

УДК 616.33-006.04-076-078:577.21

DOI: 10.34215/1609-1175-2020-4-73-75

## Оценка молекулярных изменений в слизистой оболочке, приближенной к краю резекции, после оперативного лечения по поводу рака желудка

И.В. Решетов, И.И. Быков, М.С. Микерова, М.В. Немцова

*Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва, Россия*

**Цель:** выделение молекулярных изменений, характеризующих генетическую нестабильность слизистой оболочки желудка при раке желудка. **Материал и методы.** Обследованы 64 пациента с раком желудка (основная группа) и 50 пациентов с желчнокаменной болезнью, проходивших лечение в УКБ № 1 Сеченовского университета. Во всех случаях исследовались молекулярные онкомаркеры в слизистой оболочке желудка после операции и биопсии. **Результаты.** Для рака желудка оказались характерными высокая частота метилирования генов *RASSF1A* и *MLH1* и высокая экспрессия генов *hTERT*, *MMP7*, *BIRC5*, а также высокая активность теломеразы. Также отмечена высокая частота метилирования генов *TUSC3*, *CDH1* и *DAPK* в слизистой оболочке, приближенной к краю резекции. **Заключение.** Исследование частоты метилирования генов *TUSC3*, *CDH1*, *DAPK*, *RASSF1A* и *MLH1*, уровня экспрессии генов *hTERT*, *MMP7*, *BIRC5* и активности теломеразы можно использовать в качестве клинических маркеров изменений слизистой оболочки желудка после его резекции по поводу рака.

**Ключевые слова:** рак желудка, онкомаркеры

Поступила в редакцию 19.08.2020 г. Принята к печати 28.09.2020 г.

**Для цитирования:** Решетов И.В., Быков И.И., Микерова М.С., Немцова М.В. Оценка молекулярных изменений в слизистой оболочке, приближенной к краю резекции, после оперативного лечения по поводу рака желудка. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2020;4:73–5. doi: 10.34215/1609-1175-2020-4-73-75

**Для корреспонденции:** Быков Игорь Игоревич – канд. мед. наук, врач онкологического хирургического отделения комбинированных методов лечения Клиники онкологии, реконструктивно-пластической хирургии и радиологии Первого МГМУ (119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8/2), ORCID: 0000-0001-8391-8885; e-mail: igor-vr@mail.ru

## Evaluation of molecular changes in the mucous membrane close to the resection margin after surgical treatment for gastric cancer

I.V. Reshetov, I.I. Bykov, M.S. Mikerova, M.V. Nemtsova

*I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation*

**Objective:** Secretion of the changes characterizing genetic instability of the gastric mucosa when having esophagus cancer. **Methods:** 64 patients having esophagus cancer (main group) and 50 patients having gallstone disease were examined. They were undergoing treatment in the hospital No. 1 of the I.M. Sechenov First Moscow State Medical University. In all cases molecular tumor markers in the gastric mucosa after operation and biopsy were examined. **Results:** Esophagus cancer turned out to be characterized by high frequency of *RASSF1A* and *MLH1* genes methylation and high *hTERT*, *MMP7* and *BIRC5* genes expression, and also by high telomerase activity. There was also high frequency of *TUSC3*, *CDH1* and *DAPK* genes methylation inside gastric mucosa approached to the edge of resection. **Conclusions:** The study of the frequency of *TUSC3*, *CDH1*, *DAPK*, *RASSF1A* and *MLH1* genes methylation and telomerase activity can be used as clinical markers defining changes in gastric mucosa after its resection concerning cancer.

**Keywords:** gastric cancer, tumor markers

Received: 18 August 2020; Accepted: 28 September 2020

**For citation:** Reshetov IV, Bykov II, Mikerova MS, Nemtsova MV. Evaluation of molecular changes in the mucous membrane close to the resection margin after surgical treatment for gastric cancer. *Pacific Medical Journal*. 2020;4:73–5. doi: 10.34215/1609-1175-2020-4-73-75

**Corresponding author:** Igor I. Bykov, MD, PhD, Oncological Surgical Department of Combined Methods of Treatment of the Clinic for Oncology, Reconstructive Plastic Surgery and Radiology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (8/2 Trubetskaya St., Moscow, 119991, Russian Federation); ORCID: 0000-0001-8391-8885; e-mail: igor-vr@mail.ru

Злокачественные новообразования считаются одной из самых значимых медико-социальных проблем, занимая в структуре причин смерти приоритетные места, как в нашей стране, так и во всем мире. Несмотря на тенденцию к стабилизации и даже снижению общей частоты рака желудка он остается на шестом месте в общей структуре онкологической заболеваемости. Особо следует отметить увеличение частоты

регистрации рака культуры желудка после оперативного лечения [1, 2].

