способностью регулировать экспрессию генов путём гибридизации с 3'-нетранслируемой областью специфических мессенджеров РНК-мишеней [131]. МикроРНК регулирует все процессы жизнедеятельности клетки, включая дифференцировку клеток, клеточный цикл и апоптоз. Дерегуляция микроРНК может влиять на канцерогенез, сверхэкспрессия

онко-миРНК обеспечивает активизацию онкогенов и их мишеней, а избыточная экспрессия опухолевой супрессорной микроРНК ограничивает транскрипцию генов, связанных с канцерогенезом, делением клеток, миграцией, инвазией и метастазированием. Так в связи с двойной ролью микроРНК в раке были предприняты попытки установить корреляцию с заболеванием, используя несколько профилей микроРНК, а не делать это с отдельными микроРНК [254]. Важно, что уровни экспрессии микроРНК различаются между клетками тканей и новообразований, а неоплазии разной локализации и морфологии имеют специфический профиль. МикроРНК стабильны и легко извлекаются из различных биологических материалов, включая ткани, кровь, кал, слюну, асцитическую жидкость и даже парафиновые блоки [78]. Благодаря этим свойствам микроРНК обладают огромным потенциалом в качестве биомаркеров и в последнее время активно исследуются [157].

Также микроРНК выделяют среди прочих эпигенетических механизмов регуляции воспаления и рассматривают возможность их использования в качестве предикторов злокачественной трансформации. Важно изучить и охарактеризовать изменения экспрессии микроРНК у пациентов с атрофическим гастритом, язвенной болезнью, кишечной метаплазией и дисплазией.

Инфекция *Helicobacter pylori* приобретает в детстве, и в зрелом возрасте у инфицированных людей развивается гастрит. Включается непрерывный и прогрессирующий процесс хронического воспаления, инициируемый неатрофическим гастритом в последующем с мультифокальной атрофией слизистой оболочки желудка, кишечной метаплазией и дисплазией. Ряд исследователей отмечают связь между прогрессированием предраковых поражений слизистой оболочки желудка и изменением экспрессии различных микроРНК [79]. Так A. Link с соавторами (2015) продемонстрировал, что экспрессия микроРНК-155 и микроРНК-223 постепенно увеличивается при прогрессировании поражений слизистой оболочки желудка [78]. Несмотря на то, что описаны гистологические особенности при каждой стадии воспаления, молекулярные механизмы переходов не изучены. Было показано, что уровень

провоспалительных цитокинов IL1 β , IL6, IL8 и TNF α положительно коррелирует с выраженностью хронического гастрита, но эта связь исчезает при наличии атрофии слизистой оболочки желудка. Важно отметить обратную корреляцию уровня этих провоспалительных цитокинов и экспрессии некоторых микроРНК в слизистой оболочке желудка. Например, определяется обратная корреляция между МикроРНК let-7b и уровнем IL1 β , микроРНК-103 с IL6 ($-0,612$, $p < 0,005$), микроРНК-375 с IL8 ($-0,469$; $p < 0,05$) и микроРНК-200a с TNF α ($-0,606$; $p < 0,005$). Профиль нескольких микроРНК был связан со снижением всех воспалительных цитокинов, что указывает на общий механизм контроля экспрессии этих медиаторов воспаления[143]. Роль *Helicobacter pylori* пока не установлена. Возможно, наличие инфекции сокращает время появления неопластических поражений эпителия. Тем не менее, даже после эрадикационной терапии в течение семидневного периода уровни онкогенных микроРНК, включая микроРНК-21, -25 и -93, не изменялись. А уровни микроРНК – супрессоров опухоли, в том числе let-7 и -204, после эрадикации повышались [118]. Эти результаты свидетельствуют о том, что даже после лечения инфекции повреждающее воздействия на слизистую продолжается и приводит к злокачественной трансформации. Значения некоторых микроРНК меняются при инфицировании слизистой оболочки желудка *Helicobacter pylori* и демонстрируют связь с язвенной болезнью, каскадом Корреа и развитием MALT-лимфомы. Уровни микроРНК-150, -550, -124a, -518b и -539 изменяются в ответ на инфильтрацию лимфоцитов в присутствие хеликобактерной инфекции [73]. Таким образом возникло предположение, что микроРНК могут модулировать пути, связанные с дифференциальными исходами в ответ на общий триггер. Это поддерживает концепцию универсальности ответов микроРНК [78].

При формировании язвы, рецидиве язвенной болезни и раке желудка замечено изменение уровня микроРНК-204, которая регулирует экспрессию матриксной металлопротеиназы-9 (ММР-9). В свою очередь матриксная металлопротеиназа-9 активируется в эпителиальных клетках желудка, инфицированных *Helicobacter pylori*, а также экспрессия ММР-9 повышается в

крае язвенного дефекта. По данным S. L. Li с соавторами (2013) определяется 12-кратное увеличение экспрессии матриксной металлопротеиназы-9 в крае индуцированной индометацином язвы по сравнению со здоровой слизистой [138]. Сверхэкспрессия MMP-9 влияет на регенерацию эпителия, препятствует заживлению язвенных дефектов и способствует развитию рака посредством разрушения внеклеточного матрикса. Прослеживается связь между повышением уровня матриксной металлопротеиназы-9 и начальным этапом инвазии рака желудка [98]. Считается, что MMP-9 способствует воспалению, ремоделированию тканей [196]. Экспрессия микроРНК-204 при раке желудка снижается, что влияет на пролиферацию, апоптоз и способствует прогрессированию поражения при злокачественной трансформации. Мишенями микроРНК-204 являются: ubiquitin specific peptidase 47 (USP47), member RAS oncogene family (RAB22A), SRY-box transcription factor 4 (SOX4), transient receptor potential cation channel subfamily M member 3 (TRPM3), Sirtuin 1 (SIRT1), BCL2 apoptosis regulator (Bcl-2) 96 [156].

Консенсусом «Маастрихт-4» рекомендовано определение концентрации маркеров атрофии в сыворотке крови, этими биомаркерами являются пепсиноген 1 и пепсиноген 2 [7]. Измерение сывороточных пепсиногенов и определение их соотношения считается эффективным методом идентификации пациентов с высоким риском рака желудка. Пепсиноген 1 вырабатывает главные клетки дна и тела желудка. Пепсиноген 2 секретируется муцинообразующими клетками тела, кардиального и пилорического отдела желудка, а также бруннеровыми железами. Прогрессирующие атрофические изменения слизистой оболочки желудка приводят к снижению уровня пепсиногена 1 и соотношения пепсиногена 1 к пепсиногену 2. Однако прогностическая ценность пепсиногенов как биомаркеров снижается после эрадикации *Helicobacter pylori* [216]. А развитие рака зависит от наличия выраженных атрофических изменений слизистой оболочки желудка, и риск сохраняется даже после успешной ликвидации инфекции. Akiko Shiotani с соавторами (2013) продемонстрировали, что сывороточные микроРНК превосходят пепсиногены в качестве биомаркеров для формирования групп риска как до, так и после эрадикации. Исследователи

предложили использовать комбинацию микроРНК-106b с микроРНК-21 для разделения пациентов [133].

МикроРНК-21 одна из первых идентифицированных и наиболее изученных. Клинические исследования показали, что экспрессия микроРНК-21 повышена при широком спектре раковых заболеваний, включая злокачественные новообразования желудка, мозга, молочной железы, шейки матки, лёгкого, печени, предстательной железы и толстой кишки. Результаты метаанализа диагностической ценности микроРНК-21 для рака желудка показали, что микроРНК-21 имеет потенциальную диагностическую ценность с умеренной чувствительностью и специфичностью [198]. Отмечается сверхэкспрессия микроРНК-21 при инфицировании слизистой оболочки желудка *Helicobacter pylori*, при хроническом и интенсивном воспалительном процессе значительно повышается уровень IL-6, который через активацию signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) индуцирует экспрессию МикроРНК и это взаимодействие оказывает влияние на микросреду слизистой оболочки желудка [93]. Мишенями микроРНК-21 являются: serpin family I member 1 (*Serpini1*), programmed cell death 4 (*PDCD4*), phosphatase and tensin homolog (*PTEN*), reversion inducing cysteine rich protein with kazal motifs (*RECK*). Так микроРНК-21 активирует пролиферацию, блокируя экспрессию *Serpini1*, который является белком-супрессором, препятствующим переходу клеток из G1 в фазу S, а апоптоз подавляет через регуляцию гена *PDCD4* [215].

Перспективным видится исследование уровней экспрессии микроРНК-34a при язвенной болезни, дисплазии и раке желудка, учитывая, что ген микроРНК регулируется p53. МикроРНК-34a принадлежит семейству микроРНК-34, к которому относятся три МикроРНК. Активация семейства микроРНК-34 приводит к апоптозу, остановке клеточного цикла и старению клетки [41]. Xiaojing Deng с соавторами (2018) обнаружили, что уровень микроРНК-34a был снижен в клетках неоплазии по сравнению со здоровыми клетками, а также связан со степенью дифференцировки злокачественных новообразований желудка [146, 169]. Однако имеются опубликованные исследования, в которых сообщается о

повышении уровня микроРНК-34 при раке желудка [10]. Отсутствие согласия между результатами исследований о роли и уровне экспрессии микроРНК-34 может быть связано с применением различных аналитических подходов, разных методов обработки, небольшого количества образцов или использования образцов опухолевой ткани с различной степенью дифференцировки, и, вероятно, могут быть связаны с различиями среди исследуемых групп населения. Из опубликованных данных о микроРНК известны следующие мишени: Bcl-2, Notch Receptor (Notch-I,-2), cyclin dependent kinase 6 (CDK6), cyclin dependent kinase 4 (CDK4), циклин D1, циклин E2, MET proto-oncogene, receptor tyrosine kinase (c-Met), E2F transcription factor 3 (E2F3), Sirtuin 1 (SIRT1), CD44 molecule (indian blood group) (CD44), MYCN proto-oncogene, BHLH transcription factor (MYCN), RPTOR independent companion of MTOR complex 2 (Rictor), β -catenin, Wnt I, LDL receptor related protein 6 (LRP6), transcription factor/lymphoid enhancer binding Factor (TCF/LEF), delta like canonical notch ligand 1 (DLL1), jagged canonical notch ligand 1 (JAG1), TGFB induced factor homeobox 2 (Tgif2). Это значит, что микроРНК-34а способна воздействовать на множество аспектов биологии онкогенеза, в том числе желудка [146, 169].

Ещё одной представляющей интерес микроРНК является микроРНК-145, её экспрессию регулирует p53. Она действует при раке желудка, как супрессор, её уровень снижается в процессе гистологического прогрессирования поражения до рака. Так J. Hwang с соавторами (2018) установили, что по сравнению с образцами нормальной слизистой оболочки желудка образцы с дисплазией демонстрируют снижение экспрессии пяти микроРНК, в том числе микроРНК-145, экспрессия которой подавляется при раке желудка. Кроме того, уровень микроРНК-145 снижается в присутствии *Helicobacter pylori* [127, 163].

Так слизистая оболочка в области зарубцевавшейся язвы длительное время остаётся гистологически ультраструктурно аномальной и восприимчивой к последующим повреждениям. А микроРНК участвуют в регуляции иммунитета, контролируют устойчивость к воздействиям, стресс, рост, дифференцировку, апоптоз и метаболизм. В связи с этим микроРНК считаются перспективными

кандидатами на роль биомаркеров злокачественной трансформации, однако практически все опубликованные исследования сосредоточены на раке желудка [93, 127, 146, 163, 169, 198, 215], и только единичные работы проведены для изучения роли микроРНК на разных этапах канцерогенеза. Первое исследование по оценке профиля экспрессии микроРНК в неопухоловой ткани провели в 2014 году Zhu M. с соавторами. Авторы определяли уровень микроРНК-106а в нормальной слизистой оболочке желудка, при атрофическом гастрите в сочетании с различными степенями дисплазии, а также при раннем и запущенном раке, и обнаружили, что частота и уровень экспрессии постепенно росли, первые изменения регистрировались уже при дисплазии низкой степени [166].

Заключение

Главная идея обзора заключается в поиске диагностических инструментов для выявления поражений и неопластических изменений на слизистой. Гастроканцерогенез включает в себя генетические и эпигенетические изменения, при этом точные механизмы неопластической трансформации пока не установлены, вероятно, необходимо сочетание нескольких факторов: CagA-позитивный штамм *Helicobacter pylori*, генетическая предрасположенность, диета, образ жизни, – эти факторы необходимо учитывать при формировании группы риска. Для выявления предраковых изменений необходимо применять новые диагностические методы. На сегодняшний день перспективным видится интеграция машинного обучения в эндоскопию, и применение молекулярно-генетического анализа экспрессии микроРНК при оценке клеточного материала полученного при эзофагогастродуоденоскопии.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Дизайн исследования

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ГБУЗ НСО ГKB № 2 (протокол № 3 от 03.04.2018 г.) и комитетом по этике Новосибирского государственного медицинского университета (протокол № 137 от 16.09.2021 г.).

Исследование проводилось в три этапа:

I этап – наблюдательное, поперечное, ретроспективное исследование (архивного цитологического и морфологического материала);

II этап – наблюдательное, продольное, проспективное исследование (исследование 125 случаев язв с дисплазией из базы гистологических образцов I этапа);

III этап – наблюдательное, продольное, проспективное исследование

В исследовании у 138 пациентов при эзофагогастродуоденоскопии выявлены язвы желудка, осложненные кровотечением Forrest 2 В, Forrest 2 С, из этих пациентов сформированы три группы.

Группа I – больные с язвой желудка, осложненной кровотечением. Проводился анализ результатов лечения и обследования больных, госпитализированных по экстренным показаниям с диагнозом «желудочно-кишечное кровотечение» с последующей верификацией желудочной язвы. Из этих пациентов сформирована группа I, критериями включения в неё явились наличие язвенного дефекта с локализацией в антральном отделе или в теле желудка по данным эзофагогастродуоденоскопии и признаки состоявшегося кровотечения (Forrest 2 В, Forrest 2 С). Критериями исключения пациентов из группы I были сроки наблюдения после выписки из стационара менее двух лет и диагностированная малигнизация язвенного поражения во время госпитализации, а также отказ пациента от выполнения браш-биопсии и контрольной гастроскопии с щипцовой биопсией.

Группа II – лекарственные язвы желудка. Проводился анализ результатов исследований пациентов, ожидающих квоты для планового оперативного лечения. Критериями включения в неё стали наличие язв на слизистой оболочке антрального отдела и/или тела желудка в области малой кривизны, отсутствие онкологических заболеваний в анамнезе и снижение гемоглобина ниже 120 г/л. Критериями исключения из группы явились рак желудка у родственников 1-й и 2-й степени родства, выраженные атрофические изменения слизистой оболочки желудка и отказ от участия в исследовании.

Группа III – язвенная форма РЖ, осложненного кровотечением. Критерии исключения: отказ от участия в исследовании. Больные с выявленным раком подвергнуты анализу и, в последующем, исключены из проспективного исследования.

Ключевым этапом исследования является создание библиотеки профилей миРНК и мРНК в норме, при раке желудка, при язве с дисплазией. Для этого были использованы 194 образца архивного гистологического материала в виде парафиновых блоков и 221 цитологический препарат в виде мазков на предметном стекле. Гистологический и цитологический материал был получен в соответствии с законодательством РФ, все данные были деперсонализированы. Диагнозы, относящиеся к раку желудка и язве, были подтверждены гистологически и цитологически. Перед проведением молекулярно-генетического исследования была проведена экспертная оценка гистологических и цитологических препаратов. Чтобы избежать субъективности в оценке, материал был получен в Городской клинической больнице № 1, Городской клинической больнице № 2 и в Городской клинической больнице скорой медицинской помощи № 2 города Новосибирска.

Статистическая обработка данных

Данные обрабатывались с помощью программ STATISTICA 10 (StatSoft Inc., США), MS Excel 2016. Распределение на нормальность показателей в группах выполнено с помощью критерия Шапиро – Уилка, для оценки

корреляции применён коэффициент Спирмена. Количественные значения представлялись в виде средней арифметической и средней ошибки ($M \pm m$) и в формате медиана и интерквартильный размах Me (LQ; UQ).

Для проверки гипотезы, что генотип GA TNF- α -308 связан с риском развития рака желудка, использовали хи-квадрат (χ^2). Результат считался достоверным при значении абсолютного показателя точности $p < 0,05$. Для определения риска развития заболевания вычисляли отношение шансов (OR) с помощью онлайн-калькулятора, доступного по ссылке: <http://medstatistic.ru/calculators/calccodds.html>.

При анализе диагностической ценности панели миРНК, для выявления рака желудка и дисплазии в гистологическом и цитологическом материале, проводили сравнение двух независимых выборок по количественному признаку при помощи критерия Манна – Уитни. Критический уровень значимости был принят равным 0,007 с учётом поправки Бонферрони. Стратификацию образцов на разные группы проводили методом построения дерева принятия решений C-RT (Classification and Regression Tree) и C5.0.

2.2 Характеристика клинического материала

В III этап исследования включены результаты обследований 138 пациентов, проходивших лечение на базе ГБУЗ НСО «Городской клинической больницы № 2» за период с 2016 по 2019 годы. Больные трёх групп были обследованы с применением клинических, лабораторных и инструментальных методов диагностики. Для создания базы миРНК и мРНК был использован материал и результаты исследований пациентов Городской клинической больницы № 1, Городской клинической больницы № 2 и в Городской клинической больницы скорой медицинской помощи № 2. Было использовано в работе по гистологическому материалу 35 образцов рака, 125 образцов язвы с дисплазией и 34 – нормы, а в работе по цитологическому материалу – 108 образцов рака, 27 образцов язвы с дисплазией и 86 образцов нормы. Материал был получен в

соответствии с законодательством РФ, все данные были деперсонализированы. Все диагнозы подтверждены гистологически. До выполнения молекулярно-генетического исследования проведена независимая экспертная оценка гистологического материала и цитологических препаратов.

В группе I представлены данные обследования 49 пациентов, госпитализированных в хирургическое отделение по экстренным показаниям с диагнозом «желудочно-кишечное кровотечение», с последующей верификацией желудочной язвы. Гендерное распределение поступивших: мужчин – 17 (34,7 %), женщин – 32 (65,3 %). Возраст больных находился в интервале от 30 до 94 лет, средний возраст составил $63,25 \pm 14,28$ (M \pm m). Распределение по полу и возрасту в группе I представлено в таблице 1.

Таблица 1 – Распределение по полу и возрасту в группе I

Заболевание	Количество больных, абс. (%)			Средний возраст, годы (M \pm m)
	всего	женщины	мужчины	
Язва желудка, осложненная кровотечением	49 (100)	32 (65,3)	17 (34,7)	$63,25 \pm 14,28$

Из таблицы видно, что количество женщин в 1,8 раз превысило количество мужчин. Такая разница обусловлена тем, что больные женского пола чаще, чем мужчины, соглашались принимать участие в исследовании. По данным, ЭГДС язвенный дефект локализовался в 41 (83,7 %) случае в антральном отделе, у остальных (n = 8, 16,3 %) пациентов – в теле желудка на малой кривизне. Средние размеры дефекта – $(1,04 \pm 0,68)$ см. Состояние гемостаза на момент поступления у всех пациентов определено как Forrest 2 B, 2 C. У всех пациентов было подтверждено наличие *Helicobacter pylori*. В преобладающем большинстве случаев при локализации язвы в антральном отделе определялась эрозивная гастропатия, распределение пациентов в зависимости от локализации язвы и сочетании с эрозивной гастропатией представлено в таблице 2.

Таблица 2 – Распределение пациентов группы I в зависимости от локализации язвы и сочетания с эрозивной гастропатией

Локализация язвы	Эрозивная гастропатия	
	Есть, абс. (%)	Нет, абс. (%)
Малая кривизна нижняя треть желудка тела желудка	2 (4,1)	6 (12,2)
Антральный отдел	29 (59,2)	12 (24,5)
Всего, абс. (%)	49 (100 %)	

В группе II, состоявшей из 58 пациентов, которые наблюдались по месту жительства и ожидали квоты для оперативного лечения (эндопротезирование суставов, стентирование) в условиях поликлиники в ГБУЗ НСО «ГКБ № 2» за аналогичный период. Гендерное распределение обследуемых: 19 мужчин и 39 женщин, возраст больных ($62,55 \pm 15,53$) года. Распределение больных по возрасту и полу представлено в таблице 3.

Таблица 3 – Распределение по полу и возрасту в группе II

Заболевание	Количество больных, абс. (%)			Средний возраст, годы (M ± m)
	всего	женщины	мужчины	
Дефекты слизистой оболочки желудка (эрозии и язвы) на фоне приема НПВС и/или кардиомагнिला	58 (100)	39 (67)	19 (33)	$62,55 \pm 15,5$

В группе II количество женщин так же превысило количество мужчин в 2 раза, так как пациенты женского пола чаще соглашались участвовать в исследовании. Все пациенты принимали препараты группы нестероидных противовоспалительных средств и/или кардиомагнил. Статус *Helicobacter pylori* в 27 случаях (46,5 %) был отрицательный, а у 31 пациента (53,4 %) степень обсеменённости определена как низкая (менее 20 в поле зрения). По данным

визуальной оценки все дефекты слизистой оболочки локализовались в антральном отделе, и у 17 пациентов (29,3 %) определялись два и более язвенных дефекта, в том числе на слизистой оболочке тела. Распределение пациентов группы II в зависимости от локализации язвы и сочетания с эрозивной гастропатией представлено в таблице 4.

Таблица 4 – Распределение пациентов группы II в зависимости от локализации язвы и сочетания с эрозивной гастропатией

Локализация язвенных дефектов	Эрозивные поражения	
	Есть, абс. (%)	Нет, абс. (%)
Антральный отдел	23 (39,6)	18 (31,1)
Две и более язвы на слизистой антрального отдела и нижней трети тела желудка	17 (29,3)	—
Всего, абс. (%)	58 (100 %)	

Размер дефектов находился в пределах от 0,5 до 1,3 см. У всех пациентов группы II отмечалось снижение уровня гемоглобина (ниже 120 г/л), а также по данным ЭГДС определялось геморрагическое пропитывание дна язвы и/или эрозий.

Распределение по полу и возрасту в группе III (больных раком желудка) представлено в таблице 5.

Таблица 5 – Распределение по полу и возрасту в группе III

Заболевание	Количество больных, абс. (%)			Средний возраст, годы (M ± m)
	всего	женщины	мужчины	
Рак желудка	31 (100)	17 (55)	14 (45)	74,06 ± 10,22

Из таблицы 5 видно, что в группе III количество пациентов мужского и женского пола практически сравнялось; это обусловлено тем, что рак выявлялся чаще у мужчин, но женщины чаще соглашались принимать участие в исследовании.

По данным ЭГДС макроскопическая форма рака представляла собой язвенный дефект или инфильтративно-язвенное поражение с локализацией в антральном отделе и/или на малой кривизне. Распределение пациентов по макроскопическому типу представлено в таблице 6.

Таблица 6 – Распределение по макроскопическому типу рака желудка

Макроскопический тип рака желудка	Количество больных, абс. (%)
Язвенный дефект слизистой оболочки	8 (25,8)
Язвенный дефект с четко очерченными краями	9 (29)
Язвенно-инфильтративная форма	14 (45,2)
Всего	31 (100)

В группе III не установлен статус *Helicobacter pylori*.

2.3 Методы исследования

Больные были обследованы по общепринятой клинической методике. При сборе жалоб в первую очередь устанавливали наличие болевого синдрома, а также есть ли связь между возникновением или усилением боли и приёмом пищи. Затем – наличие диспептических жалоб и признаки эвакуаторных нарушений. Во время сбора данных анамнеза уточняли этиологические факторы (результаты тестирования на *Helicobacter pylori*, приём нестероидных противовоспалительных препаратов, наследственную предрасположенность, курение, стрессы), выявляли сезонность течения заболевания и развитие осложнений.

Пациентам было проведено физикальное обследование. Обращали внимание на болезненность при пальпации в эпигастральной области и резистентность мышц передней брюшной стенки.

Для оценки общего состояния больным проводили лабораторные исследования по стандартным методикам в специализированных лабораториях ГБУЗ НСО «ГКБ № 2». В общем анализе крови нас интересовал уровень

гемоглобина, гематокрит, количество эритроцитов и СОЭ. Был проведён анализ кала на скрытую кровь, в качестве метода использовалась бензидиновая проба.

Кроме этого выполняли общий анализ мочи, биохимическое исследование крови, гемостазиограмму, определяли резус фактор, группу крови, статус ВИЧ и маркеры вирусного гепатита.

Проведено молекулярно-генетическое исследование, выделение ДНК проводили с помощью фенол-хлороформной экстракции. Генотипирование однонуклеотидных замен в гене TNF- α при -308 (G; A) проводилось с помощью ПЦР в режиме реального времени с использованием конкурирующих TaqMan-зондов, комплементарных полиморфным участкам ДНК. Достоверность генотипирования подтверждалась секвенированием.

Инструментальные методы исследования

При проведении первичной эзофагогастродуоденоскопии на аппарате Pentax (Япония), в 80 случаях назначенной по экстренным показаниям, были обнаружены язвенные и эрозивные поражения, в дне которых определялось геморрагическое пропитывание. Учитывая расположение язвенного дефекта в желудке при определённом риске выявления малигнизации и наличии признаков состоявшегося кровотечения щипцовая биопсия расценивалась как фактор риска рецидива геморрагии, поэтому при первичной ЭГДС выполнялась браш-биопсия, которая позволяет за короткое время (2 дня) определить доброкачественный характер поражения. Браш-биопсия выполнялась цитологической щёткой в пластиковой трубе Wilson Heyinovo (США). Манипуляция заключалась в следующем: катетер с щёткой проводился по инструментальному каналу гастроскопа в просвет желудка, далее катетер подводился к поражению, затем выдвигалась щётка, которая погружалась в пристеночную слизь, где выполнялись движения вверх и вниз и/или вращательные. После этого щётка заводилась в пластиковую трубу и извлекалась. Клеточный материал переносился на стекло осторожными поворотами щётки на 360°. При первичной эзофагогастродуоденоскопии, учитывая риски рецидива геморрагии, при необходимости края язвенного дефекта обрабатывались методом

аргонплазменной коагуляции на электрохирургическом аппарате BOWA ARC 350 (Германия). Кроме браш-препарата из язвенного дефекта, при эзофагогастродуоденоскопии выполняли соскоб нейлоновой щёткой с поверхности всех участков нетипичной структуры эпителия, также соскоб выполнялся в области малой кривизны тела желудка, в антральном отделе и в области угла желудка.

Цитологический материал располагали тонким слоем на чистом, обезжиренном, сухом предметном стекле. Клеточный материал наносили, отступая 1 см от узкого края и заканчивая примерно за 1,5 см от другого края (длинного края материал не достигал примерно на 0,3–0,4 см). Далее мазки высушивали на воздухе, маркировали, укладывали в штатив-контейнер, к каждому стеклу было оформлено направление. В направлении указывали: фамилию с инициалами, дату рождения, способ забора и вид материала, описание эндоскопической картины и клинический диагноз. Затем сотрудник эндоскопического отделения относил материал в лабораторию. В лаборатории мазки фиксировали и окрашивали по Романовскому – Гимзе. Микроскопию цитологического препарата сначала проводили на малом увеличении ($\times 10$), при нем определяли:

- сохранность клеточного материала;
- фон препарата (элементы воспаления, детрит и др.);
- клеточность мазка;
- расположение клеток (пласты, тяжи, беспорядочные комплексы и др.).

После этого исследовали препарат под увеличением $\times 20-40$ и определяли:

- размер клеток (мелкие, средние, крупные, гигантские);
- форму клеток (округлые, кубические, цилиндрические, неправильной формы и др.);
- расположение ядра в клетке;
- форму ядра;
- окрашиваемость ядра (нормохромия, гиперхромия, гипохромия);
- ядерно-цитоплазматическое соотношение.

Следующим этапом было изучение препарата под увеличением $\times 100$, при таком увеличении можно рассмотреть и оценить:

- состояние ядерной мембраны;
- строение хроматина;
- ядрышки;
- пролиферативную активность (наличие фигур деления, многоядерные клетки);
- цитоплазму, ее объем, цвет, окраску.

На каждом стекле оценивали не менее 10 полей. В заключении указывали наличие кишечной метаплазии, дисплазии или злокачественного процесса, использовали оригинальную цитологическую классификацию опухолей пищеварительной трубки Н. А. Шапиро, А. И. Шибановой, Ж. Б. Елеубаевой (2011) [34].

Желудок

дисплазия железистого эпителия (I–III ст.)

- 1) эпителиальные опухоли;
- 2) аденома;
- 3) рак БДУ;
- 4) аденокарцинома:
 - кишечный тип;
 - диффузный тип;
 - папиллярная аденокарцинома;
 - трубчатая аденокарцинома;
 - слизистая аденокарцинома;
 - перстневидно-рак;
 - железисто-плоскоклеточный рак;
 - плоскоклеточный рак;
 - мелкоклеточный;
 - недифференцированный рак;
- 5) карциноид (высокодифференцированная эндокринная опухоль) БДУ;

- б) неэпителиальные опухоли:
 - лейомиома;
 - шваннома;
 - зернисто-клеточная опухоль;
 - гломусная опухоль;
 - лейомиосаркома;
 - желудочно-кишечная стромальная опухоль (доброкачественная, злокачественная);
 - саркома Капоши;
- 7) злокачественная лимфома БДУ:
 - диффузно в-крупноклеточная лимфома;
- 8) вторичные опухоли.

При исследовании препарата обращали внимание на фон, нас интересовало наличие и количество лейкоцитов, лимфоцитов, плазматических клеток. В зависимости от преобладания тех или иных клеточных элементов определялась активность и выраженность воспаления. При язве желудка в гастрцитогамме нередко можно было увидеть детрит и фибрин. Второе, что нас интересовало, это степень обсеменения *Helicobacter pylori*, бактерия которой при микроскопии имеет спиралевидную форму и длину 1–3 мкм. Следующим этапом оценивали клетки покровно-ямочного эпителия, их размер, форму, а также размер ядра и структуру хроматина.

С целью выявления ранних форм рака уделяли большое внимание тем препаратам, в которых присутствовали процессы пролиферации (клетки средних размеров, располагающиеся группами, возможна нечёткость межклеточных границ, хаотичное расположение клеток в скоплениях), метаплазия (обнаружение бокаловидных клеток), дисплазия. Дифференцировать степень дисплазии при цитологическом исследовании затруднительно, дисплазию низкой степени не всегда возможно отличить от пролиферации эпителия, а дисплазию высокой степени от карциномы. Сложности с точностью диагностики возникают:

- при дегенеративных изменениях в поражении;

- при недостаточной квалификации специалиста;
- при заборе малого количества материала.

Дисплазию диагностировали, если:

- находили клеточную атипию: клеточный и ядерный полиморфизм, тёмное окрашивание ядра, изменение ядерно-цитоплазматического соотношения (сдвиг в пользу ядра) и полярности клеток;
- отмечали присутствие митозов;
- присутствовала дезорганизация архитектоники слизистой.

Если эти признаки были более выраженными, то цитологическую картину характеризовали как подозрительную по раку. С целью дифференциальной диагностики больше внимание уделяли изменениям ядер, отмечали гиперхромия, полиморфизм, отсутствие полярности (цитологическое заключение при подозрении на рак зависит от степени выраженности морфологических изменений ядра).

К явным признакам злокачественного поражения желудка относили наличие внутри клетки митозов, неомогенной цитоплазмы, присутствие крупных клеток неправильной формы с уродливым ядром. Классическая находка при аденокарциноме – крупные ядра с бледным мелкозернистым хроматином и единичными крупными макроядрышками, напоминающими «глаз совы».

Больных, поступивших по скорой помощи, после эндоскопического исследования госпитализировали в хирургическое отделение, где им была назначена гемостатическая, инфузионная и гастропротекторная терапия. Пациенты, которые проходили обследование в амбулаторно-поликлинических условиях, направлялись к гастроэнтерологу, в эндоскопическом отделении у них брали номер телефона для проведения обзвона, который осуществлялся вечером в день исследования и на следующий день.

При подозрении на рак желудка обследование больных было дополнено: ультразвуковым исследованием органов брюшной полости, забрюшинного пространства и малого таза; колоноскопией и ЭКГ; рентгенографией органов грудной клетки и желудка; осмотром гинеколога (для женщин). При

рентгенологическом исследовании желудка определяли локализацию «ниши»; отмечали наличие косвенных признаков, таких как «указующий перст», конвергенция складок; оценивали перистальтику. В случаях злокачественного поражения определяли распространение процесса и оценивали эвакуацию из желудка при стенозе.

После стабилизации гемостаза, как правило на 5-е сутки, проводилась повторная эзофагогастродуоденоскопия. Исследование выполняли на гастроскопе Pentax (Япония), продолжительность осмотра не менее 7 минут. Во избежание «слепых зон» в просвет желудка всё время исследования инсуффлировался воздух; пенистую слизь со стенок и из углублений смывали водой, которую подавали при помощи шприца (объёмом 60 мл) через инструментальный канал аппарата, затем вода вместе со слизью была аспирирована. Обязательно отмечали наличие жёлчи в просвете желудка, так как рефлюкс жёлчи не только способствует повреждению слизистой оболочки, но и является фактором риска развития кишечной метаплазии. Фиксировали визуальные признаки атрофии, такие как сглаженность складок, бледный цвет слизистой, просвечивание кровеносных сосудов. А если визуализировались приподнятые или уплощённые участки белесовато-серого цвета с шероховатой поверхностью, то дополнительно проводили хромоскопию этого участка. Сначала орошали слизистую 0,25 %-м водным раствором бикарбоната натрия для удаления слизи. Затем через спрей-катетер наносили 0,5 %-й раствор метиленового синего, ждали пока раствор подействует 1–2 минуты и проводили детальный осмотр слизистой на предмет окрашенного цилиндрического эпителия кишечного типа.

Во время эндоскопического исследования выполняли биопсию (3-6 фрагментов из края язвенного дефекта) пациентам, у которых по данным цитологического исследования не было выявлено клеток, подозрительных по раку. Был выполнен быстрый уреазный тест на определение *Helicobacter pylori* со взятием биоптатов из тела желудка и антрального отдела.

Фрагменты слизистой оболочки желудка фиксировались в 10 %-ном растворе формалина (забуференном), парафиновые срезы готовили по

стандартной методике, окрашивали гематоксилином и эозином. Морфологическое состояние слизистой оболочки желудка оценивали в соответствии с визуально-аналоговой шкалой Сиднейской системы. Мы отказались от определения гастрита по системе OLGA (Operative Link for Gastritis Assessment), так как в повседневной практике явным её недостатком стал громоздкий «устный счёт» и неопределённость критериев оценки.

При морфологической оценке отмечали выраженность воспаления по степени инфильтрации нейтрофилами, плазматическими клетками, макрофагами, лимфоцитами, указывали наличие и выраженность атрофии, выделяя при этом:

- отсутствие признака;
- минимальную степень;
- умеренную степень;
- выраженную степень.

Дисплазию описывали согласно рекомендациям 5-го издания классификации новообразований пищеварительной системы ВОЗ, где low-grade – дисплазия низкой степени, и high-grade – тяжелая дисплазия. Просмотр микропрепаратов выполнялся на микроскопе Leica (Германия).

Для исследования связи между раком и хроническим воспалением на уровне цитокинов и медиаторов воспаления, определяли экспрессию циклооксигеназы. Известно, что ЦОГ-2 катализирует превращение арахидоновой кислоты в простагландин, является мишенью нестероидных противовоспалительных средств, стимулирует пролиферацию, ангиогенез и подавляет апоптоз.

Иммуногистохимическое исследование (ИГХ) для определения экспрессии ЦОГ-2 (Thermo Fisher Scientific, США) выполнялось по стандартной методике. Для идентификации реакции использован полимерный метод (Thermo Fisher Scientific, США), ядра клеток докрасивали гематоксилином Карацци. Количество позитивно окрашенных клеток определялось при 400-кратном увеличении, рассчитывался индекс метки (ИМ) с процентным отношением иммуногистохимически позитивных ядер к общему числу эпителиальных клеток

в 10 случайно выбранных полях зрения. Использовалась балльная оценка реакции от нуля до трёх: отрицательная, слабая (+), умеренная (++), выраженная (+++).

Выделение РНК из гистологических образцов. К 2-3 5 мкм срезам парафинового блока добавляли 1 мл белого парафинового масла (класс вязкости ISO VG 15), инкубировали в термошейкере при 65 °С 2 минуты. Центрифугировали при 13 000 g в течение 2 минут. К осадку добавляли 700 мкл лизирующего гуанидинового буфера (4 М гуанидин изотиоцианат; 25 мМ цитрат натрия; 0,3 % саркозил; 100 мМ Трис-НСl рН 6,5; 0,1 % 2-меркаптоэтанол) и оставляли в термошейкере при 90 °С на 60 минут. Центрифугировали при 13 000 g в течение 2 минут, супернатант переносили в новые пробирки. Далее в пробирки добавляли 600 мкл изопропанола, перемешивали и оставляли при комнатной температуре на 5 минут. Центрифугировали 10 минут при 13 000 g, супернатант сливали, осадок промывали сначала 500 мкл 70 % этанола, а затем 300 мкл ацетона. РНК растворяли в 200 мкл деионизованной воды.

Выбор набора молекулярных маркеров. Первичный отбор набора миРНК для анализа гистологического материала был осуществлен на основании доступной литературы. В итоге был сформирован список из 14 миРНК – маркеров злокачественности (миРНК-145-5p, -150-5p, -20a, -31-5p, -34a-5p, -375, -21, -106b, -196b, -221, -451, -145, -125a, -125b), для которых в качестве референса использовалась малая ядерная РНК U6.

Синтетические аналоги миРНК. МиРНК-олигонуклеотиды были синтезированы в ООО «Биосан» (Новосибирск, Россия). Синтетические миРНК хранили в замороженном виде в ТЕ-буфере при –2 000 °С, при использовании в качестве контролей их разводили на деионизованной воде и добавляли непосредственно в реакционную смесь для обратной транскрипции, минуя стадию выделения.

Олигонуклеотидные праймеры и зонды. Все олигонуклеотиды были синтезированы в АО «Вектор-Бест» (Новосибирск, Россия). Олигонуклеотиды выбирали с использованием онлайн-сервиса Primer Quest (<http://eu.idtdna.com/>). Последовательности праймеров и зондов доступны по запросу. Для каждой

миРНК подбирали несколько комплектов олигонуклеотидов, из которых выбирали те, которые характеризовались наиболее высокой эффективностью обратной транскрипции и ПЦР. Эффективность обратной транскрипции оценивали по значениям циклов квантификации (C_q), полученных при анализе синтетических аналогов миРНК, взятых в известной концентрации. Эффективность амплификации (E) для каждой системы оценивали с помощью построения калибровочной кривой, построенной по разведениям РНК, выделенной из клинических проб с высоким содержанием данной миРНК, на деионизованной воде. Значение E для разных систем варьировало от 92,5 % до 98,4 %, с линейным диапазоном 10^8 – 10^2 копий миРНК в реакции, кроме миРНК-21 и -34а, для которых линейный диапазон составил 10^8 – 10^3 копий миРНК.

Выявление миРНК. Детекцию миРНК и мяРНК U6c помощью ОТ-ПЦР-РВ проводили для всех типов образцов. Для выявления зрелых миРНК использовали метод stem-loop ОТ-ПЦР. Для каждой миРНК отдельно проводили реакцию обратной транскрипции с последующей ПЦР-РВ как описано [179]. Для каждого образца анализ проводили в одном повторе. Нормировку содержания миРНК проводили на содержание малой ядерной РНК U6 в образце с помощью метода $2^{-\Delta C_q}$ с учетом эффективности реакций. Выявление мяРНК U6 проводилось по той же схеме stem-loop ОТ-ПЦР, которая использовалась для миРНК.

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

Выбор набора молекулярных маркеров. При работе с цитологическими образцами мы использовали 10 миРНК-маркеров (миРНК-145-5p, -150-5p, -20a, -31-5p, -34a-5p, -375, -21, -106b, -196b, -125b), для которых в качестве референса использовалась малая ядерная РНК U6. А также мы добавили в качестве маркеров мРНК следующих генов: TERT, CDKN2A, CKS2, FN1 с нормировкой на ген домашнего хозяйства PGK1.

Детекция миРНК и мРНК с помощью ОТ-ПЦР-РВ. Для выявления зрелых миРНК и малой РНК U6 использовали метод, предложенный Chen с соавторами в 2005 году [201]. Метод включает в себя обратную транскрипцию зрелой миРНК с помощью длинного праймера со шпилькой, с последующей детекцией полученной к ДНК с помощью ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) (Chen С., 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 $2^{-\Delta Cq}$. 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 домашнего хозяйства PGK1 (фосфоглицераткиназа), используемого в качестве нормализатора. Уровень относительной экспрессии рассчитывали с помощью метода $2^{-\Delta Cq}$.

При создании базы использовали журналы исследований эндоскопического, патологоанатомического и цитологического отделений за период с 2016 по 2019 годы и научной лаборатории АО «Вектор-Бест», медиана наблюдения составила 42 месяца (3,5 года).

Диагностика плоских язв на бледной анемичной слизистой оболочки желудка. Ввиду того, что работа выполнялась с использованием фиброгастрокопа, требуется простая, дешевая методика для улучшения визуализации дефектов слизистой оболочки.

Методика хромоэндоскопии включала проведение стандартной эзофагогастродуоденоскопии и использования «прямого» способа окрашивания, который изначально был отработан на секционном материале (Рисунки 1 и 2).

