

И.И. Быков,
к.м.н., врач-хирург университетской клинической
больницы № 1 Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

I.I. Bykov,
PhD, the surgeon of university hospital № 1
of the First MSMU named after I.M. Sechenov

РОЛЬ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ В ОПРЕДЕЛЕНИИ ТАКТИКИ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА

THE ROLE OF MOLECULAR-GENETIC MARKERS IN THE DETERMINING OF SURGICAL TREATMENT OF STOMACH CANCER PATIENTS

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ:

Игорь Игоревич Быков, врач-хирург университетской клинической больницы № 1
Адрес: 119435, г. Москва, ул. Большая Пироговская, д. 6, стр. 1
Телефон: 8-499-248-42-28
E-mail: dok.ukbl@mail.ru

Аннотация. В данной работе затрагивается проблема определения способов хирургического лечения больных раком желудка.

Annotation. This article deals with the problem of determining of surgical treatment of the stomach cancer patients.

Ключевые слова. Рак желудка, molecular-genetic markers.

Key words. Stomach cancer, молекулярно-генетические маркеры.

В структуре онкологической заболеваемости в России рак желудка занимает 2-е место после рака легкого у мужчин и 3-е место после рака молочной железы и меланомных новообразований у женщин.

В России ежегодно регистрируется 40–50 тысяч новых случаев рака желудка. Более половины пациентов с диагнозом рака желудка поступают на лечение с III или IV стадией заболевания, когда хирургическое лечение малоэффективно.

В структуре онкологической смертности населения России рак желудка у мужчин и женщин занимает 2-е место. Ежегодно в России около 45 тысяч больных умирает от этого заболевания [2].

Улучшение результатов лечения рака желудка во многом связывают с диагностикой и лечением ранних стадий рака желудка [6].

При этом ранние формы рака желудка характеризуются отсутствием патогномичных клинических симптомов и низкой дифференциально-диагностической ролью лабораторных исследований.

Решающую роль в диагностике рака желудка играют рентгенологическое и эндоскопическое исследования с гистологическим анализом биоптатов [5].

В основе установления диагноза лежат патогистологические критерии, в то же время остается

нерешенным вопрос объективной трактовки морфологических изменений слизистой, особенно при тяжелой дисплазии в условиях хронического воспаления и при подслизистом росте опухоли [1].

Вышесказанное подтверждается и данными японских исследователей. В Японии выявляемость раннего рака желудка наиболее высокая в мире, при этом уровень «пропущенных» случаев раннего рака желудка оценивается в 19% [7].

Все перечисленное диктует необходимость поиска дополнительных критериев и методов диагностики рака желудка.

В последнее время большое значение начинают приобретать молекулярно-генетические маркеры, основанные на использовании ДНК и РНК технологий. К этим онкологическим маркерам можно отнести структурные повреждения, выявляемые в геноме опухолевой клетки. Подобные повреждения приводят к изменению экспрессии генов-регуляторов клеточного цикла, к повреждению генов, кодирующих адгезионные белки и факторы активности неоплазии. В связи с этим происходит изменение показателей метастатической и инвазивной активности, аномальное метилирование регуляторных областей генов-супрессоров, изменение активности

и экспрессии теломеразы в клетках опухолей [3]. Подобные онкологические маркеры являются достаточно чувствительными и специфичными, просты в лабораторном исследовании, однако их применение требует тщательной научной разработки и подготовки для внедрения в клиническую практику.

На сегодняшний день решение проблемы ранней диагностики рака желудка лежит на стыке нескольких дисциплин: молекулярной генетики, биохимии и хирургии рака желудка. Для этого необходимо создать систему молекулярно-генетических, иммуногистохимических и биохимических маркеров, определяемых в биоптатах слизистой желудка, которые помогут в более короткие сроки с большим процентом точности подтвердить или опровергнуть диагноз рака желудка, дополнив тем самым результаты гистологического исследования [4].

Цель исследования — улучшить результаты лечения больных раком желудка за счет внедрения молекулярно-генетических методов анализа слизистой желудка для комплексной дифференциальной диагностики рака на дооперационном этапе.

Задачи исследования следующие.

1. Разработать панель молекулярно-генетических маркеров для оценки изменений слизистой у больных раком желудка, для чего оценить частоту метилирования генов-супрессоров *CDH1*, *RASSF1A*, *MLH1*, *N33*, *DAPK*, экспрессию генов металлопротеиназ *MMP7*, *MMP9*, *BIRC5*, *TP53*, *PTGS2*, *hTERT*, а также активность теломеразы в операционном материале у больных раком желудка и в биоптатах слизистой желудка у больных неопухолевыми заболеваниями.

2. Определить связь исследуемых маркеров (аномального метилирования генов *CDH1*, *RASSF1A*, *MLH1*, *N33*, *DAPK* и экспрессии генов металлопротеиназ *MMP7*, *MMP9*, *BIRC5*, *TP53*, *PTGS2*, *hTERT*, а также активности теломеразы) с основными клиническими показателями и морфологическими характеристиками опухоли у больных раком желудка.