Несмотря на общепринятую онкологическую настороженность рак резецированного желудка в настоящее время диагностируется достаточно поздно, в этой связи своевременная диагностика и лечение как первичной опухоли данной локализации, так и ее рецидива становится одной из актуальнейших проблем

абдоминальной хирургии, онкологии, а также молекулярной генетики и биохимии [3]. Суть решения этой проблемы состоит в поиске и использовании комплекса структурных и функциональных маркеров, которые, будучи собранными в панель, позволяют эффективно, в короткий срок и с высокой точностью диагностировать рецидив на ранних этапах, дополнив результаты гистологического исследования биопсийного материала [4]. Использование комплекса молекулярных маркеров для анализа биоптата слизистой оболочки, полученного при эндоскопии культи желудка, у пациентов, оперированных по поводу рака, дает возможность выявлять рецидив опухоли в доклинической стадии, а также выделить молекулярно-генетические изменения, характерные для облигатного предрака [5].

Цель настоящей работы: выделение молекулярных изменений, характеризующих генетическую нестабильность слизистой оболочки желудка при раке желудка.

#### Материал и методы

Обследованы 64 пациента, оперированных по поводу рака желудка, (основная группа) и 50 пациентов с желчнокаменной болезнью (ЖКБ), проходивших лечение в УКБ № 1 Сеченовского университета. Среди включенных в исследование 55 % составили мужчины, 45 % – женщины. Преобладали лица старше 60 лет. Первую группу сформировали пациенты с умеренно- и низкодифференцированными аденокарциномами, местно-распространенным раком II и III стадии, с опухолями более 4 см в наибольшем измерении. Пациенты обеих групп прошли стандартное предоперационное обследование в рамках соответствующей нозологии с выполнением биопсии слизистой оболочки желудка. В биопсиях, полученных от людей, страдавших ЖКБ, было подтверждено отсутствие опухолевых клеток, и выявлен атрофический гастрит без кишечной метаплазии и дисплазии эпителия. Во всех случаях в основной группе выполнены операции в объеме резекции желудка с лимфаденэктомией, в группе сравнения – в объеме холецистэктомии.

Материал для молекулярно-генетического анализа у больных раком желудка после гастрэктомии забирали из самой опухоли и двух точек слизистой оболочки, удаленных от нее на 5 см в проксимальном и дистальном направлениях по схеме: точка 1 – проксимальный край резекции, точка 2 – опухоль, точка 3 – дистальный край резекции.

В работе использована оригинальная панель молекулярных маркеров, состоящая из трех частей по схеме «ДНК–РНК–белок». Первая часть панели охватывала изменения ДНК по типу аномального метилирования генов-супрессоров *TUSC3*, *CDH1*, *RASSF1A*, *MLH1*, *DAPK*, которые могут и не реализоваться ни в экспрессию генов, ни в синтез белка. Вторая часть панели предназначена для выявления экспрессии генов *hTERT*, *MMP7*, *MMP9*, *BIRC5* и *PTGS2*. Она позволяла

оценивать изменения на промежуточном этапе реализации информации, заключенной в ДНК, т.е. на этапе синтеза РНК, который в дальнейшем может и не завершиться синтезом белка. Третья часть панели предназначалась для непосредственной оценки активности синтезированного опухолью белка-теломеразы.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программ IBM SPSS Statistics 20.0. Вычислялись средние арифметические и их стандартные отклонения ( $M \pm s$ ). Для сравнения групп исследования применялась оценка достоверности разности на основе критерия Стьюдента для независимых выборок.