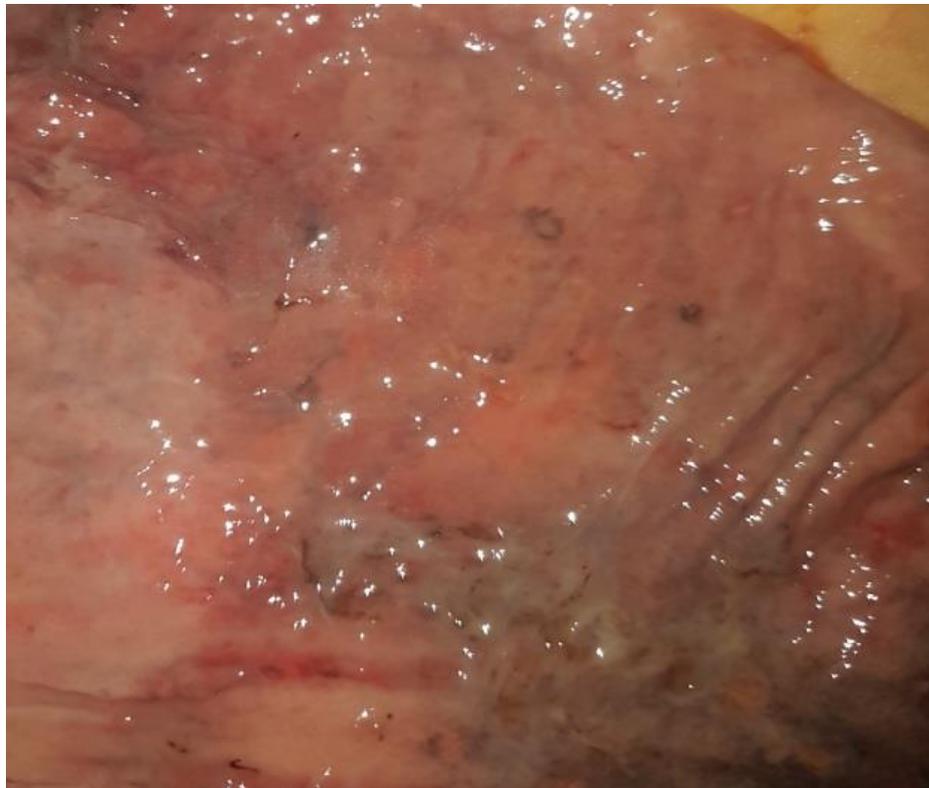


Рисунок 1 – Секционный материал. Фундальный отдел. Хронический атрофический гастрит

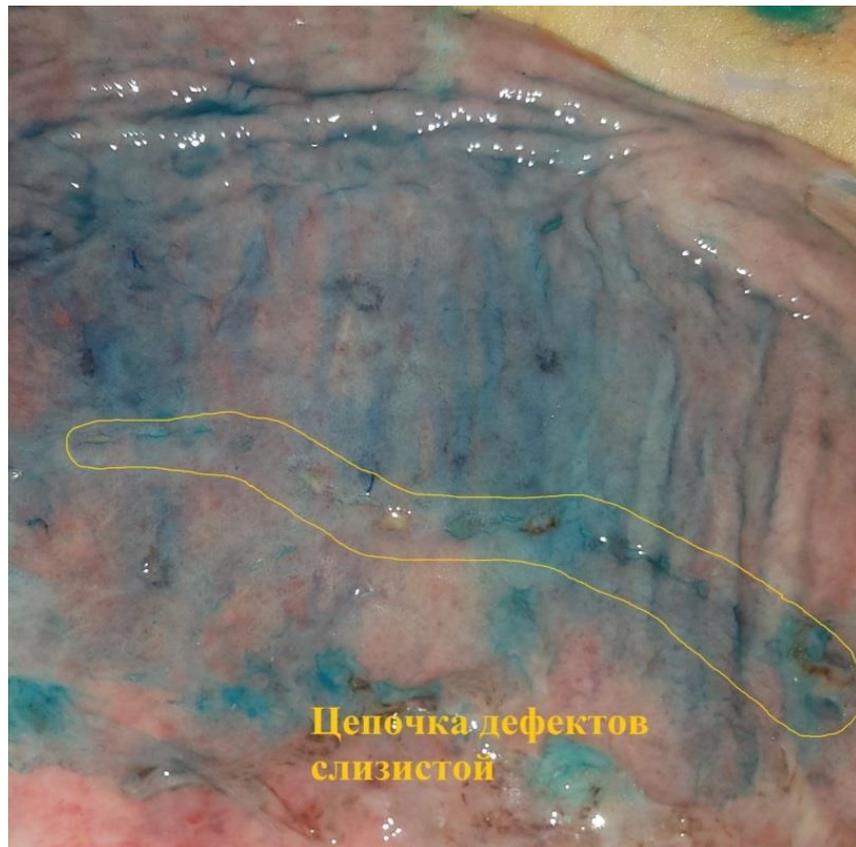


Рисунок 2 – Секционный материал. Фундальный отдел. Хронический атрофический гастрит. После орошения раствором 0,5 % метиленового синего визуализируются эрозии

Применяли, как правило, прицельное окрашивание, но в ряде случаев орошали всю слизистую 0,25 %-м раствором метиленового синего. При прицельном окрашивании сначала орошали слизистую 0,25 %-м водным раствором бикарбоната натрия для удаления слизи. Затем через спрей-катетер наносили 0,5 %-й раствор метиленового синего (время действия 1–2 минуты). Следующим этапом мы оценивали рельеф поверхности слизистой, после отмывали слизистую дистиллированной водой. Заключительным этапом был детальный осмотр слизистой оболочки, удаление слизи щипцами, при необходимости – прицельная биопсия. Использован фиброгастроскоп Pentax (Япония) с торцевым расположением оптики, спрей-катетер, 0,25 %-й раствор метиленового синего 40 мл или 0,5 %-й раствор метиленового синего 20 мл, 0,25 %-й водный раствор бикарбоната натрия, биопсийные щипцы, дистиллированная вода.

У семи пациентов (12 %) из группы II только при помощи хромокопии были выявлены язвы на слизистой тела желудка. Кроме того, во время контрольных эндоскопических исследований в группе I была выявлена сопутствующая эрозивная гастропатия в 4 (8 %) наблюдениях.

Диагностика кишечной метаплазии на слизистой оболочки желудка

Мы использовали «прямой» способ окрашивания слизистой оболочки 0,25 % и 0,5 %-м раствором метиленового синего во время контрольных эндоскопических исследований всем пациентам в трех группах для выявления кишечной метаплазии.

Метиленовый синий избирательно связывается с кишечным эпителием, при этом на слизистой оболочке выделяются неправильные, слегка возвышающиеся гиперхромные участки.

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Результаты обследования пациентов основной группы

Больные группы I были госпитализированы по экстренным показаниям с диагнозом гастродуоденальное кровотечение, основания для постановки диагноза и госпитализации представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Причины госпитализации пациентов основной группы

Признаки желудочно-кишечного кровотечения	Количество случаев, абс.	Соотношение к общему количеству больных, %
Рвота содержимым по типу «кофейной гущи»	5	10,2
Мелена, общая слабость	37	75,5
Бледность кожных покровов, снижение уровня гемоглобина в сочетании с язвенным анамнезом*	7	14,3
Всего	49	100

Примечание: * – 7 (14,3 %) пациентов обратились к терапевту в поликлинику по месту жительства, после сбора жалоб, анамнеза и осмотра пациентам был выставлен диагноз желудочно-кишечное кровотечение и вызвана скорая медицинская помощь.

С рвотой «кофейной гущей» поступили 4 (8 %) больных в возбуждённом состоянии, им эзофагогастродуоденоскопия выполнялась в условиях реанимации под внутривенной седацией. При эндоскопическом исследовании кроме язвы желудка были выявлены разрывы слизистой оболочки кардиоэзофагеального перехода.

При опросе 38 пациентов (77,5 %) указали, что принимали самостоятельно препарат из группы ингибиторов протонного насоса до купирования болей в эпигастральной области, при этом в последние 6 месяцев эзофагогастродуоденоскопия не проводилась.

Регулярно принимали кардиомагнил в стандартной дозировке 10 (20,4%) пациентов. Дополнительные факторы риска кровотечения представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Факторы риска развития кровотечения в основной группе

Факторы риска	Количество случаев, абс.	Соотношение к общему количеству больных, %
60 лет и старше	26	53,0
Сопутствующая патология	34	69,4
Нервно-психические стрессы	49	100,0

При анализе таблицы 8 обращает на себя внимание, что 100 % пациентов группы I отметили наличие у себя нервно-психического стресса. Для оценки стресса мы задавали пациентам вопросы: «присутствовало ли в их жизни чувство безнадежности или подавленности более двух недель за последние полгода год и/или были ли у них суицидальные мысли?»

Кроме факторов риска кровотечения при сборе жалоб и анамнеза выявляли факторы риска развития рака, также опрашивали о предыдущих эндоскопических исследованиях и проводимом лечении. Результаты сбора анамнеза представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Результаты сбора анамнеза в основной группе

Данные анамнеза	Количество случаев, абс.	Соотношение к общему количеству больных, %
Курение	18	36,7
Употребление алкоголя	12	24,5
Проводилась ли ранее эзофагогастродуоденоскопия	22	44,9
Наблюдается ли пациент у гастроэнтеролога	5	10,2
Получал ли пациент лечения по поводу гастрита	7	14,3

Продолжение таблицы 9

Данные анамнеза	Количество случаев, абс.	Соотношение к общему количеству больных, %
Получал ли пациент лечения по поводу язвенной болезни	7	14,3
Родственники первой очереди с злокачественным новообразованием желудка	6	12,2

При опросе больных о рационе и режиме питания обнаружались особенности у женщин и у мужчин, результаты опроса представлены в таблицах 10 и 11.

Таблица 10 – Распределение больных (женщины) в соответствии с рационом

Продукты	$4 \geq$ раз в неделю		2–3 раза в неделю		1 раз в неделю и реже	
	абс	%	абс	%	абс	%
Овощи и фрукты	18	56,25	12	37,5	2	6,25
Соленое, копченое мясо и рыба	—	—	17	53,2	15	46,8
Крахмалистые пища, зерновые	32	100	—	—	—	—

Таблица 11 – Распределение больных (мужчины) в соответствии с рационом

Продукты	≥ 4 раз в неделю		2–3 раза в неделю		1 раз в неделю и реже	
	абс	%	абс	%	абс	%
Овощи и фрукты	3	17,6	7	41,2	7	41,2
Соленое, копченое мясо и рыба	6	35,4	10	58,8	1	5,8
Крахмалистые пища, зерновые	17	100	—	—	—	—

Как видно из таблиц 10 и 11 женщины в 3 раза чаще мужчин употребляли в пищу овощи и фрукты, при этом меньше употребляли соленного и копченого мяса.

Результаты эзофагогастродуоденоскопии пациентов группы I представлены в таблице 12.

Таблица 12 – Распределение пациентов группы I по результатам эзофагогастроскопии

Локализация в желудке	Размер язвы до 0,9 см		Размер язвы от 1,0 до 1,9 см		Размер язвы от 2,0 до 3,0 см	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Антральный отдел	13	26,5	2	4,1	1	2,0
Малая кривизна антрального отдела	12	24,5	4	8,2	0	0,0
Тело желудка	5	10,2	2	4,1	5	10,2
Угол желудка	3	6,1	2	4,1	0	0,0

Гигантских язв размером более 3,0 см среди пациентов группы I не было.

Цилиндрический эпителий кишечного типа при помощи метиленового синего выявлен в 10 случаях (20,4 %), при этом окрашивание наблюдалось только в антральном отделе на фоне атрофических изменений (просвечивание кровеносных сосудов, сглаженность складок слизистой оболочки желудка).

Во время первичной эзофагогастродуоденоскопии выполнялась браш-биопсия. Данный метод был выбран, так как он характеризуется низкой частотой (менее 1 %) ошибочных результатов при диагностике рака желудка по данным литературы [34]. Забор материала, а именно соскоб, проводился нейлоновой щеткой, важно было получить материал из краев дефекта в виду того, что в дне язвы могут находиться тромбированные сосуды, а также материал из центра часто бывает не информативным, содержит некротические обломки и микроорганизмы. С целью профилактики кровотечения после браш-биопсии края язвы отмывали через инструментальный канал при помощи шприца раствором

аминокапроновой кислоты 100 мл, если после манипуляции отмечалось капиллярное кровотечение, то выполняли аргоноплазменную коагуляцию на электрохирургическом аппарате BOWA ARC 350 (Германия), коагуляция потребовалась в 12 случаях (24,5 %). Результаты цитологического исследования браш-препаратов представлены в таблице 13.

Таблица 13 – Распределение пациентов по результатам цитологического исследования

Цитологическое заключение	Количество заключений, абс.	Соотношение к общему количеству заключений, %
Скопление клеток в состоянии пролиферации	20	40,8
Скопление клеток покровно-ямочного эпителия с дегенеративными изменениями	9	18,4
Структура из клеток покровно-ямочного эпителия в состоянии пролиферации, встречаются скопления клеток с признаками кишечной метаплазии	7	14,3
Клетки покровно-ямочного эпителия с признаками пролиферации, с дегенеративными изменениями. Встречаются клетки с признаками кишечной метаплазии, а также дисплазией умеренной степени	5	10,2
Без атипии	7	14,3
Клетки покровно-ямочного эпителия, встречаются в небольшом количестве клетки подозрительные по раку	1	2

В одном случае (2 %) цитологическое исследование дало положительный результат по злокачественному поражению, однако гистологическое заключение было отрицательным, и его расценили как окончательный диагноз.

Причина ложноположительного результата кроется в том, что и язва, и рак желудка развиваются на фоне кишечной метаплазии, при доброкачественном

язвенном поражении определяются реактивно-регенераторные изменения в виде клеток с атипией, митозами, элементами некроза. И при язве, и при раке желудка видны компоненты острого и хронического воспаления, обломки клеток. Окончательный ответ в сложных ситуациях дает гистологическое заключение, результаты морфологического исследования представлены в таблице 14.

Таблица 14 – Распределение пациентов по результатам морфологического исследования

Морфологическое заключение	Количество заключений, абс.	Соотношение к общему количеству заключений, %
Острая язва с началом процессов эпителизации	6	12,2
Хроническая язва с началом регенерации	23	47
Хроническая язва, обострение	13	26,5
Хроническая язва с low-grade и началом регенерации	7	14,3
Всего	49	100

Для определения влияния НПВС на экспрессию ЦОГ-2 сформировано две группы пациентов: пациенты, регулярно принимающие НПВС, и пациенты, отрицающие прием НПВС, – характеристика пациентов в подгруппах представлена в таблице 15.

Таблица 15 – Распределение больных, принимающих НПВС и отрицающих прием НПВС

Размеры язвенного дефекта по ЭГДС	Гистологическое заключение	НПВС +		НПВС –	
		ИГХ	Кол-во	ИГХ	Кол-во
1	2	3	4	5	6
До 1,0 см	Острая язва с началом процессов эпителизации	слабая (+) реакция	1	слабая (+) реакция	3
До 1,0 см	Острая язва с началом процессов эпителизации	—	—	умеренная (++) реакция	2

Продолжение таблицы 15

1	2	3	4	5	6
До 1,0 см	Хроническая язва с началом регенерации	умеренная (++) реакция	3	умеренная (++) реакция	13
От 1,5 см	Хроническая язва с началом регенерации	выраженная (+++) реакция	1	выраженная (+++) реакция	6
До 1,0 см	Хроническая язва, обострение	умеренная (++) реакция	2	умеренная (++) реакция	3
От 2,0 см	Хроническая язва, обострение	выраженная (+++) реакция	1	выраженная (+++) реакция	7
До 1,5 см	Хроническая язва slow-grade и началом регенерации	выраженная (+++) реакция	1	—	—
До 1,0 см	Хроническая язва low-grade и началом регенерации	выраженная (+++) реакция	1	выраженная (+++) реакция	5
Примечание: «—» – случай отсутствует.					

Из таблицы 15 видно, что уровень экспрессии ЦОГ-2 зависит от размеров язвенного дефекта и наличия дисплазии. Для оценки корреляции использовали коэффициент Спирмена. Критическое значение $p = 0,01$, $r = 0,365$. Устанавливали влияние на результат ИГХ приема НПВС, размеров язвенного дефекта и морфологической характеристики ($-0,053846$; $0,726208$; $0,649518$). Уровень экспрессии ЦОГ-2 не зависит от приема НПВС, но зависит от размеров язвенного дефекта (более 1,5 см) и наличия дисплазии.

Гистологический материал (2–3 среза парафинового блока по 5 мкм) и браш-препараты всех 49 язв прошли молекулярно-генетические исследования. Материал, полученный из 7 язв с дисплазией с помощью созданной математической модели для гистологических образцов по профилю экспрессии миРНК, определен в группу дисплазии.

Также у больных из группы I проводился забор венозной крови для анализа полиморфизма фактора некроза опухоли альфа. Известно, что фактор некроза опухоли альфа играет критическую роль в патогенезе воспаления, высвобождаясь из макрофагов, он активирует иммунные клетки, стимулирует продукцию других цитокинов и провоспалительных медиаторов, а кроме того, принимает участие практически во всех этапах канцерогенеза [213]. Исследования показали, что полиморфизм-308 промотора TNF- α (rs1800629) может регулировать продукцию TNF- α . TNF- α -308 G > A является медиатором иммунного ответа и имеет много общих биологических свойств с интерлейкином 1. Предполагается, что аллель TNF- α -308 A является важным кандидатом, ответственным за повышенный риск рака желудка [149]. Распределение генотипов и частот аллелей пациентов основной группы отображено в таблице 16.

Таблица 16 – Частота генотипов и аллелей G-308A гена TNF- α у пациентов группы I

Обследуемые	Аллели и генотипы	Группа сравнения	
		n	%
Все обследуемые	AA	0	0
	GA	16	33
	GG	33	67
	A	16	16,33
	G	82	83,67
Мужчины	AA	0	0
	GA	6	35,29
	GG	11	64,71
	A	6	17,64
	G	28	82,35
Женщины	AA	0	0
	GA	10	31,25
	GG	22	68,75
	A	10	15,62
	G	54	84,38

3.2 Результаты обследования пациентов группы сравнения

У всех (100%) пациентов группы II, ожидающих квоты для планового оперативного лечения (эндопротезирование суставов, стентирование), в общем анализе крови отмечалось снижение уровня гемоглобина (ниже 120 г/л). Все больные принимали кардиомагнил и/или НПВС. Дополнительные факторы риска развития кровотечения, выявленные при опросе представлены в таблице 17.

Таблица 17 – Факторы риска развития кровотечения в группе II

Факторы риска	Количество случаев, абс.	Соотношение к общему количеству больных, %
Возраст 60 лет и старше	33	56,8
Сопутствующая патология	58	100
Нервно-психические стрессы	58	100

Факторы риска развития рака и результаты сбора анамнеза представлены в таблице 18.

Таблица 18 – Результаты сбора анамнеза в группе сравнения

Данные анамнеза	Абс.	%
Курение	12	20,6
Употребление алкоголя	7	12,0
Проводилась ли ранее эзофагогастродуоденоскопия	51	87,9
Наблюдается ли пациент у гастроэнтеролога	9	15,5
Получал ли пациент лечения по поводу гастрита	9	15,5
Получал ли пациент лечение по поводу язвенной болезни	3	5,2
Родственники первой очереди со злокачественным новообразованием желудка	—	—

При опросе больных о рационе, режиме питания обнаружались особенности у женщин и у мужчин, результаты опроса представлены в таблицах 19 и 20.

Таблица 19 – распределение больных (женщины) в соответствии с рационом

Продукты	≥ 4 раз в неделю		2-3 раза в неделю		1 раз в неделю и реже	
	абс	%	абс	%	абс	%
Овощи и фрукты	13	33,3	23	59	3	7,7
Соленное, копченое мясо и рыба	3	7,7	15	38,4	21	53,9
Крахмалистые пища, зерновые	39	100	—	—	—	—

Таблица 20 – Распределение больных (мужчины) в соответствии с рационом

продукты	4 ≤раза в неделю		2-3 раза в неделю		1 раз в неделю и реже	
	абс	%	абс	%	абс	%
Овощи и фрукты	3	15,8	9	47,4	7	36,8
Соленное, копченое мясо и рыба	5	26,3	13	68,4	1	5,3
Крахмалистые пища, зерновые	19	100	—	—	—	—

Как видно из таблиц 19 и 20 33,3 % женщин употребляли в пищу овощи и фрукты чаще 4 раз в неделю, а количество мужчин, употреблявших овощи и фрукты 4 и более раз в неделю, – 15,8 %, что в два раза меньше. В группе II 26,3 % мужчин отметили, что ежедневно употребляли соленое, копченое мясо (колбасные изделия); количество женщин, ежедневно употреблявших колбасные изделия, в 3,4 раза меньше.

Анализ результатов эндоскопического исследования показал, что у 39 пациентов (67,24 %) язвы были множественные, с поражением слизистой антрального отдела и тела желудка, если в описании эндоскопического осмотра указывали форму, то описывали язвенные поражения как округлые или овальные, размер поражений ($0,72 \pm 0,39$) см.

Эпителий кишечного типа при хромоэндоскопии выявлен у 2 пациентов (3,4 %).

Всем пациентам с эрозивно-язвенным поражением слизистой желудка на фоне приема НПВС (и/или кардиомагния), также как и больным группы I, во

время первичной гастроскопии проводили браш-биопсию. После взятия материала края дефектов отмывали раствором аминокaproновой кислоты до 60 мл и/или орошали раствором C_2H_5OH 95 %-м – 15 мл. Результаты цитологического исследования браш-препаратов пациентов группы II представлены в таблице 21.

Таблица 21 – Распределение пациентов группы II по результатам цитологического исследования

Цитологическое заключение	Абс.	%
Клетки покровно-ямочного эпителия в состоянии пролиферации, встречаются элементы воспаления	7	12,1
Слизь, клетки покровно-ямочного эпителия в состоянии пролиферации, определяются элементы воспаления	17	29,3
Клетки покровно-ямочного эпителия с признаками пролиферации, с дегенеративно-дистрофическими изменениями, отмечаются бесструктурные массы	21	36,2
Клетки покровно-ямочного эпителия с признаками пролиферации, с дегенеративными изменениями. Встречаются клетки с признаками кишечной метаплазии, а также с дисплазией умеренной степени	3	5,15
Без атипии	7	12,1
Встречаются клетки подозрительные по раку	3	5,15

Трое пациентов (5,15 %), у которых при цитологическом исследовании найдены клетки подозрительные по раку, принимали кардиомагнил. Согласно данным литературы аспирин является причиной реактивных изменений эпителия; при резко выраженной атипии цитологическая картина имитирует аденокарциному [34].

Все пациенты с эрозивно-язвенным поражением слизистой оболочки желудка на фоне приема НПВС и/или кардиомагнила после гастроскопии с браш-биопсией были направлены в процедурный кабинет, где им выполнялся забор венозной

крови для анализа полиморфизма фактора некроза опухоли альфа. Распределение генотипов и частот аллелей пациентов группы сравнения показано в таблице 22.

Таблица 22 – Частота генотипов и аллелей G-308A гена TNF- α у пациентов группы II

Обследуемые	Аллели и генотипы	Группа сравнения	
		n	%
Все обследуемые	AA	0	0
	GA	12	21
	GG	46	79
	A	12	10,34
	G	104	89,66
Мужчины	AA	0	0
	GA	4	21,05
	GG	15	78,95
	A	4	10,53
	G	34	89,47
Женщины	AA	0	0
	GA	8	20,51
	GG	31	79,49
	A	8	10,26
	G	70	89,74

Через 5 дней пациенты были приглашены на контрольную эзофагогастродуоденоскопию с биопсией. В группе II были обнаружены язвы малых и средних размеров, дисплазия выявлена всего в трех случаях. Выраженная реакция (++++) с ЦОГ-2 ($\times 400$) отмечена только при наличии фокусов low-grade дисплазии у трех пациентов.

Гистологический материал (2-3 5 мкм срезам парафинового блока) и браш-препараты всех 58 язв прошли молекулярно-генетическое исследование. Материал, полученный из 3 язв с дисплазией с помощью созданной

математической модели для гистологических образцов по профилю экспрессии миРНК, определён в группу дисплазия.

3.3 Результаты обследования пациентов в группе «рак желудка»

Больные раком желудка поступали по скорой помощи в ГБУЗ НСО «Городская клиническая больница № 2» г. Новосибирска с желудочно-кишечным кровотечением. Основания для постановки диагноза и госпитализации представлены в таблице 23.

Таблица 23 – Причины госпитализации пациентов основной группы

Признаки желудочно-кишечного кровотечения	Количество случаев, абс.	Соотношение к общему количеству больных, %
Рвота содержимым по типу «кофейной гущи»	5	16,2
Мелена, общая слабость	11	35,5
Бледность кожных покровов, снижение уровня гемоглобина	15	48,3
Всего	31	100,0

В тяжелом состоянии поступили 2 больных (6,4 %), эзофагогастродуоденоскопия им выполнялась в условиях реанимации в присутствии врача анестезиолога-реаниматолога.

При опросе 7 пациентов (22,5 %) указали, что принимали препарат из группы ингибиторов протонного насоса из-за болей в области эпигастрия, без эндоскопического контроля.

Антиагреганты из группы НПВС принимали 8 больных (25,8 %). Другие факторы риска кровотечения представлены в таблице 24.

Таблица 24 – Факторы риска развития кровотечения в группе рака желудка

Факторы риска	Количество случаев, абс.	Соотношение к общему количеству больных, %
Возраст старше 60 лет	26	83,8
Сопутствующая патология	31	100,0
Нервно-психические стрессы	18	58,0

Также по данным KimGMetal (2017) психологические расстройства (тревога, депрессия, стресс) характерны для пациентов на любой стадии рака желудка, а кроме того депрессия тесно связана с гипертонической болезнью [74]. Среди сопутствующей патологии гипертоническая болезнь встречалась более чем в половине (54,8 %) всех наблюдений. Факторы риска развития рака и результаты сбора анамнеза представлены в таблице 25.

Таблица 25 – Результаты сбора анамнеза больных раком желудка

Данные анамнеза	Количество случаев, абс.	Соотношение к общему количеству больных, %
Курение	10	32,2
Употребление алкоголя	9	29,0
Проводилась ли ранее эзофагогастроуденоскопия	11	35,5
Наблюдается ли пациент у гастроэнтеролога	—	—
Получал ли пациент лечения по поводу гастрита	—	—
Получал ли пациент лечения по поводу язвенной болезни	2	6,4
Родственники первой очереди со злокачественным новообразованием желудка	8	25,8

При сборе жалоб и анамнеза преобладающее большинство больных – 21 (67,7 %) – отметили, что симптомы «желудочного дискомфорта» (ощущение переполнения желудка, чувство тяжести, утрата чувства удовольствия от приема

пищи) появились в последние 6 месяцев. За медицинской помощью не обращались, так как симптомы носили не постоянный характер. Результаты опроса больных о рационе, режиме питания представлены в таблицах 26 и 27.

Таблица 26 – Распределение больных (женщины) в соответствии с рационом

Продукты	≥ 4 раз в неделю		2-3 раза в неделю		1 раз в неделю и реже	
	абс	%	абс	%	абс	%
Овощи и фрукты	2	11,7	10	58,8	5	29,4
Соленое, копченое мясо и рыба	4	23,5	9	52,9	4	23,5
Крахмалистые пища, зерновые	17	100	—	—	—	—

Таблица 27 – Распределение больных (мужчины) в соответствии с рационом

Продукты	≥ 4 раз в неделю		2-3 раза в неделю		1 раз в неделю и реже	
	абс	%	абс	%	абс	%
Овощи и фрукты	—	—	12	85,7	2	14,3
Соленое, копченое мясо и рыба	6	42,8	8	57,2	—	—
Крахмалистые пища, зерновые	14	100	—	—	—	—

По сравнению с группой I и группой II, в группе рака всего два больных (11,7 %) употребляли в пищу овощи и фрукты ≥ 4 раз в неделю.

Что касается эндоскопического осмотра, распределить больных четко по локализации процесса в желудке не представлялось возможным из-за инфильтрации слизистой оболочки и размеров язвенных дефектов. Размерами от 1,5 до 3,0 см были 7 (22,5 %) язвенных дефектов, остальные 24 (77,5 %) – от 3,0 см. Еще в двух наблюдениях отмечены поражения, где одновременно были 2 (6,4%) и более язвы на инфильтрированной слизистой оболочке. Цилиндрический эпителий кишечного типа при помощи метиленового синего

выявлен в 11 случаях (35,4 %), при этом в 5 случаях (16,1 %) окрашивание наблюдалось только в антральном отделе, в 6 (19,3 %) наблюдениях распространялось на нижнюю и среднюю треть тела желудка.

Как и в группе I, во время первичной ЭГДС в день поступления пациента в стационар была выполнена браш-биопсия. Результаты цитологического исследования представлены в таблице 28.

Таблица 28 – Распределение пациентов группы III по результатам цитологического исследования

Цитологическое заключение	Количество случаев, абс.	Соотношение к общему количеству больных, %
Перстневидноклеточный рак	1	3,2
Внутриэпителиальная неоплазия тяжелой степени	5	16,2
Аденокарцинома	9	29
Скопление клеток подозрительных по раку	16	51,6
Итого	31	100

В случае подозрения на перстневидноклеточный рак в препарате было найдено скопление мелких округлых клеток с высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением, отмечены клетки, в которых ядро смещено на периферию вакуолю слизи (клетки имеющие вид «перстня»). Высокодифференцированную аденокарциному и тяжелую дисплазию сложно различить, в обоих случаях может наблюдаться гиперхромия ядер, полиморфизм и отсутствие полярности. Заключение «аденокарцинома» выставляли, если находили цилиндрической формы клетки с крупными ядрами со скудной базофильной цитоплазмой, а также отмечали ядерно-цитоплазматическую полярность.

Однако чаще всего в материале среди пролиферирующего покровно-ямочного эпителия находили клетки подозрительные по раку (гигантские многоядерные клетки «голые ядра»). Цитологическое исследование было информативным во всех случаях рака желудка, но оно не отражало степень

дифференцировки злокачественного новообразования.

При морфологическом исследовании операционных препаратов или биоптатов, полученных при эзофагогастродуоденоскопии в постгеморрагическом периоде, установлены: в 11 случаях – высокодифференцированная аденокарцинома, в 15 – умеренно дифференцированная, у 5 больных – низкодифференцированная. В одном случае новообразование соответствовало стадии 0 (TisN0M0), в 8 случаях выставлена стадия II (II A: T2N1M0; II B: T3N1M0 и T2N2M0), у 14 больных – стадия III (III A: T3N2M0, T2N3M0; III B: T4aN3M0, T3N3M0; III C: T4aN3M0) и у 8 больных выставлена IV стадия (наличие отдалённых метастазов).

При иммуногистохимическом исследовании выраженная реакция (+++) с ЦОГ-2 ($\times 400$) получена во всех наблюдениях.

Результаты определения генотипов TNF- α при -308 (G; A) в группе III и в группе II представлены в таблице 29.

Таблица 29 – Частота генотипов и аллелей G-308A гена TNF- α группы III и пациентов группы II

Обследуемые	Аллели и генотипы	Группа III		Группа II		P I-II
		n	%	n	%	
Все обследуемые	AA	0	0	0	0	—
	GA	13	42	12	21	0,034
	GG	18	58	46	79	0,034
	A	13	20,97	12	10,34	NS
	G	49	79,03	104	89,66	NS
Мужчины	AA	0	0	0	0	—
	GA	6	42,86	4	21,05	NS
	GG	8	57,14	15	78,95	NS
	A	6	21,43	4	10,53	NS
	G	22	78,57	34	89,47	NS
Женщины	AA	0	0	0	0	—
	GA	7	41,18	8	20,51	NS
	GG	10	58,82	31	79,49	NS
	A	7	20,59	8	10,26	NS
	G	27	79,41	70	89,74	NS

Примечание: NS – различие не значимо.

Распределение генотипов TNF- α при -308 (G; A) составило: GG 58 %, GA 42 % и AA 0 % у пациентов с раком желудка и 79 %, GA 21 % и AA 0 % в группе II. В группе больных с раком желудка гетерозиготный генотип GA гена TNF- α встречался чаще, чем в группе II: 42 % против 21 % ($\chi^2 = 4,514$; $p = 0,034$). При вычислении показателя отношения шансов было обнаружено, что генотип GA ассоциирован с риском развития рака желудка (OR = 2,769; нижняя граница 95 % ДИ (CI) = 1,065, верхняя граница 95 % ДИ (CI) = 7,197). В нашем исследовании генотип AA не встретился ни в группе I, ни в группе II, ни в группе III. Согласно данным литературы генотип TNF- α -308 AA редко встречается. В исследовании с выборкой более 100 случаев этот показатель колебался от 0 до 16 % [23].

Гистологический материал (2-3 5 мкм среза парафинового блока) и браш-препараты всех карцином были направлены на молекулярно-генетическое исследование с помощью анализа экспрессии миРНК и мРНК. Материал, полученный от всех больных из группы рака желудка, с помощью созданных математических моделей по профилю экспрессии миРНК определен в группу рак.

3.4 Молекулярно-генетическое исследование

Различия в экспрессии миРНК между нормами, дисплазиями и раком желудка в гистологических образцах.

С помощью ОТ-ПЦРРВ мы определили экспрессию 14 классификаторных миРНК и малой РНК U6 сначала в 122 гистологических образцах.

В большей степени разница в экспрессии между нормой и РЖ характерна для миРНК-150, -21, -34а, -375, -196b, -451. В свою очередь, для образцов с дисплазией профиль экспрессии миРНК отличается и от нормы, и от РЖ. На рисунках с 3 по 16 и в таблицах с 31 по 44 показан относительный уровень экспрессии 14 миРНК в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов. В таблице 30 приведены данные по

статистической значимости видимых различий между экспрессией миРНК в образцах разных типов. Поскольку количество образцов было невелико, то, чтобы не делать предположений о том, распределению какого типа соответствуют наши выборки, мы воспользовались непараметрическим критерием Манна – Уитни.

Как видно из таблицы 30, в некоторых случаях достигается достаточно высокий уровень значимости, особенно при сравнении экспрессии миРНК-21, -34а, -196b, -451, -150 в группах РЖ/норма; миРНК-150, -375, -125а, -31, -141 в группах РЖ/дисплазия и миРНК-21, -31, -34а, -125а, -221, -141, -451 в группах дисплазия/норма. Подобные уровни значимости различий в экспрессии миРНК между разными группами указывают на возможность использования данных по экспрессии для эффективного разделения образцов по разным группам [73].

Таблица 30 – Уровень значимости при попарном сравнении экспрессии миРНК в разных типах гистологических образцов

миРНК	РЖ/норма	РЖ/дисплазия	Норма/дисплазия
миРНК-145	0,658799	0,024481	0,020678
миРНК-150	0,001427	$2,39 \times 10^{-9}$	$1,6 \times 10^{-12}$
миРНК-20а	0,087065	0,005350	0,000184
миРНК-21	$1,62 \times 10^{-7}$	0,002382	$7,27 \times 10^{-9}$
миРНК-31	0,397360	0,000001	$1,19 \times 10^{-10}$
миРНК-34а	$4,69 \times 10^{-11}$	0,007694	$1,89 \times 10^{-11}$
миРНК-106b	0,1716	0,2515	0,0004
миРНК-375	0,001012	0,000007	0,078223
миРНК-125а	0,0240	$3,28 \times 10^{-6}$	$2,28 \times 10^{-6}$
миРНК-125b	0,3218	0,7866	0,3207
миРНК-196b	$8,25 \times 10^{-6}$	0,0011	0,0024
миРНК-221	$5,97 \times 10^{-6}$	0,0985	$3,43 \times 10^{-5}$
миРНК-141	0,4983	0,0002	$3,88 \times 10^{-5}$
миРНК-451	$1,24 \times 10^{-8}$	0,8374	$1,07 \times 10^{-10}$

Примечание. Выделены значимые ($p < 0,007$) различия.

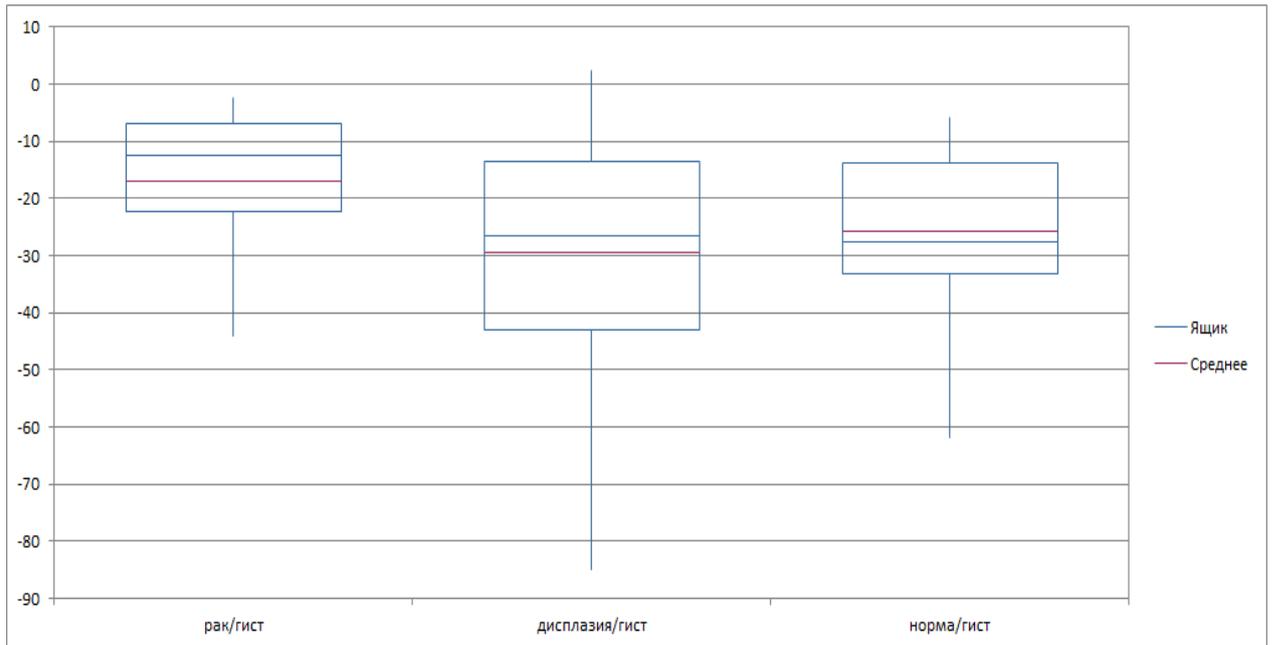


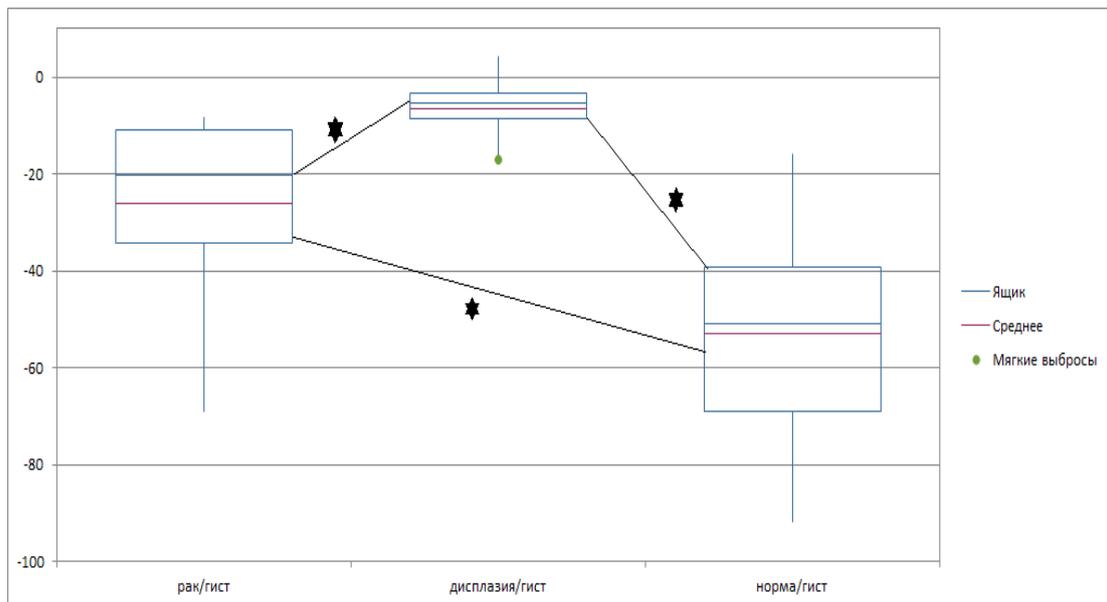
Рисунок 3 – Относительный уровень экспрессии миРНК-145 в разных типах гистологических образцов

Таблица 31 – Относительный уровень экспрессии миРНК-145 в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов

Переменная	Размер выборки	Среднее	Минимум	Нижний ус (ограничитель)	Q1	Медиана	Q3	Верхний ус (ограничитель)	Максимум
Рак/гист	26	-16,9069	-44,0173	-44,0173	-22,2391	-12,5617	-7,0149	-2,2974	-2,2974
Дисплаз/гист	107	-29,3835	-85,0359	-85,0359	-42,9626	-26,5382	-13,5483	2,4967	2,4967
Норма/гист	32	-25,7498	-61,8199	-61,8199	-33,2535	-27,4748	-13,6917	-5,7358	-5,7358

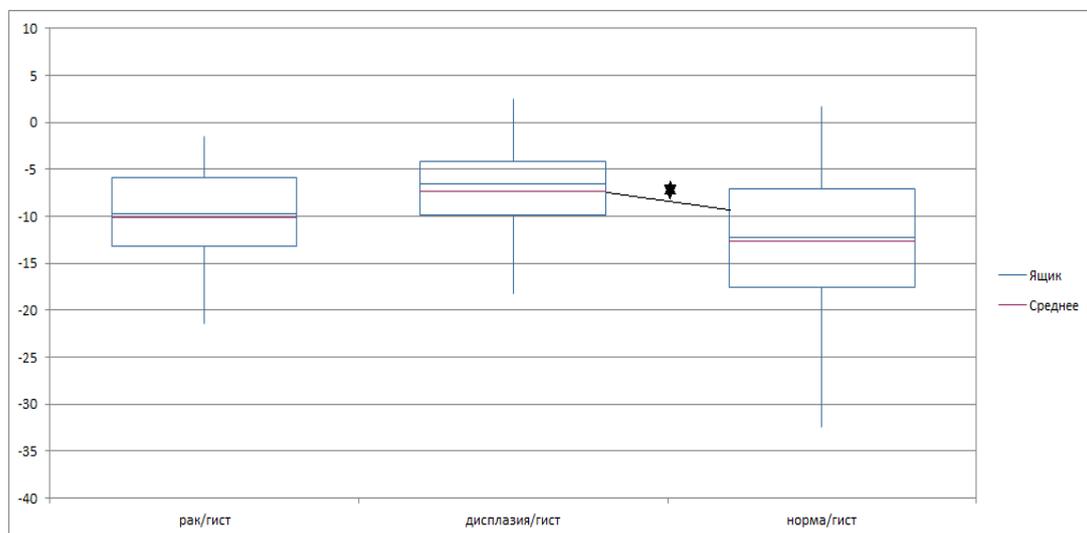
Таблица 32 – Относительный уровень экспрессии миРНК-150 в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов

Переменная	Размер выборки	Среднее	Минимум	Нижний ус (ограничитель)	Q1	Медиана	Q3	Верхний ус (ограничитель)	Максимум
Рак/гист	28	-26,0150	-69,0706	-69,0706	-34,3564	-20,4008	-10,9532	-8,3397	-8,3397
Дисплазия/гист	92	-6,4295	-17,0299	-16,3362	-8,7090	-5,2417	-3,1991	4,3469	4,3469
Норма/гист	31	-53,0034	-91,7731	-91,7731	-68,9809	-50,9143	-39,2624	-16,0000	-16,0000



* значимые ($p < 0,007$) различия

Рисунок 4 – Относительный уровень экспрессии миРНК-150 в разных типах гистологических образцов, диапазон без выбросов