3. Изучить диагностическое значение полученной панели молекулярно-генетических маркеров в морфологически нормальной пограничной ткани у больных, оперированных по поводу рака желудка.

4. Установить возможность и целесообразность использования выбранной панели молекулярно-генетических маркеров для предоперационной диагностики у больных с подозрением на рак желудка в материале биоптатов, полученных при эндоскопическом исследовании.

5. Оценить перспективы использования молекулярно-генетических маркеров для уточнения хирургической тактики лечения больных раком желудка.

Всего в исследование было включено 156 пациентов с нозологиями: рак желудка — 106 пациентов (группа исследования) и желчнокаменная болезнь — 50 пациентов (группа сравнения), находившихся в Клинике факультетской хирургии им.

Н.Н. Бурденко УКБ № 1 ГБОУ ВПО ПМГМУ им. И.М. Сеченова в период с декабря 2008 г. по декабрь 2010 г.

Все 106 пациентов группы исследования (больные раком желудка) прошли стандартное обследование, которое включало лабораторные (ОАК, ОАМ, БХАК, коагулограмму) и инструментальные (ЭКГ, ФВД, УЗИ органов брюшной полости, ЭГДС, рентгенологическое исследование, КТ органов грудной клетки и брюшной полости с в/в контрастированием) методы исследования, а также консультации профильных специалистов. Во время ЭГДС всем пациентам производили забор материала для гистологического и цитологического исследований. У 53 больных материал, полученный при ЭГДС, был исследован на молекулярно-генетические маркеры.

Все 50 пациентов из группы сравнения (больные ЖКБ) прошли предоперационное обследование, включавшее ЭГДС, при котором были получены биоптаты для проведения цитологического, гистологического исследований, а также определения молекулярно-генетических маркеров.

Всем 106 пациентам из группы исследования (больные раком желудка) было проведено плановое оперативное вмешательство: в объеме гастрэктомии 42 пациентам (40%) или резекции желудка 64 пациентам (60%) с лимфаденэктомией в объеме Д1 — 9 пациентам (8%), Д2 — 85 пациентам (87%), Д3 — 13 пациентам (12%). Во всех случаях в материале, взятом из опухоли интраоперационно, в последующем, при гистологическом исследовании, подтверждено наличие опухолевых клеток. Во всех биопсийных образцах из краев резекции подтверждено отсутствие опухолевых клеток, определен атрофический гастрит в сочетании с кишечной метаплазией и/или дисплазией различной степени.

Всем 50 пациентам из группы сравнения (больные ЖКБ) была проведена плановая холецистэктомия. Во всех биопсийных образцах от пациентов с ЖКБ было подтверждено отсутствие опухолевых клеток и установлен атрофический гастрит без кишечной метаплазии и дисплазии эпителия.

В работе использована оригинальная панель молекулярно-генетических маркеров, состоящая из трех частей.

Первая часть включала определение метилирования генов *CDH1*, *RASSF1A*, *MLH1*, *N33*, *DAPK*, т.е. определение непосредственно эпигенетических изменений ДНК, которые, однако, в дальнейшем могут быть и не реализованы в виде инициации роста опухоли.

Вторая часть панели молекулярных маркеров включала определение экспрессии генов *hTERT*, *MMP7*, *MMP9*, *BIRC5*, *PTGS2*, *TP53*, т.е. оценку реализации информации, заключенной в ДНК на этапе синтеза РНК как факта уже произошедшего и далее реализующегося в синтезе белка.

Третьей частью панели являлось определение активности теломеразы — активного белка, синтезируемого опухолевой клеткой.

Метилирование ДНК — процесс ковалентного присоединения метильной группы к цитозину в составе CpG-динуклеотида. Метилирование вызывает эффекты, способствующие полной инактивации экспрессии гена. Аномальное метилирование генов *CDH1*, *RASSF1A*, *MLH1*, *N33*, *DAPK* приводит к функциональной инактивации этих генов. Аномальное метилирование генов-супрессоров — одно из самых ранних событий канцерогенеза и может выявляться задолго до клинического проявления опухолевого роста.

Ген *CDH1* кодирует белок Е-кадгерин, который отвечает за адгезию клеток. Снижение активности гена приводит к утрате клеточных контактов и приобретению опухолевой клеткой способности к инвазии и метастазированию.

Ген *RASSF1A* — ген-супрессор, участвует в регуляции клеточной пролиферации и в апоптозе, кодирует фактор, контролирующий клеточный цикл.

Ген *MLH1* — ген-супрессор, кодирует фактор, участвующий в репарации неспаренных оснований, возникающих вследствие ошибок репликации ДНК.

Ген *N33* проявляет супрессорные функции и демонстрирует высокий уровень метилирования в различных типах опухолей, происходящих из эпителия.

Ген *DAPK* кодирует белковую киназу, обеспечивающую апоптоз и предотвращающую опухолевую прогрессию в результате ингибирования поляризации клетки. Инактивация гена DAP-киназы приводит к миграции и инвазии опухолевых клеток, препятствует апоптозу.