#### Результаты исследования

Аномальное метилирование хотя бы одного из исследуемых генов было выявлено у всех пациентов. Наибольшую частоту здесь продемонстрировали гены *TUSC3*, *CDH1* и *DAPK*, их метилирование определялось в большей части образцов, полученных из опухоли и точек, расположенных ближе к границам резекции. Гены *RASSF1A* и *MLH1* имели невысокую частоту метилирования в неизменной слизистой оболочке, а их аномальное метилирование достоверно чаще регистрировалось в образцах, взятых из опухоли (табл. 1). Уровень экспрессии генов *hTERT*, *MMP7*, *MMP9*, *BIRC5* и *PTGS2* в опухоли был достоверно выше, чем в участках слизистой оболочки желудка, приближенных к краю резекции, которые по этому показателю не различались между собой (табл. 2).

Таблица 1

Частота метилирования генов-супрессоров при раке желудка и ЖКБ

Ген	Частота метилирования ( $M \pm s$ ), %			
	Рак желудка (n=64)			ЖКБ (n=50)
	точка 1	точка 2	точка 3	
<i>TUSC3</i>	55,0±6,8	61,1±6,7	58,6±6,7	12,5±5,6
<i>CDH1</i>	61,2±6,7	53,2±6,8	54,2±6,8	25,0±6,5
<i>RASSF1A</i>	4,5±2,7	14,7±4,7	2,8±2,3	–
<i>MLH1</i>	3,0±2,3	15,1±3,7	2,9±2,3	–
<i>DAPK</i>	41,5±6,7	35,5±6,6	40,5±6,7	12,5±5,6

Таблица 2

Уровни экспрессии генов, ответственных за синтез РНК, при раке желудка и ЖКБ

Ген	Уровень экспрессии ( $M \pm s$ ), ед.			
	Рак желудка (n=64)			ЖКБ (n=50)
	точка 1	точка 2	точка 3	
<i>hTERT</i>	0,15±0,02	0,42±0,04	0,26±0,04	0,15±0,07
<i>MMP7</i>	0,30±0,06	0,80±0,07	0,30±0,04	0,34±0,06
<i>MMP9</i>	0,30±0,06	0,65±0,06	0,38±0,04	0,60±0,17
<i>BIRC5</i>	0,57±0,06	0,97±0,06	0,78±0,08	0,45±0,17
<i>PTGS2</i>	0,16±0,03	0,52±0,06	0,16±0,02	0,43±0,16

Активность теломеразы в опухоли ( $66,1 \pm 5,8$  ед.) была достоверно выше, чем в точках, приближенных к краю резекции участков слизистой оболочки желудка ( $31,0 \pm 4,8$  и  $32,6 \pm 4,9$  ед., соответственно). Активность теломеразы в слизистой оболочке желудка при ЖКБ ( $30,6 \pm 3,0$  ед.) также была достоверно ниже, чем в опухоли ( $p < 0,01$ ).

В группе сравнения (ЖКБ) отмечались более низкие показатели частоты метилирования генов *TUSC3*, *CDH1* и *DAPK* и отсутствие метилирования генов *RASSF1A* и *MLH1* (табл. 1). В основной группе только в опухоли экспрессия генов *BIRC5*, *MMP7*, *hTERT* оказалась достоверно выше ( $p < 0,01$ ), чем в слизистой оболочке желудка при ЖКБ. Экспрессия генов *MMP9*, *PTGS2* в группах достоверно не различалась (табл. 2).

Уровни метилирования генов *TUSC3*, *CDH1*, *DAPK* на участках слизистой оболочки желудка вне опухоли были достоверно выше ( $p < 0,05$ ) показателей метилирования этих генов в слизистой оболочке желудка при ЖКБ (табл. 1). Достоверной разницы между экспрессией генов *hTERT*, *MMP7*, *MMP9*, *BIRC5*, *PTGS2* у больных раком желудка в слизистой оболочке краев резекции и экспрессией соответствующих генов в группе сравнения не выявлено (табл. 2).

#### Обсуждение полученных данных

Различия в экспрессии генов *hTERT*, *MMP7*, *MMP9*, *BIRC5*, *PTGS2* в опухоли и приближенных к краю резекции участках слизистой оболочки свидетельствуют о том, что рак желудка по экспрессии исследуемых генов отличается от окружающей слизистой оболочки. Вероятно, это различие можно использовать как для оценки чистоты линии резекции, так и для диагностики изменений, происходящих в условиях канцерогенеза.