* значимые ($p < 0,007$) различия

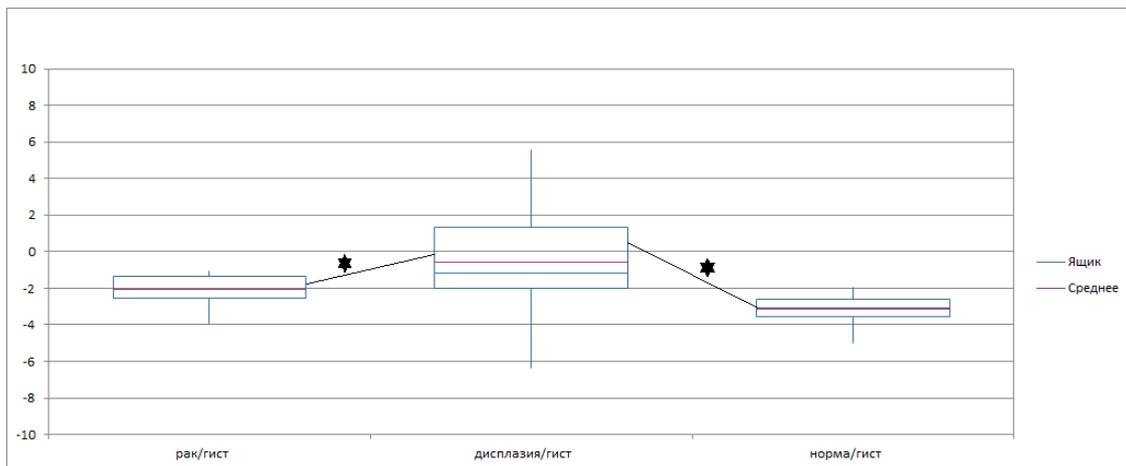
Рисунок 5 – Относительный уровень экспрессии миРНК-20a в разных типах гистологических образцов, диапазон без выбросов

Таблица 33 – Относительный уровень экспрессии миРНК-20а в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов

Переменная	Размер выборки	Среднее	Минимум	Нижний ус (ограничитель)	Q1	Медиана	Q3	Верхний ус (ограничитель)	Максимум
Рак/гист.	35	-10,0874	-21,4068	-21,4068	-13,2271	-9,7811	-5,9179	-1,5583	-1,5583
Дисплазия/гист.	110	-7,3172	-18,2522	-18,2522	-9,9184	-6,5894	-4,2135	2,4453	2,4453
Норма/гист.	34	-12,6374	-32,4467	-32,4467	-17,5100	-12,2950	-7,1286	1,7053	1,7053

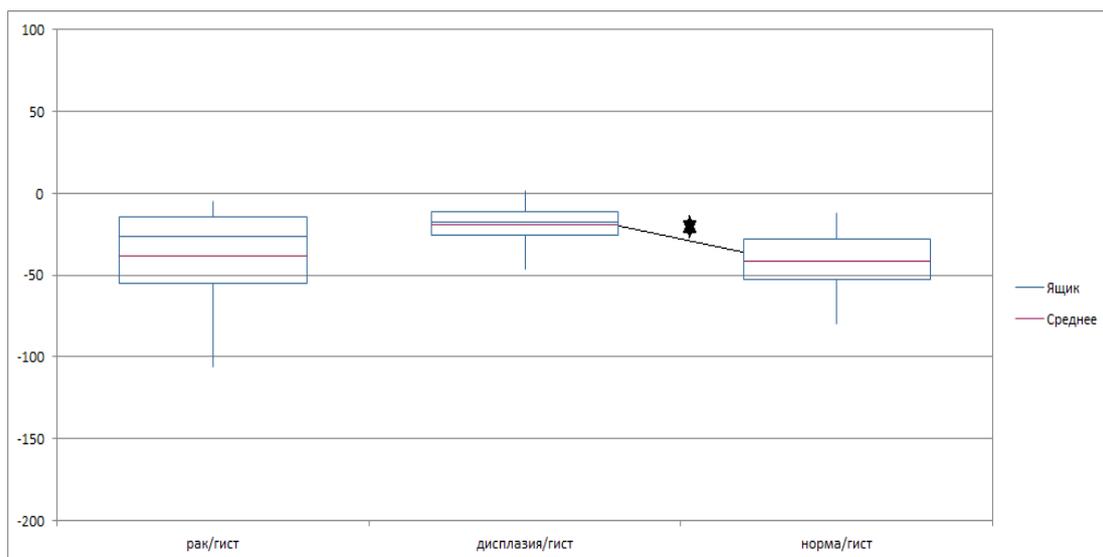
Таблица 34 – Относительный уровень экспрессии миРНК-21 в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов

Переменная	Размер выборки	Среднее	Минимум	Нижний ус (ограничитель)	Q1	Медиана	Q3	Верхний ус (ограничитель)	Максимум
Рак/гист.	27	-2,0383	-3,9177	-3,9177	-2,5541	-2,0849	-1,3613	-1,0570	-1,0570
Дисплазия/гист.	113	-0,5813	-6,3643	-6,3643	-1,9862	-1,1810	1,3104	5,5790	5,5790
Норма/гистол.	28	-3,1608	-4,9933	-4,9933	-3,5616	-3,0846	-2,6001	-1,9453	-1,9453



*значимые ($p < 0,007$) различия

Рисунок 6 – Относительный уровень экспрессии миРНК-21 в разных типах гистологических образцов, диапазон без выбросов



*значимые ($p < 0,007$) различия

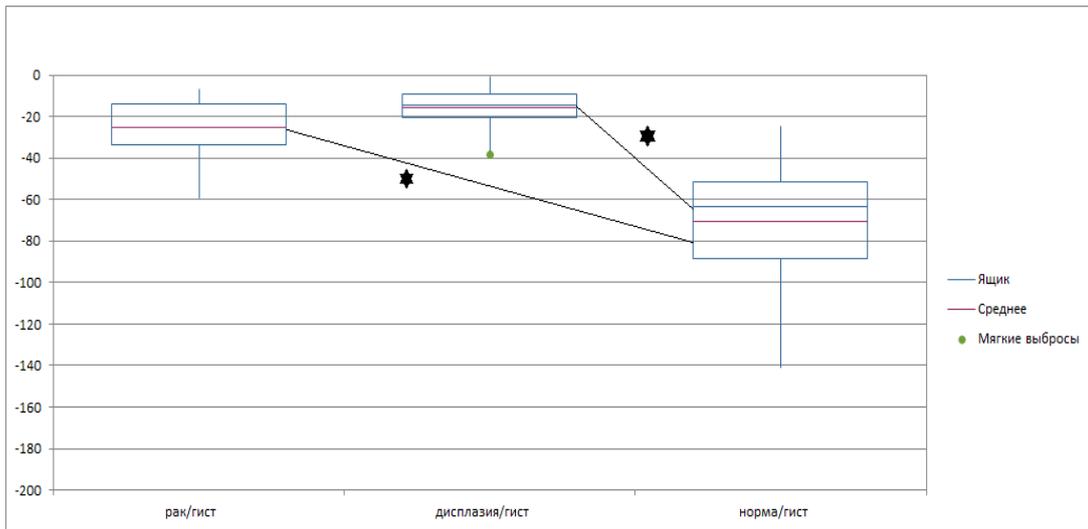
Рисунок 7 – Относительный уровень экспрессии миРНК-31 в разных типах гистологических образцов, диапазон без выбросов

Таблица 35 – Относительный уровень экспрессии миРНК-31 в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов

Переменная	Размер выборки	Среднее	Минимум	Нижний ус (ограничитель)	Q1	Медиана	Q3	Верхний ус (ограничитель)
Рак/гист.	25	-38,5436	-106,1529	-106,1529	-55,3304	-26,7228	-14,6213	-5,1694
Дисплазия/гист.	115	-19,1060	-45,8866	-45,8866	-25,6342	-17,2677	-11,3531	1,6472
Норма/гист.	31	-41,1706	-79,8932	-79,8932	-52,2351	-41,3553	-27,5710	-12,1257

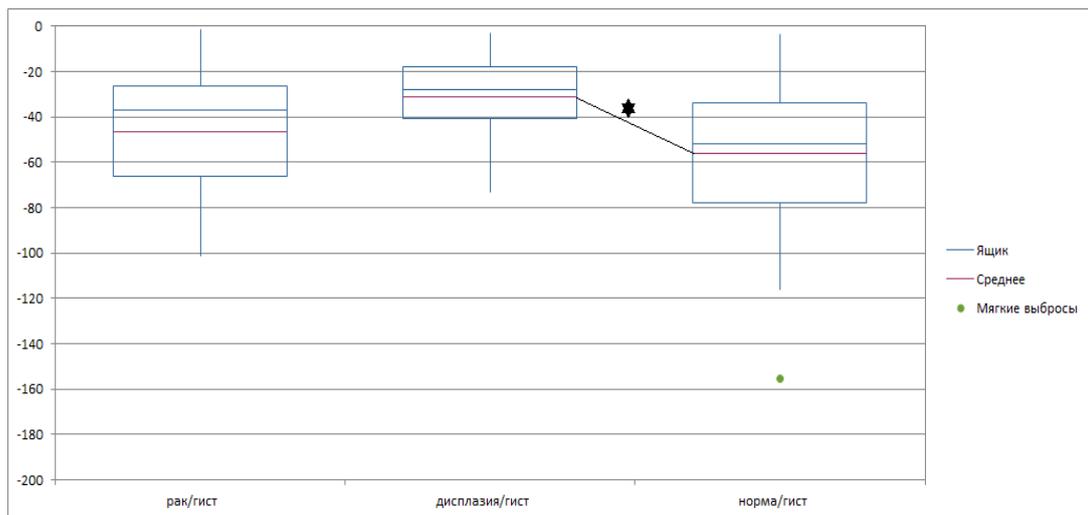
Таблица 36 – Относительный уровень экспрессии миРНК-34а в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов

Переменная	Размер выборки	Среднее	Минимум	Нижний ус (ограничитель)	Q1	Медиана	Q3	Верхний ус (ограничитель)	Максимум
Рак/гист.	34	-25,5243	-59,3016	-59,3016	-33,5329	-25,3032	-14,2000	-6,5887	-6,5887
Дисплазия/гист.	99	-15,7336	-38,3193	-37,0140	-20,7506	-14,5203	-9,2535	-1,0943	-1,0943
Норма/гист.	28	-70,3950	-141,0439	-141,0439	-88,1878	-63,3384	-51,7259	-24,9333	-24,9333



* значимые ($p < 0,007$) различия

Рисунок 8 – Относительный уровень экспрессии миРНК-34а в разных типах гистологических образцов, диапазон без выбросов



* значимые ($p < 0,007$) различия

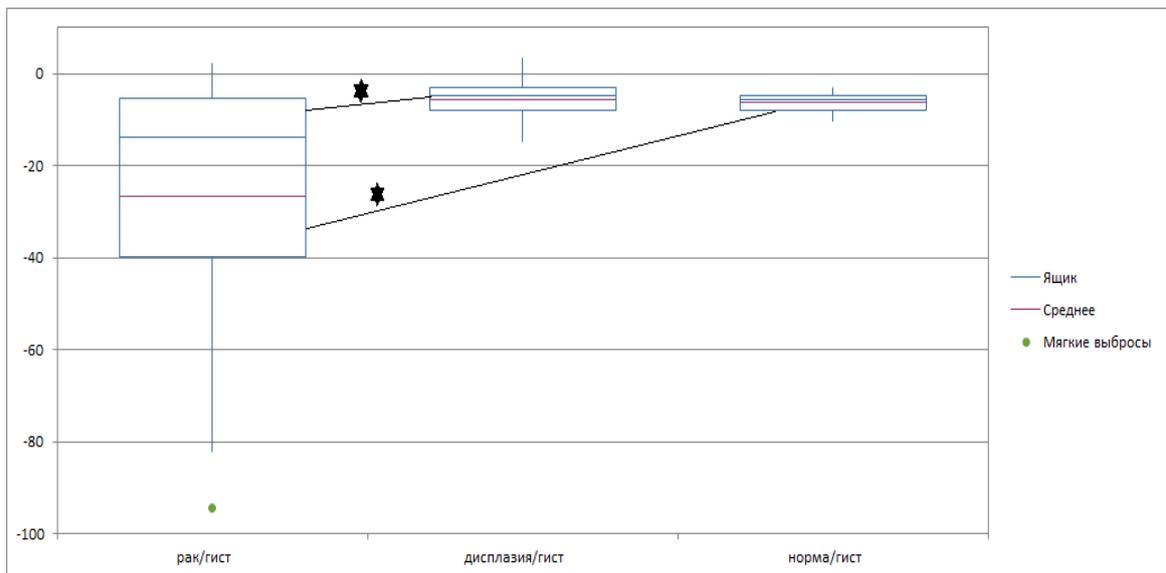
Рисунок 9 – Относительный уровень экспрессии миРНК-106b в разных типах гистологических образцов, диапазон без выбросов

Таблица 37 – Относительный уровень экспрессии миРНК-106b в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов

Переменная	Размер выборки	Среднее	Минимум	Нижний ус (ограничитель)	Q1	Медиана	Q3	Верхний ус (ограничитель)	Максимум
Рак/гист.	34	-46,3561	-101,1253	-101,1253	-66,0183	-37,1427	-26,6113	-1,1975	-1,1975
Дисплазия/гист.	103	-31,3454	-73,0089	-73,0089	-40,6470	-28,0514	-17,8770	-3,0738	-3,0738
Норма/гист.	32	-56,3305	-155,4169	-116,1625	-78,0690	-51,6300	-34,0047	-3,6808	-3,6808

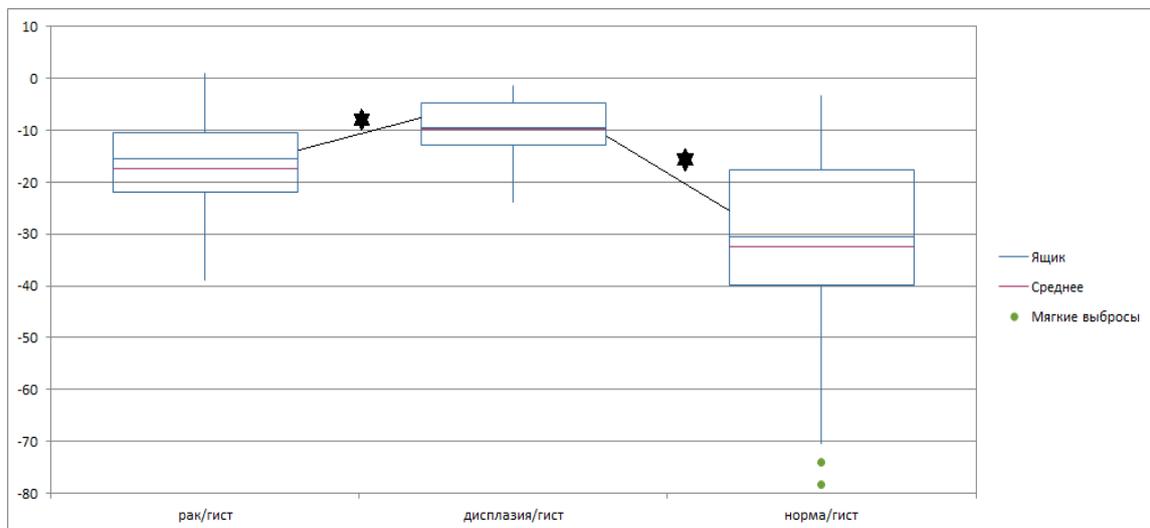
Таблица 38 – Относительный уровень экспрессии миРНК-375 в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов

Переменная	Размер выборки	Среднее	Минимум	Нижний ус (ограничитель)	Q1	Медиана	Q3	Верхний ус (ограничитель)	Максимум
Рак/гист.	29	-26,8008	-94,3532	-82,1393	-39,9466	-13,7370	-5,4642	2,0994	2,0994
Дисплазия/гист.	98	-5,7516	-14,6213	-14,6213	-7,9039	-4,9417	-3,1114	3,5064	3,5064
Норма/гист.	27	-6,3407	-10,3388	-10,3388	-8,0000	-5,8159	-4,8402	-3,0951	-3,0951



* значимые ($p < 0,007$) различия

Рисунок 10 – Относительный уровень экспрессии миРНК-375 в разных типах гистологических образцов, диапазон без выбросов



* значимые ($p < 0,007$) различия

Рисунок 11 – Относительный уровень экспрессии миРНК-125а в разных типах гистологических образцов, диапазон без выбросов

Таблица 39 – Относительный уровень экспрессии миРНК-125а в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов

Переменная	Размер выборки	Среднее	Минимум	Нижний ус (ограничитель)	Q1	Медиана	Q3	Верхний ус (ограничитель)	Максимум
Рак/гист.	30	-17,3573	-38,8542	-38,8542	-21,9707	-15,5625	-10,4673	1,1096	1,1096
Дисплазия/гист.	105	-9,7074	-23,9176	-23,9176	-12,9063	-9,5137	-4,8232	-1,4142	-1,4142
Норма/гист.	34	-32,4736	-78,2490	-70,5219	-39,8819	-30,4851	-17,7231	-3,3636	-3,3636

Таблица 40 – Относительный уровень экспрессии миРНК-125b в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов

Переменная	Размер выборки	Среднее	Минимум	Нижний ус (ограничитель)	Q1	Медиана	Q3	Верхний ус (ограничитель)	Максимум
Рак/гист.	24	-5,6481	-15,4550	-15,4550	-8,1400	-4,7904	-2,3719	-1,1975	-1,1975
Дисплазия/гист.	99	-8,4499	-25,1067	-25,1067	-12,5976	-7,5685	-3,1390	1,9862	1,9862
Норма/гист.	33	-14,5519	-37,5307	-34,0598	-18,7654	-13,0864	-7,5162	-1,5052	-1,5052

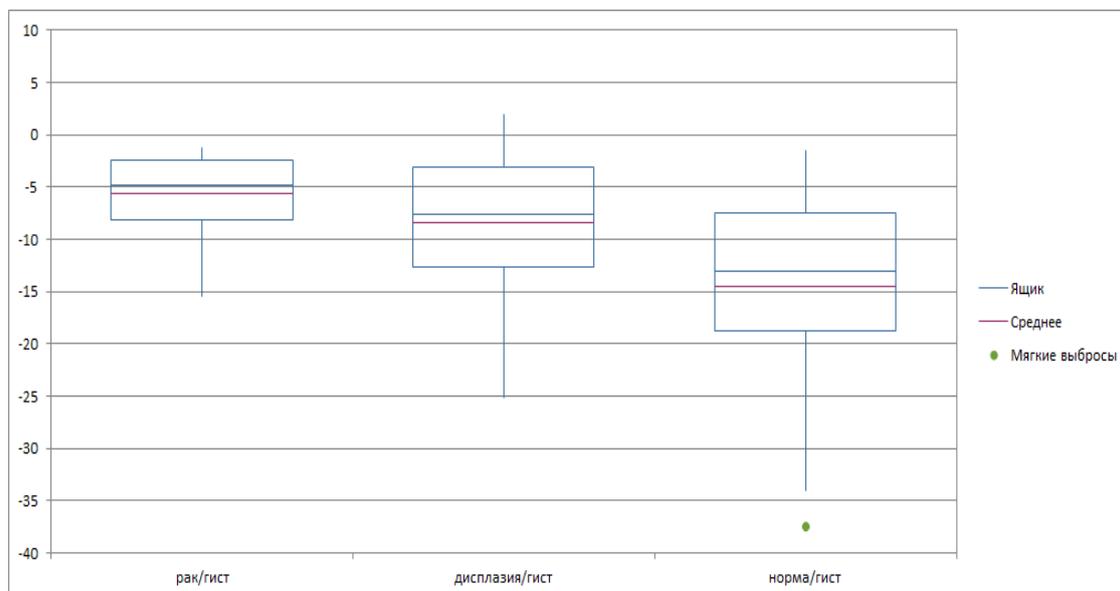
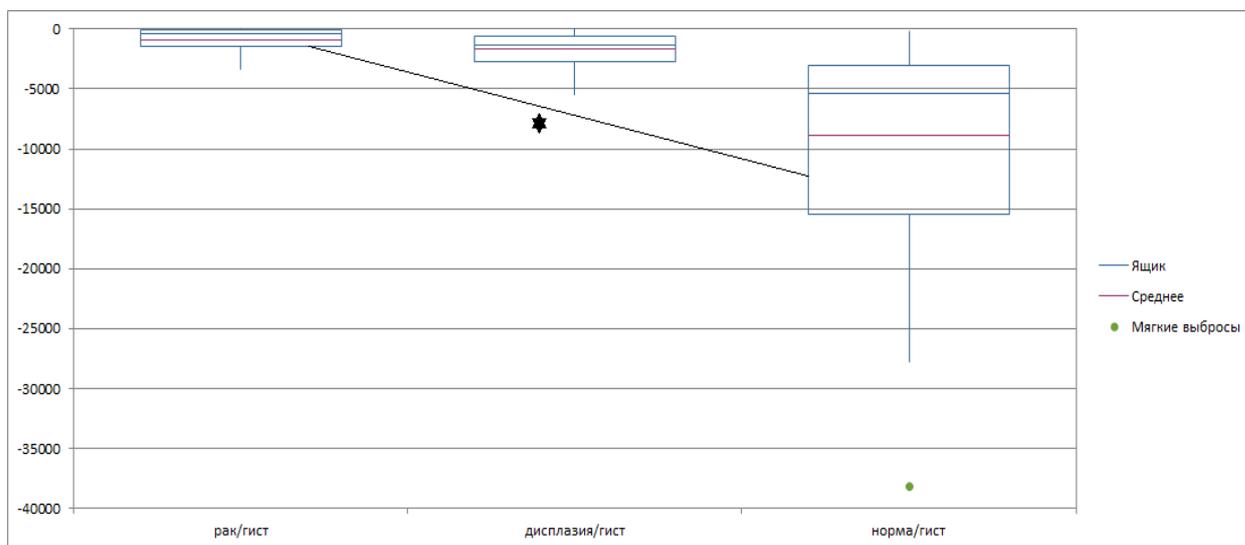


Рисунок – 12 Относительный уровень экспрессии миРНК-125b в разных типах гистологических образцов, диапазон без выбросов



*значимые ($p < 0,007$) различия

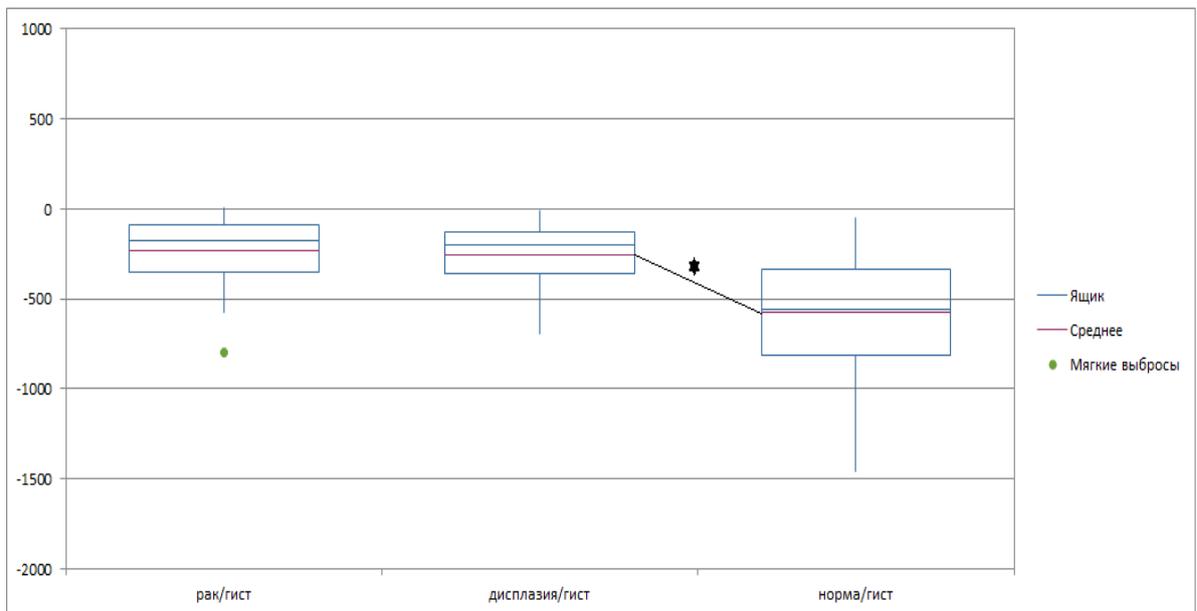
Рисунок 13 – Относительный уровень экспрессии миРНК-196b в разных типах гистологических образцов, диапазон без выбросов

Таблица 41 – Относительный уровень экспрессии миРНК-196b в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов

Переменная	Размер выборки	Среднее	Минимум	Нижний ус (ограничитель)	Q1	Медиана	Q3	Верхний ус (ограничитель)	Максимум
Рак/гист	30	-887,7882	-3 373,4288	-3 373,4288	-1 481,2077	-417,3860	-79,8989	-4,0558	-4,0558
Дисплазия/гист	92	-1 696,3910	-5 480,1513	-5 480,1513	-2 684,4666	-1 351,2086	-569,1079	-17,0299	-17,0299
Норма/гист	34	-8 927,9174	-38 165,9902	-27 746,1504	-15 489,8977	-5 330,4243	-3 061,6584	-128,0000	-128,0000

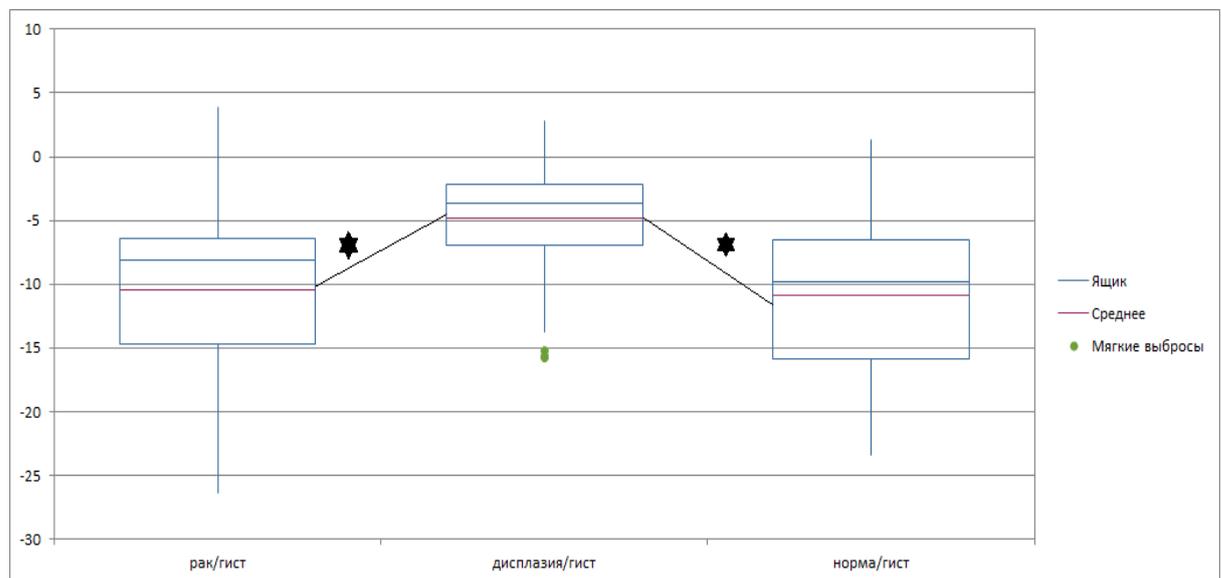
Таблица 42 – Относительный уровень экспрессии миРНК-221 в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов

Переменная	Размер выборки	Среднее	Минимум	Нижний ус (ограничитель)	Q1	Медиана	Q3	Верхний ус (ограничитель)	Максимум
Рак/гист.	33	-234,6484	-797,8645	-576,0299	-349,7063	-178,5272	-91,1392	3,6553	3,6553
Дисплазия/гист.	103	-254,2109	-694,5814	-694,5814	-359,5379	-203,6573	-131,1441	-6,3203	-6,3203
Норма/гист.	27	-576,3853	-1 458,2274	-1 458,2274	-812,6350	-560,2784	-335,4607	-45,2548	-45,2548



*значимые ($p < 0,007$) различия

Рисунок 14 – Относительный уровень экспрессии миРНК-221 в разных типах гистологических образцов, диапазон без выбросов



* значимые ($p < 0,007$) различия

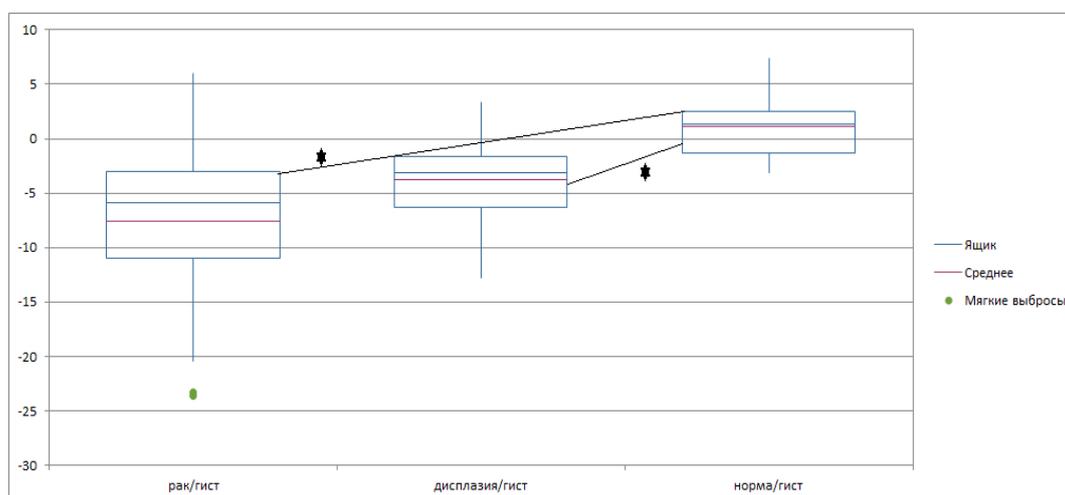
Рисунок 15 – Относительный уровень экспрессии миРНК-141 в разных типах гистологических образцов, диапазон без выбросов

Таблица 43 – Относительный уровень экспрессии миРНК-141 в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов

Переменная	Размер выборки	Среднее	Минимум	Нижний ус (ограничитель)	Q1	Медиана	Q3	Верхний ус (ограничитель)	Максимум
Рак/гист.	32	-10,4979	-26,3549	-26,3549	-14,6723	-8,0840	-6,3975	3,8371	3,8371
Дисплазия/гист.	105	-4,4821	-13,7370	-13,7370	-6,8211	-3,6553	-2,1886	2,8481	2,8481
Норма/гист.	30	-10,9036	-23,4254	-23,4254	-15,9177	-9,7821	-6,5322	1,3566	1,3566

Таблица 44 – Относительный уровень экспрессии миРНК-451 в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов

Переменная	Размер выборки	Среднее	Минимум	Нижний ус (ограничитель)	Q1	Медиана	Q3	Верхний ус (ограничитель)	Максимум
Рак/гист.	34	-7,6272	-23,5883	-20,3930	-11,0344	-5,8954	-3,0336	5,9794	5,9794
Дисплазия/гист.	83	-3,6303	-11,0809	-11,0809	-6,0665	-3,0951	-1,6022	3,3636	3,3636
Норма/гист.	29	1,0882	-3,1602	-3,1602	-1,3660	1,3472	2,4794	7,4127	7,4127



* значимые ($p < 0,007$) различия

Рисунок 16 – Относительный уровень экспрессии миРНК-451 в разных типах гистологических образцов, диапазон без выбросов

Использование данных об экспрессии миРНК для стратификации образцов на разные группы.

Для деления образцов на разные группы использовались алгоритмы построения дерева решений C-RT и C5.0, делящие исходные данные на подмножества, которые становятся все более и более гомогенными относительно определенных признаков, в результате чего формируется древовидная иерархическая структура, состоящая из узлов и листьев (узел решения). В узлах находятся решающие правила и проводится проверка соответствия. Процесс разбиения продолжается до тех пор, пока все узлы в конце всех ветвей не будут объявлены листьями, в результате могут создаваться сложные конструкции, которые недостаточно полно предоставляют данные (проблема переобучения).

Первое дерево было построено при помощи алгоритма C-RT, данный метод является наиболее часто используемым, так как позволяет строить деревья классификации и регрессии. Алгоритм перебирает все возможные варианты ветвления, чтобы найти ту предикторную переменную, при которой оценочная функция дает наилучший показатель.

Первое дерево принятия решения для гистологических образцов построено при помощи алгоритма C-RT:

миР-150 > (-14,12)
миР-31 > (-39,41)
миР-145 > (-3,19) Диагноз = РЖ
миР-145 ≤ (-3,19) Диагноз = Дисплазия
миР-31 ≤ (-39,41) Диагноз = РЖ
 миР-150 ≤ (-14,12)
миР-34а > (-49,18)
миР-21 > (-3,08) Диагноз = РЖ
миР-21 ≤ (-3,08) Диагноз = Норма
миР-34а ≤ (-49,18)
миР-375 > (-22,82) Диагноз = Норма
миР-375 ≤ (-22,82) Диагноз = Дисплазия

Таким образом, в дерево решений вошли миРНК-150, -31, -145, -31, -34а, -21, причем норму от РЖ можно отличить только по миРНК-34а, -21, -375. Данные о диагностических характеристиках определения РЖ и дисплазии с помощью этого дерева решений на выборке образцов, использованных в работе, представлены в таблице 45.

Таблица 45 – Диагностические характеристики выявления РЖ и дисплазии на основании данных об экспрессии миРНК

Параметры	Рак желудка	Дисплазия
Специфичность	93 %	97 %
Чувствительность	91 %	87 %
Общая точность	93 %	93 %
ПЦПР	84 %	96 %
ПЦОР	96 %	90 %

Примечание: ПЦПР – предсказательная ценность положительного результата; ПЦОР – предсказательная ценность отрицательного результата.

Из 34 образцов РЖ, молекулярный классификатор отнес 31 (91 %) образец к РЖ, 2 (6 %) – к дисплазии и 1 (3 %) – к норме. Из 54 образцов с дисплазией правильно было классифицировано 47 (87 %) образцов, в группу РЖ попало 4 (7 %) образца, а в норму – 4 (6 %) образца. Из 34 образцов нормальной слизистой желудка в группу «норма» попало 32 (94 %) образца, в группу «РЖ» – 2 (6 %) образца.

В ходе дальнейшей работы количество гистологических образцов, относящихся к язве желудка с дисплазией, увеличилось до 89. На основании данных, относящихся к новым образцам, было построено дерево принятия решений № 2 с использованием алгоритма C-RT:

миР-150 > (-34,29)
миР-31 > (-56,17)
миР-145 > (-10,59)
миР-21 > (-1,21) Диагноз = Дисплазия
миР-21 ≤ (-1,21) Диагноз = РЖ
миР-145 ≤ (-10,59)
миР-375 > (-247,85) Диагноз = Дисплазия
миР-375 ≤ (-247,85) Диагноз = Норма
миР-31 ≤ (-56,17) Диагноз = РЖ
 миР-150 ≤ (-34,29)
миР-145 > (-62,91)
миР-21 > (-1,67) Диагноз = РЖ
миР-21 ≤ (-1,67)
миР-34а > (-39,98) Диагноз = РЖ
миР-34а ≤ (-39,98) Диагноз = Норма
миР-145 ≤ (-62,91)
миР-20 > (-10,47) Диагноз = РЖ
миР-20 ≤ (-10,47) Диагноз = Дисплазия

Таким образом, дерево решения увеличилось, в него вошли все миРНК первого дерева, и добавилась миРНК-20а. Данные о диагностических характеристиках определения РЖ и дисплазии с помощью этого дерева решений представлены в таблице 46.

Таблица 46 – Диагностические характеристики выявления РЖ и дисплазии с помощью дерева принятия решений № 2

Параметры	Рак желудка	Дисплазия
Специфичность	94 %	92 %
Чувствительность	94 %	94 %
Общая точность	94 %	94 %
ПЦПР	76 %	96 %
ПЦОР	99 %	89 %

Однако после того, как количество гистологических образцов «язва с дисплазией» увеличилось до 125, «рак желудка» – до 35, «норма» – до 34, конструкция дерева усложнилась, и мы столкнулись с явлением переобучения классификатора, чувствительность для рака снизилась до 80 %. Вследствие этого было построено несколько деревьев принятия решений с использованием как алгоритма C-RT, так и алгоритма C5.0 отдельно для гистологических и цитологических образцов. Алгоритм C5.0 строит более устойчивые и компактные деревья решений, что позволяет профилировать проблему переобучения.

С помощью ОТ-ПЦР-РВ мы определили экспрессию 10 классификаторных миРНК и 4 мРНК в 221 цитологическом образце. В таблице 38 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.

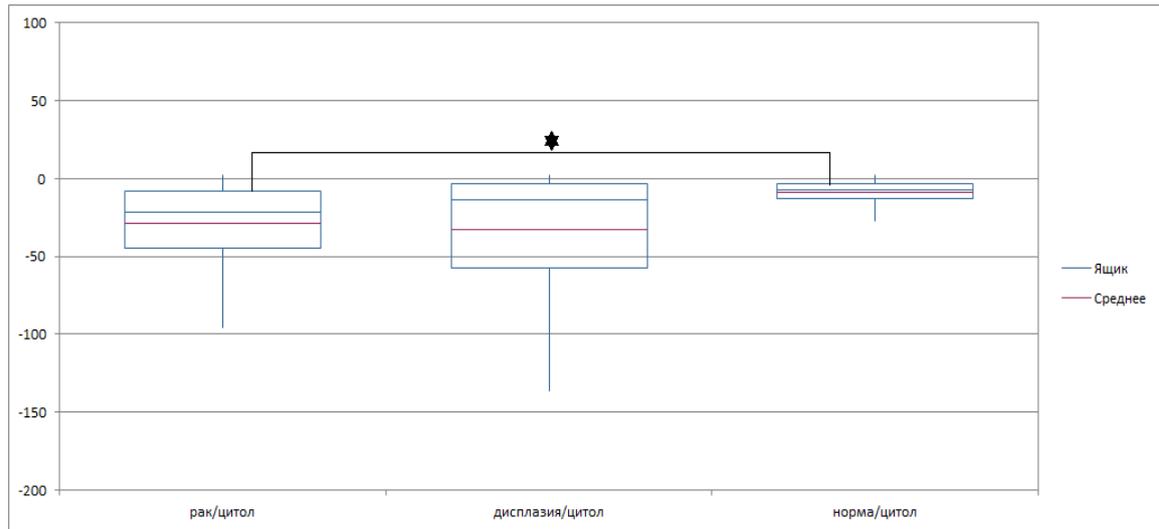
Видно, что в большей степени разница в экспрессии между нормой и РЖ характерна для миРНК-125b, -145, -196b, -150, -21, -31, -34a и мРНК TERT, мРНК SKS2, мРНК FN1, мРНК CDKN2A. В свою очередь, для образцов с дисплазией профиль экспрессии миРНК отличается и от нормы, и от РЖ. На рисунках с 17 по

30 и в таблицах с 48 по 61 показан относительный уровень экспрессии 10 миРНК и 4 мРНК в разных типах образцов. В таблице 47 приведены данные по статистической значимости видимых различий между экспрессией молекулярных маркеров в образцах разных типов.

Как видно из таблицы 47, в группах РЖ/норма в случаях миРНК-125b, -145, -196b, -150, -21, -375, -31, -34a, мРНК TERT, мРНК CKS2, мРНК CDKN2A, мРНК FN1, в группах РЖ/дисплазия в случаях миРНК-375 и мРНК FN1 и в группах дисплазия/норма в случаях миРНК-145, -150, -34a и мРНК TERT, мРНК CKS2 достигается высокий уровень значимости. Подобные уровни значимости различий в экспрессии молекулярных маркеров между разными группами указывают на возможность использования данных по экспрессии для эффективного разделения образцов по разным группам [74].

Таблица 47 – Уровень значимости при попарном сравнении экспрессии миРНК и мРНК в разных типах цитологических образцов

миРНК	РЖ/Норма	РЖ/Дисплазия	Норма/Дисплазия
миРНК-125b	$5,56 \times 10^{-6}$	0,5491	0,0620
миРНК-145	$1,87 \times 10^{-8}$	0,1165	$4,84 \times 10^{-9}$
миРНК-196b	$1,62 \times 10^{-12}$	0,0486	0,0005
миРНК-20a	0,0713	0,0928	0,0002
миРНК-150	$1,03 \times 10^{-9}$	0,3557	$1,93 \times 10^{-5}$
миРНК-21	$4,40 \times 10^{-10}$	0,0385	0,0079
миРНК-375	$5,08 \times 10^{-9}$	$2,93 \times 10^{-9}$	0,0007
миРНК-106b	0,5174	0,3674	0,5609
миРНК-31	$3,71 \times 10^{-7}$	0,0281	0,0475
миРНК-34a	$3,74 \times 10^{-7}$	0,6937	$6,80 \times 10^{-5}$
мРНК TERT	$4,34 \times 10^{-8}$	0,4407	$2,26 \times 10^{-5}$
мРНК CKS2	$2,78 \times 10^{-11}$	0,4490	$2,15 \times 10^{-7}$
мРНК FN1	$2,18 \times 10^{-12}$	$2,38 \times 10^{-5}$	0,4705
мРНК CDKN2A	$1,48 \times 10^{-5}$	0,1868	0,1033
Примечание. Выделены значимые ($p < 0,0012$) различия.			



* значимые ($p < 0,007$) различия

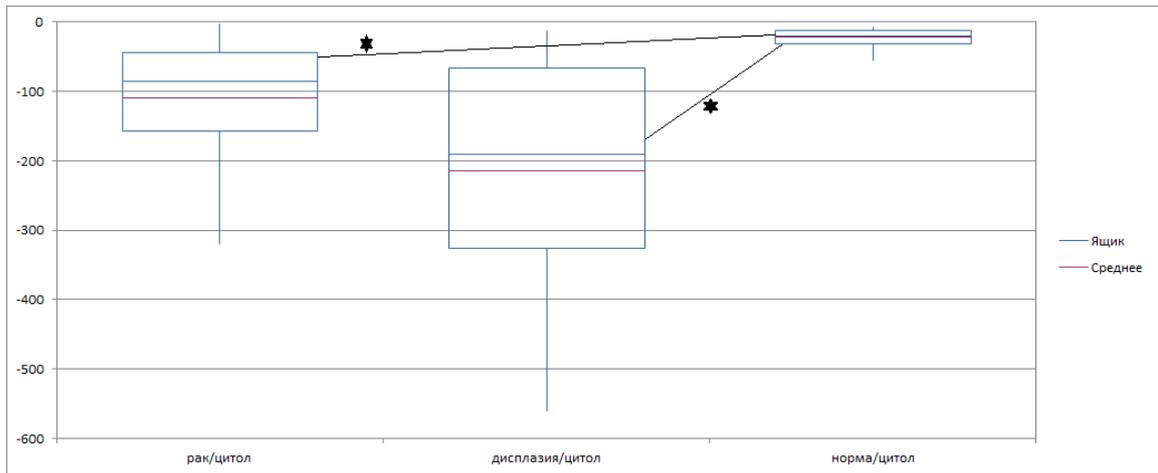
Рисунок 17 – Относительный уровень экспрессии миРНК-125b в разных типах цитологических образцов, диапазон без выбросов

Таблица 48 – Относительный уровень экспрессии миРНК-125b в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов

Переменная	Размер выборки	Среднее	Минимум	Нижний ус (ограничитель)	Q1	Медиана	Q3	Верхний ус (ограничитель)	Максимум
Рак/цитол.	97	-29,0133	-95,6704	-95,6704	-44,9422	-21,4068	-7,6741	2,1886	2,1886
Дисплазия/цитол.	27	-32,9881	-136,2394	-136,2394	-57,4132	-13,4543	-2,9592	2,4116	2,4116
Норма/цитол.	69	-8,6801	-27,2843	-27,2843	-13,0864	-7,3615	-3,3404	2,1886	2,1886

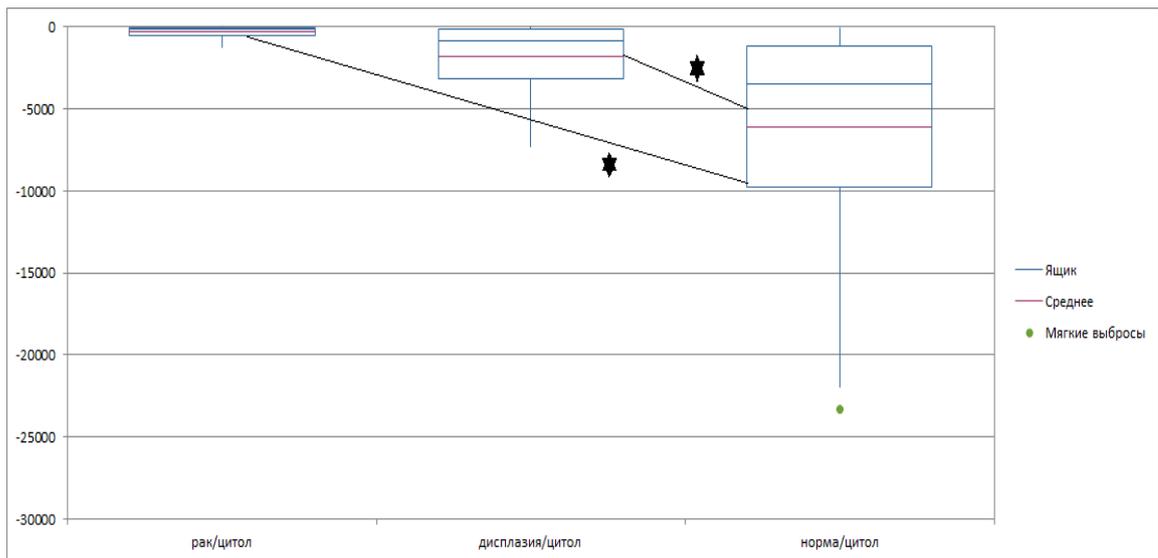
Таблица 49 – Относительный уровень экспрессии миРНК-145 в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов

Переменная	Размер выборки	Среднее	Минимум	Нижний ус (ограничитель)	Q1	Медиана	Q3	Верхний ус (ограничитель)	Максимум
Рак/цитол.	93	-110,0601	-319,5726	-319,5726	-157,5865	-85,6274	-44,0173	-2,3950	-2,3950
Дисплазия/цитол.	26	-214,2903	-560,2784	-560,2784	-326,2875	-190,3889	-67,1867	-12,6407	-12,6407
Норма/цитол.	70	-22,3312	-54,5686	-54,5686	-31,1858	-20,1822	-12,2742	-7,0616	-7,0616



* значимые ($p < 0,007$) различия

Рисунок 18 – Относительный уровень экспрессии миРНК-145 в разных типах цитологических образцов, диапазон без выбросов



* значимые ($p < 0,007$) различия

Рисунок 19 – Относительный уровень экспрессии миРНК-196b в разных типах цитологических образцов, диапазон без выбросов

Таблица 50 – Относительный уровень экспрессии миРНК-196b в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов

Переменная	Размер выборки	Среднее	Минимум	Нижний ус (ограничитель)	Q1	Медиана	Q3	Верхний ус (ограничитель)	Максимум
Рак/цитол.	52	-318,1531	-1 234,7472	-1 234,7472	-543,1608	-167,2316	-38,7871	-5,9381	-5,9381
Дисплазия/цитол.	25	-1 825,0076	-7 332,0454	-7 332,0454	-3 191,4581	-879,1710	-158,6826	-5,5022	-5,5022
Норма/цитол.	70	-6 113,6117	-23 331,6384	-21 920,6051	-9 759,1433	-3 504,5383	-1 164,1216	-28,0514	-28,0514

Таблица 51 – Относительный уровень экспрессии миРНК-20a в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов

Переменная	Размер выборки	Среднее	Минимум	Нижний ус (ограничитель)	Q1	Медиана	Q3	Верхний ус (ограничитель)	Максимум
Рак/цитол.	100	-3,8160	-12,3805	-12,3805	-6,1157	-3,4343	-1,5292	2,8879	2,8879
Дисплазия/цитол.	26	-5,1520	-9,8492	-9,8492	-6,4531	-4,4232	-3,8906	-1,9862	-1,9862
Норма/цитол.	82	-3,1406	-8,4561	-8,4561	-4,5951	-2,6945	-1,8214	1,4845	1,4845

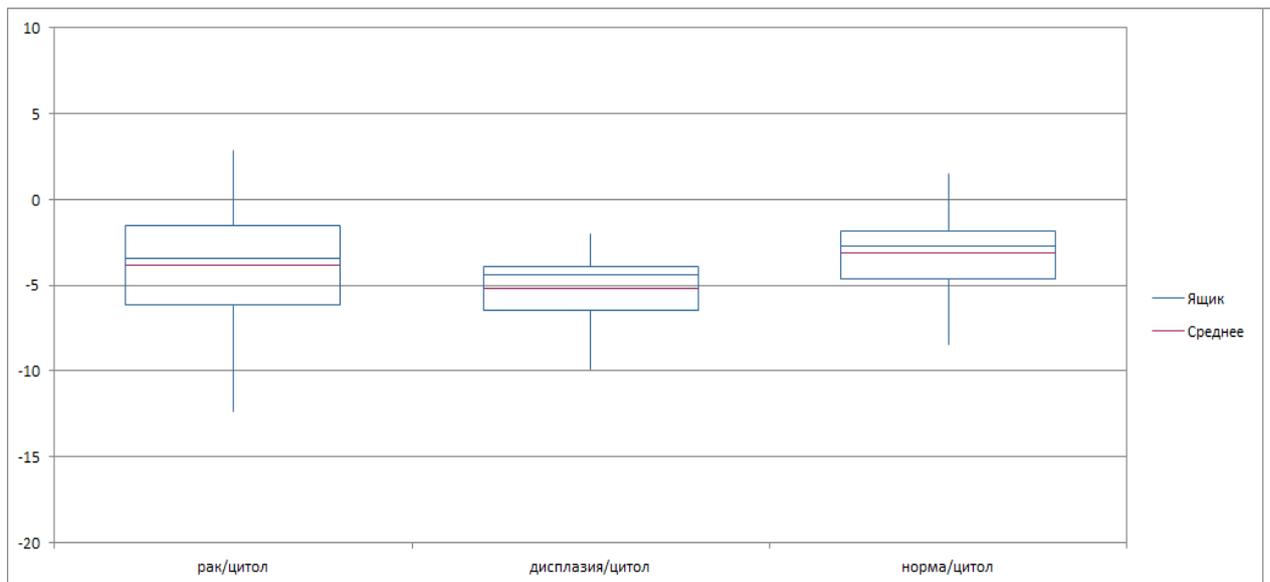
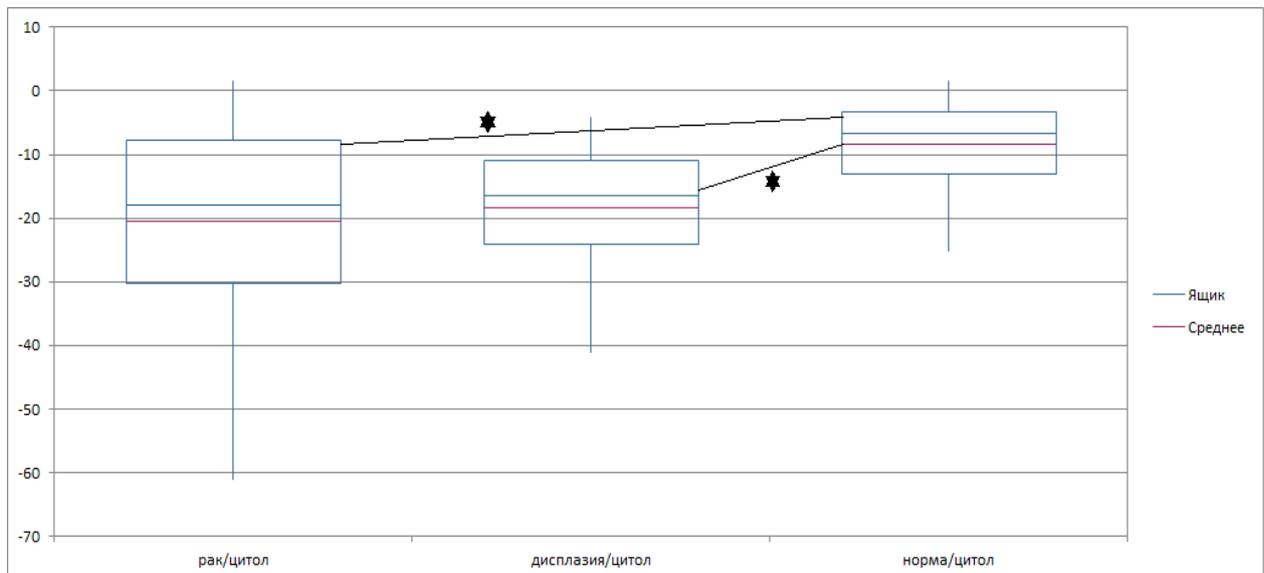


Рисунок 20 – Относительный уровень экспрессии миРНК-20а в разных типах цитологических образцов, диапазон без выбросов



* значимые ($p < 0,007$) различия

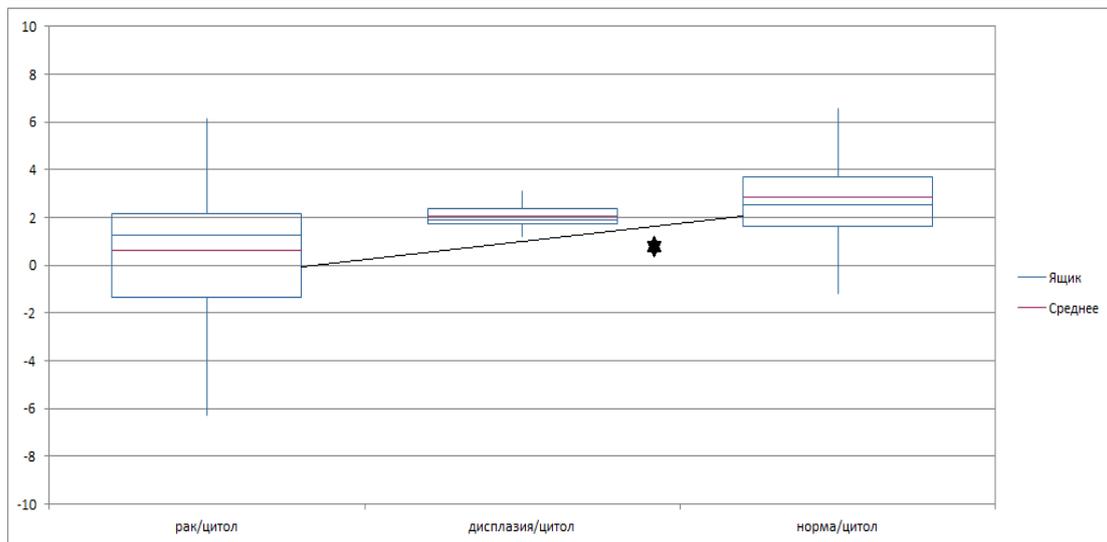
Рисунок 21 – Относительный уровень экспрессии миРНК-150 в разных типах цитологических образцов, диапазон без выбросов

Таблица 52 – Относительный уровень экспрессии миРНК-150 в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов

Переменная	Размер выборки	Среднее	Минимум	Нижний ус (ограничитель)	Q1	Медиана	Q3	Верхний ус (ограничитель)	Максимум
Рак/цитол.	86	-20,4359	-60,9688	-60,9688	-30,2216	-17,9388	-7,8008	1,4948	1,4948
Дисплазия/цитол.	25	-18,2983	-41,0696	-41,0696	-24,0839	-16,4498	-11,0043	-4,2575	-4,2575
Норма/цитол.	78	-8,3192	-25,2813	-25,2813	-13,1784	-6,7766	-3,4177	1,4948	1,4948

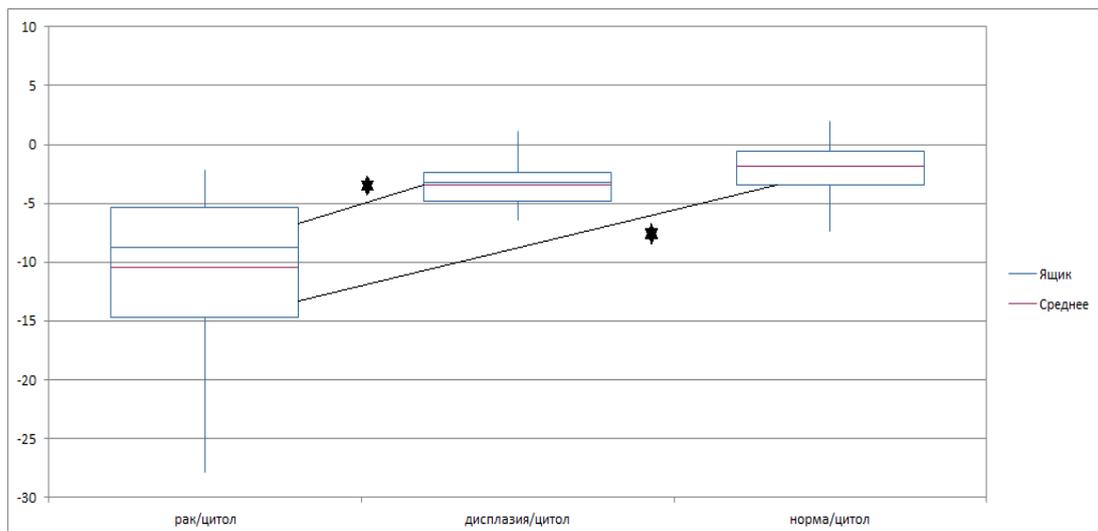
Таблица 53 – Относительный уровень экспрессии миРНК-21 в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов

Переменная	Размер выборки	Среднее	Минимум	Нижний ус (ограничитель)	Q1	Медиана	Q3	Верхний ус (ограничитель)	Максимум
Рак/цитол.	107	0,6038	-6,2767	-6,2767	-1,3337	1,2570	2,1811	6,1475	6,1475
Дисплазия/цитол.	18	2,0402	1,2058	1,2058	1,7231	1,9186	2,3472	3,1383	3,1383
Норма/цитол.	76	2,8385	-1,1728	-1,1728	1,6189	2,5404	3,7074	6,5432	6,5432



* значимые ($p < 0,007$) различия

Рисунок 22 – Относительный уровень экспрессии миРНК-21 в разных типах цитологических образцов, диапазон без выбросов



* значимые ($p < 0,007$) различия

Рисунок 23 – Относительный уровень экспрессии миРНК-375 в разных типах цитологических образцов, диапазон без выбросов

Таблица 54 – Относительный уровень экспрессии миРНК-375 в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов

Переменная	Размер выборки	Среднее	Минимум	Нижний ус (ограничитель)	Q1	Медиана	Q3	Верхний ус (ограничитель)	Максимум
Рак/цитол.	72	-10,5028	-27,8576	-27,8576	-14,7008	-8,7848	-5,3796	-2,1585	-2,1585
Дисплазия/цитол.	25	-3,4776	-6,4531	-6,4531	-4,8568	-3,2490	-2,3457	1,1251	1,1251
Норма/цитол.	80	-1,8411	-7,4127	-7,4127	-3,4165	-1,8988	-0,6175	1,9588	1,9588

Таблица 55 – Относительный уровень экспрессии миРНК-106b в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов

Переменная	Размер выборки	Среднее	Минимум	Нижний ус (ограничитель)	Q1	Медиана	Q3	Верхний ус (ограничитель)	Максимум
Рак/цитол.	100	-14,8569	-43,1115	-43,1115	-22,3938	-12,1260	-5,5794	-1,2570	-1,2570
Дисплазия/цитол.	26	-18,8359	-50,2134	-46,5271	-25,0891	-16,0634	-9,9041	1,8277	1,8277
Норма/цитол.	69	-9,6153	-28,8400	-28,8400	-15,4550	-8,6338	-3,7842	2,3784	15,2422

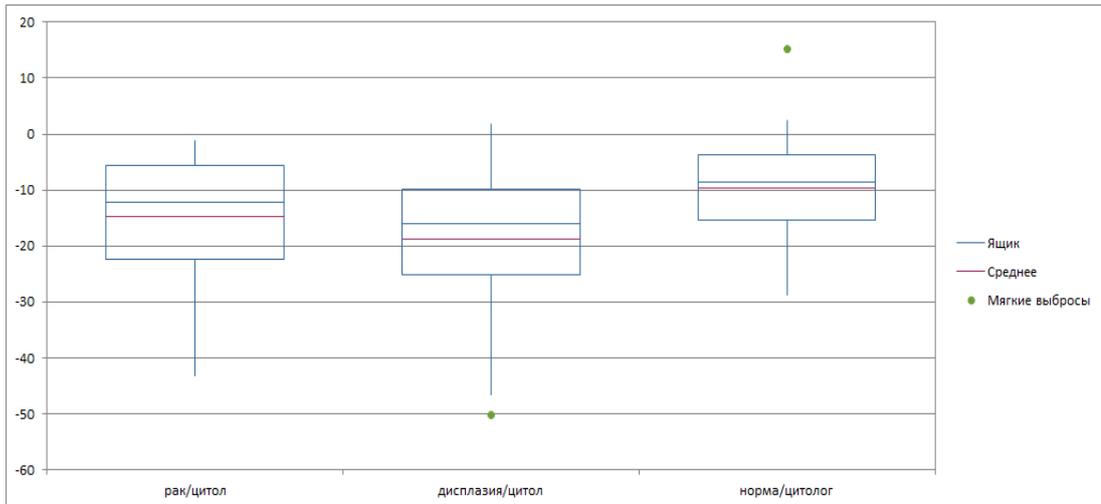


Рисунок 24 – Относительный уровень экспрессии миРНК-106b в разных типах цитологических образцов, диапазон без выбросов

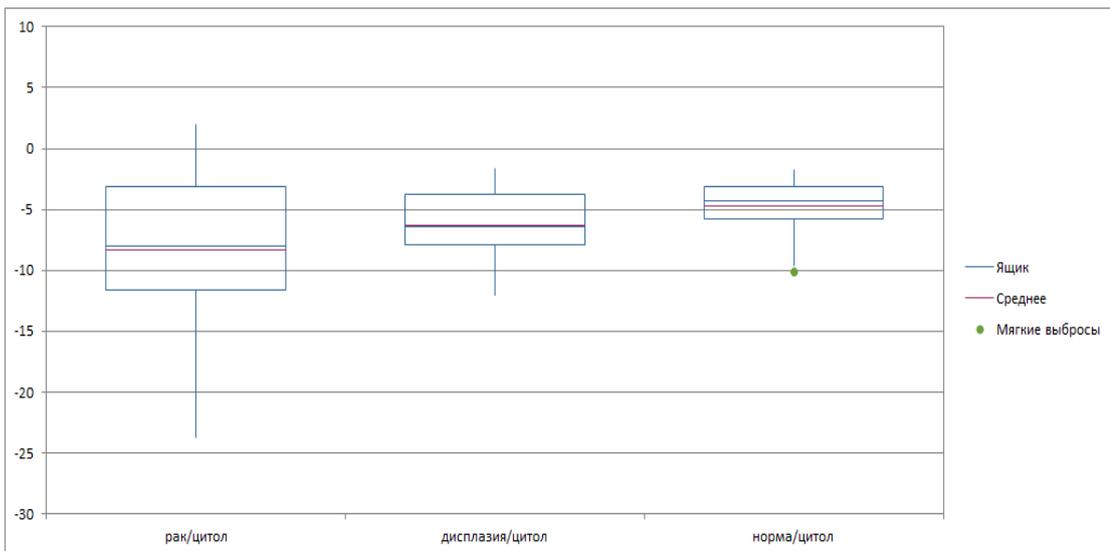


Рисунок 25 – Относительный уровень экспрессии миРНК-31 в разных типах цитологических образцов, диапазон без выбросов

Таблица 56 – Относительный уровень экспрессии миРНК-31 в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов

Переменная	Размер выборки	Среднее	Минимум	Нижний ус (ограничитель)	Q1	Медиана	Q3	Верхний ус (ограничитель)	Максимум
Рак/цитол.	83	-8,3267	-23,7524	-23,7524	-11,6722	-8,0000	-3,1650	1,9862	1,9862
Дисплазия/цитол.	26	-6,3322	-12,0420	-12,0420	-7,9447	-6,4533	-3,7712	-1,6935	-1,6935
Норма/цитол.	77	-4,7097	-10,1261	-9,6465	-5,8159	-4,3169	-3,1167	-1,7411	-1,7411

Таблица 57 – Относительный уровень экспрессии миРНК-34а в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов

Переменная	Размер выборки	Среднее	Минимум	Нижний ус (ограничитель)	Q1	Медиана	Q3	Верхний ус (ограничитель)	Максимум
Рак/цитол.	93	-13,2820	-34,2968	-34,2968	-17,7531	-11,8762	-6,0210	-1,0140	-1,0140
Дисплазия/цитол.	26	-17,3760	-52,7098	-45,2548	-24,5900	-12,0420	-7,6741	-3,0525	-3,0525
Норма/цитол.	73	-6,2187	-16,7955	-16,7955	-8,4561	-5,0630	-2,8679	-1,0353	-1,0353

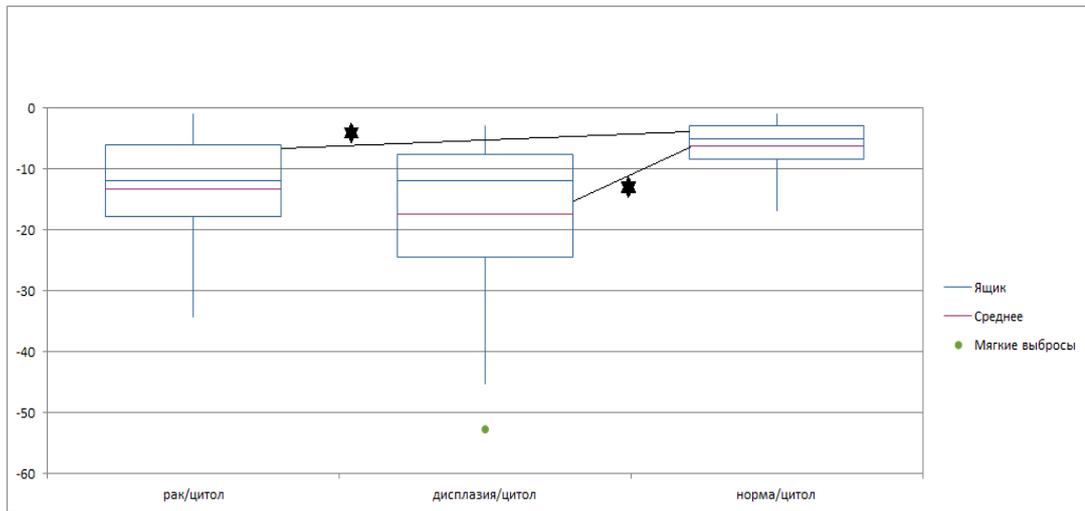
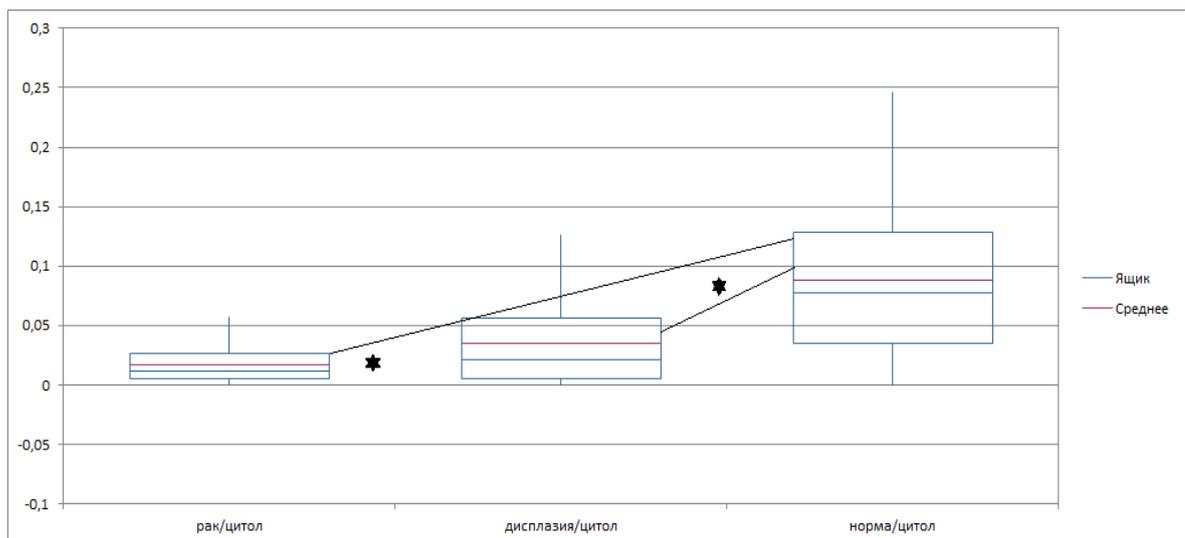


Рисунок 26 – Относительный уровень экспрессии миРНК-34а в разных типах цитологических образцов, диапазон без выбросов



* значимые ($p < 0,007$) различия

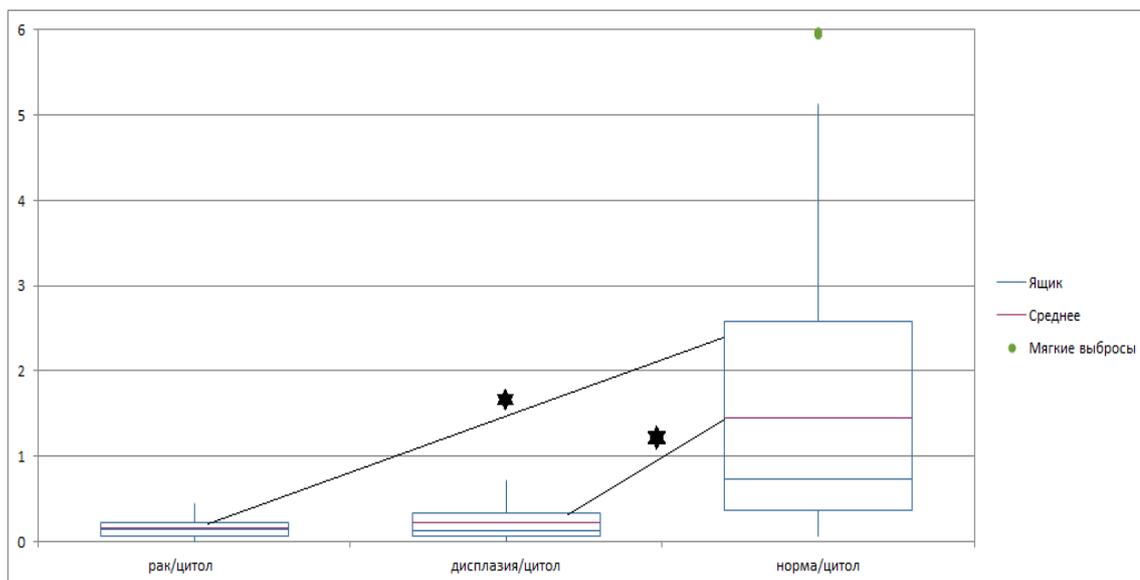
Рисунок 27 – Относительный уровень экспрессии мРНКгена TERTв разных типах цитологических образцов, диапазон без выбросов

Таблица 58 – Относительный уровень экспрессии мРНК гена TERT в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов

Переменная	Размер выборки	Среднее	Минимум	Нижний ус (ограничитель)	Q1	Медиана	Q3	Верхний ус (ограничитель)	Максимум
Рак/цитол.	97	0,0172	0,0000	0,0000	0,0052	0,0118	0,0266	0,0571	0,0571
Дисплазия/цитол.	26	0,0346	0,0000	0,0000	0,0056	0,0207	0,0558	0,1267	0,1267
Норма/цитол.	78	0,0881	0,0000	0,0000	0,0352	0,0775	0,1279	0,2466	0,2466

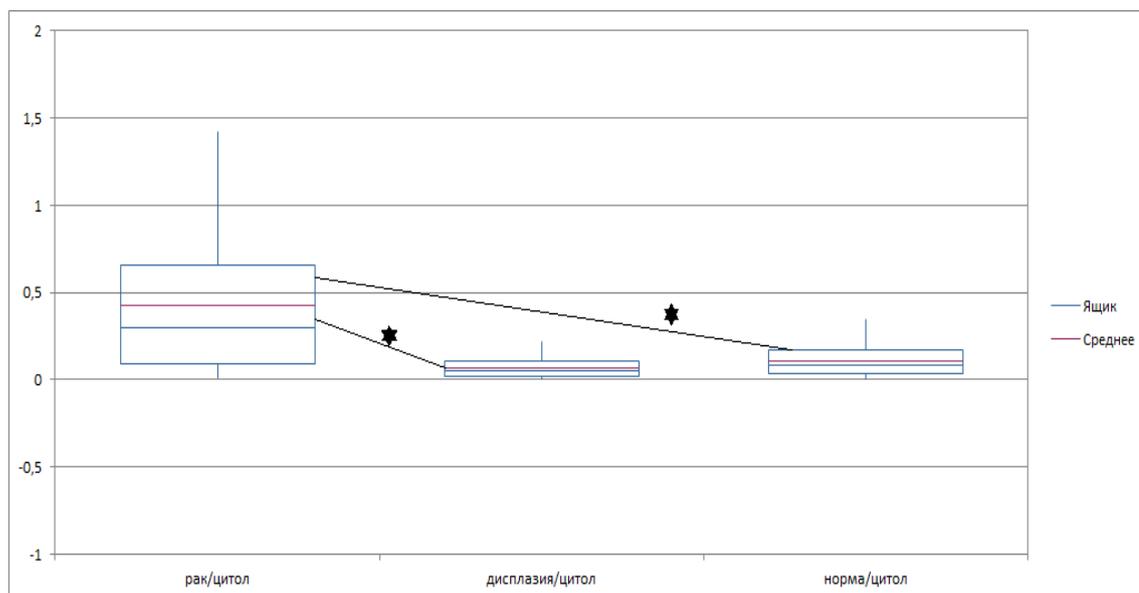
Таблица 59 – Относительный уровень экспрессии мРНК гена SKS2 в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов

Переменная	Размер выборки	Среднее	Минимум	Нижний ус (ограничитель)	Q1	Медиана	Q3	Верхний ус (ограничитель)	Максимум
Рак/цитология	78	0,1590	0,0060	0,0060	0,0717	0,1456	0,2222	0,4414	0,4414
Дисплазия/цитол	26	0,2256	0,0062	0,0062	0,0617	0,1254	0,3313	0,7120	0,7120
Норма/цитол	69	1,4546	0,0689	0,0689	0,3660	0,7270	2,5847	5,1337	5,9794



* значимые ($p < 0,007$) различия

Рисунок 28 – Относительный уровень экспрессии мРНК гена SKS2 в разных типах цитологических образцов, диапазон без выбросов



* значимые ($p < 0,007$) различия

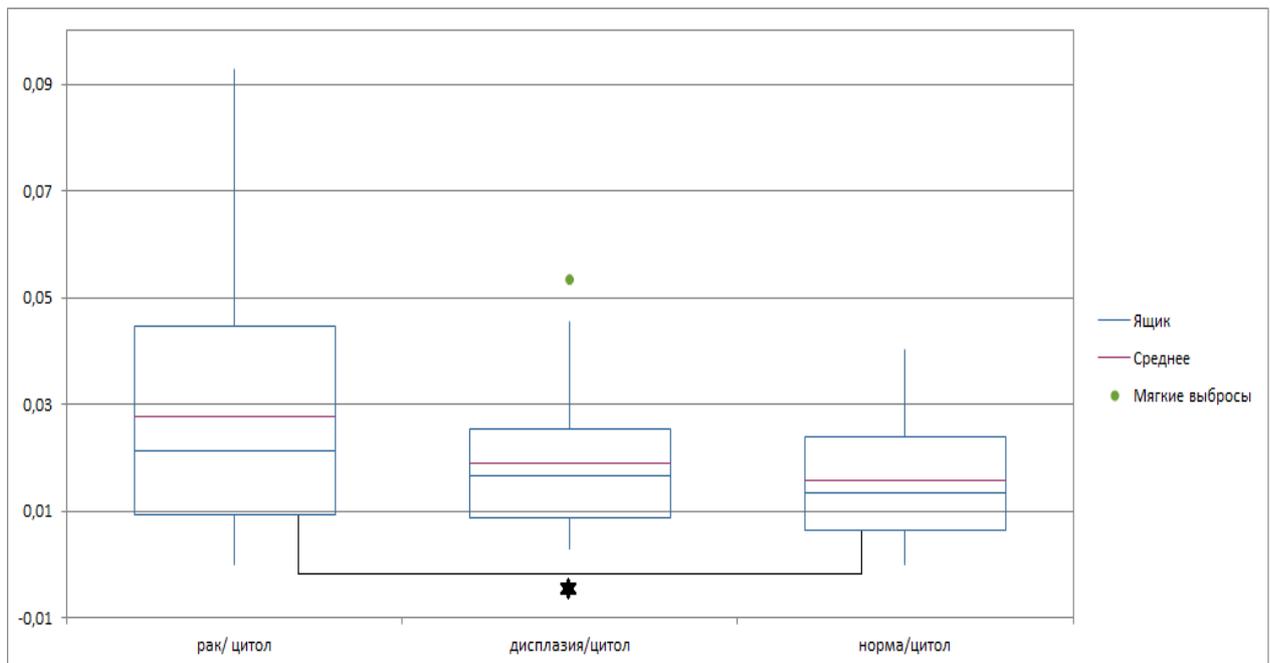
Рисунок 29 – Относительный уровень экспрессии мРНК гена FN1 в разных типах цитологических образцов, диапазон без выбросов

Таблица 60 – Относительный уровень экспрессии имРНК гена FN1 в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов

Переменная	Размер выборки	Среднее	Минимум	Нижний ус (ограничитель)	Q1	Медиана	Q3	Верхний ус (ограничитель)	Максимум
Рак/цитол.	86	0,4297	0,0141	0,0141	0,0893	0,2984	0,6576	1,4241	1,4241
Дисплазия/цитол.	24	0,0673	0,0037	0,0037	0,0181	0,0490	0,1044	0,2192	0,2192
Норма/цитол.	82	0,1052	0,0000	0,0000	0,0320	0,0811	0,1699	0,3463	0,3463

Таблица 61 – Относительный уровень экспрессии имРНК гена CDKN2A в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов

Переменная	Размер выборки	Среднее	Минимум	Нижний ус (ограничитель)	Q1	Медиана	Q3	Верхний ус (ограничитель)	Максимум
Рак/цитол.	82	0,0277	0,0000	0,0000	0,0093	0,0212	0,0447	0,0928	0,0928
Дисплазия/цитол.	21	0,0189	0,0029	0,0029	0,0088	0,0166	0,0254	0,0454	0,0533
Норма/цитол.	76	0,0157	0,0000	0,0000	0,0065	0,0133	0,0238	0,0401	0,0401



* значимые ($p < 0,007$) различия

Рисунок 30 – Относительный уровень экспрессии мРНК гена CDKN2A в разных типах цитологических образцов, диапазон без выбросов

На основании данных, относящихся к цитологическому материалу, было построено несколько деревьев принятия решения (по мере увеличения размеров выборки), с использованием алгоритма C5.0.

Дерево принятия решения № 1 – цитологические образцы:

FN1 > 0,603 Диагноз = РЖ

FN1 < = 0,603

.....TERT > 0,072 Диагноз = Норма

.....TERT < = 0,072

.....миР-375 < = (-4,44)

.....миР-125b < = (-3,04) Диагноз = РЖ

.....миР-125b > (-3,04)

.....миР-106b < = (-4,68) Диагноз = Дисплазия

.....миР-106b > (-4,68) Диагноз = РЖ

.....миР-375 > (-4,44)
миР-145 < = (-51,21)
миР-196b < = (-29 638,86) Диагноз = Норма
миР-196b > (-29 638,86) Диагноз = Дисплазия
миР-145 > (-51,21)
миР-31 > (-6,07) Диагноз = Норма
миР-31 < = (-6,07)
СКС2 < = 0,578 Диагноз = РЖ
СКС2 > 0,578 Диагноз = Норма

Данные о диагностических характеристиках определения РЖ и дисплазии с помощью этого дерева решений на выборке цитологических образцов, использованных в работе, представлены в таблице 62 и 63.

Таблица 62 – Диагностические характеристики выявления РЖ и дисплазии с помощью дерева принятия решения № 1 – цитологические образцы

Параметры	Рак желудка	Дисплазия
Специфичность	89,38 %	97,41 %
Чувствительность	93,52 %	60,71 %
Общая точность	91,40 %	92,76 %
ПЦПР	89,38 %	77,27 %
ПЦОР	93,52 %	94,47 %

Таблица 63 – Результаты выявления рака и дисплазии на основании данных об экспрессии миРНК и мРНК с помощью дерева принятия решений № 1 – цитологические образцы

Параметры	Рак желудка	Дисплазия
Достоверно положительный	101	17
Ложноположительный	12	5
Достоверно отрицательный	101	188
Ложноотрицательный	7	11

Дерево принятия решений № 2 – цитологические образцы:

миР-375 \leq (-13,86) Диагноз = РЖ
 миР-375 $>$ (-13,86)
СКС2 \leq 0,201
миР-145 \leq (-60,74)
миР-375 \leq (-8,26) Диагноз = РЖ
миР-375 $>$ (-8,26) Диагноз = Дисплазия
миР-145 $>$ (-60,74)
миР-150 \leq (-8,05) Диагноз = РЖ
миР-150 $>$ (-8,05) Диагноз норма
СКС2 $>$ 0,201
FN1 $>$ 1,111 Диагноз = РЖ
FN1 \leq 1,111
миР-150 $>$ (-16,07) Диагноз = Норма
миР-150 \leq (-16,07)
миР-196b \leq (-26 047,45) Диагноз = Норма
миР-196b $>$ (-26 047,45)
миР-150 \leq (-44,41) Диагноз = РЖ
миР-150 $>$ (-44,41)
CDKN2A \leq 0,084 Диагноз = Дисплазия
CDKN2A $>$ 0,084 Диагноз = Норма

Данные о диагностических характеристиках определения РЖ и дисплазии с помощью этого дерева решений на выборке цитологических образцов, использованных в работе, представлены в таблицах 64 и 65.

Таблица 64 – Диагностические характеристики выявления РЖ и дисплазии с помощью дерева принятия решения № 2 – цитологические образцы

Параметры	Рак желудка	Дисплазия
Специфичность	96,46 %	92,23 %
Чувствительность	81,48 %	71,43 %
Общая точность	89,14 %	89,59 %
ПЦПР	95,65 %	57,17 %
ПЦОР	84,50 %	95,70 %

Таблица 65 – Результаты выявления рака и дисплазии на основании данных об экспрессии миРНК и мРНК с помощью дерева принятия решения № 2 – цитологические образцы

Параметры	Рак желудка	Дисплазия
Достоверно положительный	88	20
Ложноположительный	4	15
Достоверно отрицательный	109	178
Ложноотрицательный	20	8

Дерево принятия решения № 3 – цитологические образцы:

миР-375 \leq (-4,941705)

.....миР-196b $>$ (-8 039,029) Диагноз = РЖ

.....миР-196b \leq (-8 039,029)

.....миР-150 \leq (-65,74538) Диагноз = РЖ

.....миР-150 $>$ (-65,74538) Диагноз = Норма

миР-375 $>$ (-4,941705)

.....миР-145 $>$ (-37,9232) Диагноз = Норма

.....миР-145 \leq (-37,9232)

.....СКS2 $>$ 4,238029 Диагноз = Норма

.....СКS2 \leq 4,238029

.....миР-196b \leq (-29 638,85) Диагноз = Норма

.....миР-196b > (-29 638,85)
FN1 < = 0,04124629
миР-375 < = (-3,810919) Диагноз = Норма
миР-375 > (-3,810919) Диагноз = Дисплазия
FN1 > 0,04124629
миР-21 < = 1,76489 Диагноз = РЖ
миР-21 > 1,76489:
миР-31 < = (-2,4207) Диагноз = Дисплазия
миР-31 > (-2,4207) Диагноз = РЖ

Данные о диагностических характеристиках определения РЖ и дисплазии с помощью этого дерева решений на выборке цитологических образцов, использованных в работе, представлены в таблицах 66 и 67.

Таблица 66 – Диагностические характеристики выявления РЖ и дисплазии с помощью дерева принятия решения № 3 – цитологические образцы

Параметры	Рак желудка	Дисплазия
Специфичность	88,50 %	100,00 %
Чувствительность	94,44 %	53,57 %
Общая точность	91,40 %	94,12 %
ПЦПР	88,70 %	100,00 %
ПЦОР	94,34 %	93,69 %

Таблица 67 – Результаты выявления рака и дисплазии на основании данных об экспрессии миРНК и мРНК с помощью дерева принятия решений № 3 – цитологические образцы

Параметры	Рак желудка	Дисплазия
Достоверно положительный	102	15
Ложноположительный	13	0
Достоверно отрицательный	100	193
Ложноотрицательный	6	13

Дерево принятия решения № 4 цитологические образцы:

миР-375 \leq (-5,296388):

.....миР-196b $>$ (-2 780,178) Диагноз = РЖ

.....миР-196b \leq (-2 780,178)

.....TERT \leq 0,07911738 Диагноз = РЖ

.....TERT $>$ 0,07911738 Диагноз = Норма

миР-375 $>$ (-5,296388):

.....миР-31 \leq (-28,43056) Диагноз = РЖ

.....миР-31 $>$ (-28,43056)

.....миР-145 $>$ (-37,9232) Диагноз = Норма

.....миР-145 \leq (-37,9232):

.....миР-196b \leq (-29 638,85) Диагноз = Норма

.....миР-196b $>$ (-29 638,85) Диагноз = Дисплазия

Данные о диагностических характеристиках определения РЖ и дисплазии с помощью этого дерева решений на выборке цитологических образцов, использованных в работе, представлены в таблицах 68 и 69.