Наиболее значимым в оценке трансформации слизистой оболочки желудка следует считать метилирование генов *RASSF1A* и *MLH1*, потому что оно преимущественно определялось в опухолевой ткани. Использование этого параметра в диагностической системе достаточно целесообразно несмотря на то, что частота метилирования этих генов в опухоли невелика – не более 20 %.

Различия в показателях метилирования генов *TUSC3*, *CDH1*, *DAPK* в непораженной опухоли слизистой оболочки желудка и в группе сравнения говорит о том, что в слизистой оболочке желудка имеется определенная молекулярная нестабильность, которая не отмечается при отсутствии злокачественной опухоли. Такие изменения могут возникать в результате накопления поломок, происходящих под влиянием долгое время существующего воспаления, например, хронического гастрита.

Отсутствие достоверной разницы между показателями экспрессии генов *hTERT*, *MMP7*, *MMP9*, *BIRC5*, *PTGS2*, а также активностью теломеразы в непора-

женной слизистой оболочке при раке желудка и ЖКБ, подтверждает, что объемы операций (субтотальная дистальная резекция или проксимальная резекция желудка), выполняемых при ограниченном антральном или проксимальном росте опухоли, достаточны, поскольку вмешательства осуществляются не только в пределах «морфологически здоровых» тканей, но и на фоне молекулярных изменений, имеющих лишь вероятностный потенциал, который может и не реализоваться в опухолевый рост. При этом за пациентами с высоким уровнем метилирования генов *TUSC3*, *CDH1*, *DAPK* в послеоперационном периоде требуется динамическое наблюдение для исключения рецидива заболевания.

#### Выводы

1. Высокая частота метилирования генов *TUSC3*, *CDH1* и *DAPK* в слизистой оболочке желудка вне зоны опухолевого роста косвенно указывает на ее вовлеченность в предопухолевую трансформацию.
2. Для рака желудка характерны высокая частота метилирования генов *RASSF1A* и *MLH1*, значительный уровень экспрессии генов *hTERT*, *MMP7* и *BIRC5* и высокая активность теломеразы.
3. Частоту аномального метилирования генов *TUSC3*, *CDH1*, *DAPK*, *RASSF1A* и *MLH1*, уровень экспрессии генов *hTERT*, *MMP7* и *BIRC5* и активности теломеразы можно использовать в качестве клинических маркеров изменений слизистой оболочки желудка после его резекции по поводу рака.

**Конфликт интересов:** авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования:** авторы заявляют о финансировании работы из собственных средств.

#### Литература / References

1. Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена, 2019. [Kaprin AD, Starinskii VV, Petrova GV, eds. *Malignant neoplasms in Russia in 2018 (morbidity and mortality)*. Moscow: P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Center; 2019 (In Russ).]
2. Kuipers EJ. Gastric cancer: Synopsis and epidemiology of gastric cancer. Kim N, eds. *Helicobacter pylori*. Singapore: Springer; 2016:241–9.
3. Вовин К.Н., Яицкий А.Н., Данилов И.Н. Диагностика и лечение больных с рецидивом рака желудка. *Вестник хирургии им. И.И. Грекова*. 2013;172(2):092–6. [Vovin KN, Yaickij AN, Danilov IN. Diagnostics and treatment of patients with recurrent gastric cancer. *Grekov's Bulletin of Surgery*. 2013;172(2):092–6 (In Russ).]
4. Tamura G. Alterations of tumor suppressor and tumor-related genes in the develop and prognosis of gastric cancer. *World J Gastroenterol*. 2006;12:192–8.
5. Черноусов А., Хоробрых Т., Немцова М., Чекунова Н., Удилова А., Вычужанин Д. и др. Рецидивы рака желудка у больных, перенесших его резекцию. Диагностика рецидивов. *Врач*. 2013;6:14–8. [Chernousov A, Khorobrykh T, Nemtsova M, Chekunova N, Udilova A, Vychuzhanin D, et al. Recurrent gastric cancer in patients undergoing its resection. Diagnosis of recurrences. *Vrach*. 2013;6:14–8 (In Russ).]