Таблица 68 – Диагностические характеристики выявления РЖ и дисплазии с помощью дерева принятия решений № 4 – цитологические образцы

Параметры	Рак желудка	Дисплазия
Специфичность	91,15 %	92,75 %
Чувствительность	89,81 %	64,29 %
Общая точность	90,50 %	89,14 %
ПЦПР	90,65 %	56,25 %
ПЦОР	90,35 %	94,71 %

Таблица 69 – Результаты выявления рака и дисплазии на основании данных об экспрессии миРНК и мРНК с помощью дерева принятия решений № 4 – цитологические образцы

Параметры	Рак желудка	Дисплазия
Достоверно положительный	97	18
Ложноположительный	10	14
Достоверно отрицательный	103	179
Ложноотрицательный	11	10

Дерево принятия решений № 5 – цитологические образцы:

миР-375 \leq (-5,296388)

.....миР-196b $>$ (-2 780,178) Диагноз = РЖ

.....миР-196b \leq (-2 780,178)

.....TERT $>$ 0,07911738 Диагноз = Норма

.....TERT \leq 0,07911738

.....миР-125b \leq (-50,54787) Диагноз = РЖ

.....миР-125b $>$ (-50,54787)

.....миР-196b \leq (-8 799,451) Диагноз = Норма

.....миР-196b $>$ (-8 799,451) Диагноз = РЖ

миР-375 $>$ (-5,296388)

.....миР-31 \leq (-28,43056) Диагноз = РЖ

.....миР-31 $>$ (-28,43056)

.....миР-145 $>$ (-37,9232)

.....TERT $>$ 0,02896213 Диагноз = Норма

.....TERT \leq 0,02896213

.....миР-21 \leq 2,704617 Диагноз = РЖ

.....миР-21 $>$ 2,704617 Диагноз = Норма

.....миР-145 \leq (-37,9232)

.....миР-196b \leq (-29 638,85) Диагноз = Норма

.....миР-196b > (-29 638,85)
FN1 > 0,3413955 Диагноз = РЖ
FN1 < = 0,3413955
CKS2 < = 4,238029 Диагноз = Дисплазия
CKS2 > 4,238029 Диагноз = Норма

Данные о диагностических характеристиках определения РЖ и дисплазии с помощью этого дерева решений на выборке цитологических образцов, использованных в работе, представлены в таблицах 70 и 71.

Таблица 70 – Диагностические характеристики выявления РЖ и дисплазии с помощью дерева принятия решений № 5 – цитологические образцы

Параметры	Рак желудка	Дисплазия
Специфичность	92,92 %	95,85 %
Чувствительность	96,30 %	64,29 %
Общая точность	94,57 %	91,86 %
ПЦПР	92,86 %	69,23 %
ПЦОР	96,33 %	94,87 %

Таблица 71 – Результаты выявления рака и дисплазии на основании данных об экспрессии миРНК и мРНК с помощью дерева принятия решений № 5 – цитологические образцы

Параметры	Рак желудка	Дисплазия
Достоверно положительный	97	18
Ложноположительный	10	14
Достоверно отрицательный	103	179
Ложноотрицательный	11	10

Дерево принятия решений № 6 – цитологические образцы:

миР-375 $\leq (-14,273)$ Диагноз = Рак

миР-375 $> (-14,273)$

.....СКС2 $> 1,853221$ Диагноз = Норма

.....СКС2 $\leq 1,853221$

.....миР-196b $\leq (-30\ 894,83)$ Диагноз = Норма

.....миР-196b $> (-30\ 894,83)$

.....миР-145 $> (-37,9232)$

.....FN1 $> 0,2643117$ Диагноз = Рак

.....FN1 $\leq 0,2643117$

.....TERT $\leq 0,02677348$ Диагноз = Рак

.....TERT $> 0,02677348$ Диагноз = Норма

.....миР-145 $\leq (-37,9232)$

.....миР-125b $> (-9,207474)$ Диагноз = Дисплазия

.....миР-125b $\leq (-9,207474)$

.....FN1 $\leq 0,01168407$ Диагноз = Норма

.....FN1 $> 0,01168407$:

.....TERT $\leq 0,00008631$ Диагноз = Норма

.....TERT $> 0,00008631$

.....миР-145 $\leq (-412,5019)$ Диагноз = Дисплазия

.....миР-145 $> (-412,5019)$

.....миР-20a $> (-4,228479)$ Диагноз = Рак

.....миР-20a $\leq (-4,228479)$

.....миР-21 $\leq 1,656485$ Диагноз = Рак

.....миР-21 $> 1,656485$ Диагноз = Дисплазия

Данные о диагностических характеристиках определения РЖ и дисплазии с помощью этого дерева решений на выборке цитологических образцов, использованных в работе, представлены в таблицах 72 и 73.

Таблица 72 – Диагностические характеристики выявления РЖ и дисплазии с помощью дерева принятия решений № 6 – цитологические образцы

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 73 – Результаты выявления рака и дисплазии на основании данных об экспрессии миРНК и мРНК с помощью дерева принятия решений № 6 – цитологические образцы

Параметры	Рак желудка	Дисплазия
Достоверно положительный	105	19
Ложноположительный	9	2
Достоверно отрицательный	104	191
Ложноотрицательный	3	9

Во всех шести деревьях (цитологический материал) есть три миРНК-145, -196b, -375. Лучшие показатели чувствительности и специфичности для рака желудка получены в 5-м и 6-м деревьях принятия решений для цитологических образцов. На основании полученных данных было построено новое дерево принятия решений, с использованием алгоритма C5.0 для гистологических образцов (№ 3):

миР-150 > (-8,31) Диагноз = Дисплазия

миР-150 <= (-8,31)

.....миР-451 > 0 Диагноз = Норма

.....миР-451 <= 0

.....миР-196b <= (-2637,61)

.....миР-34a > (-26,82) Диагноз = Дисплазия

-миР-34а < = (-26,82)
-миР-145 < = (-39,92) Диагноз = Дисплазия
-миР-145 > (-39,92)
-миР-34а < = (-44,17) Диагноз = Норма
-миР-34а > (-44,17) Диагноз = РЖ
-миР-196b > (-2 637,61)
-миР-31 < = (-57,21) Диагноз = РЖ
-миР-31 > (-57,21)
-миР-145 > (-10,6) Диагноз = РЖ
-миР-145 < = (-10,6)
-миР-150 > (-62,78) Диагноз = Дисплазия
-миР-150 < = (-62,78)
-миР-31 < = (-25,18) Диагноз = Дисплазия
-миР-31 > (-25,18) Диагноз = РЖ

Данные о диагностических характеристиках определения РЖ и дисплазии с помощью этого дерева решений на выборке гистологических образцов, использованных в работе, представлены в таблицах 74 и 75.

Таблица 74 – Диагностические характеристики выявления РЖ и дисплазии с помощью дерева принятия решения № 3 – гистологические образцы

Параметры	Рак желудка, %	Дисплазия, %
Специфичность	100,00	94,20
Чувствительность	88,57	98,40
Общая точность	97,94	96,91
ПЦПР	100,00	96,85
ПЦОР	97,55	97,01

Таблица 75 – Результаты выявления рака и дисплазии на основании данных об экспрессии миРНК с помощью дерева принятия решений № 3 – гистологические образцы

Параметры	Рак желудка	Дисплазия
Достоверно положительный	31	123
Ложноположительный	0	4
Достоверно отрицательный	159	65
Ложноотрицательный	4	2

Из таблиц 74 и 75 видно, что после того, как дерево принятия решений для гистологических образцов было перестроено, специфичность для рака составила 100 %, чувствительность увеличилась до 88,57 %. Для дисплазии специфичность составила 94,20 %, а чувствительность улучшились по сравнению с первым, вторым деревом принятия решений и составила 98,40 %. В новое дерево вошли миРНК -150, -451, -196b, -34a, -145, -31.

Для деления цитологических образцов на группы мы использовали, кроме алгоритма C-5,0, алгоритм построения дерева решений C-RT. На рисунке 31 показано получившееся дерево.

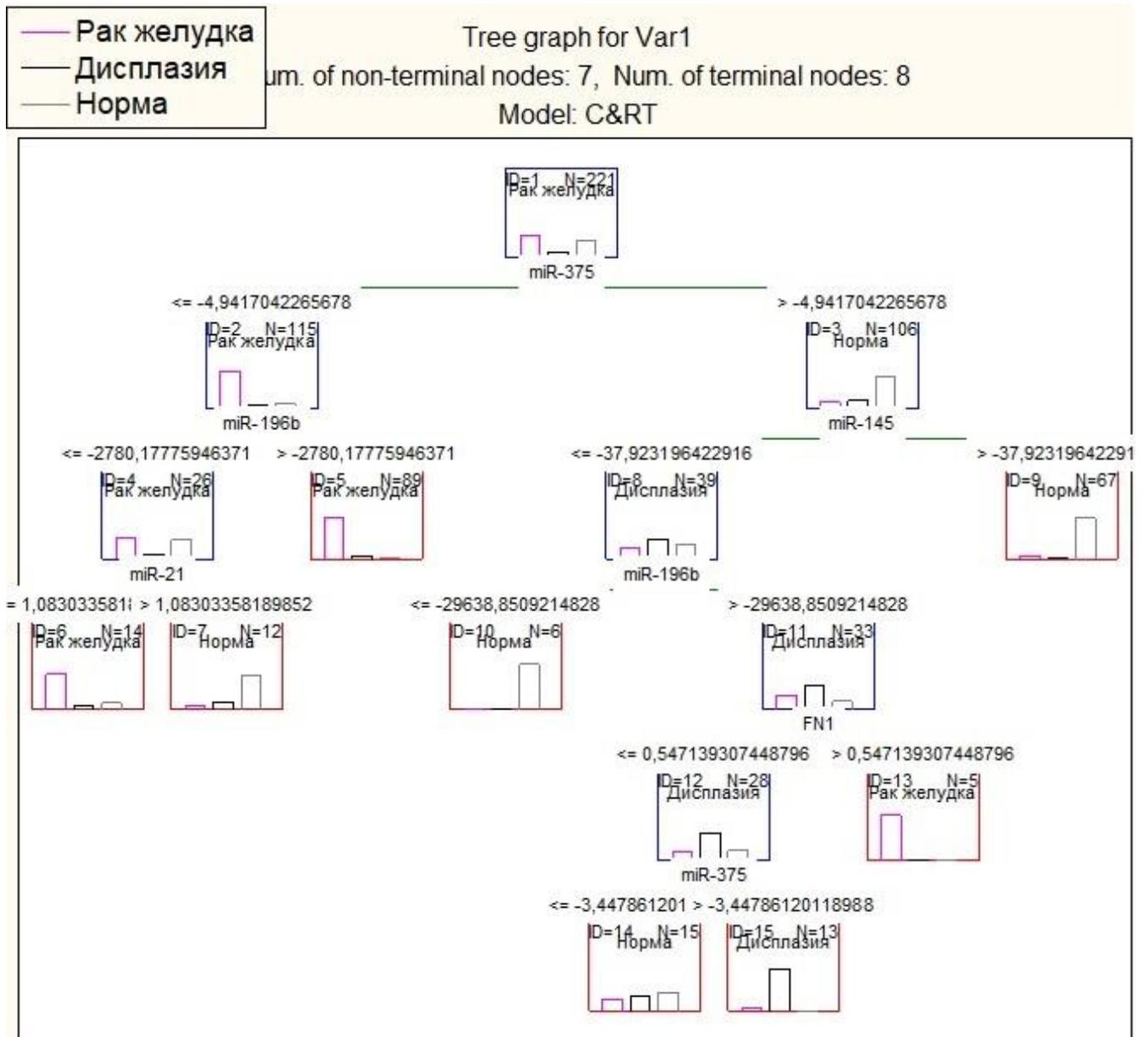


Рисунок 31 – Дерево решений для стратификации цитологических образцов при использовании алгоритма C-RT на норму/дисплазию/РЖ на основании данных об экспрессии мРНК, miРНК

Из 108 образцов РЖ молекулярный классификатор отнес 98 (90,7 %) образцов к РЖ; 1 (7,7 %) – к дисплазии и 9 (9 %) – к норме. Из 27 образцов с дисплазией правильно было классифицировано 12 (44,4 %) образцов, в группу РЖ попало 7 (6 %) образцов, а в норму – 8 образцов (9 %). Из 86 образцов нормальной слизистой желудка в группу «норма» попало 83 (96 %) образца, в группу РЖ – 3 (2,7 %) образца.

Так как чувствительность для рака желудка при использовании алгоритма C-RT составила 90,7 %, в качестве основного дерева решений при дальнейшей работе с цитологическим материалом (проспективное исследование) было использовано дерево № 6.

Заключение

В результате проведенного исследования подтверждена значимость определения уровня экспрессии представленных молекулярных маркеров (миРНК, мРНК) в цитологическом и гистологическом материале. При попарном сравнении уровней экспрессии миРНК и мРНК в разных типах цитологических, гистологических образцов получены объективные критерии для проведения дифференциальной диагностики между сравниваемыми группами образцов РЖ, дисплазии и нормальной слизистой в созданной библиотеке профилей.

3.5 Анализ ошибок дифференциальной диагностики дисплазии и рака желудка

Был проведён ретроспективный анализ результатов эндоскопического и морфологического исследований 125 наблюдений пациентов с язвами желудка с дисплазией, и молекулярно-генетическое исследование образцов архивного гистологического материала в виде парафиновых блоков этих пациентов. Пациентов, чьи блоки были использованы, мы приглашали на эндоскопические исследования через 3, 6, 9, 12, 18, 24, 30 месяцев, комплаенс составил 3,2 % (на повторные исследования явились 4 пациента). В связи с этим больных из второго этапа исследования наблюдали при помощи электронной базы БАРС Медицинской информационной системы. В результате выявлено 10 (8 %) случаев рака желудка, средний возраст больных раком: $(59 \pm 5,4)$ лет, гендерное распределение: мужчин – 6; женщин – 4.

Учитывая малое количество наблюдений, каждому распознанному случаю злокачественного новообразования присвоен порядковый номер, далее проведён подробный анализ. Главные результаты представлены в таблице 76.

Таблица 76 – Характеристика выявленных случаев злокачественных новообразований желудка

№	Архивный гистологический материал, заключение: язва	Диагностирован рак желудка	Размер язвенного поражения желудка, см	Гистологический диагноз	Стадирование по TNM	Оперативное лечение
1	2	3	4	5	6	7
1	Январь 2017	Май 2020	4,0 в диаметре	низкодифференцированная аденокарцинома	T3NxMo	—
2	Август 2017	Октябрь 2017	4,0 × 5,0	умеренно дифференцированная аденокарцинома	TxNxM1	—
3	Ноябрь 2017	Декабрь 2019	3,5 × 4,0	низкодифференцированная аденокарцинома	TxNxM1	—
4	Декабрь 2017	Март 2018	4,0 в диаметре	умеренно дифференцированная аденокарцинома	TxNxMo	—
5	Январь 2018	Март 2018	2,5 в диаметре	высокодифференцированная аденокарцинома	T1aNoMoG1	субтотальная дистальная резекция + D 2
6	Март 2018	Апрель 2018	6,0 × 9,0	низкодифференцированная аденокарцинома	TxNxM1	—
7	Август 2018	Ноябрь 2019	5,0 в диаметре	умеренно дифференцированная аденокарцинома	T4aN1Mo (после операции)	субтотальная дистальная резекция + D 2

Продолжение таблицы 76

1	2	3	4	5	6	7
8	Сентябрь 2018	Октябрь 2018	5,0 × 3,5	низкодифференцированная аденокарцинома	T2-3N1Mo (после операции)	Гастрэктомия + D 2
9	Декабрь 2018	Февраль 2019	3,5 × 4,0	умеренно дифференцированная аденокарцинома	TxNxM1	—
10	Январь 2019	Март 2019	4,5 в диаметре	низкодифференцированная аденокарцинома	TxNxMx	—

Шесть наблюдений (2, 4, 6, 8, 9, 10) – это несвоевременно выявленный рак желудка, инфильтративно-язвенная форма. Госпитализация наблюдений (2, 4, 6, 8, 9, 10) была выполнена по экстренным показаниям с признаками желудочно-кишечного кровотечения в хирургическое отделение, в день госпитализации при эзофагогастродуоденоскопии был выявлен гигантский, более 3,0 см язвенный дефект с признаками состоявшегося кровотечения, после эндоскопического исследования больных переводили в отделение. На 5-е сутки со дня госпитализации выполнялось повторное эндоскопическое исследование, однако в дне язвенного дефекта определялись мелкие тромбированные сосуды (чёрные точки), из-за риска рецидива кровотечения мультифокальная биопсия не проводилась, манипуляция ограничивалась забором 1-2 фрагментов, а после выписки рекомендовалось пройти гастроскопию с биопсией.

Случай № 1. В январе 2017 года госпитализация по неотложным показаниям с клиникой желудочно-кишечного кровотечения в хирургическое отделение. По данным первого эндоскопического осмотра в антральном отделе найдена язва размером 1,2 см Forrest 2C, через 5 дней выполнена повторная гастроскопия с биопсией. В описании эзофагогастродуоденоскопии указано, что язвенный дефект уменьшился до 0,9 см, а в дне язвы появился регенерирующий эпителий. При морфологическом исследовании получено заключение – хронический периульцерозный гастрит с фокусами low-grade дисплазии. В мае 2020 года (через

40 месяцев) больная поступила по скорой помощи с диагнозом желудочно-кишечное кровотечение; в период госпитализации было выявлено злокачественное образование желудка, гистологическое заключение – низкодифференцированная аденокарцинома, ввиду тяжёлой коморбидности специализированное лечение пациентке было противопоказано.

Случай № 3. В ноябре 2017 года амбулаторное обращение с астеническим синдромом, был направлен на эзофагогастродуоденоскопию, на которой выявили язву препилорического отдела с субкомпенсированным стенозом привратника; выполнили щипцовую биопсию, получено 3 фрагмента ткани из язвенного дефекта. Пациент был проконсультирован хирургом, ему рекомендовали хирургическое лечение, на которое он согласился. Однако в ходе подготовки к плановой госпитализации на фоне консервативной терапии стеноз привратника был купирован, и пациент отказался от операции, несмотря на то, что при морфологическом исследовании обнаружили фокусы high-grade дисплазии. Вновь обратился к участковому терапевту в декабре 2019 (через 26 месяцев) с жалобами на снижение массы тела и увеличение размера живота. При ультразвуковом исследовании органов брюшной полости найдены метастазы в печени и асцит.

Случай № 5. В январе 2018 года госпитализация по экстренным показаниям с желудочно-кишечным кровотечением, выполнен эндоскопический гемостаз. Перед выпиской из стационара больной прошёл в плановом порядке гастроскопию с биопсией для проведения гистологического исследования в результате получено заключение: хроническая язва с high-grade дисплазией и началом регенерации. Пациент выписан из стационара и направлен к онкологу.

Случай № 7. На фоне приёма кардиомагнила в стандартной дозе больной начал испытывать боли в эпигастрии, был направлен участковым терапевтом на эзофагогастродуоденоскопию, при которой найден язвенный дефект овальной формы, размером до 1,0 см; большую часть дна язвы покрывал регенерирующий эпителий, а фибрин составлял примерно одну треть. Выполнена биопсия, гистологическое заключение – хроническая язва, регенерация. Через 15 месяцев больной поступил по экстренным показаниям с желудочно-кишечным

кровотечением, при эндоскопическом исследовании найдена язва $4,0 \times 5,0$ см, после стабилизации гемостаза выполнена повторная гастроскопия с биопсией, морфологическое исследование показало переульцерозный гастрит с очагами кишечной метаплазии и фокусами high-grade дисплазии. Пациент выписан из стационара и направлен к онкологу.

Наблюдения № 1, № 3, № 5, № 7 объединяет длительный язвенный анамнез, в каждом случае дольше 5 лет. В первые 12 месяцев после установления диагноза рака желудка умерли все пациенты, кроме случаев заболевания № 5, № 7. Все образцы архивного гистологического материала вошли в исследование, имея заключение: язва с дисплазией; при использовании разработанного нами метода по профилю экспрессии миРНК [10, 12] в 4-х случаях (№ 4, № 6, № 9, № 10), классификатор отнёс поражения желудка в группу рак. Библиотека случаев метода построения математической модели, основанного на профилировании молекулярных маркеров, уже превышает 490 случаев, при этом общая точность при выявлении рака 97 %, а для дисплазии – более 98 %, что подтверждает необходимость применения миРНК и мРНК при каждом выявленном случае дисплазии. При этом в качестве альтернативы щипцовой биопсии можно использовать браш-биопсию, она менее травматична [3].

В результате проведенного исследования 125 случаев язв с дисплазией из базы гистологических образцов при среднем времени наблюдения 9 месяцев (медиана 2 месяца, интерквартильный размах от 2 до 12 месяцев) выявлено 10 случаев (8 %) РЖ, в связи с чем мы предлагаем изменить критерии наблюдения, (Рисунок 32) и предлагаем включать, помимо стандартного обследования больных с язвенными поражениями желудка, определение генотипа TNF- α при -308 (G; A), браш-биопсию, молекулярно-генетическое исследование в качестве дополнительных методов, позволяющих в короткие сроки наиболее достоверно определить характер поражения (Рисунок 32).

Генотип TNF- α при -308 (G; A) целесообразно определять при первом обращении с диспепсическими симптомами к терапевту или гастроэнтерологу, как простой и дешевый метод предикции.

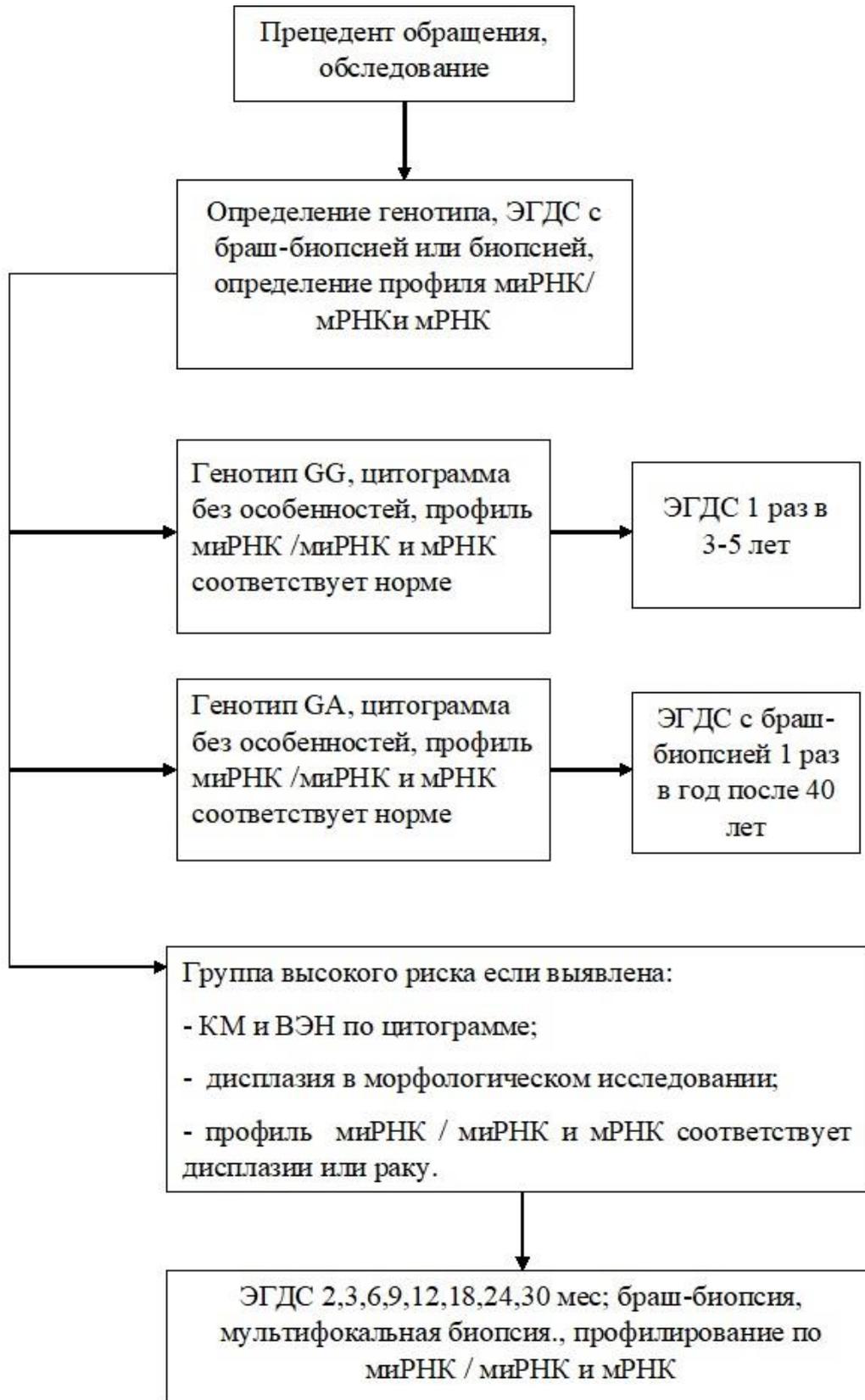


Рисунок 32 – Алгоритм выявления больных с диспластическими изменениями слизистой оболочки желудка и риском прогрессии заболевания

Алгоритм может работать без определения генотипа, однако определение генотипа TNF- α при -308 (G; A) желательно.

Если по данным морфологического или цитологического исследования не выявлены дисплазия или РЖ, а по профилю миРНК/миРНК и мРНК материал определен в группу дисплазия или рак, то пациент переводится в группу высокого риска.

Заключение

В результате проведенного проспективного исследования 125 наблюдений язв с дисплазией при среднем времени наблюдения 9 месяцев (медиана 2 месяца интерквартильный размах от 2 до 12 месяцев) выявлено 10 случаев (8 %) РЖ. Из 10 случаев выявленного рака 4 наблюдения (40 % от выявленного рака) молекулярный классификатор по профилю миРНК определил в группу РЖ после первичной ЭГДС с щипцовой биопсией, что указывает на недостаточность существующих критериев наблюдения.

ГЛАВА 4 ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

По данным литературы 70–80 % поверхностных неопластических поражений желудка относятся к типу с депрессией (0-IIc, III), при эндоскопическом исследовании в белом свете такие поражения выглядят как эрозии, участки рубцовой ткани, язвы [88]. К тому же доброкачественные язвы могут малигнизироваться, частота злокачественных трансформаций, выявленная при эзофагогастродуоденоскопии, значительно варьирует, от 6 до 21 % [45, 109]. Эрозии и язвы чаще всего локализуются в антральном отделе, на малой кривизне, как и аденокарцинома желудка чаще всего диагностируется в антральном отделе в 36,8 %, и на малой кривизне в 25,9 % [1]. По данным литературы малигнизация язвы происходит в течение 2 лет с момента установления диагноза. Aihara E. с соавторами (2016) на мышинной модели показали, что макроскопически регенерированный эпителий длительно имеет аномальное распределение клеток и восприимчив к последующему повреждению [94]. Вследствие этого возникают вопросы: нуждаются ли пациенты с эрозиями, язвами желудка в контрольных эндоскопических осмотрах, биопсиях и дополнительных исследованиях?

Атрофический гастрит, кишечная метаплазия, дисплазия – хорошо известные факторы риска рака желудка. В Южной Корее широко применяют эндоскопическую диагностику, а также измерения пепсиногенов в сыворотке крови при формировании групп риска [237]. Определение соотношения концентраций пепсиноген 1 и пепсиноген 2 в сыворотке для оценки состояния слизистой оболочки желудка дает большое количество ложных результатов. Согласно литературным данным на уровень пепсиногена влияет множество факторов: география, раса, возраст, пол, рост, масса тела, употребление алкоголя и никотин-зависимость [233].

Многие исследования сегодня посвящены изучению полиморфных вариантов в ДНК различных генов, как факторов, влияющих на риск развития рака [51, 64, 185, 221, 234]. Полиморфизм лежит в основе генетического разнообразия, этот феномен совместим с жизнью и эффективным

функционированием генома. Генетические варианты не приводят к серьезным проблемам генной экспрессии, но могут несколько изменять белок, влияя на его активность. Хроническое воспаление считается важным фактором в патогенезе рака желудка, медиаторы иммунной системы – цитокины – являются связующим звеном между воспалением и раком, они играют важную роль в пролиферации клеток, в развитии тканей, в экспрессии генов, в репарации ДНК и в воспалении. Провоспалительные факторы, связанные с развитием рака желудка, включают интерлейкин IL-1B, IL2, IL-8 и фактор некроза опухоли TNF- α , IL-10 [48]. Среди всех полиморфизмов наиболее полно изучены варианты противовоспалительных цитокинов, таких как IL2 и TNF. TNF- α – цитокин, играющий роль в защите хозяина от инфекционных заболеваний, однако, избыточная продукция может привести к выраженному воспалительному ответу [234]. Сообщалось, что полиморфизм в -308 (rs1800629) положении связан с риском развития рака, в нашем исследовании в группе больных с раком желудка гетерозиготный генотип GA гена TNF- α встречался чаще, чем в группе сравнения: 42 % против 21 % ($\chi^2 = 4,514$; $p = 0,034$). При вычислении показателя отношения шансов было обнаружено, что генотип GA ассоциирован с риском развития рака желудка (OR = 2.769; нижняя граница 95 % ДИ (CI) = 1,065; верхняя граница 95 % ДИ (CI) = 7,197).

Несмотря на то, что TNF- α является наиболее хорошо изученным геном, при смене объектов исследования результаты варьируют, предполагается некоторая расово-специфическая ассоциация с повышенным риском рака желудка у разных этнических групп [49]. Метаанализ, проведенный Zheng W. с соавторами [234], направленный на установление взаимосвязи между полиморфизмом фактора некроза опухоли α и риском развития рака желудка, показал связь между генотипами (GA и AA) TNF- α при -308 и риском развития этого заболевания в популяциях по всему миру. Результаты нашего исследования согласуются с выводами метаанализа и демонстрируют связь между гетерозиготным генотипом GA TNF- α -308 и риском развития рака желудка. В нашем исследовании генотип AA не встретился ни в одной из трех исследуемых групп. Согласно данным

литературы, генотип TNF- α -308 AA встречается редко [234]. В исследовании с выборкой более 100 случаев этот показатель колебался от 0 до 16 % [23].

Эзофагогастродуоденоскопия с биопсией считается эталоном для выявления предраковых поражений слизистой оболочки. Так основными макроскопическими признаками атрофии слизистой оболочки считают сглаженность складок, просвечивание кровеносных сосудов, изменение цвета слизистой в сторону бледно-розового [228]. При осмотре в белом свете очаги метаплазии часто выглядят, как приподнятые белесоватые участки, преимущественно локализующиеся в антральном отделе. Для улучшения визуализации рекомендуют использовать раствор индигокармина [219], мы использовали хромоэндоскопию с 0,5 % раствором метиленового синего, эта методика простая, дешевая, позволяет контрастировать рельеф, а также окрасить очаги метаплазии. В нашем исследовании все язвы, эрозивно-язвенная гастропатия и язвенные неопластические поражения были расположены или в антральном отделе, или на малой кривизне в теле желудка. При этом у 7 пациентов (12 %) из группы II плоские язвы с обширным поражением были выявлены с помощью хромоэндоскопии, эрозивную гастропатию в группе I смогли выявить во время повторной эзофагогастродуоденоскопии после орошения слизистой антрального отдела 0,5 % раствором метиленового синего у 4 (8,16 %) больных. В группе I все пациенты принимали нестероидные противовоспалительные средства (и/или кардиомагнил). Если в общем анализе крови было определено снижение гемоглобина (ниже 120 г/л), то такой больной направлялся на эзофагогастродуоденоскопию; однако при состоянии гемостаза язвенного дефекта Forrest III на момент эндоскопического исследования обнаружить источник кровотечения не всегда удаётся, так как при поверхностных гастродуоденальных язвах чаще всего разрушаются слизистый и подслизистый слои стенки желудка, и дефект является «плоским» [35]. На фоне раздутой воздухом бледной слизистой желудка плоский язвенный дефект может остаться незамеченным. Дополнительно маскирует источник кровотечения фибрин, фиксированный на слизистой после кровотечения.

Особенно опасны локализации язвенных дефектов в теле желудка вблизи малой кривизны, так как здесь в подслизистом слое находятся артериальные стволы диаметром более 1 мм. При неустановленном источнике кровотечения рецидив наблюдается в 50 % случаев, а летальность достигает 33 % [29]. Актуальность проблемы подтверждается также наличием в МКБ-10 кода K92.2 «Неуточнённое желудочно-кишечное кровотечение».

Улучшение визуализации дефектов слизистой при контрастировании было получено вследствие того, что:

- краситель, растекаясь по поверхности слизистой, скапливается в складках и углублениях, эрозиях, язвах, тем самым контрастируя рельеф;
- в желудке метиленовый синий не окрашивает нормальную слизистую, но окрашивает фибрин в дне дефекта.
- после смывания красителя с гладкой поверхности слизистой он остаётся в небольшом количестве в местах углублений (дефектов слизистой, эрозий, язв), тем самым обеспечивая их лучшую визуализацию при исследовании.

Таким образом, благодаря применению хромогастродуоденоскопии с метиленовым синим были выявлены плоские язвы с обширным поражением у семи пациентов (12 %) из группы II и визуализированы эрозии у 4 (8,16 %) больных группы I, у которых патологический процесс без контрастирования верифицировать не удавалось.

Ранее хромоэндоскопия с использованием раствора метиленового синего для визуализации плоских язв в условиях анемии на бледной слизистой оболочке желудка не применялась.

Эпителий кишечного типа при хромоэндоскопии выявлен в 2 наблюдениях (3,4 %) в группе II, в 10 случаях (20,4%), у пациентов группы I с язвой желудка на фоне атрофических изменений (просвечивание кровеносных сосудов, сглаженность складок слизистой оболочки желудка), и у 11 (35,4 %) больных раком желудка. Причем в 6 (19,3 %) наблюдениях при раке желудка цилиндрический эпителий был обнаружен не только в антральном отделе, но и на слизистой тела желудка. При осмотре в белом свете очаги метаплазии возможно

выявить, но врачебная практика показывает, что использование дополнительных методик для улучшения визуализации при проведении исследований актуально, так как врач может утратить свежесть восприятия и пропустить поражение слизистой в том числе неопластическое.

Очаг дисплазии, связанный с кишечной метаплазией (КМ), является базой для злокачественной трансформации слизистой оболочки желудка. Неполная кишечная метаплазия тесно коррелирует с развитием рака желудка, вероятность злокачественной трансформации при ней достигает 98 %. В процессе наблюдения за пациентом значение придается не только типу КМ, но и её распространённости [1, 5].

Дисплазия желудка является критическим этапом предракового каскада [67] и, несмотря на то, что она является потенциально обратимым и неинвазивным поражением [153], характеризуется клеточной атипией, аномальной дифференцировкой и дезорганизованной архитектурой слизистой оболочки [129, 183].

Главным методом для получения тканей слизистой оболочки желудка остается щипцовая биопсия при эзофагогастродуоденоскопии.

В нашем исследовании дисплазия была выявлена у 7 больных группы I (7 случаев 14,3 % – low-grade из 49 наблюдений) и у 3 больных группы II (3 случая 5,1 % – low-grade из 58 наблюдений). Во всех случаях гистологически поражение было охарактеризовано как хроническая язва с началом регенерации. Следует отметить, что дисплазия низкой степени способна к быстрой регрессии, поэтому ее рассматривают как реакцию на воспалительный процесс [1].

После того как язва зарубцуется, в желудке остаётся деликатный рубчик, который можно легко пропустить при повторном эндоскопическом исследовании, поэтому трудно получить материал из того же участка слизистой оболочки, где была проведена щипцовая биопсия в первый раз. Усугубляется ситуация еще и тем, что стандартных рекомендаций по ведению пациентов с дисплазией нет. Исследователи предлагают при дисплазии low-grade повторять эзофагогастродуоденоскопию с картированием желудка путём множественных

биопсий, не менее 6–8 кусочков, через 6, 12 месяцев [22], в случае обнаружения дисплазии high-grade выполнять эндоскопическую резекцию или диссекцию, однако эндоскопическое удаление ограничено поражениями типа 0-I и 0-IIa–b [27, 91]. При наличии изъязвления или рубца, в поверхностном поражении, предпочтение отдаётся хирургическому лечению, так как поражения high-grade типа 0-IIc, 0-III связаны с раком желудка ($P < 0,05$) [91]. Патологоанатомический диагноз дисплазия high-grade, установленный на основе образцов слизистой оболочки, полученных методом щипцовой биопсии при эзофагогастродуоденоскопии из поражения с депрессией, переквалифицируется в карциному после хирургического удаления в 44 % [150].

Есть сообщения о том, что с помощью иммуногистохимического исследования возможно проводить дифференциальную диагностику между дисплазией высокой степени и ранним раком [128, 134].

Чтобы повысить точность морфологического метода мы дополнительно провели иммуногистохимическое исследование для определения экспрессии ЦОГ-2. Данный белок был выбран на основании доступной литературы; считается, что в процессе гастроканцерогенеза, начиная со стадии хронического атрофического гастрита, происходит постепенное увеличение экспрессии ЦОГ-2. Механизм увеличения экспрессии ЦОГ-2 связывают с активацией синтеза факторов роста, цитокинов и гастрин [126]. Konturek S. J. с соавторами показали, что ЦОГ-2 коэкспрессируется с гастрином при язве желудка [136], кроме того, гастрин стимулирует экспрессию гена ЦОГ-2 и белка в клетках рака желудка. Xu W с соавторами (2013) продемонстрировали, что гастрин активирует экспрессию ЦОГ-2 в клеточных линиях рака желудка посредством ССК-2R, опосредованной JAK2/STAT3 и последующей активацией пути PI3K/Akt [110]. Гастрин увеличивает стабильность мРНК ЦОГ-2 p38 и усиливает транскрипцию гена ЦОГ-2 с помощью фактора транскрипции activator protein-1 (AP-1) [126]. В другом исследовании, с использованием клеток рака желудка, усиление транскрипции гена ЦОГ-2 показано через toll like receptor 2 (TLR2)/toll like receptor 9 (TRL9), который активировал пути mitogen-activated protein kinase (ERK1/2, p38, JNK) и приводил к активации cAMP response element (CRE) и AP-1 [139]. Из данных литературы известно, что ген,

кодирующий белок, не экспрессируется в нормальной ткани, он активируется в ответ на действие цитокинов, провоспалительных медиаторов, фактора роста и некоторых онкогенов. Считается, что повышение экспрессии ЦОГ-2 является ранним событием при образовании опухоли кишечного типа [21]. В нашем исследовании выраженная реакция при иммуногистохимическом исследовании была получена во всех наблюдениях дисплазии в группе I, в группе II, во всех случаях рака желудка и в случаях доброкачественной язвы при размере дефекта более 1,5 см, что говорит о том что ЦОГ-2 имеет низкую информативность как предиктор злокачественной трансформации.

В нашем исследовании учитывая расположение язвенного дефекта в желудке при определённом риске выявления малигнизации, и при наличии признаков состоявшегося кровотечения мультифокальная биопсия расценивалась как фактор риска рецидива геморрагии, поэтому при ЭГДС выполнялась браш-биопсия. Соскоб нейлоновой щёткой позволяет получить материал с большой площади собственной пластинки слизистой оболочки, менее травматичен, чем щипцовая биопсия, 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 % [25]. Немаловажно и то, что цитологическое заключение может быть получено значительно раньше, чем морфологическое [2, 25].

В нашем исследовании у 1 (2%) больного из группы I и 3 (5,15 %) пациентов из группы II в цитологических препаратах были найдены клетки подозрительные по раку, однако при гистологическом исследовании в присланном материале данных за злокачественное новообразования не было.

Следует отметить, что 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 [25].

В нашем исследовании браш-биопсия позволила в течение 2 дней после первой ЭГДС установить доброкачественный характер язвенного поражения в 98 % случаев в группе I, в 94,85 % в группе II и подтвердить злокачественное новообразование у всех больных (100 %) в группе рака. Исследования мазков значительно улучшает и обогащает гистологическую диагностики. К тому же, все заключения при использовании цитологического метода мы получали через два дня после передачи стекол в лабораторию, что значительно раньше, чем морфологические заключения.

В нашем исследовании гистологически тип кишечной метаплазии не был определен. Кишечная метаплазия была обнаружена двумя способами: методом хромогастроскопии с метиленовым синим и цитологически. Причем просматривается расхождение в каждой группе при сравнении результатов двух методов. В группе I при помощи хромогастроскопии с метиленовым синим кишечная метаплазия обнаружена у 10 больных (20,4 %) в антральном отделе, а цитологически выявлена у 12 больных (24,4 %). В группе II при помощи хромогастроскопии КМ выявлена у 2 пациентов (3,4 %), цитологически – у 3 (5,17 %). В группе «рак желудка» в цитологических заключениях не отмечено наличие скоплений клеток с признаками кишечной метаплазии, но при хромогастроскопии кишечная метаплазия обнаружена в 11 наблюдениях (35,4 %) и не только в антральном отделе, но и на слизистой оболочке тела желудка.

Расхождение в количестве выявленных случаев КМ при сравнении цитологического метода и хромогастроскопии в группе I, и в группе II обусловлено погрешностями при освобождении слизистой оболочки от слизи. На этапе отработки техники распыление водного раствора 0,25 % бикарбоната натрия проводилось не во всех случаях.

Одной из наиболее важных целей нашего исследования была оценка потенциальной диагностической значимости миРНК и мРНК для выявления дисплазии и РЖ. Использование данных об экспрессии миРНК и мРНК для выявления РЖ применяется уже достаточно давно, однако, как это часто бывает с

исследованиями миРНК и мРНК, результаты разных работ могут не только не совпадать, но и прямо противоречить друг другу. Кроме того, было бы интересно уметь выявлять с помощью профилирования миРНК и мРНК не только РЖ, но и предраковые состояния, однако данному вопросу уделяется пока мало внимания.

Изначально в нашей работе [10, 12] мы разработали алгоритм классификации образцов слизистой желудка на норму, дисплазию и рак с помощью данных об относительном содержании миРНК в гистологическом материале. В процессе исследования была решена подобная задача также на цитологических образцах, 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 77 и на рисунках 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41 и 42.

Таблица 77 – Сопоставление уровней значимости различий между группами для цитологического и гистологического материала

миРНК	РЖ/Норма		РЖ/Дисплазия		Норма/Дисплазия	
	гистология	цитология	гистология	цитология	гистология	цитология
миРНК-145	0,658799	$1,87 \times 10^{-8}$	0,0244	0,1165	0,020678	$4,84 \times 10^{-9}$
миРНК-150	0,001427	$1,03 \times 10^{-9}$	$2,39 \times 10^{-9}$	0,3557	$1,6 \times 10^{-12}$	$1,93 \times 10^{-5}$
миРНК-20a	0,0870	0,0713	0,0053	0,0928	$1,84 \times 10^{-4}$	0,0002
миРНК-21	$1,62 \times 10^{-7}$	$4,40 \times 10^{-10}$	0,0024	0,0385	$7,27 \times 10^{-9}$	0,0079
миРНК-31	0,397360	$3,71 \times 10^{-7}$	$1,0 \times 10^{-6}$	0,0281	$1,19 \times 10^{-10}$	0,0475
миРНК-34a	$4,69 \times 10^{-11}$	$3,74 \times 10^{-7}$	0,007694	0,6937	$1,89 \times 10^{-11}$	$6,80 \times 10^{-5}$
миРНК-375	0,001012	$5,08 \times 10^{-9}$	$7,0 \times 10^{-6}$	$2,93 \times 10^{-9}$	0,078223	0,0007
миРНК-106b	0,1716	0,5174	0,2515	0,3674	0,0004	0,5609
миРНК-125b	0,3218	$5,56 \times 10^{-6}$	0,7866	0,5491	0,3207	0,0620
миРНК-196b	$8,25 \times 10^{-6}$	$1,62 \times 10^{-12}$	0,0011	0,0486	0,0024	0,0005

Примечание. Выделены значимые ($p < 0,007$) различия.

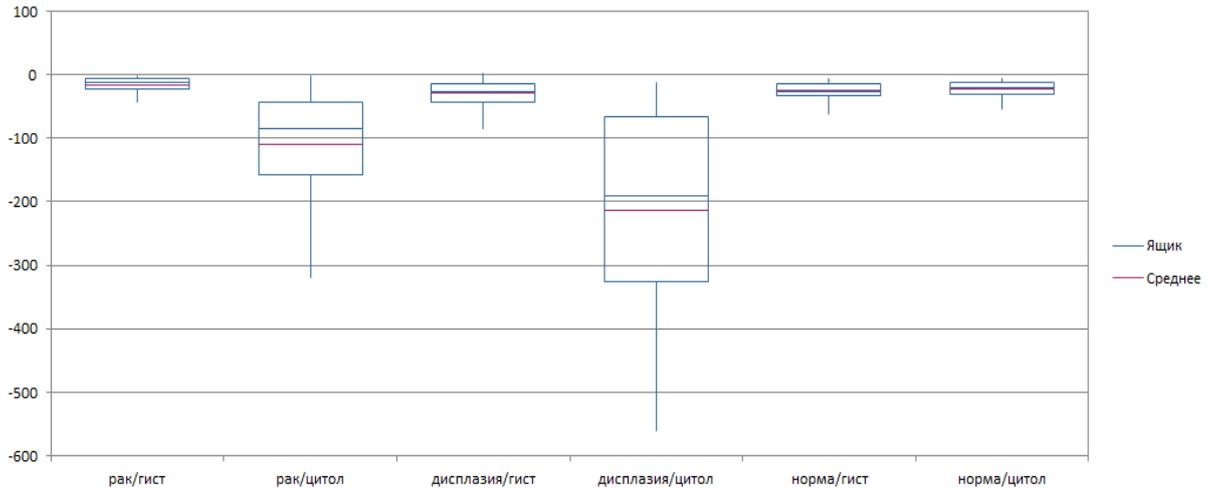
миРНК-145

Рисунок 33 – Диаграмма сопоставления относительного уровня экспрессии миРНК-145 в разных типах образцов (цитологический и гистологический материал), диапазон без выбросов

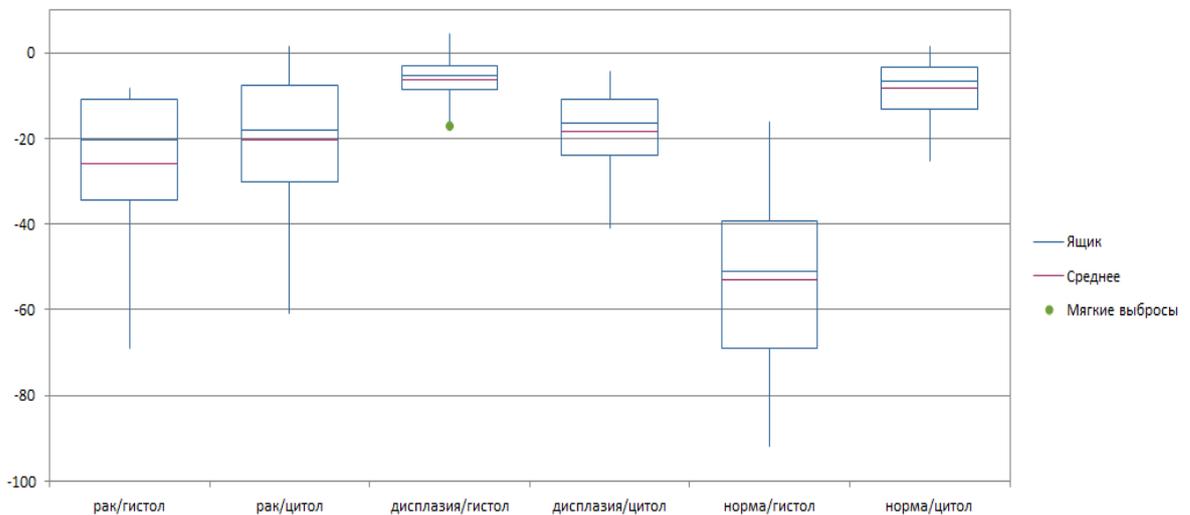
миРНК-150

Рисунок 34 – Диаграмма сопоставления относительного уровня экспрессии миРНК-150 в разных типах образцов (цитологический и гистологический материал), диапазон без выбросов

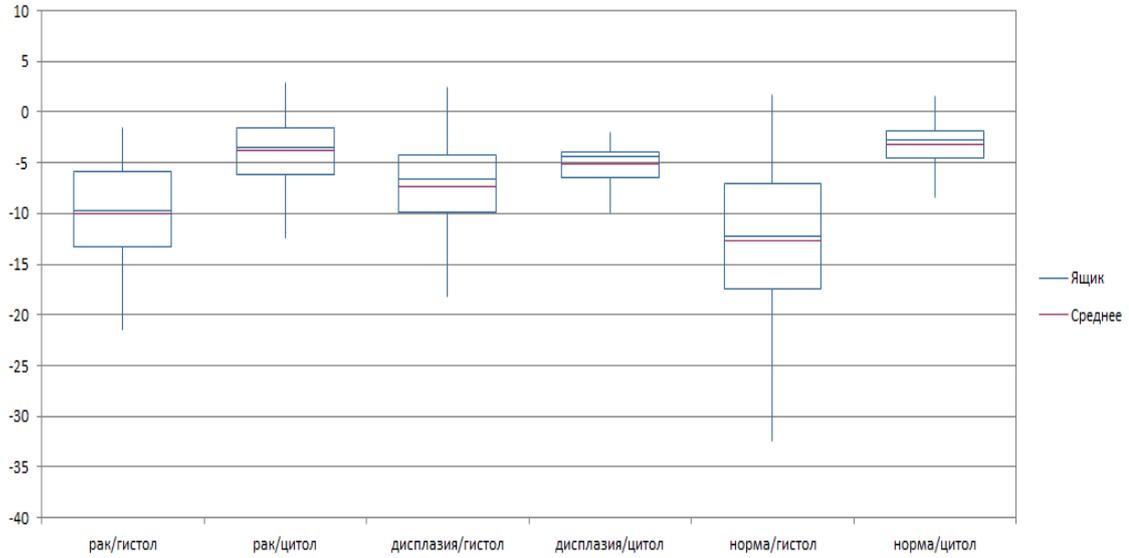
миРНК-20а

Рисунок 35 – Диаграмма сопоставления относительного уровня экспрессии миРНК-20а в разных типах образцов (цитологический и гистологический материал), диапазон без выбросов

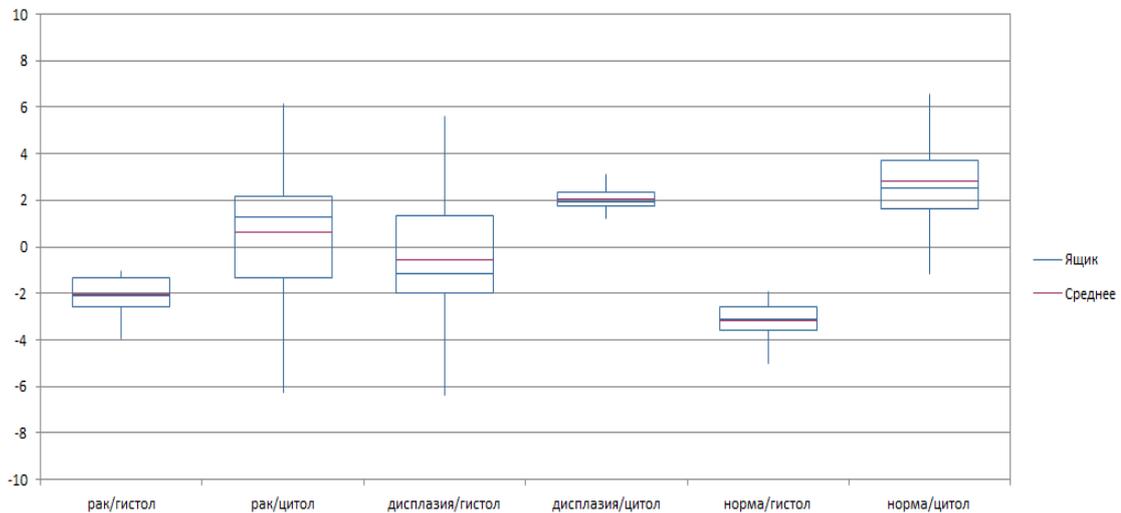
миРНК-21

Рисунок 36 – Диаграмма сопоставления относительного уровня экспрессии миРНК-21 в разных типах образцов (цитологический и гистологический материал), диапазон без выбросов

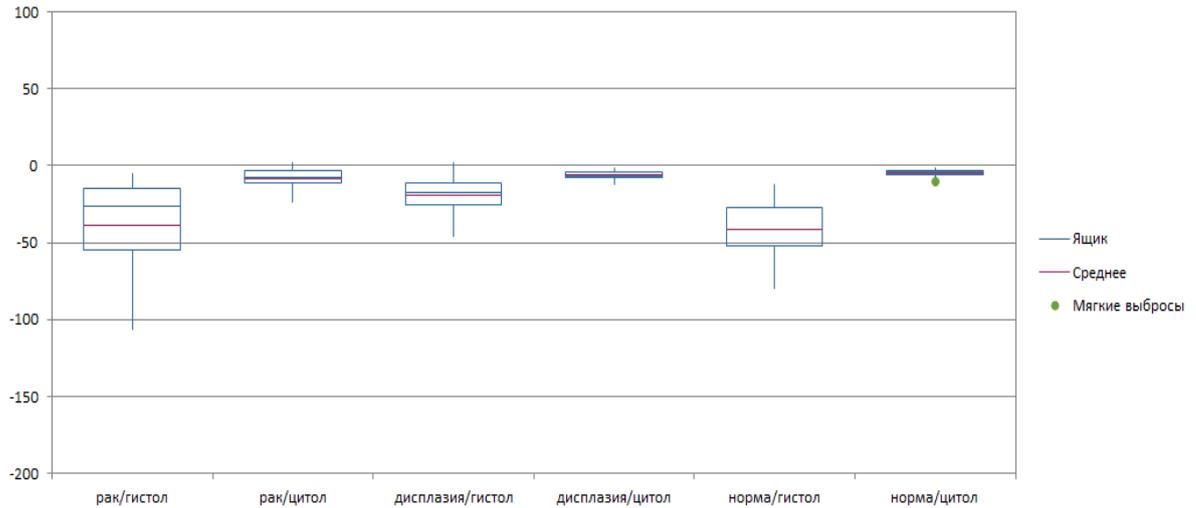
миРНК-31

Рисунок 37 – Диаграмма сопоставления относительного уровня экспрессии миРНК-31 в разных типах образцов (цитологический и гистологический материал), диапазон без выбросов

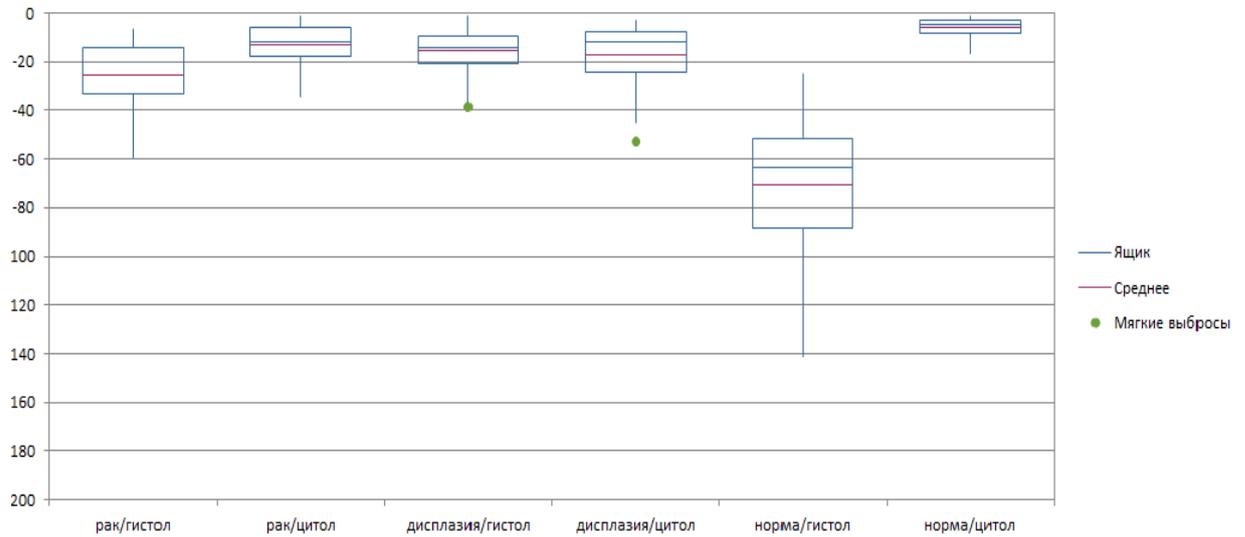
миРНК-34а

Рисунок 38 – Диаграмма сопоставления относительного уровня экспрессии миРНК-34а в разных типах образцов (цитологический и гистологический материал), диапазон без выбросов

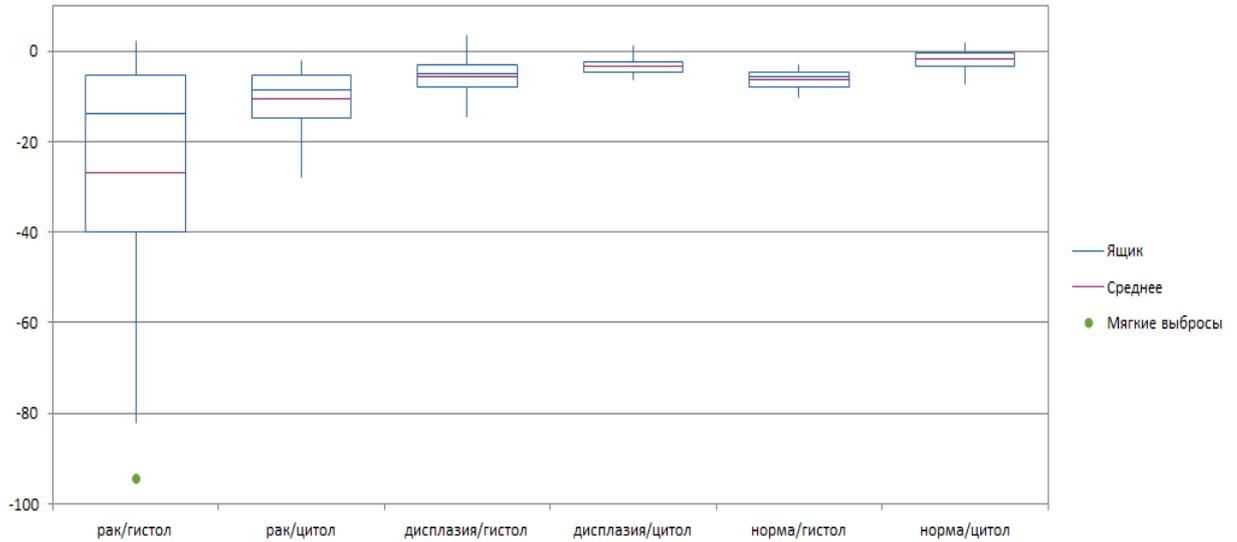
миРНК-375

Рисунок 39 – Диаграмма сопоставления относительного уровня экспрессии миРНК-375 в разных типах образцов (цитологический и гистологический материал), диапазон без выбросов

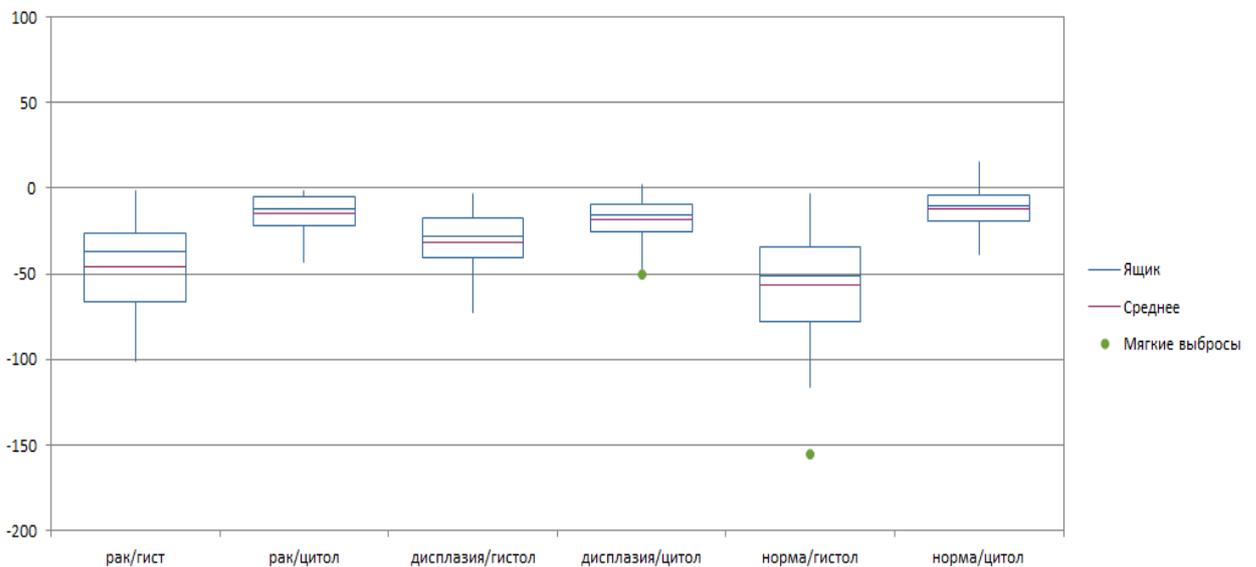
миРНК-106b

Рисунок 40 – Диаграмма сопоставления относительного уровня экспрессии миРНК-106b в разных типах образцов (цитологический и гистологический материал), диапазон без выбросов

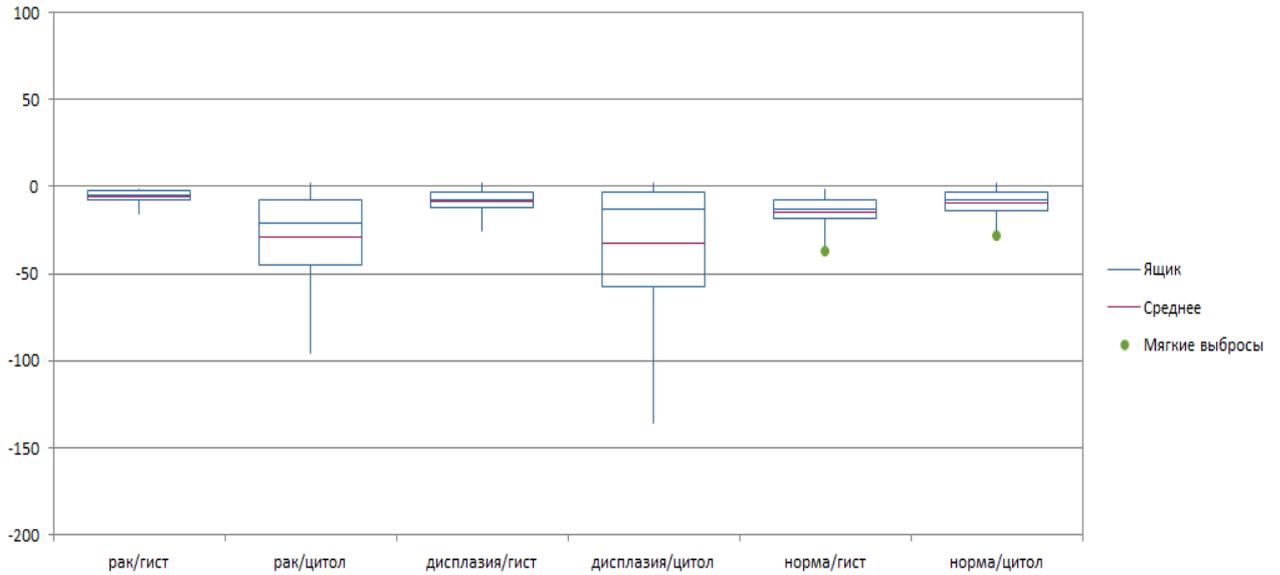
миРНК-125b

Рисунок 41 – Диаграмма сопоставления относительного уровня экспрессии миРНК-125b в разных типах образцов (цитологический и гистологический материал), диапазон без выбросов

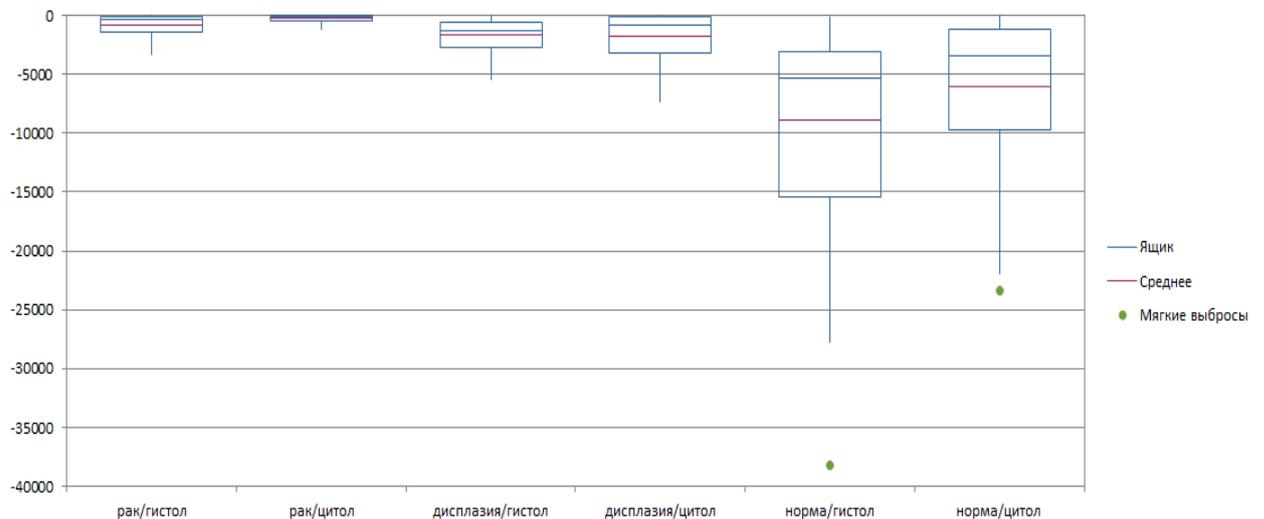
миРНК-196b

Рисунок 42 – Диаграмма сопоставления относительного уровня экспрессии миРНК-196b в разных типах образцов (цитологический и гистологический материал), диапазон без выбросов

Из таблицы 76 и рисунков 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41 и 42 следует, что присутствует ряд различий между гистологическим и цитологическим материалом по экспрессии 10 миРНК. Часть из них связана с разными структурами выборок: в работе по гистологическому материалу было 35 образцов рака, 125 дисплазии и 34 нормы; а в работе по цитологическому материалу – 108 образцов рака, 27 дисплазии и 86 нормы. То есть соотношение между группами получается разным, размер выборки тоже отличается. Кроме того, материал для гистологического исследования фиксирован в 10 %-ном растворе формалина, затем проведена специальная обработка и заключение в парафин, а цитологический материал высушивается на воздухе и окрашивается по Романовскому – Гимзе [3]. Клеточный состав также отличается; так в мазках, полученных щеткой, присутствуют сохраненные и отмирающие слущивающиеся клетки покровно-ямочного эпителия, а полученный щипцами гастробиоптат представлен тканью слизистой и подслизистой оболочки желудка [1, 25].

Не смотря на имеющиеся различия между гистологическим и цитологическим материалом по экспрессии 10 миРНК, по цитологическому материалу в случаях миРНК-125b, 145, -196b, -21, -375, -150 и мРНК TERT, SKS2, FN1 достигнут высокий уровень значимости различий в группах РЖ/норма; миРНК-375 и мРНК FN1 в группах РЖ/дисплазия и миРНК-145, -196b, -20a, -34a мРНК SKS2, TERT в группах норма/дисплазия. По гистологическому материалу достигнут высокий уровень значимости, при сравнении экспрессии миРНК-21, -34a, -150, -196b, -221, -451 в группах РЖ/норма; миРНК-150, -31, -375, -125a, -141 в группах РЖ/дисплазия и миРНК-150, -21, -31, -34a, -125a, -221, -141, -451 в группах дисплазия/норма. Подобные уровни значимости различий в экспрессии миРНК между разными группами указывают на возможность использования данных по экспрессии для эффективного разделения образцов по разным группам. Диагностические характеристики классификаторов с наиболее высокими показателями чувствительности и специфичности представлены в таблице 77, созданные математические модели были использованы при разделении гистологического и цитологического материала в проспективном исследовании. В

дерево решений, используемое при разделении гистологических образцов, вошли миРНК (-150, -451, -196b, -34a, -145, -31), в дерево решений, используемое при разделении цитологических образцов, вошли миРНК-125b, -145, -196b, -21, -20a и -375 и мРНК генов *CKS2*, *TERT* и *FN1*, то есть все, для которых были показаны достоверные отличия в экспрессии.

Таблица 78 – Диагностические характеристики выявления РЖ и дисплазии с помощью дерева принятия решений № 3 (гистологический материал) и дерева принятия решений № 6 (цитологический материал)

Параметры	РЖ, % (гистолог.)	Дисплазия, % (гистолог.)	РЖ, % (цитолог.)	Дисплазия, % (цитолог.)
Специфичность	100,0	94,20	92,04	98,96
Чувствительность	88,57	98,40	97,22	67,86
Общая точность	97,94	96,91	94,57	95,02
ПЦПР	100,00	96,85	92,11	90,48
ПЦОР	97,55	97,01	97,20	95,50

В гистологическом и цитологическом классификаторе только две общих миРНК-145 – 196b. В цитологический классификатор вошли четыре новых маркера: миРНК-125b, мРНК *TERT*, *CKS2*, *FN1*.

МиРНК-125b регулирует процессы дифференцировки, апоптоза и клеточного цикла, в эпителиальных опухолях проявляет свойства онкосупрессора [232, 246]. К генам мишеням миРНК-125b относятся как апоптоз-ассоциированные гены p53-сети (*BCL2 antagonist/killer 1*, *PUMA*, *PLAG1 like zinc finger 1*), так и гены регуляторы клеточного цикла (*cell division cycle 25C*, *CDKN2A*). Снижение экспрессии миРНК-125b в клетках рака желудка ассоциировано с *HER2*-положительным ответом и неблагоприятным прогнозом [21, 229]. МиРНК-196b способствует пролиферации, миграции, метастазированию и регулирует G1/S переход. Влияет на экспрессию генов, связанных с эпителиально-мезенхимальным переходом, при раке желудка согласно опубликованным данным экспрессия миРНК-196b повышена по сравнению с

неопухолевыми тканями [87, 172]. МиРНК-106b регулирует пролиферацию, миграцию, инвазию, метастазирование, при раке желудка отмечается значительное повышение уровня данной миРНК в фибробластах. Фибробласты, ассоциированные с раком, являются важными компонентами микросреды опухоли, они выделяют различные факторы роста и хемокины, такие как transforming growth factor beta (TGF- β), hepatocyte growth factor (HGF), PDGF, fibroblast growth factor 7 (FGF-7) и C-X-C motif chemokine ligand 12 (SDF-1), которые могут стимулировать пролиферацию, инвазию, метастазирование и ангиогенез опухолевых клеток. Передача сигналов PTEN тесно связана с факторами роста и хемокинами, кроме пути PTEN миРНК-106b регулирует сигнальный путь TGF- β участвующий в клеточном цикле. Таким образом, миРНК-106 играет важную роль в биологическом процессе рака желудка [167].

Кроме миРНК в работе с цитологическими образцами мы использовали мРНК в качестве маркеров трансформации клеток. Информацию о последовательности аминокислот в белке содержат мРНК и являются посредниками, переносящими информацию из ядра в цитоплазму. На посттранскрипционном уровне миРНК регулируют экспрессию генов за счёт спаривания со специфическими нуклеотидными последовательностями мРНК [21].

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, что приводит к увеличению его экспрессии, которая влияет на пролиферацию опухолевых клеток [69]. Экспрессия опухолевого супрессора CDKN2A, наоборот, подавляется гиперметилированием CpG-островка – это является ранним событием гастроканцерогенеза, так как гиперметилирование гена отмечается в участках предраковых изменений (в районах кишечной метаплазии) [21]. CKS2 в клетках злокачественных новообразований активируется, подавляет супрессоры опухолей p53 и p21, что способствует росту

раковых клеток [62]. FN1 является членом семейства гликопротеинов, участвует в процессах клеточной адгезии, миграции, подавления апоптоза, в неопластической ткани отмечается повышение его экспрессии по сравнению с нормально тканью [85].

Для новых маркеров мы получили различия с высоким уровнем значимости между группами рак/норма и дисплазия/норма. Между группами рак/дисплазия значимыми различия оказались только для двух маркеров (миРНК-375, мРНК, FN1), поэтому при высокой специфичности выявления дисплазии, чувствительность оказалась заметно ниже. Результаты исследования клеточного материала и молекулярного анализа могут не совпадать в силу того, что молекулярные маркеры злокачественности появляются раньше морфологических изменений, соответствующих раку [21], и в случаях, когда неопластические изменения локализуются на уровне шейки желёз внутри собственной пластинки слизистой, результаты цитологического, морфологического и молекулярно-генетического исследований могут отличаться.

Важным преимуществом разработанной методики на основе профилирования миРНК и мРНК для дифференциальной диагностики дисплазии и РЖ по сравнению с нормальной слизистой в образцах цитологического материала, полученного при экстренном эндоскопическом исследовании является то, что высокая чувствительность клеточного материала к внешним воздействиям и время, затраченное на транспортировку, не влияют на результат молекулярно-генетического исследования.

Полученные данные относительно экспрессии миРНК при раке желудка в гистологическом материале соответствуют тому, что уже опубликовано в научной литературе. Наибольшее количество данных накоплено относительно миРНК-21, поскольку во многих работах сообщалось, что уровень экспрессии миРНК-21 повышается в различных опухолях [37, 59, 168]. При РЖ в большинстве работ тоже сообщалось о повышении уровня миРНК-21 [63, 93, 162, 175, 176], хотя в то же время есть работа, в которой описано снижение уровня миРНК-21 [86], правда в клеточных линиях. В нашей работе мы наблюдали повышение уровня

миРНК-21 в гистологических образцах не только при РЖ, но и при дисплазии, относительно нормальной слизистой оболочки.

Из остальных миРНК, рассмотренных в данной работе, статистически достоверно был повышен уровень экспрессии миРНК-150 и -34а в гистологических образцах, а понижен у миРНК-375 при РЖ относительно нормы. При дисплазии относительно нормы был повышен уровень экспрессии миРНК-150, -20а, -34а и -31, а уровень миРНК-145 понижен.

Изменение профилей экспрессии миРНК при развитии дисплазии на данный момент изучено слабо, поэтому по миРНК-150, -20а, -34а, -31 нет опубликованных данных. Для миРНК-145, как и в нашей работе, было описано снижение уровня экспрессии при дисплазии относительно нормы [163], в той же работе было также описано снижение уровня экспрессии миРНК-375, чего у нас не наблюдалось. Что касается РЖ, то можно отметить, что повышение уровня экспрессии миРНК-150 в гистологических образцах по сравнению с нормальной слизистой совпадает с литературными данными [93], причем в одной из работ снижение уровня миРНК-150 при РЖ связали со снижением выживаемости. Для миРНК-34а мы получили повышение ее количества при раке желудка, что расходится с представлениями о ее роли при РЖ – повышенная экспрессия миРНК-34а может активировать каспазу-3 (один из элементов апоптоза), что замедляет формирование и рост опухоли [204]. С другой стороны, в другой работе было напрямую показано снижение количества миРНК-34а при РЖ [96], правда, из этой же работы следует, что количество миРНК может зависеть не только от развития онкологического процесса, но и от различных условий жизни и привычек человека.

Для миРНК-375 (в гистологических и цитологических образцах) полученные данные – снижение экспрессии при РЖ – полностью соответствуют публикациям, в которых описана ее противоопухолевая активность при раке желудка [163, 171, 177], а также при колоректальном, плоскоклеточном раке головы и шеи, и раке поджелудочной железы [164, 170, 178].

Для миРНК-106b получены данные на гистологическом материале о

повышении экспрессии относительно нормы, а на цитологическом материале получено снижение относительно нормы. Согласно данным литературы при раке желудка отмечается значительное повышение уровня миРНК-106b [167].

Для миРНК-125b отмечено снижение экспрессии относительно нормы в цитологических образцах, а в гистологических мы получили повышение уровня экспрессии данной миРНК.

Для миРНК-196b в нашей работе мы наблюдали повышение уровня экспрессии как при работе с гистологическим материалом, так и с цитологическими образцами, полученные данные полностью соответствуют научным публикациям [87, 172].

Таким образом, не все полученные нами данные по экспрессии миРНК полностью совпали с данными, опубликованными в литературе. Наше исследование показало, что расхождения могут быть связаны с особенностями формирования выборки, с разной обработкой препаратов и отличиями в клеточном составе материала.

Полученные результаты показывают, что с помощью классификатора в гистологическом материале возможно дифференцировать дисплазию и рак с точностью более, чем 98 %, молекулярные маркеры способны стать ценным инструментом в дополнение к экзофагогастродуоденоскопии с биопсией. Полученные результаты показывают, что профилирование миРНК и мРНК в клеточном материале со слизистой оболочки желудка позволяет сформировать группу риска, увеличить точность раннего выявления злокачественных поражений, в более короткие сроки подтвердить или опровергнуть диагноз «рак» и определить показания к оперативному лечению.

Анализ результатов проспективного исследования 125 наблюдений пациентов с язвами желудка с дисплазией (база гистологического материала) показал, что средний промежуток времени до выявления злокачественного характера язвенного поражения желудка в исследуемых случаях составил 9 месяцев, медиана 2 месяца с интерквартильным размахом от 2 до 12 месяцев. В описании эндоскопического осмотра 9 из 10 язвенных поражений

охарактеризованы как гигантские, то есть больше 3,0 см, а размер язвы считается одним из главных параметров, которые позволяют врачу эндоскописту заподозрить злокачественное поражение [114]. Однако, несмотря на размер язвенного дефекта и наличие дисплазии в гистологическом заключении, больные не взяты под пристальное наблюдение хирурга и эндоскописта. Также у 6 пациентов (60 %) биопсия ограничивалась 1-2 фрагментами, так как увеличение количества биоптатов могло привести к рецидиву кровотечения, но несмотря на это молекулярный классификатор по профилю миРНК определил 40 % (4 поражения из 10) выявленных раков в группу РЖ после анализа биопсийного материала, полученного при первичной ЭГДС. Полученные результаты имеют значение для медицинской практики, так как из-за инвазивного характера гастроскопии больные неохотно идут в плановом порядке на повторные эндоскопические исследования, в нашем исследовании комплаенс составил 3,2 %, это затрудняет интерпретацию данных исследования и не позволяет поставить диагноз рак. Очевидно, что необходимо усовершенствование существующих стандартов обследования и разделение пациентов на группы высокого и низкого риска прогрессии заболевания к неоплазии, с дальнейшим наблюдением согласно группе риска.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На сегодняшний день для формирования группы риска по развитию рака желудка используют уреазный дыхательный тест с C13-УДТ, определение моноклонального фекального антигена *Helicobacter pylori*, анализ сывороточных пепсиногенов и эзофагогастродуоденоскопию. Однако длительного инфицирования *Helicobacter pylori* и наличия хронического атрофического гастрита недостаточно для предсказания развития рака в будущем, необходима всесторонняя оценка множества факторов риска. Известно, что ранние молекулярные маркеры злокачественности появляются раньше, чем морфологические изменения. Высокоспецифичными молекулярными биомаркерами являются миРНК и мРНК со своим характерным профилем экспрессии для каждого вида ткани, они могут стать перспективными диагностическими маркерами для идентификации дисплазии и РЖ в клинике при исследовании гистологического и цитологического материала, полученного при ЭГДС. Целью настоящего исследования было разработать методику эндоскопического наблюдения пациентов с осложнённой язвой желудка, при использовании технологии интеллектуального анализа данных экспрессии миРНК и мРНК в гистологическом и цитологическом материале. В ходе исследования были получены для каждой из рассматриваемых групп – нормы, дисплазии и РЖ – уникальные профили экспрессии миРНК и мРНК, на основании которых эти группы можно дифференцировать между собой. В особенности представляет интерес различие нормы и дисплазии в гистологическом материале, это может позволить выявлять предраковые состояния и раки на ранних стадиях.

Наши результаты могут помочь в выявлении пациентов с высоким риском прогрессии заболевания к неоплазии, этой категории пациентов следует повторять эзофагогастродуоденоскопию с выполнением браш-биопсии и мультифокальной щипцовой биопсии, с обязательным проведением молекулярно-генетического исследования цитологического и гистологического материала согласно предложенному алгоритму на протяжении 2,5 лет, и «пациентов с низким риском», которым можно проводить ЭГДС один раз в 3–5 лет.

ВЫВОДЫ

1. Браш-биопсия позволяет в течение 2 дней после первичной эзофагогастродуоденоскопии установить доброкачественный характер язвенного поражения в 94,8 % случаев и в 100 % – верно установить характер поражения при злокачественном изъязвлении. По данным морфологического исследования в 9,3 % случаев (в группах I и II) была выявлена дисплазия в крае хронической язвы с началом регенерации. Выраженная реакция (++++) с ЦОГ-2 ($\times 400$) отмечается при размере язвенного дефекта 1,5 см и более при наличии дисплазии и при раке желудка.

2. В результате проведенного исследования создана библиотека профилей молекулярных маркеров в норме, при дисплазии, при раке желудка. В библиотеку профилей включены 194 образца архивного гистологического материала (норма, язва с дисплазией, рак желудка) в виде парафиновых блоков и 221 цитологический препарат (норма, язва с дисплазией, рак желудка) в виде мазков на предметном стекле.

3. Чувствительность созданной математической модели при использовании гистологического материала при выявлении рака составила 88,57 %, специфичность – 100 %, а для дисплазии чувствительность составила 98,40 %, специфичность – 94,20 %.

4. Чувствительность созданной математической модели при использовании цитологического материала при выявлении рака желудка составила 97,22 %, специфичность – 92,04 %, а для дисплазии чувствительность составила 67,86 %, специфичность – 98,96 %.

5. Браш-биопсия из язвенного поражения желудка при гемостазе тип II B, II C по J. Forrest (1974) в 8,6 % привела к капиллярному подтеканию крови тип I B по J. Forrest (1974), которое было остановлено методом аргоноплазменной коагуляции. Браш-препараты всех язвенных поражений (группы I, II, III) при гемостазе тип II B, II C по J. Forrest (1974) прошли молекулярно-генетическое исследование, чувствительность созданной

математической модели для пациентов III группы составила 100 %.

6. Несмотря на то, что выявлены различия по экспрессии десяти миРНК, которые были использованы для анализа цитологического и гистологического материала, созданные математические модели характеризуются высокой чувствительностью и специфичностью и позволяют эффективно разделять образцы на разные группы как при использовании гистологического, так при использовании цитологического материала.

7. В результате ретроспективного и проспективного анализа обследований 125 наблюдений язв с дисплазией выявлено 10 случаев (8 %) рака желудка. Классификатор по профилю миРНК, полученной после первичной эзофагогастродуоденоскопии с биопсией (ретроспективный материал из первичного осмотра), определил в группу «рак желудка» 4 поражения из 10. Средний промежуток времени до выявления рака желудка составил 9 месяцев, медиана 2 месяца с интерквартильным размахом от 2 до 12 месяцев.

8. Разработанный диагностический алгоритм выявления групп риска по прогрессии заболевания в неоплазию позволяет выявлять пациентов при наличии язвенного поражения желудка, осложненного кровотечением, при гемостазе тип II В, II С по J. Forrest.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При обследовании пациентов с язвенными поражениями слизистой оболочки желудка рекомендуется дополнить эзофагогастродуоденоскопию с щипцовой биопсией выполнением браш-биопсии и определением в цитологическом материале профиля миРНК и мРНК.

2. При выявлении профилей миРНК и мРНК, соответствующих раку желудка, после снятия угрозы рецидива кровотечения необходимо провести повторную эзофагогастродуоденоскопию с щипцовой биопсией 3-х и более фрагментов и молекулярно-генетическим исследованием. При выявлении дисплазии high-grade направить пациента к онкологу. При выявлении дисплазии low-grade наблюдать пациента согласно предложенному алгоритму. При регрессе дисплазии наблюдать пациента 1 раз в год (ЭГДС, браш-биопсия, МГА).

3. В случаях язвенного поражения желудка, осложненного кровотечением, при гемостазе тип II В, II С по J. Forrest (1974) рекомендуется выполнить браш-биопсию при первичной ЭГДС с определением профиля экспрессии миРНК и мРНК после цитологического исследования.

4. В постгеморрагическом периоде на анемизированной слизистой рекомендовано использовать хромогастроскопию с 0,5 %-м раствором метиленового синего для улучшения визуализации язвенных поражений.

5. При формировании групп риска по развитию рака рекомендовано после прецедента обращения дополнить обследование определением генотипа TNF- α -308.

6. Применение разработанного диагностического алгоритма рекомендовано после прецедента обращения, в том числе при осложнённых язвах желудка, для выявления «пациентов с высоким риском», которым следует повторять ЭГДС с выполнением мультифокальной щипцовой биопсии с обязательным проведением МГА гистологического материала каждые 3–6 месяцев в течение 2,5 лет, и «пациентов с низким риском», которым можно проводить ЭГДС 1 раз в 3–5 лет.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВЭН	внутриэпителиальная неоплазия
ГБУЗ НСО «ГКБ № 2»	Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Новосибирской области «Городская клиническая больница № 2»
ГП	гиперпластический полип
ЖКК	желудочно-кишечное кровотечение
КМ	кишечная метаплазия
МГА	молекулярно-генетический анализ
миРНК	малая интерферирующая рибонуклеиновая кислота
мРНК	матричная рибонуклеиновая кислота
ОТ-ПЦРРВ	полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией в реальном времени
ПЦОР	предсказательная ценность отрицательного результата
ПЦПР	предсказательная ценность положительного результата
РЖ	рак желудка
ЦОГ-2	циклооксигеназа 2
ЭГДС	эзофагогастродуоденоскопия
ЯЖ	язва желудка
CDKN2A	Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2A
CKS2	CDC28 Protein Kinase Regulatory Subunit 2
FN1	Fibronectin 1
IL	интерлейкин
NICE	National Institute for Health and Clinical Excellence
OLGA	Operative Link on Gastritis Assessment
TERT	Telomerase Reverse Transcriptase
TNF- α	фактор некроза опухоли альфа

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Автандилов, Г. Г. Гистоплоидометрическая диагностика новообразований желудка по гастробиоптатам / Г. Г. Автандилов, Н. В. Купрюшина // Новые гистологические диагностические технологии. Руководство. Книга 4. – Москва : РМАПО, 2008. – 126 с.
2. Архипова, А. А. Дисплазия лёгкой степени, эндоскопические предикторы, тактика ведения / А. А. Архипова, В. В. Анищенко // Хирургическая практика. – 2020. – № 2. – С. 10–14. DOI:10.38181/2223-2427-2020-2-10-14.
3. Архипова, А. А. Характеристика язв желудка, осложнённых кровотечением / А. А. Архипова, В. В. Анищенко // Acta Biomedica Scientifica. – 2020. – № 5 (1). – С. 42–46. DOI:10.29413/ABS.2020-5.1.5.
4. Архипова, А. А. Хромогастродуоденоскопия в диагностике язвенного поражения у пациентов с сердечно-сосудистой патологией в сочетании с анемией / А. А. Архипова, А. В. Кузнецов // Acta Biomedica Scientifica. – 2019. – № 4 (1). – С. 102–106. DOI:10.29413/ABS.2019-4.1.15.
5. Аутоиммунный гастрит в клинической практике / А. В. Белковец, Н. В. Ожиганова, А. Г. Антипенко, С. А. Курилович // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2020. – № 182 (10). – С. 142–147. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-182-10-142-147.
6. Блок, Б. Гастроскопия / Б. Блок, Г. Шахшаль, Г. М. Шмидт. – Москва : МЕДпресс-информ, 2015. – 216 с.
7. Бордин, Д. С. «Серологическая биопсия» и скрининг рака желудка / Д. С. Бордин, М. Ю. Бяхов, Л. В. Федуленкова // Злокачественные опухоли. – 2014. – № 2. – С. 30–36.
8. Бутов, М. А. Обследование больных с заболеваниями органов пищеварения. Часть 1. Обследование больных с заболеваниями желудка : Учебное пособие по пропедевтике внутренних болезней для студентов 3 курса лечебного факультета / М. А. Бутов, П. С. Кузнецов. – Рязань: РИО РязГМУ, 2007. – 38 с.
9. Вернигородский, С. В. Кишечная трансдифференциация слизистой

оболочки желудка при предраковых состояниях / С. В. Вернигородский, М. В. Мнихович // Экспериментальная медицина. – 2013. – № 1. – С. 115–120.

10. Возможности дифференциальной диагностики рака желудка и предраковых изменений слизистой желудка с помощью анализа экспрессии шести микроРНК / С. Е. Титов, В. В. Анищенко, Т. Л. Полоз [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2020. – № 65 (2): – С. 131–136.

11. Диагностика и лечение язвенной болезни у взрослых (Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации, Российского общества колоректальных хирургов и Российского эндоскопического общества) / В. Т. Ивашкин, И. В. Маев, П. В. Царьков [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2020. – № 30 (1). – С. 49–70.

12. Динамический скрининг предраковых состояний пищевода с помощью молекулярно-генетического анализа / В. В. Анищенко, С. Е. Титов, Т. Л. Полоз [и др.] // Сибирский онкологический журнал. – 2020. – № 19 (6). – С. 38–45. DOI:10.21294/1814-4861-2020-19-6-38-45.

13. Задачи компьютерной томографии при обследовании больных раком желудка в онкорadiологической клинике / Н. К. Силантьева, Т. А. Агабабян, В. Ю. Скоропад, О. Г. Гришина // Сибирский онкологический журнал. – 2015. – № 1 (5). – С. 5–13.

14. Закревский, В. В. Овощи и плоды в профилактике и лечении рака в свете доказательной медицины (часть 1) / В. В. Закревский, В. Г. Лифляндский // Вестник СПбГУ. Медицина. – 2017. – Т. 12; Вып. 4. – С. 407–418. DOI:10.21638/11701/spbu11.2017.409.

15. Здравоохранение в России 2017 : Статистический сборник / Л. И. Агеева, Г. А. Александрова, Н. М. Зайченко [и др.] – Москва : Росстат, 2017. – 170 с.

16. Комплексное применение лучевых методов исследования в дифференциальной диагностике злокачественных изъязвлений желудка / С. Р. Зогот, Р. Ф. Акберов, М. Г. Тухбатуллин, И. М. Алиева // Практическая медицина. – 2014. – № 3 (79). – С. 130–134.

17. Королёв, М. П. Желудочно-кишечные кровотечения как проблема хирургии! (терапии?!). / М. П. Королёв // Бюллетень медицинских Интернет-конференций. – 2012. – № 2 (5). – С. 226–257.
18. Мельситова, И. В. Качество и безопасность продуктов питания : пособие. В 2-х частях. Ч. 1. Качество продуктов питания / И. В. Мельситова. – Минск : БГУ, 2014. – 183 с.
19. Михалева, Л. М. Морфологические и иммуногистохимические особенности тяжелой дисплазии и раннего рака желудка / Л. М. Михалева, А. Е. Бирюков // Архив патологии. – 2017. – № 79 (4). – С. 22–28. DOI: 10.17116/patol201779422-28.
20. Михалёва, Л. М. Эндоскопические и морфологические факторы прогноза течения раннего рака желудка / Л. М. Михалёва, Е. Д. Фёдоров, А. Е. Бирюков // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2019. – № 4. – С. 78–84. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-164-4-78-84.
21. Молекулярно-генетические маркеры опухолей / под ред. Н. Е. Кушлинского, Н. Н. Мазуренко, М. В. Немцовой. – Москва : Издательство РАМН, 2016. – 612 с.
22. Монтгомери, Э. А. Интерпретация биопсии пищеварительного тракта. Новообразования / Э. А. Монтгомери, Л. Вольтаджо : перевод с английского под ред. П. Г. Малькова. – Москва : Практическая медицина, 2019. – 432 с.
23. Оценка риска развития рака желудка кишечного типа у носителей полиморфных аллелей генов цитокинов / Д. Г. Новиков, А. В. Кононов, Е. Г. Поморгайло, С. И. Мозговой // Медицина в Кузбассе. – 2010. – № 4. – С. 21–24.
24. Перцева, Е. В. Анализ причин неязвенных кровотечений из верхних отделов желудочно-кишечного тракта / Е. В. Перцева // Вестник Чувашского университета. – 2014. – № 2. – С. 320–322.
25. Полонская, Н. Ю. Клиническая цитология : Практическое руководство / Н. Ю. Полонская. – Москва : Практическая медицина, 2018. – 144 с.
26. Рак желудка / Ш. Х. Ганцев, М. Д. Тер-Ованесов, И. Р. Рахматуллина,

Д. Т. Арыбжанов ; Акад. наук Респ. Башкортостан, отд. мед. наук. – Уфа : Гилем, 2014. – 300 с. : ил. ; 21 см. – Библиогр. : с. 291–296. – 1000 экз.

27. Рак желудка : Клинические рекомендации. – Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2018. – 34 с.

28. Рак желудка: диагностика и лечение : методическое пособие / А. А. Захаренко, К. Н. Вовин, М. А. Беляев [и др.]. – Санкт-Петербург : РИЦ ПСПбГМУ, 2018. – 36 с.

29. Рецидивные язвенные желудочно-кишечные кровотечения / С. Ф. Багненко, И. М. Мусинов, А. А. Курыгин, Г. И. Синенченко. – Москва : Бином. Лаборатория знаний, 2009. – 256 с.

30. Современные аспекты диагностики и лечения раннего рака С65 желудка: пособие для врачей / В. Н. Клименко [и др.] ; под ред. В. В. Семиглазова. – Санкт-Петербург : РИЦ ПСПбГМУ, 2020. – 40 с.

31. Современные представления о факторах риска развития рака желудка / В. М. Хомяков, А. Д. Ермошина, С. С. Пирогов, А. Б. Рябов // Российский журнал гастроэнтерологии гепатологии колопроктологии. – 2017. – № 27 (6). – С. 78–86 DOI: 10.22416/1382-4376-2017-27-6-78-86.

32. Состояние онкологической помощи населению России в 2018 году / под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, Г. В. Петровой – Москва : МНИОИ им. П. А. Герцена, 2018. – 236 с.

33. Состояние онкологической помощи населению России в 2019 году / под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, А. О. Шахзадовой – Москва : МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2020. – 239 с.

34. Шапиро, Н. А. Цитологическая диагностика заболеваний пищевода, желудка и кишки: цветной атлас / Н. А. Шапиро, А. И. Шибанова, Ж. Б. Елеубаева. – Москва ; Алматы : Репроцентр-М, 2011. – 240 с.

35. Эндоскопическая диагностика заболеваний пищевода, желудка и тонкой кишки / Н. Е. Чернеховская, В. Г. Андреев, Д. П. Черепянец, А. В. Поволяев. – Москва : МЕДпресс-информ, 2010. – с. 210.

36. Янкин, А. В. Скрининг рака желудка / А. В. Янкин // Практическая онкология. – 2010. – Т. 11, № 2. – С. 95–100.
37. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets / S. Volinia, G. A. Calin, C. G. Liu [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2006. – Vol. 103. – P. 2257–61.
38. A miRNA-based diagnostic model predicts resectable lung cancer in humans with high accuracy / K. Asakura, T. Kadota, J. Matsuzaki [et al.] // Communications Biology. – 2020. – Vol. 3. – P. 134 DOI: 10.1038/s42003-020-0863-y.
39. A serum microRNA classifier for early detection of hepatocellular carcinoma: a multicentre, retrospective, longitudinal biomarker identification study with a nested case-control study / X. J. Lin, Y. Chong, Z. W. Guo [et al.] // Lancet Oncol. – 2015. – Vol. 16 (7). – P. 804–15. DOI: 10.1016/S1470-2045(15)00048-0.
40. Acute upper gastrointestinal bleeding / E. Sverdén, S. R. Markar, L. Agreus, J. Lagergren // BMJ. – 2018. – Vol. 363. – P. 4023. DOI: 10.1136/bmj.k4023.
41. Agostini, M. MiR-34: from bench to bedside / M. Agostini, R. A. Knight // Oncotarget. – 2014. – Vol. 5 (4). – P. 872–81. DOI: 10.18632/oncotarget.1825.
42. Ahn, H. J. Helicobacter pylori in gastric carcinogenesis / H. J. Ahn, D. S. Lee // World J Gastrointest Oncol. – 2015. – Vol. 7 (12). – P. 455–465. DOI: 10.4251/wjgo.v7.i12.455.
43. Alcohol consumption and gastric cancer risk: a meta-analysis / K. Ma, Z. Baloch, T. He, X. Xia // MedSciMonit. – 2017. – Vol. 23. – P. 238–246. DOI: 10.12659/msm.899423.
44. Altered microsatellites in incomplete-type intestinal metaplasia adjacent to primary gastric cancers / T. Hamamoto, H. Yokozaki, S. Semba [et al.] // J Clin Pathol. – 1997. – Vol. 50. – P. 841–846. DOI: 10.1136/jcp.50.10.841.
45. Analysis of the clinical benefits and cost-effectiveness of performing a systematic second-look gastroscopy in benign gastric ulcer / E. A. Muro, F. B. Celaya, J. M. M. P. Virseda [et al.] // Gastroenterol Hepatol. – 2009. – Vol. 32 (1). – P. 2–8. DOI: 10.1016/j.gastrohep.2008.07.002.

46. Asaka, M. Roadmap to eliminate gastric cancer with *Helicobacter pylori* eradication and consecutive surveillance in Japan / M. Asaka, M. Kato, N. Sakamoto // *J Gastroenterol.* – 2014. – Vol. 49 (1). – P. 1–8. DOI: 10.1007/s00535-013-0897-8.

47. Association between habitual dietary salt intake and risk of gastric cancer: a systematic review of observational studies / S. Ge, X. Feng, L. Shen [et al.] // *Gastroenterol Res Prac.* – 2012. – Vol. 2012. – P. 808–20. DOI: 10.1155/2012/808120.

48. Association between interleukin gene polymorphisms and susceptibility to gastric cancer in the Qinghai population / X. Song, D. Wang, B. Ben [et al.] // *J Int Med Res.* – 2021. – Vol. 49 (5). – P. 755. DOI: 10.1177/03000605211004755.

49. Association between TNF- α -308 G/A gene polymorphism and gastric cancer risk: a systematic review and meta-analysis / J. P. Yang, M. H. Hyun, J. M. Yoon [et al.] // *Cytokine.* – 2014. – Vol. 70 (2). – P. 104–114. DOI: 10.1016/j.cyto.2014.07.005.

50. Association of vegetable and fruit intake with gastric cancer risk among Japanese: a pooled analysis of four cohort studies / T. Shimazu, K. Wakai, A. Tamakoshi [et al.] // *Ann Oncol.* – 2014. – Vol. 25 (6). – P. 1228–33. DOI: 10.1093/annonc/mdu115.

51. Associations between cytokine gene polymorphisms and susceptibility to *Helicobacter Pylori* infection and *Helicobacter Pylori* related gastric cancer, peptic ulcer disease: a meta-analysis / J. Ma, D. Wu, X. Hu, [et al.] // *PLoS One.* – 2017. – Vol. 12 (4). – P. e0176463. DOI: 10.1371/journal.pone.0176463.

52. Bass, A. J. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma / A. J. Bass // *Nature.* – 2014. – Vol. 513 (7517). – P. 202–9. DOI: 10.1038/nature13480.

53. Benefits and Harms of Gastric Cancer Screening and Prevention in Japan: A Microsimulation Modeling Analysis / C. Y. Leung, H. L. Huang, E. Saito [et al.] // *Journal of Global Oncology.* – 2018. – Vol. 4 (2). – P. 33s. DOI:10.1200/jgo.18.58700.

54. Bile reflux and intestinal metaplasia in gastric mucosa / G. M. Sobala, H. J. O'Connor, E. P. Dewar *J Clin Pathol.* – 1993. – Vol. 46. – P. 235–240. DOI: 10.1136/jcp.46.3.235.

55. Biopsy dge of gastric ulcer healing or complete healing may lead to detection of gastric cancer earlier: an 8 years endoscopic follow-up study / S. X. Lv, J. H. Gan, X. G. Ma [et al.] // *Hepatogastroenterology*. – 2012. – Vol. 59 (115). – P. 947–50. DOI: 10.5754/hge10692.

56. Case Report: Simultaneously diagnosed gastric adenocarcinoma and pernicious anemia - a classic association / S. Kamran, M. K. Dilling, N. A. Parker [et al.] // *F1000Res*. – 2020. – Vol. 9. – P. 604. DOI: 10.12688/f1000research.24353.2.

57. Cdx2 Expression and Intestinal Metaplasia Induced by H. pylori Infection of Gastric Cells Is Regulated by NOD1-Mediated Innate Immune Responses / N. Asano, A. Imatani, T. Watanabe [et al.] // *Cancer Res*. – 2016. – Vol. 76. – P. 1135–1145. DOI: 10.1158/0008-5472.

58. CEA and CA 19-are still valuable markers for the prognosis of colorectal and gastric cancer patients / A. Sisik, M. Kaya, G. Bas [et al.] // *Asian Pac. J. Cancer Prev*. – 2013. – Vol. 14. – P. 4289–94.

59. Chan, J. A. MicroRNA-21 is an antiapoptotic factor in human glioblastoma cells / J. A. Chan, A. M. Krichevsky, K. S. Kosik // *Cancer Res*. – 2005. – Vol. 65. – P. 6029–33.

60. Circulating MicroRNAs in Cancer: Potential and Challenge / M. Cui, H. Wang, X. Yao [et al.] – Текст : электронный // *Front. Genet*. – 2019. – URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fgene.2019.00626/full> (дата обращения: 25.06.2019)

61. Clinical utility of CEA, CA 19-9, and CA 72-4 in the follow-up of patients with resectable gastric cancer / D. Marrelli, E. Pinto, A. De Stefano [et al.] // *Am. J. Surg*. – 2001. – Vol. 181. – P. 16–9.

62. Clinicopathological and biological significance of CDC28 protein kinase regulatory subunit 2 overexpression in human gastric cancer / F. Tanaka, S. Matsuzaki, K. Mimori [et al.] // *Int J Oncol*. – 2011. – Vol. 39 (2). – P. 361–72. DOI: 10.3892/ijo.2011.1056.

63. Clinicopathological and prognostic significance of PDCD4 and microRNA-21 in human gastric cancer / K. Motoyama, H. Inoue, K. Mimori [et al.] // *Int. J. Oncol*.

– 2010. – Vol. 36. – P. 1089–95.

64. Combination of *Helicobacter pylori* infection and the interleukin 8–251T > A polymorphism, but not the mannose-binding lectin 2 codon 54G > A polymorphism, might be a risk factor of gastric cancer / Y. W. Chang, C. H. Oh, J. Jung-Wook Kim [et al.] // *BMC Cancer*. – 2017. – Vol. 17 (1). – P. 388. DOI: 10.1186/s12885-017-3378-2.

65. Combined use of AFP, CEA, CA125 and CA19-9 improves the sensitivity for the diagnosis of gastric cancer / C. Z. He, K. H. Zhang, Q. Li [et al.] // *BMC Gastroenterol*. – 2013. – Vol. 13. – P. 87.

66. Comparison of the human gastric microbiota in hypochlorhydric states arising as a result of *Helicobacter pylori*-induced atrophic gastritis, autoimmune atrophic gastritis and proton pump inhibitor use / B. N. Parsons, U. Z. Ijaz, R. D'Amore [et al.] // *PLoS Pathog*. – 2017. – Vol. 13 (11). – P. e1006653. DOI: 10.1371/journal.ppat.1006653.

67. Correa, P. The gastric precancerous cascade / P. Correa, M. B. Piazuelo // *J Dig Dis*. – 2012. – Vol. 13 (1). P. 2–9. DOI: 10.1111/j.1751-2980.2011.00550.x.

68. Correlation of preoperative carcinoembryonic antigen levels and prognosis of gastric cancer patients / Y. Nakane, S. Okamura, K. Akehira [et al.] // *Cancer*. – 1994. – Vol. 73. – P. 2703–8.

69. De Jesus, B. B. Telomerase at the intersection of cancer and aging / B. B. de Jesus, M. A. Blasco // *Trends Genet*. – 2013. – Vol. 29 (9). – P. 513–20. DOI: 10.1016/j.tig.2013.06.007.

70. De Luca, A. *Helicobacter pylori* and gastric diseases: a dangerous association / A. De Luca, G. Iaquinto // *Cancer Lett*. – 2004. – Vol. 213. – P. 1–10.

71. Dekker, W. Diagnostic accuracy of fiberoendoscopy in the detection of upper intestinal malignancy. A follow-up analysis / W. Dekker, G. N. Tytgat // *Gastroenterology*. – 1977. – Vol. 73 (4). – P. 710–4.

72. Dellago, H. MicroRNA-17-5p: At the Crossroads of Cancer and Aging - A Mini-Review / H. Dellago, M. R. Bobbili, J. Grillari – *Gerontology*. – 2017. – Vol. 63(1). – P. 20–28. DOI: 10.1159/000447773.

73. Deregulation of a distinct set of microRNAs is associated with

transformation of gastritis into MALT lymphoma / C. Thorns, J. Kuba, V. Bernard [et al.] // *Virchows Arch.* – 2012. – Vol. 460 (4). – P. 371-7. DOI: 10.1007/s00428-012-1215-1.

74. Detection of high-grade neoplasia in air-dried cervical PAP smears by a microRNA-based classifier / M. K. Ivanov, S. E. Titov, S. A. Glushkov [et al.] // *Oncol. Rep.* – 2018. – Vol. 39 (3). – P. 1099–1111.

75. Development and validation of a serum microRNA biomarker panel for detecting gastric cancer in a high-risk population / J. B. Y. So, R. Kapoor, F. Zhu [et al.] // *Gut.* – 2021. – Vol. 70. – P. 829–837. DOI:10.1136/gutjnl-2020-322065.

76. Development of an e-learning system for teaching endoscopists how to diagnose early gastric cancer: basic principles for improving early detection / K. Yao, N. Uedo, M. Muto, H. Ishikawa // *GastricCancer.* – 2017. – Vol. 20 (1). – P. 28–38. DOI: 10.1007/s10120-016-0680-7.

77. Diet and Cancer Risk in the Korean Population: A Metaanalysis / H. D. Woo, S. Park, K. Oh [et al.] // *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention,* – 2014. – Vol. 15. DOI: 10.7314/APJCP.2014.15.19.8509.

78. Differential expression of microRNAs in preneoplastic gastric mucosa / A. Link, W. Schirrmeister, C. Langner [et al.] // *Sci Rep.* – 2015. – Vol. 5. – P. 8270. DOI:10.1038/srep08270.

79. Differential expression of miRNA-146a and miRNA-155 in gastritis induced by *Helicobacter pylori* infection in paediatric patients, adults, and an animal model / A. C. Cortés-Márquez, S. Mendoza-Elizalde, F. Arenas-Huertero [et al.] // *BMC Infect Dis.* – 2018. – Vol. 18 (1). – P. 463. DOI: 10.1186/s12879-018-3368-2.

80. Differential MicroRNA Expression Between Gastric Cancer Tissue and Non-cancerous Gastric Mucosa According to *Helicobacter pylori* Status / J. W. Lee, N. Kim, J. H. Park [et al.] // *J Cancer Prev.* – 2017. – Vol. 22 (1). – P. 33–39. DOI: 10.15430/JCP.2017.22.1.33.

81. Differentiated Troy+ chief cells act as reserve stem cells to generate all lineages of the stomach epithelium / E. Daniel, D. E. Stange, B. K. Koo [et al.] // *Cell.* – 2013. – Vol. 155 (2). – P. 357–68. DOI: 10.1016/j.cell.2013.09.008.

82. Differentiation Between Malignant and Benign Endoscopic Images of Gastric Ulcers Using Deep Learning. / E. Klang, Y. Barash, A. Levartovsky [et al.] // *Clin Exp Gastroenterol.* – 2021. – Vol. 14. – P. 155–162. DOI: 10.2147/CEG.S292857.

83. Differentiation reprogramming in gastric intestinal metaplasia and dysplasia: role of SOX2 and CDX2 / V. Camilo, M. Garrido, P. Valente [et al.] // *Histopathology.* – 2015. – Vol. 66. – P. 343–350. DOI: 10.1111/his.12544.

84. Down-regulation of a morphogen (sonic hedgehog) gradient in the gastric epithelium of *Helicobacter pylori*-infected Mongolian gerbils. / H. Suzuki, Y. Minegishi, Y. Nomoto [et al.] // *J Pathol.* – 2005. – Vol. 206 (2). – P. 186–97. DOI: 10.1002/path.1763.

85. Down-regulation of FN1 inhibits colorectal carcinogenesis by suppressing proliferation, migration, and invasion / X. Cai, C. Liu, T. N. Zhang [et al.] // *Journal of Cellular Biochemistry.* – 2017. – Vol. 119 (6). – P. 4717–4728. DOI: 10.1002/jcb.26651.

86. Dysregulated microRNA expression profiles in gastric cancer cells with high peritoneal metastatic potential / Y. Feng, F. Bai, Y. You [et al.] // *Exp. Ther. Med.* – 2018. – Vol. 16 (6). – P. 4602–8. DOI: 10.3892/etm.2018.6783.

87. Dysregulation of MicroRNA-196b-5p and MicroRNA-375 in Gastric Cancer / S. W. Seung Woo Lee, K. C. Park, J. G. Kim [et al.] // *J Gastric Cancer.* – 2016. – Vol. 16 (4). – P. 221–229. DOI: 10.5230/jgc.2016.16.4.221.

88. Early Gastric Cancer: Current Advances of Endoscopic Diagnosis and Treatment / L. Zhu, J. Qin, J. Wang [et al.] // *Gastroenterol Res Pract.* – 2016. – Vol. 2016. – P. 9638041. DOI: 10.1155/2016/9638041.

89. Early gastric cancer: diagnosis, staging, and clinical impact. Evaluation of 530 patients. New elements for an updated definition and classification / L. Saragoni, P. Morgagni, A. Gardini [et al.] // *Gastric Cancer.* – 2013. – Vol. 16 (4). – P. 549–54. DOI: 10.1007/s10120-013-0233-2.

90. Effects of interleukin-10 polymorphisms, *Helicobacter pylori* infection, and smoking on the risk of noncardia gastric cancer / J. Kim, Y. A. Cho, I. J. Choi [et al.] // *PLoS One.* – 2012. – Vol. 7 (1). – P. 29643. DOI: 10.1371/journal.pone.0029643.

91. Endoscopic features predictive of gastric cancer in superficial lesions with biopsy-proven high grade intraepithelial neoplasia / W. Wu, Y. L. Wu, Y. B. Zhu [et al.] // *World J Gastroenterol.* – 2009. – Vol. 15 (4). – P. 489–495. DOI: 10.3748/wjg.15.489.

92. Endoscopic follow-up of gastric ulcer in a population at intermediate risk for gastric cancer / M. D. Mañas, A. Domper, A. Albillos [et al.] // *Rev Esp Enferm Dig.* – 2009. – Vol. 101. – P. 317–324.

93. Epigenetic field cancerization in gastric cancer: microRNAs as promising biomarkers / A. L. Pereira, L. Magalhães, F. C. Moreira [et al.] // *J. Cancer.* – 2019. – Vol. 10 (6). – P. 1560–1569. DOI: 10.7150/jca.27457.

94. Epithelial regeneration after gastric ulceration causes prolonged cell-type alterations / E. Aihara, A. L. Matthis, R. A. Karns [et al.] // *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* – 2016. – Vol. 2 (5). – P. 625–647. DOI: 10.1016/j.jcmgh.2016.05.00513.

95. Eradication of *H. pylori* did not improve abnormal sonic hedgehog expression in the high risk group for gastric cancer / A. Shiotani, T. Murao, N. Uedo [et al.] // *Dig Dis Sci.* – 2012. – Vol. 57 (3). – P. 643–9. DOI: 10.1007/s10620-011-1916-3.

96. Evaluation of MicroRNA expression pattern of gastric adenocarcinoma associated with socioeconomic, environmental and lifestyle factors in northwestern Hungary / E. Stánitz, K. Juhász, C. Tóth [et al.] // *Anticancer Res.* – 2013. – Vol. 33 (8). – P. 3195–200.

97. Evaluation of serum microRNA biomarkers for gastric cancer based on blood and tissue pools profiling: the importance of miR-21 and miR-331 / M. Sierzega, M. Kaczor, P. Kolodziejczyk [et al.] // *Br J Cancer.* – 2017. – Vol. 117 (2). – P. 266–273. DOI: 10.1038/bjc.2017.190.

98. Expression of miR-204 and MMP-9 in *Helicobacter pylori*-associated gastric ulcer / X. Li, L. Wang, G. Li [et al.] // *Int J Clin Exp Med.* – 2016. – Vol. 9 (5). – P. 7928–7936.

99. Familial clustering in subgroups of gastric cancer stratified by histology, age group and location / K. Eto, S. Ohyama, T. Yamaguchi [et al.] // *Eur J Surg Oncol.* – 2006. – Vol. 32. – P. 743–748 DOI: 10.1016/j.ejso.2006.04.005.

100. Family history and risk of stomach cancer in Warsaw, Poland / J. Lissowska, F. D. Groves, L. H. Sobin [et al.] // *Eur J Cancer Prev.* – 1999. – Vol. 8. – P. 223–227. DOI: 10.1097/00008469-199906000-00010.

101. Family history of gastric mucosal abnormality and the risk of gastric cancer: a population-based observational study / Song H., Ekhedden I. G., Ploner A. [et al.] // *Int J Epidemiol.* – 2018. – Vol. 47. – P. 440–449 DOI: 10.1093/ije/dyx238.

102. Follow-Up Study on CDX1 and CDX2 mRNA Expression in Noncancerous Gastric Mucosae After Helicobacter pylori Eradication / C. M. Shin, N. Kim, H. Chang [et al.] // *DigDisSci.* – 2016. – Vol. 61. – P. 1051–1059. DOI: 10.1007/s10620-016-4048-y.

103. Function of tumor necrosis factor alpha before and after mutation in gastric cancer / X. Zhang, J. Wang, H. Shao, W. Zhu // *Saudi J Biol Sci.* – 2017. – Vol. 24 (8). – P. 1920–1924. DOI: 10.1016/j.sjbs.2017.11.040.

104. Functional loss of p53 cooperates with the in vivo microenvironment to promote malignant progression of gastric cancers / J. Ohtsuka, H. Oshima, I. Ezawa [et al.] // *Sci Rep.* – 2018. – Vol. 8 (1). – P. 2291. DOI: 10.1038/s41598-018-20572-1.

105. Gastric atrophy and intestinal metaplasia before and after Helicobacter pylori eradication: a meta-analysis / J. Wang, L. Xu, R. Shi [et al.] // *Digestion.* – 2011. – Vol. 83. – P. 253–260. DOI: 10.1159/000280318.

106. Gastric cancer in the stomach cancer Pooling (StoP) Project / D. Praud, M. Rota, C. Pelucchi [et al.] // *Eur J Cancer Prev.* – 2018. – Vol. 27 (2). – P. 124–13. DOI:10.1097/CEJ.0000000000000290.

107. Gastric dysplasia: the Padova international classification / M. Rugge, P. Correa, M. F. Dixon [et al.] // *Am J Surg Pathol.* – 2000. – Vol. 24. – P. 167–176 DOI: 10.1097/00000478-200002000-00001.

108. Gastric Ulcer Complications after the Introduction of Proton Pump Inhibitors into Clinical Routine: 20-Year Experience / F. Eisner, D. Hermann, K. Bajaeifer [et al.] // *Visc Med.* – 2017. – Vol. 33 (3). – P. 221–226. DOI: 10.1159/000475450.

109. Gastric ulcers: malignancy yield and risk stratification for follow-up

endoscopy / C. P. Selinger, R. Cochrane, S. Thanaraj [et al.] // *Endosc Int Open*. – 2016. – Vol. 4 (6). – P. 709–714. DOI: 10.1055/s-0042-106959.

110. Gastrin acting on the cholecystikinin2 receptor induces cyclooxygenase-2 expression through JAK2/STAT3/PI3K/Akt pathway in human gastric cancer cells / W. Xu, G. S. Chen, Y. Shao [et al.] // *Cancer Lett*. – 2013. – Vol. 332. – P. 11–18.

111. Gastritis OLGA-staging and gastric cancer risk: a twelve-year clinico-pathological follow-up study / M. Rugge, M. de Boni, G. Pennelli [et al.] // *Aliment Pharmacol Ther*. – 2010. – Vol. 31. – P. 1104–1111. DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04277.x.

112. Genomic and Epigenomic Profiling of High-Risk Intestinal Metaplasia Reveals Molecular Determinants of Progression to Gastric Cancer / K. K. Huang, K. Ramnarayanan, F. Zhu [et al.] // *Cancer Cell*. – 2018. – Vol. 33. – P137–150.e5.

113. Genta, R. M. Characteristics of the gastric mucosa in patients with intestinal metaplasia / R. M. Genta, A. Sonnenberg // *Am J Surg Pathol*. – 2015. – Vol. 39. – P. 700–704 DOI: 10.1097/PAS.0000000000000384.

114. Giant gastric ulcers: Malignancy yield and predictors from a 10-year retrospective single centre cohort / R. Lord, M. El-Feki, L. Tomos [et al.] // *United European Gastroenterol J*. – 2018. – Vol. 6 (7). – P. 1000–1006. DOI: 10.1177/2050640618770013.

115. Gielisse, E. A. R. Follow-up endoscopy for benign-appearing gastric ulcers has no additive value in detecting malignancy: It is time to individualise surveillance endoscopy / E. A. R. Gielisse, J. P. Kuyvenhoven // *Gastric Cancer*. – 2015. – Vol. 18 (4). – P. 803–9. DOI: 10.1007/s10120-014-0433-4.

116. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries / F. Bray, J. Ferlay, I. Soerjomataram [et al.] // *CA Cancer J Clin*. – 2018. – Vol. 68 (6). – P. 394–424. DOI: 10.3322/caac.21492.

117. Graham, D. Y. History of *Helicobacter pylori*, duodenal ulcer, gastric ulcer and gastric cancer / D. Y. Graham // *World J Gastroenterol*. – 2014. – Vol. 20 (18). – P. 5191–5204. DOI: 10.3748/wjg.v20.i18.5191.

118. H. pylori eradication did not improve dysregulation of specific oncogenic miRNAs in intestinal metaplastic glands / A. Shiotani, N. Uedo, H. Iishi [et al.] // *J Gastroenterol.* – 2012. – Vol. 7 (9). – P. 988–98. DOI: 10.1007/s00535-012-0562-7.

119. Hajjar, A. El. Artificial intelligence in gastrointestinal endoscopy: general overview / A. El. Hajjar, J. F. Rey // *ChinMed J (Engl).* – 2020. – Vol. 133 (3). – P. 326–334. DOI: 10.1097 / CM9.0000000000000623.

120. Hamashima, C. Update version of the Japanese guidelines for gastric cancer screening / C. Hamashima // *Japanese Journal of Clinical Oncology.* – 2018. – Vol. 48. – P. 673–683. DOI: 10.1093/jjco/hyy077.

121. Hatakeyama, M. Structure and function of *Helicobacter pylori* CagA, the first-identified bacterial protein involved in human cancer / M. Hatakeyama // *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.* – 2017. – Vol. 93 (4). – P. 196–219. DOI: 10.2183/pjab.93.013.

122. Hedgehog signal activation in gastric pit cell and in diffuse-type gastric cancer / M. Fukaya, N. Isohata, H. Ohta [et al.] // *Gastroenterology.* – 2006. – Vol. 131 (1). – P. 14–29. DOI: 10.1053/j.gastro.2006.05.008.

123. *Helicobacter pylori* and the BMP pathway regulate CDX2 and SOX2 expression in gastric cells / V. Camilo, R. Barros, S. Sousa [et al.] // *Carcinogenesis.* – 2012. – Vol. 33. – P. 1985–1992. DOI: 10.1093/carcin/bgs233.

124. *Helicobacter pylori* eradication cannot reduce the risk of gastric cancer in patients with intestinal metaplasia and dysplasia: evidence from a meta-analysis / H. N. Chen, Z. Wang, X. Li, Z. G. Zhou // *Gastric Cancer.* – 2016. – Vol. 19. – P. 166–175. DOI: 10.1007/s10120-015-0462-7.

125. *Helicobacter pylori* induces gastric mucosal intestinal metaplasia through the inhibition of interleukin-4-mediated HMG box protein Sox2 expression / S. Asonuma, A. Imatani, N. Asano [et al.] // *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* – 2009. – Vol. 297 (2). – P. 312–22. DOI: 10.1152/ajpgi.00518.2007.

126. *Helicobacter pylori* infection, gastrin and cyclooxygenase-2 in gastric carcinogenesis / Y. Shao, K. Sun, W. Xu [et al.] // *World J Gastroenterol.* – 2014. – Vol. 20 (36). – P. 12860–12873. DOI: 10.3748/wjg.v20.i36.12860.

127. Helicobacter pylori-miRNA Interaction in Gastric Cancer Tissues: First Prospective Study From Turkey / S. Demiryas, B. Kocazeybek, M. Demirci [et al.] // *New Microbiol.* – 2019. – Vol. 42 (4). – P. 210–220.

128. High-throughput mutation profiling identifies novel molecular dysregulation in high-grade intraepithelial neoplasia and early gastric cancers / M. Fassan, M. Simbolo, E. Bria [et al.] // *Gastric Cancer.* – 2014. – Vol. 17 (3). – P. 442–9. DOI: 10.1007/s10120-013-0315-1.

129. How Commonly Is the Diagnosis of Gastric Low Grade Dysplasia Upgraded following Endoscopic Resection? A Meta-Analysis. G. Zhao, M. Xue, Y. Hu [et al.] // *PLoS One.* – 2015. – Vol. 10 (7). – P. 0132699. DOI: 10.1371/journal.pone.0132699.

130. How commonly is the diagnosis of gastric low grade dysplasia upgraded following endoscopic resection? A meta-analysis / G. Zhao, M. Xue, Y. Hu [et al.] // *PLoS One.* – 2015. – Vol. 10 (7). P. 0132699. – DOI: 10.1371/journal.pone.0132699.

131. Identificación de biomarcadores sanguíneos para la detección de lesiones premalignas y el diagnóstico del cáncer gástrico / M.A.Gómez Zuleta, K.E.Torres, M.T.Falduto, S.R.Magnuson – *Rev Col Gastroenterol.* –2017. – Vol. 32 (1). – P. 7–19. DOI:10.22516/25007440.124.

132. Identification of biomarker microRNA-mRNA regulatory pairs for predicting the docetaxel resistance in prostate cancer / J. Tu, O. Peng, Y. Shen [et al.] // *J Cancer.* – 2019. – Vol. 10 (22). – P. 5469–5482. DOI: 10.7150/jca.29032.

133. Identification of serum miRNAs as novel non-invasive biomarkers for detection of high risk for early gastric cancer / A. Shiotani, T. Murao, Y. Kimura [et al.] // *Br J Cancer.* – 2013. – Vol. 109 (9). – P. 2323–30. DOI: 10.1038/bjc.2013.596.

134. Immunohistochemical Expression of p53 and Ki-67 Genes in Gastric Cancer and Precancerous Lesions in the Patients with Helicobacter pylori Infection / S. H. Mahmoudzadeh, Z. Heidari, M. Jahantigh, M. Narouei // *Gene, Cell & Tissue.* – 2016. – Vol. 3 (4). – P. e41341. DOI:10.17795/gct-41341.

135. Immunosuppressive agents are associated with peptic ulcer bleeding / M. Tomizawa, F. Shinozaki, R. Hasegawa [et al.] // *Exp Ther Med.* – 2017. –

Vol. 13 (5). – P. 1927–1931. DOI: 10.3892/etm.2017.4214.

136. Implication of gastrin in cyclooxygenase-2 expression in *Helicobacter pylori* infected gastric ulceration / S. J. Konturek, P. C. Konturek, A. Plonka [et al.] // *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* – 2001. – Vol. 66. – P. 39–51.

137. Incomplete type of intestinal metaplasia has the highest risk to progress to gastric cancer: results of the Spanish follow-up multicenter study / C. A. González, J. M. Sanz-Anquela, O. Companioni [et al.] // *J Gastroenterol Hepatol.* – 2016. – Vol. 31 (5). – P. 953–8. DOI: 10.1111/jgh.13249.

138. Increased expression of matrix metalloproteinase-9 associated with gastric ulcer recurrence / S. L. Li, J. R. Zhao, X. Y. Ren [et al.] // *World J Gastroenterol.* – 2013. – Vol. 19 (28). – P. 4590–4595. DOI: 10.3748/wjg.v19.i28.4590.

139. Induction of cyclooxygenase-2 overexpression in human gastric epithelial cells by *Helicobacter pylori* involves TLR2/TLR9 and c-Src-dependent nuclear factor-kappaB activation / Y. J. Chang, M. S. Wu, J. T. Lin [et al.] // *Mol Pharmacol.* – 2004. – Vol. 66. – P. 1465–1477.

140. Initial and crucial genetic events in intestinal-type gastric intramucosal neoplasia / H. Rokutan, H. Abe, H. Nakamura [et al.] // *J Pathol.* – 2019. – Vol. 247. – P. 494–504. DOI: 10.1002/path.5208.

141. Integrative analysis of mRNA and miRNA expression profiles reveals seven potential diagnostic biomarkers for non-small cell lung cancer / J. Zhang, D. Li, Y. Zhang [et al.] // *Oncol Rep.* – 2020. – Vol. 43 (1). – P. 99–112. DOI: 10.3892/or.2019.7407.

142. Interleukin-10 gene promoter polymorphisms and risk of gastric cancer in a Chinese Population: single nucleotide and haplotype analyses / X. F. Pan, S. J. Yang, M. Loh [et al.] // *Asian Pac J Cancer Prev.* – 2013. – Vol. 14 (4). – P. 2577–82. DOI: 10.7314/apjcp.2013.14.4.2577.

143. Interweaving microRNAs and proinflammatory cytokines in gastric mucosa with reference to *H. Pylori* infection / H. Isomoto, K. Matsushima, N. Inoue [et al.] // *J Clin Immunol.* – 2012. – Vol. 32 (2). – P. 290–9. DOI: 10.1007/s10875-011-9626-3.

144. Intestinal metaplasia of human stomach displays distinct patterns of mucin (MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6) expression / C. A. Reis, L. David, P. Correa [et al.] // *Cancer Res.* – 1999. – Vol. 59 (5). – P. 1003–7.

145. Intrafamilial aggregation of gastric cancer: a comprehensive approach including environmental factors, *Helicobacter pylori* virulence, and genetic susceptibility / C. M. Shin, N. Kim, H. S. Lee [et al.] // *Eur J Gastroenterol Hepatol.* – 2011. – Vol. 23. – P. 411–417. DOI: 10.1097/MEG.0b013e328343b7f5.

146. Jafari, N. MicroRNA-34 Dysregulation in Gastric Cancer and Gastric Cancer Stem Cell / N. Jafari, S. Abediankenari // *Tumour Biol.* – 2017. – Vol. 39 (5). – P. 101–52. DOI: 10.1177/1010428317701652.

147. Jaiswal, M. Nitric oxide in gastrointestinal epithelial cell carcinogenesis: linking inflammation to oncogenesis / M. Jaiswal, N. F. La Russo, G. J. Gores // *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* – 2001. – Vol. 281 (3). – P. 626–34. DOI: 10.1152/ajpgi.2001.281.3.G626.

148. Jass, J. R. A variant of intestinal metaplasia associated with gastric carcinoma: a histochemical study A / J. R. Jass, M. I. Filipe // *Histopathology.* – 1979. – Vol. 3 (3). – P. 191–9. DOI: 10.1111/j.1365-2559.1979.

149. Jiang, X. A meta-analysis of tumor necrosis factor- α -308 G>A polymorphism in gastric cancer / X. Jiang, N. A. Naikoo, S. Gao // *Asian Biomed (Res Rev News).* + 2020. – Vol. 14 (3). – P. 91–96. DOI:10.1515/abm-2020-0014.

150. Kato, M. Diagnosis and therapies for gastric non-invasive neoplasia / M. Kato // *World J Gastroenterol.* – 2015. – Vol. 21 (44). – P. 12513–8. DOI: 10.3748/wjg.v21.i44.12513.

151. Koulis, A. Premalignant lesions and gastric cancer: Current understanding / A. Koulis, A. Buckle, A. Boussioutas // *World J Gastrointest Oncol.* – 2019. – Vol. 11 (9). – P. 665–678. DOI: 10.4251/wjgo.v11.i9.665.

152. Laursen, S. B. Risk Factors for Rebleeding in Peptic Ulcer Bleeding: A Second Look at Second-Look Endoscopy / S. B. Laursen // *Dig Dis Sci.* – 2016. – Vol. 61 (2). – P. 332–3. DOI: 10.1007/s10620-015-3919-y.

153. Lauwers, G. Y. WHO Classification of tumours of the digestive system.

Gastric carcinoma / G. Y. Lauwers, F. Carneiro – Lyon. France: IARC Press, 2010.

154. Lazar, D. E. Gastric Carcinoma: New Insights into Current Management / D. E. Lazar // Books on Demand. – 2013. – S. 306. DOI: 10.5772/45896.

155. Lgr5(+ve) stem cells drive self-renewal in the stomach and build long-lived gastric units in vitro / N. Barker, M. Huch, P. Kujala [et al.] // Cell Stem Cell. – 2010. – Vol. 6 (1). – P. 25–36. doi: 10.1016/j.stem.2009.11.013.

156. Li, T. The dual regulatory role of miR-204 in cancer / T. Li, H. Pan, R. Li // Tumour Biol. – 2016. – Vol. 37 (9). – P. 11667–11677. DOI: 10.1007/s13277-016-5144-5.

157. Link, A. MicroRNAs as non-invasive diagnostic biomarkers for gastric cancer: Current insights and future perspectives / A. Link, J. Kupcinkas // World J Gastroenterol. – 2018. – Vol. 24 (30). – P. 3313–3329. DOI: 10.3748/wjg.v24.i30.3313.

158. Magnifying narrowband imaging is more accurate than conventional white-light imaging in diagnosis of gastric mucosal cancer / Y. Ezoe, M. Muto, N. Uedo [et al.] // Gastroenterology. – 2011. – Vol. 141 (6). – P. 2017–2025.e3. DOI: 10.1053/j.gastro.2011.08.007.

159. Malik, T. F. Peptic Ulcer Disease / T.F Malik, K Gnanapandithan, K.Singh. – StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing; 2021. – URL : <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.translate.goog/30521213> – Текст : электронный (дата обращения : 29.08.2021).

160. Mechanisms of field cancerization in the human stomach: the expansion and spread of mutated gastric stem cells / S. A. McDonald, L. C. Greaves, L. Gutierrez-Gonzalez [et al.] // Gastroenterology. – 2008. – Vol. 134. – P. 500–510. DOI: 10.1053/j.gastro.2007.11.035.

161. Merchant, J. L. Hedgehog Signaling Links Chronic Inflammation to Gastric Cancer Precursor Lesions / J. L. Merchant, L. Ding // Cell Mol Gastroenterol Hepatol. – 2017. – Vol. 3 (2). – P. 201–210. DOI: 10.1016/j.jcmgh.2017.01.004.

162. MicroRNA expression patterns to differentiate pancreatic adenocarcinoma from normal pancreas and chronic pancreatitis / M. Bloomston, W. L. Frankel, F. Petrocca [et al.] // JAMA. – 2007. – Vol. 297 (17). – P. 1901–8.

163. MicroRNA expression profiles in gastric carcinogenesis / J. Hwang, B. H. Min, J. Jang [et al.] // *Scientific Reports*. – 2018. – Vol. 8. – P. 14393. DOI:10.1038/s41598-018-32782-8.

164. MicroRNA Expression Ratio Is Predictive of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma / M. Avissar, B. C. Christensen, K. T. Kelsey, C. J. Marsit // *Clinical Cancer Research*. – 2009. – Vol. 15 (8). – P. 2850–5.

165. MicroRNA profiling of human gastric cancer / Y. Yao, A. L. Suo, Z. F. Li [et al.] // *Mol Med Rep*. – 2009. – Vol. 2 (6). – P. 963–70. DOI: 10.3892/mmr_00000199.

166. MicroRNA-106a Targets TIMP2 to Regulate Invasion and Metastasis of Gastric Cancer / M. Zhu, N. Zhang, S. He [et al.] // *FEBS Lett*. – 2014. – Vol. 588 (4). – P. 600–7. DOI: 10.1016/j.febslet.2013.12.028.

167. MicroRNA-106b in cancer-associated fibroblasts from gastric cancer promotes cell migration and invasion by targeting PTEN / T. S. Yang, X. H. Yang, X. Chen [et al.] // *FEBS Lett*. – 2014. – Vol. 588 (13). – P. 2162–9. DOI: 10.1016/j.febslet.2014.04.050.

168. MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer / F. Meng, R. Henson, H. Wehbe-Janek [et al.] // *Gastroenterology*. – 2007. – Vol. 133. – P. 647–58.

169. MicroRNA-34a regulates proliferation and apoptosis of gastric cancer cells by targeting silent information regulator 1 / X. Deng, H. Zheng, D. Li [et al.] // *Exp Ther Med*. – 2018. – Vol. 15 (4). – P. 3705–3714. DOI: 10.3892/etm.2018.5920.

170. MicroRNA-375 inhibits colorectal cancer cells proliferation by downregulating JAK2/STAT3 and MAP3K8/ERK signaling pathways / R. Wei, Q. Yang, B. Han [et al.] // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 8 (10). – P. 16633–41.

171. MicroRNA-375 is downregulated in gastric carcinomas and regulates cell survival by targeting PDK1 and 14-3-3zeta / Y. Tsukamoto, C. Nakada, T. Noguchi [et al.] // *Cancer Research*. – 2010. – Vol. 70 (6). – P. 2339–49.

172. MicroRNAs and the PTEN/PI3K/Akt pathway in gastric cancer (Review) / M. Hu, S. Zhu, S. Xiong [et al.] // *Oncol Rep*. – 2019. – Vol. 41 (3). – P. 439–1454.

DOI: 10.3892/or.2019.6962.

173. MicroRNAs expression profiles as diagnostic biomarkers of gastric cancer: a systematic literature review / J. Stojanovic, A. Tognetto, D. F. Tiziano [et al.] // Biomarkers. – 2019. – Vol. 24 (2). – P. 110–119. DOI: 10.1080/1354750X.2018.1539765.

174. Minimal versus Definitive Surgery in Managing Peptic Ulcer Bleeding: A Population-Based Cohort Study / E. Sverdén, A. Sondén, T. Leinsköld [et al.] // Dig. Surg. – 2014. – Vol. 31. – P. 276–282. DOI: 10.1159/000365336.

175. miR-21 microRNA expression in human gastric carcinomas and its clinical association / S. H. Chan, C. W. Wu, A. F. Li [et al.] // Anticancer Res. – 2008. – Vol. 28. – P. 907–11.

176. miR-21 plays a pivotal role in gastric cancer pathogenesis and progression / Z. Zhang, Z. Li, C. Gao [et al.] // Lab. Invest. – 2008. – Vol. 88 (12). – P. 1358–66.

177. MiR-375 frequently downregulated in gastric cancer inhibits cell proliferation by targeting JAK2 / L. Ding, Y. Xu, W. Zhang [et al.] // Cell research. – 2010. – Vol. 20 (7). – P. 784–93.

178. miR-375 targets 3'-phosphoinositide-dependent protein kinase-1 and regulates glucose-induced biological responses in pancreatic beta-cells / A. El Ouaamari, N. Baroukh, G. A. Martens [et al.] // Diabetes. – 2008. – Vol. 57 (10). – P. 2708–17. DOI: 10.2337/db07-1614.

179. miRNA profiling, detection of BRAF V600E mutation and RET-PTC1 translocation in patients from Novosibirsk oblast (Russia) with different types of thyroid tumors / S. E. Titov, M. K. Ivanov, E. V. Karpinskaya [et al.] // BMC Cancer. – 2016. – Vol. 16. – P. 201.

180. miRNAs as biomarkers for early cancer detection and their application in the development of new diagnostic tools / L. J. Galvão-Lima, A. H. F. Morais, R. A. M. Valentim, E. J. S. S. Barreto // Biomed Eng Online. – 2021. – Vol. 20. – P. 21. DOI: 10.1186/s12938-021-00857-9.

181. Mist1 Expressing Gastric Stem Cells Maintain the Normal and Neoplastic Gastric Epithelium and Are Supported by a Perivascular Stem Cell Niche /

Y. Hayakawa, H. Ariyama, J. Stancikova [et al.] // *Cancer Cell*. – 2015. – Vol. 28 (6). – P. 800–814. DOI: 10.1016/j.ccell.2015.10.003.

182. Murata-Kamiya, N. Pathophysiological functions of the CagA oncoprotein during infection by *Helicobacter pylori* / N. Murata-Kamiya // *Microbes Infect.* – 2011. – Vol. 13 (10). – P. 799–807. DOI: 10.1016/j.micinf.2011.03.011.

183. Nagayo, T. Dysplasia of the gastric mucosa and its relation to the precancerous state / T. Nagayo // *Gann*. – 1981. – Vol. 72. – P. 813–823. PMID:7341333.

184. Narayanan, M. Peptic Ulcer Disease and *Helicobacter pylori* infection / M. Narayanan, K. M. Reddy, E. Marsicano // *Mo Med*. – 2018. – Vol. 115 (3). – P. 219–224.

185. Nilges, P. Depression, anxiety and stress scales: DASS--A screening procedure not only for pain patients / P. Nilges, C. Essau // *Schmerz*. – 2015. – Vol. 29 (6). – P. 649–57. DOI: 10.1007/s00482-015-0019-z.

186. Operative link for gastritis assessment vs operative link on intestinal metaplasia assessment / M. Rugge, M. Fassan, M. Pizzi [et al.] // *World J Gastroenterol*. – 2011. – Vol. 17. – P. 4596–4601. DOI: 10.3748/wjg.v17.i41.4596.

187. Optimal interval of endoscopic screening based on stage distributions of detected gastric cancers / C. Hamashima, R. Narisawa, K. Ogoshi [et al.] // *BMC Cancer*. – 2017. – Vol. 17 (1). – P. 740. DOI: 10.1186/s12885-017-3710-x.

188. Optimal number of endoscopic biopsies in diagnosis of advanced gastric and colorectal cancer / Y. Choi, H. S. Choi, W. K. Jeon [et al.] // *J Korean MedSci*. – 2012. – Vol. 27. – P. 36–39.

189. Overview of MicroRNA Biogenesis, Mechanisms of Actions, and Circulation / J. O'Brien, H. Hayder, Y. Zayed, C. Peng // *Front Endocrinol (Lausanne)*. – 2018. – Vol. 3 (9). – P. 402. DOI: 10.3389/fendo.2018.00402.

190. Paracrine Hedgehog signaling in stomach and intestine: new roles for hedgehog in gastrointestinal patterning. / A. Kolterud, A. S. Grosse, W. J. Zacharias [et al.] // *Gastroenterology*. – 2009. – Vol. 137 (2). – P. 618–28. DOI: 10.1053/j.gastro.2009.05.002.

191. Peptic ulcers after the Hanshin-Awaji earthquake: increased incidence of bleeding gastric ulcers / N. Aoyama, Y. Kinoshita, S. Fujimoto [et al.] // *Am J Gastroenterol.* – 1998. – Vol. 93 (3). – P. 311–6. DOI: 10.1111/j.1572-0241.1998.00311.x.
192. Perforated and bleeding peptic ulcer: WSES guidelines / A. Tarasconi, F. Coccolini, W. L. Biffl [et al.] // *World J Emerg Surg.* – 2020. – Vol. 15. – P. 3. DOI: 10.1186/s13017-019-0283-9.
193. Petrik, P. Characteristics and outcomes of gastroduodenal ulcer bleeding: a single-centre experience in Lithuania / P. Petrik, S. Brašiškienė, E. Petrik // *Prz Gastroenterol.* – 2017. – Vol. 12 (4). – P. 277–285. DOI: 10.5114/pg.2017.72103.
194. Pogribny, I. P. MicroRNAs as biomarkers for clinical studies / I. P. Pogribny // *Exp Biol Med (Maywood).* – 2018. – Vol. 243 (3). – P. 283–290. DOI: 10.1177/1535370217731291.
195. Polymorphisms of the IL-6, IL-8 and IL-10 genes and the risk of gastric pathology in patients infected with *Helicobacter pylori* / I. B. Ramis, J. S. Vianna, C. V. Gonçalves [et al.] // *J Microbiol Immunol Infect.* – 2017. – Vol. 50 (2). – P. 153–159. DOI: 10.1016/j.jmii.2015.03.002.
196. Posselt, G. Proteolysis in *Helicobacter pylori*-induced gastric cancer / G. Posselt, J. E. Crabtree, S. Wessler // *Toxins (Basel).* – 2017. – Vol. 9 (4). – P. 134. DOI: 10.3390/toxins9040134.
197. Possible indication of endoscopic resection in undifferentiated early gastric cancer / D. G. Ryu, C. W. Choi, S. J. Kim [et al.] // *Scientific Reports.* – 2019. – Vol. 9. – P. 16869 DOI: 10.1038/s41598-019-53374-0.
198. Potential role of microRNA-21 in the diagnosis of gastric cancer: a meta-analysis / Z. Zeng, J. Wang, L. Zhao [et al.] // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8 (9). – P. 73278. DOI: 10.1371/journal.pone.0073278.
199. Predicting risk factors for rebleeding, infections, mortality following peptic ulcer bleeding in patients with cirrhosis and the impact of antibiotics prophylaxis at different clinical stages of the disease / M. T. Kuo, S. C. Yang, L. S. Lu [et al.] // *MC Gastroenterol.* – 2015. – Vol. 15. – P. 61. DOI: 10.1186/s12876-015-0289-z.

200. Ramakrishnan, K. Peptic ulcer disease / K. Ramakrishnan, R. C. Salinas // *Am Fam Physician*. – 2007. – Vol. 76 (7). –P. 1005–12.
201. Real-time quantification of microRNAs by stem-loop RT-PCR / C. Chen, D. A. Ridzon, A. J. Broomer [et al.] // *Nucleic Acids Research*. – 2005. – Vol. 33. – P. 179.
202. Reciprocal association between depression and peptic ulcers: Two longitudinal follow-up studies using a national sample cohort / S. Y. Kim, C. Min, D. J. Oh, H. G. Choi // *Sci Rep*. – 2020. – Vol. 10 (1). – P. 1749. DOI: 10.1038/s41598-020-58783-0.
203. Relation between bile acid reflux into the stomach and the risk of atrophic gastritis and intestinal metaplasia: a multicenter study of 2283 cases / T. Matsuhisa, T. Arakawa, T. Watanabe [et al.] // *DigEndosc*. – 2013. – Vol. 25. – P. 519–525. DOI: 10.1111/den.12030.
204. Restoration of tumor suppressor miR-34 inhibits human p53-mutant gastric cancer tumorspheres / Q. Ji, X. Hao, Y. Meng [et al.] // *BMC Cancer*. – 2008. – Vol. 8. – P. 266.
205. Risk Factors and Incidence of Gastric Cancer After Detection of *Helicobacter pylori* Infection: A Large Cohort Study / S. Kumar, D. C. Metz, S. Ellenberg [et al.] // *Gastroenterology*. – 2020. – Vol. 158 (3). – P. 527–536. DOI: 10.1053/j.gastro.2019.10.019.
206. Risk Factors for Gastric Cancer: A Systematic Review / A. R. Yusefi, K. B. Lankarani, P. Bastani [et al.] // *Asian Pac J Cancer Prev*. – 2018. – Vol. 19 (3). – P. 591–603. DOI: 10.22034/APJCP.2018.19.3.591.
207. Risk factors for gastric cancers in the United States: Variation by anatomic site and race/ethnicity / H. In, P. Friedmann, S. Sarkar [et al.] // *Journal of Clinical Oncology* . – 2021. – Vol. 39. – P. 3.
208. Risk factors for upper gastrointestinal bleeding among aspirin users: An old issue with new findings from a population-based cohort study / P. J. Luo, X. H. Lin, C. C. Lin [et al.] // *J Formos Med Assoc*. – 2019. – Vol. 118 (5). – P. 939–944. DOI: 10.1016/j.jfma.2018.10.007.

209. Risk factors, diagnosis, and management of peptic ulcer disease. / M. Mustafa, J. Menon, R. Muiandy [et al.] // *J Dent Med Sci.* – 2015. – Vol. 14 (7). – P. 40–46. DOI:10.9790/0853-147840462.

210. Risks and Predictors of Gastric Adenocarcinoma in Patients with Gastric Intestinal Metaplasia and Dysplasia: A Population-Based Study / D. Li, M. C. Bautista, S. F. Jiang [et al.] // *Am J Gastroenterol.* – 2016. – Vol. 111. – P. 1104–1113. DOI: 10.1038/ajg.2016.188.

211. Roganovic, B. The usefulness of endoscopic ultrasonography in differentiation between benign and malignant gastric ulcer / B. Roganovic, N. Perisic, A. Roganovic // *Vojnosanit Pregl.* – 2016. – Vol. 73 (7). – P. 657–662. DOI: 10.2298/VSP150518046R.

212. Role of Gastroscopic Biopsy of Gastric Ulcer Margins and Healed Sites in the Diagnosis of Early Gastric Cancer: A Clinical Controlled Study of 513 Cases / J. J. Wan, S. J. Fei, S. X. Lv [et al.] // *Oncol Lett.* – 2018. – Vol. 16 (4). – P. 4211–4218. DOI: 10.3892/ol.2018.9156.

213. Ruder, B. Atreya R, Becker C. Tumour Necrosis Factor Alpha in Intestinal Homeostasis and Gut Related Diseases / B. Ruder, R. Atreya, C. Becker // *Int J Mol Sci.* – 2019. – Vol. 20 (8). – P. 1887. DOI: 10.3390/ijms20081887.

214. Salt Intake and Gastric Cancer Risk According to Helicobacter Pylori Infection, Smoking, Tumour Site and Histological Type / B. Peleteiro, C. Lopes, C. Figueiredo, N. Lunet // *Br J Cancer.* – 2011. – Vol. 104 (1). – P. 198–207. DOI: 10.1038/sj.bjc.6605993.

215. Serum microRNA expression profile as a diagnostic panel for gastric cancer / S. Huang, J. Wang, J. Li [et al.] // *Jpn J Clin Oncol.* – 2016. – Vol. 46 (9). – P. 811–8. DOI: 10.1093/jjco/hyw085.

216. Serum pepsinogen and gastrin-17 as potential biomarkers for pre-malignant lesions in the gastric corpus / T. H. Loong, N. C. Soon, N. R. Kosai [et al.] // *Biomed Rep.* – 2017. – Vol. 7 (5). – P. 460–468. DOI: 10.3892/br.2017.985.

217. Sonic hedgehog regulates gastric gland morphogenesis in man and mouse /

C. R. van den Brink, J. C. Hardwick, G. N. Tytgat [et al.] // *Gastroenterology*. – 2001. – Vol. 121 (2). – P. 317–28. DOI: 10.1053/gast.2001.26261.

218. Sonnenberg, A. Dietary salt and gastric ulcer / A. Sonnenberg // *Gut*. – 1986. – Vol. 27. – P. 1138–42.

219. Sumiyama, K. Past and current trends in endoscopic diagnosis for early stage gastric cancer in Japan / K. Sumiyama // *GastricCancer*. – 2017. – Vol. 20 (1). – P. 20–27. DOI: 10.1007/s10120-016-0659-4.

220. Surveillance of premalignant gastric lesions: a multicentre prospective cohort study from low incidence regions / W. J. den Hollander, I. L. Holster, C. M. den Hoed [et al.] // *Gut*. – 2019. – Vol. 68. – P. 585–593. DOI: 10.1136/gutjnl-2017-314498.

221. Systematic review and meta-analysis on the association between IL-1B polymorphisms and cancer risk / J. Xu, Z. Yin, S. Cao [et al.] // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8 (5). – P. 63654. DOI: 10.1371/journal.pone.0063654.

222. Systematic Review of the Epidemiology of Complicated Peptic Ulcer Disease: Incidence, Recurrence, Risk Factors and Mortality / J. Y. Lau, J. Sung, C. Hill [et al.] // *Digestion*. – 2011. – Vol. 84 (2). – P. 102–113. DOI: 10.1159/000323958.

223. The 2019 WHO classification of tumours of the digestive system / I. D. Nagtegaal, R. D. Odze, D. Klimstra [et al.] // *Histopathology*. – 2020. – Vol. 76 (2). – P. 182–188. DOI: 10.1111/his.13975.

224. The accuracy of magnifying narrow band imaging (ME-NBI) in distinguishing between cancerous and noncancerous gastric lesions: a meta-analysis / F. Zhou, L. Wu, M. Huang [et al.] // *Medicine (Baltimore)*. – 2018. – Vol. 97 (9). – P. 9780. DOI: 10.1097/MD.00000000000009780.

225. The association between peptic ulcer diseases and mental health problems: A population-based study: a STROBE compliant article / Y. B. Lee, J. Yu, H. H. Choi [et al.] // *Medicine (Baltimore)*. – 2017. – Vol. 96 (34). – P. e7828. DOI: 10.1097/MD.00000000000007828.

226. The Case for a Pre-Cancer Genome Atlas (PCGA) / J. D. Campbell, S. A. Mazzilli, M. E. Reid [et al.] // *Cancer Prev Res (Phila)*. – 2016. – Vol. 9. – P. 119–

124. DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-16-0024.

227. The clonal origins of dysplasia from intestinal metaplasia in the human stomach / L. Gutierrez-Gonzalez, T. A. Graham, M. Rodriguez-Justo [et al.] // *Gastroenterology*. – 2011. – Vol. 140. – P. 1251–1260. DOI: 10.1053/j.gastro.2010.12.051.

228. The evolving role of endoscopy in the diagnosis of premalignant gastric lesions / W. Waddingham, D. Graham, M. Banks, M. Janse // *F1000Res*. – 2018. – Vol. 8. – P. 7. DOI: 10.12688/f1000research.12087.1.

229. The functional mechanism of miR-125b in gastric cancer and its effect on the chemosensitivity of cisplatin / X. Zhang, J. Yao, K. Guo [et al.] // *Oncotarget*. – 2018. – Vol. 9 (2). – P. 2105–2119. DOI: 10.18632/oncotarget.23249.

230. The implications of Endoscopic ulcer in early gastric cancer: can we predict clinical behaviors from endoscopy? / Y. L. Lee, J. H. Kim, J. J. Park [et al.] // *PLoS One*. – 2016. – Vol. 11 (10). – P. 0164339. DOI: 10.1371/journal.pone.0164339.

231. The long-term impact of *Helicobacter pylori* eradication on gastric histology: a systematic review and meta-analysis / T. Rokkas, D. Pistiolas, P. Sechopoulos [et al.] // *Helicobacter*. – 2007. – Vol. 12 (2). – P. 32–38 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2007.00563.x.

232. The miRNA, miR-125b, Inhibited Invasion and Metastasis of Gastric-Cancer Cells by Triggering the STAT3 Signaling Pathway / X. Xu, Z. Dang, J. Zhang [et al.] // *Cancer Manag Res*. – 2020. – Vol. 17 (12). – P. 8569–8580. DOI: 10.2147/CMAR.S259513.

233. The potential value of serum pepsinogen for the diagnosis of atrophic gastritis among the health check-up populations in China: a diagnostic clinical research / Y. Tong, Y. Wu, Z. Song [et al.] // *BMC Gastroenterology*. – 2017. – Vol. 17 (1). – P. 6–7. DOI: 10.1186/s12876-017-0641-67.

234. The relationship between tumor necrosis factor- α polymorphisms and gastric cancer risk: An updated meta-analysis / W. Zheng, S. Zhang, S. Zhang [et al.] // *Biomed Rep*. – 2017. – Vol. 7 (2). – P. 133–142. DOI: 10.3892/br.2017.934.

235. The risk of gastric cancer in patients with gastric intestinal metaplasia in 5-year follow-up / R. Pittayanon, R. Rerknimitr, N. Klaikaew [et al.] // *Aliment Pharmacol Ther.* – 2017. – Vol. 46 (1). – P. 40–45. DOI: 10.1111/apt.14082.

236. The role of hedgehog signaling in gastric cancer: molecular mechanisms, clinical potential, and perspective / Y. Xu, S. Song, Z. Wang, J. A. Ajani // *Cell Commun Signal.* – 2019. – Vol. 17 (1). – P. 157. DOI: 10.1186/s12964-019-0479-3.

237. The serum pepsinogen levels for risk assessment of gastric neoplasms: New proposal from a case-control study in Korea / J. H. Cho, S. R. Jeon, H. G. Kim [et al.] // *Medicine (Baltimore).* – 2017. – Vol. 96 (29). – P. 7603. DOI: 10.1097/MD.00000000000007603.

238. The treatment of advanced gastric cancer: current strategies and future perspectives / A. Cervantes, S. Roselló, D. Roda, E. Rodríguez-Braun // *Ann. Oncol.* – 2008. – Vol. 19 (1). – P. 103–107.

239. Tie, J. Epigenetic roles in the malignant transformation of gastric mucosal cells / J. Tie, X. Zhang, D. Fan // *Cell Mol Life Sci.* – 2016. – Vol. 73 (24). – P. 4599–4610. DOI: 10.1007/s00018-016-2308-9.

240. Time trends in upper gastrointestinal diseases and *Helicobacter pylori* infection in a multiracial Asian population--a 20-year experience over three time periods / A. H. R. Leow, Y. Y. Lim, W. C. Liew, K. L. Goh // *Aliment Pharmacol Ther.* – 2016. – Vol. 43 (7). – P. 831–7. DOI: 10.1111/apt.13550.

241. Tran, T. D. Validation of the depression anxiety stress scales (DASS) 21 as a screening instrument for depression and anxiety in a rural community-based cohort of northern Vietnamese women / T. D. Tran, T. Tran, J. Fisher // *BMC Psychiatry.* – 2013. – Vol. 12 (13). – P. 24. DOI: 10.1186/1471-244X-13-24.

242. 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 / W. G. Kwack, W. J. Ho, J. H. Kim [et al.] // *Medicine (Baltimore).* – 2016. – Vol. 95 (30). – P. 4196. DOI: 10.1097/MD.00000000000004196.

243. Usefulness and problems of endoscopic ultrasonography in prediction of the depth of tumor invasion in early gastric cancer / T. Tsuzuki, H. Okada, Y. Kawahara

[et al.] // *Acta Med Okayama*. – 2011. – Vol. 65 (2). – P. 105–12. DOI: 10.18926/AMO/45269.

244. Utility of subtyping intestinal metaplasia as marker of gastric cancer risk. A review of the evidence / C. A. González, J. M. Sanz-Anquela, J. P. Gisbert, P. Correa // *Int J Cancer*. – 2013. – Vol. 133 (5). – P. 1023–32. DOI: 10.1002/ijc.28003.

245. Virulence of infecting *Helicobacter pylori* strains and intensity of mononuclear cell infiltration are associated with levels of DNA hypermethylation in gastric mucosae / B. G. Schneider, M. B. Piazuolo, L. A. Sicinski // *Epigenetics*. – 2013. – Vol. 8 (11). – P. 1153–61. DOI: 10.4161/epi.26072.

246. Wang, Y. The Emerging Roles of miR-125b in Cancers / Y. Wang, G. Zeng, Y. Jiang // *Cancer Manag Res*. – 2020. – Vol. 12. – P. 1079–1088. DOI: 10.2147/CMAR.S232388.

247. White opaque substance within superficial elevated gastric neoplasia as visualized by magnification endoscopy with narrow-band imaging: a new optical sign for differentiating between adenoma and carcinoma / K. Yao, A. Iwashita, H. Tanabe [et al.] // *Gastrointest Endosc*. – 2008. – Vol. 68 (3). – P. 574–80. DOI: 10.1016/j.gie.2008.04.011.

248. Whole genome MBD-seq and RRBS analyses reveal that hypermethylation of gastrointestinal hormone receptors is associated with gastric carcinogenesis / H. J. Kim, T. W. Kang, K. Haam [et al.] // *Exp Mol Med*. – 2018. – Vol. 50. – P. 156. DOI: 10.1038/s12276-018-0179-x.

249. Wroblewski, L. E. *Helicobacter pylori* and gastric cancer: factors that modulate disease risk / L. E. Wroblewski, R. M. Peek Jr, K. T. Wilson // *Clin Microbiol Rev*. – 2010. – Vol. 23 (4). – P. 713–39. DOI: 10.1128/CMR.00011-10.

250. Yada, T. The current state of diagnosis and treatment for early gastric cancer / T. Yada, C. Yokoi, N. Uemura // *Diagn Ther Endosc*. – 2013. – Vol. 2013. – P. 241320. DOI: 10.1155/2013/241320.

251. Yim, M. H. The number of household members as a risk factor for peptic ulcer disease / M. H. Yim, K. H. Kim, B. J. Lee // *Scientific Reports*. – 2021. – Vol. 11. – p. 5274. DOI:10.1038/s41598-021-84892-5.

252. You, H. CKS2 in human cancers: Clinical roles and current perspectives (Review) / H. You, H. Lin, Z. Zhang // *Mol Clin Oncol.* – 2015. – Vol. 3 (3). – P. 459–463. DOI: 10.3892/mco.2015.501.

253. Yue, H. The significance of OLGA and OLGIM staging systems in the risk assessment of gastric cancer: a systematic review and meta-analysis / H. Yue, L. Shan, L. Bin // *GastricCancer.* – 2018. – Vol. 21. – P. 579–587. DOI: 10.1007/s10120-018-0812-3.

254. Zabaleta, J. MicroRNA: A Bridge from H. Pylori infection to gastritis and gastric cancer development / J. Zabaleta // *Front Genet.* – 2012. – Vol. 3. – P. 294. DOI: 10.3389/fgene.2012.00294.

255. Zali, H. Gastric Cancer: Prevention, Risk Factors and Treatment / H. Zali, M. Rezaei-Tavirani, M. Azodi // *Gastroenterol Hepatol Bed Bench.* – 2011. – Vol. 4 (4). – P. 175–185.

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

1. Рисунок 1 – Секционный материал. Фундальный отдел. Хронический атрофический гастрит. С. 78
2. Рисунок 2 – Секционный материал. Фундальный отдел. Хронический атрофический гастрит. После орошения раствором 0,5 % метиленового синего визуализируются эрозии. С. 79
3. Рисунок 3 – Относительный уровень экспрессии миРНК-145 в разных типах гистологических образцов С. 100
4. Рисунок 4 – Относительный уровень экспрессии миРНК-150 в разных типах гистологических образцов, диапазон без выбросов. . . С. 102
5. Рисунок 5 – Относительный уровень экспрессии миРНК-20а в разных типах гистологических образцов, диапазон без выбросов. . . С. 102
6. Рисунок 6 – Относительный уровень экспрессии миРНК-21 в разных типах гистологических образцов, диапазон без выбросов. . . С. 104
7. Рисунок 7 – Относительный уровень экспрессии миРНК-31 в разных типах гистологических образцов, диапазон без выбросов. . . С. 104
8. Рисунок 8 – Относительный уровень экспрессии миРНК-34а в разных типах гистологических образцов, диапазон без выбросов. . . С. 106
9. Рисунок 9 – Относительный уровень экспрессии миРНК-106b в разных типах гистологических образцов, диапазон без выбросов. С. 106
10. Рисунок 10 – Относительный уровень экспрессии миРНК-375 в разных типах гистологических образцов, диапазон без выбросов. С. 108
11. Рисунок 11 – Относительный уровень экспрессии миРНК-125а в разных типах гистологических образцов, диапазон без выбросов. С. 108
12. Рисунок – 12 Относительный уровень экспрессии миРНК-125b в разных типах гистологических образцов, диапазон без выбросов. С. 110
13. Рисунок 13 – Относительный уровень экспрессии миРНК-196b в разных типах гистологических образцов, диапазон без выбросов. С. 110

- в разных типах цитологических образцов, диапазон без выбросов. . С. 131
29. Рисунок 29 – Относительный уровень экспрессии мРНК гена FN1 в разных типах цитологических образцов, диапазон без выбросов. . . С. 131
30. Рисунок 30 – Относительный уровень экспрессии мРНК гена CDKN2A в разных типах цитологических образцов, диапазон без выбросов. С. 133
31. Рисунок 31 – Дерево решений для стратификации цитологических образцов при использовании алгоритма C-RT на норму/дисплазию/РЖ на основании данных об экспрессии мРНК, миРНК. С. 145
32. Рисунок 32 – Алгоритм выявления больных с диспластическими изменениями слизистой оболочки желудка и риском прогрессии заболевания. С. 151
33. Рисунок 33 – Диаграмма сопоставления относительного уровня экспрессии миРНК-145 в разных типах образцов (цитологический и гистологический материал), диапазон без выбросов. С. 162
34. Рисунок 34 – Диаграмма сопоставления относительного уровня экспрессии миРНК-150 в разных типах образцов (цитологический и гистологический материал), диапазон без выбросов. С. 162
35. Рисунок 35 – Диаграмма сопоставления относительного уровня экспрессии миРНК-20a в разных типах образцов (цитологический и гистологический материал), диапазон без выбросов. С. 163
36. Рисунок 36 – Диаграмма сопоставления относительного уровня экспрессии миРНК-21 в разных типах образцов (цитологический и гистологический материал), диапазон без выбросов. С. 163
37. Рисунок 37 – Диаграмма сопоставления относительного уровня экспрессии миРНК-31 в разных типах образцов (цитологический и гистологический материал), диапазон без выбросов. С. 164

38. Рисунок 38 – Диаграмма сопоставления относительного уровня экспрессии миРНК-34а в разных типах образцов (цитологический и гистологический материал), диапазон без выбросов. С. 164
39. Рисунок 39 – Диаграмма сопоставления относительного уровня экспрессии миРНК-375 в разных типах образцов (цитологический и гистологический материал), диапазон без выбросов. С. 165
40. Рисунок 40 – Диаграмма сопоставления относительного уровня экспрессии миРНК-106b в разных типах образцов (цитологический и гистологический материал), диапазон без выбросов. С. 165
41. Рисунок 41 – Диаграмма сопоставления относительного уровня экспрессии миРНК-125b в разных типах образцов (цитологический и гистологический материал), диапазон без выбросов. С. 166
42. Рисунок 42 – Диаграмма сопоставления относительного уровня экспрессии миРНК-196b в разных типах образцов (цитологический и гистологический материал), диапазон без выбросов. С. 166
43. Таблица 1 – Распределение по полу и возрасту в группе I. С. 64
44. Таблица 2 – Распределение пациентов группы I в зависимости от локализации язвы и сочетания с эрозивной гастропатией. С. 65
45. Таблица 3 – Распределение по полу и возрасту в группе II. С. 65
46. Таблица 4 – Распределение пациентов группы II в зависимости от локализации язвы и сочетания с эрозивной гастропатией. С. 66
47. Таблица 5 – Распределение по полу и возрасту в группе III. С. 66
48. Таблица 6 – Распределение по макроскопическому типу рака желудка. С. 67
49. Таблица 7 – Причины госпитализации пациентов основной группы. С. 81
50. Таблица 8 – Факторы риска развития кровотечения в основной группе. С. 82
51. Таблица 9 – Результаты сбора анамнеза в основной группе. С. 82
52. Таблица 10 – Распределение больных (женщины) в соответствии с

	рационом.	С. 83
53.	Таблица 11 – Распределение больных (мужчины) в соответствии с рационом.	С. 83
54.	Таблица 12 – Распределение пациентов группы I по результатам эзофагогастроскопии.	С. 84
55.	Таблица 13 – Распределение пациентов по результатам цитологического исследования.	С. 85
56.	Таблица 14 – Распределение пациентов по результатам морфологического исследования.	С. 86
57.	Таблица 15 – Распределение больных, принимающих НПВС и отрицающих прием НПВС.	С. 86
58.	Таблица 16 – Частота генотипов и аллелей G-308A гена TNF- α у пациентов группы I.	С. 88
59.	Таблица 17 – Факторы риска развития кровотечения в группе II. ...	С. 89
60.	Таблица 18 – Результаты сбора анамнеза в группе сравнения.	С. 89
61.	Таблица 19 – распределение больных (женщины) в соответствии с рационом.	С. 90
62.	Таблица 20 – Распределение больных (мужчины) в соответствии с рационом.	С. 90
63.	Таблица 21 – Распределение пациентов группы II по результатам цитологического исследования.	С. 91
64.	Таблица 22 – Частота генотипов и аллелей G-308A гена TNF- α у пациентов группы II.	С. 92
65.	Таблица 23 – Причины госпитализации пациентов основной группы.	С. 93
66.	Таблица 24 – Факторы риска развития кровотечения в группе рака желудка.	С. 94
67.	Таблица 25 – Результаты сбора анамнеза больных раком желудка. .	С. 94
68.	Таблица 26 – Распределение больных (женщины) в соответствии с рационом.	С. 95

69. Таблица 27 – Распределение больных (мужчины) в соответствии с рационом. С. 95
70. Таблица 28 – Распределение пациентов группы III по результатам цитологического исследования. С. 96
71. Таблица 29 – Частота генотипов и аллелей G-308A гена TNF- α группы III и пациентов группы II. С. 97
72. Таблица 30 – Уровень значимости при попарном сравнении экспрессии миРНК в разных типах гистологических образцов. . . . С. 99
73. Таблица 31 – Относительный уровень экспрессии миРНК-145 в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов. С. 101
74. Таблица 32 – Относительный уровень экспрессии миРНК-150 в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов. С. 101
75. Таблица 33 – Относительный уровень экспрессии миРНК-20a в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов. С. 103
76. Таблица 34 – Относительный уровень экспрессии миРНК-21 в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов. С. 103
77. Таблица 35 – Относительный уровень экспрессии миРНК-31 в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов. С. 105
78. Таблица 36 – Относительный уровень экспрессии миРНК-34a в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов. С. 105
79. Таблица 37 – Относительный уровень экспрессии миРНК-106b в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов. С. 107
80. Таблица 38 – Относительный уровень экспрессии миРНК-375 в С. 107

- разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов.
81. Таблица 39 – Относительный уровень экспрессии миРНК-125а в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов. С. 109
82. Таблица 40 – Относительный уровень экспрессии миРНК-125b в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов. С. 109
83. Таблица 41 – Относительный уровень экспрессии миРНК-196b в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов. С. 111
84. Таблица 42 – Относительный уровень экспрессии миРНК-221 в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов. С. 111
85. Таблица 43 – Относительный уровень экспрессии миРНК-141 в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов. С. 113
86. Таблица 44 – Относительный уровень экспрессии миРНК-451 в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов. С. 113
87. Таблица 45 – Диагностические характеристики выявления РЖ и дисплазии на основании данных об экспрессии миРНК. С. 115
88. Таблица 46 – Диагностические характеристики выявления РЖ и дисплазии с помощью дерева принятия решений № 2. С. 117
89. Таблица 47 – Уровень значимости при попарном сравнении экспрессии миРНК и мРНК в разных типах цитологических образцов. С. 118
90. Таблица 48 – Относительный уровень экспрессии миРНК-125b в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов. С. 120

91. Таблица 49 – Относительный уровень экспрессии миРНК-145 в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов. С. 120
92. Таблица 50 – Относительный уровень экспрессии миРНК-196b в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов. С. 122
93. Таблица 51 – Относительный уровень экспрессии миРНК-20a в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов. С. 122
94. Таблица 52 – Относительный уровень экспрессии миРНК-150 в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов. С. 124
95. Таблица 53 – Относительный уровень экспрессии миРНК-21 в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов. С. 124
96. Таблица 54 – Относительный уровень экспрессии миРНК-375 в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов. С. 126
97. Таблица 55 – Относительный уровень экспрессии миРНК-106b в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов. С. 126
98. Таблица 56 – Относительный уровень экспрессии миРНК-31 в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов. С. 128
99. Таблица 57 – Относительный уровень экспрессии миРНК-34a в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов. С. 128
100. Таблица 58 – Относительный уровень экспрессии мРНК гена TERT в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов. С. 130

101. Таблица 59 – Относительный уровень экспрессии мРНК гена SKS2 в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов. С. 130
102. Таблица 60 – Относительный уровень экспрессии имРНК гена FN1 в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов. С. 132
103. Таблица 61 – Относительный уровень экспрессии имРНК гена CDKN2A в разных типах образцов. Представлены: медиана, верхний и нижний квартили, диапазон без выбросов. С. 132
104. Таблица 62 – Диагностические характеристики выявления РЖ и дисплазии с помощью дерева принятия решения № 1 – цитологические образцы. С. 134
105. Таблица 63 – Результаты выявления рака и дисплазии на основании данных об экспрессии миРНК и мРНК с помощью дерева принятия решений № 1 – цитологические образцы. С. 134
106. Таблица 64 – Диагностические характеристики выявления РЖ и дисплазии с помощью дерева принятия решения № 2 – цитологические образцы. С. 136
107. Таблица 65 – Результаты выявления рака и дисплазии на основании данных об экспрессии миРНК и мРНК с помощью дерева принятия решения № 2 – цитологические образцы. С. 136
108. Таблица 66 – Диагностические характеристики выявления РЖ и дисплазии с помощью дерева принятия решения № 3 – цитологические образцы. С. 137
109. Таблица 67 – Результаты выявления рака и дисплазии на основании данных об экспрессии миРНК и мРНК с помощью дерева принятия решений № 3 – цитологические образцы. С. 137
110. Таблица 68 – Диагностические характеристики выявления РЖ и дисплазии с помощью дерева принятия решений № 4 – цитологические образцы. С. 138

111. Таблица 69 – Результаты выявления рака и дисплазии на основании данных об экспрессии миРНК и мРНК с помощью дерева принятия решений № 4 – цитологические образцы. С. 139
112. Таблица 70 – Диагностические характеристики выявления РЖ и дисплазии с помощью дерева принятия решений № 5 – цитологические образцы. С. 140
113. Таблица 71 – Результаты выявления рака и дисплазии на основании данных об экспрессии миРНК и мРНК с помощью дерева принятия решений № 5 – цитологические образцы. С. 140
114. Таблица 72 – Диагностические характеристики выявления РЖ и дисплазии с помощью дерева принятия решений № 6 – цитологические образцы. С. 142
115. Таблица 73 – Результаты выявления рака и дисплазии на основании данных об экспрессии миРНК и мРНК с помощью дерева принятия решений № 6 – цитологические образцы. С. 142
116. Таблица 74 – Диагностические характеристики выявления РЖ и дисплазии с помощью дерева принятия решения № 3 – гистологические образцы. С. 143
117. Таблица 75 – Результаты выявления рака и дисплазии на основании данных об экспрессии миРНК с помощью дерева принятия решений № 3 – гистологические образцы. С. 144
118. Таблица 76 – Характеристика выявленных случаев злокачественных новообразований желудка. С. 147
119. Таблица 77 – Сопоставление уровней значимости различий между группами для цитологического и гистологического материала. С. 161
120. Таблица 78 – Диагностические характеристики выявления РЖ и дисплазии с помощью дерева принятия решений № 3 (гистологический материал) и дерева принятия решений № 6 (цитологический материал) С. 168