Матриксные металлопротеиназы — протеазы, способные лизировать все структурные компоненты экстраклеточного матрикса, продуцируются клетками стромы вокруг опухоли; их высокую продукцию связывают с метастазированием, неоангиогенезом.

ММР7 (матрилизин) — металлопротеиназа, секретируемая эпителием опухоли; ее экспрессия коррелирует с гистологической агрессивностью опухоли.

ММР9 (желатиназа В) — металлопротеиназа, определяемая в здоровых растущих клетках, играет ведущую роль в ангиогенезе, в опухоли обеспечивает неоангиогенез, тем самым способствуя росту опухоли.

Сурвивин (survivin) — эндогенный белок, относящийся к семейству белков-ингибиторов апоптоза. В норме он участвует в процессах митоза и эмбрионального развития, поэтому присутствует преимущественно в эмбриональных клетках и в нормальных соматических клетках в течение короткого периода митоза. В опухолях ген сурвивина (*BIRC5*) экспрессируется в больших количествах и подавляет апоптоз.

Циклооксигеназа-2 (COX-2) катализирует превращение арахидоновой кислоты в простагландин H₂ на первой стадии биосинтеза простагландинов, тромбоксанов и простациклинов. COX-2 увеличивает темп развития кровеносных сосудов и рост опухоли, а также блокирует развитие апоптоза.

Ген циклооксигеназы-2 — *PTGS2*.

Ген *TP53* кодирует транскрипционный фактор (p53), который при повреждении генома вызывает задержку клеточного цикла в фазе G1 и способствует апоптозу. В опухолевых клетках происходит нарушение функции гена: программа апоптоза переключается на программу неограниченной пролиферации.

Теломераза — фермент, кодируемый геном *hTERT*, необходимый для поддержания стабильности хромосом в процессе деления клетки и присутствующий в норме лишь в небольшом пуле активно делящихся клеток. В злокачественной опухоли теломераза играет ключевую роль в поддержании пролиферативного потенциала клеток и дальнейшего роста опухоли.

У 53 (50%) пациентов группы исследования эндоскопически из края опухоли (точка II-э) был взят материал на этапе дооперационного обследования, т.е. по тем же принципам, по которым он отбирается для проведения предоперационного цитологического и гистологического исследований.

Забор материала для исследования маркеров в послеоперационном периоде у больных раком желудка проводили следующим образом. Первый образец ткани (точка I-о) забирали из верхнего края резекции, 5 см вверх от верхнего видимого края опухоли. Второй образец ткани (точка II-о) забирали из визуально определяемой области опухоли. Третий образец ткани (точка III-о) забирали из нижнего края резекции, 5 см вниз от нижнего видимого края опухоли. Четвертый образец ткани (точка IV-о) забирали на расстоянии 0,5 см от видимого края опухоли (рис. 1). В последующем все участки забора ткани

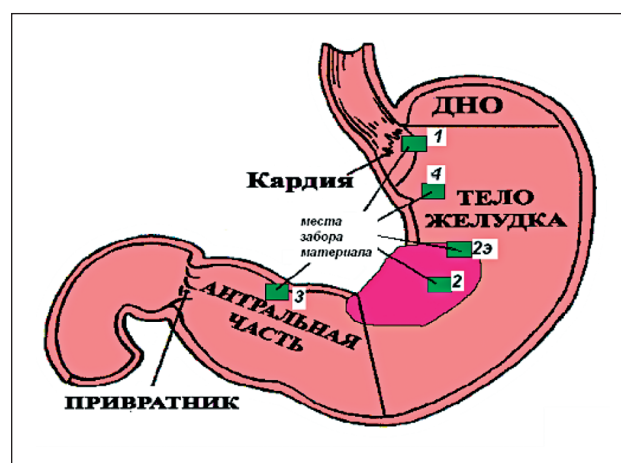


Рис. 1. Области забора тканевого материала в исследуемой группе пациентов

маркировали для возможности их идентификации патоморфологом и получения максимально точного патогистологического заключения. Для каждого образца (точки I-, II-, III-, IV-о, II-э) было проведено гистологическое исследование на выявление опухолевых клеток, при определении опухоли проводилось ее гистотипирование. У всех 106 (100%) пациентов в каждом (точки I-, II-, III-, IV-о) из образцов, полученных интраоперационно, и у 53 (50%) пациентов — из образцов, полученных эндоскопически

(точка II-э), исследовали аномальное метилирование генов *CDH1*, *RASSF1A*, *MLH1*, *N33*, *DAPK* методом метил-чувствительной ПЦР, с использованием рестрикционной эндонуклеазы HpaII. Анализ экспрессии исследуемых генов *hTERT*, металлопротеиназ *MMP7*, *MMP9*, *BIRC5*, *PTGS2*, *TP53* проводили с помощью метода полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией. Для чего первым этапом выделяли тотальную клеточную РНК из образцов ткани, далее проводили обратную транскрипцию

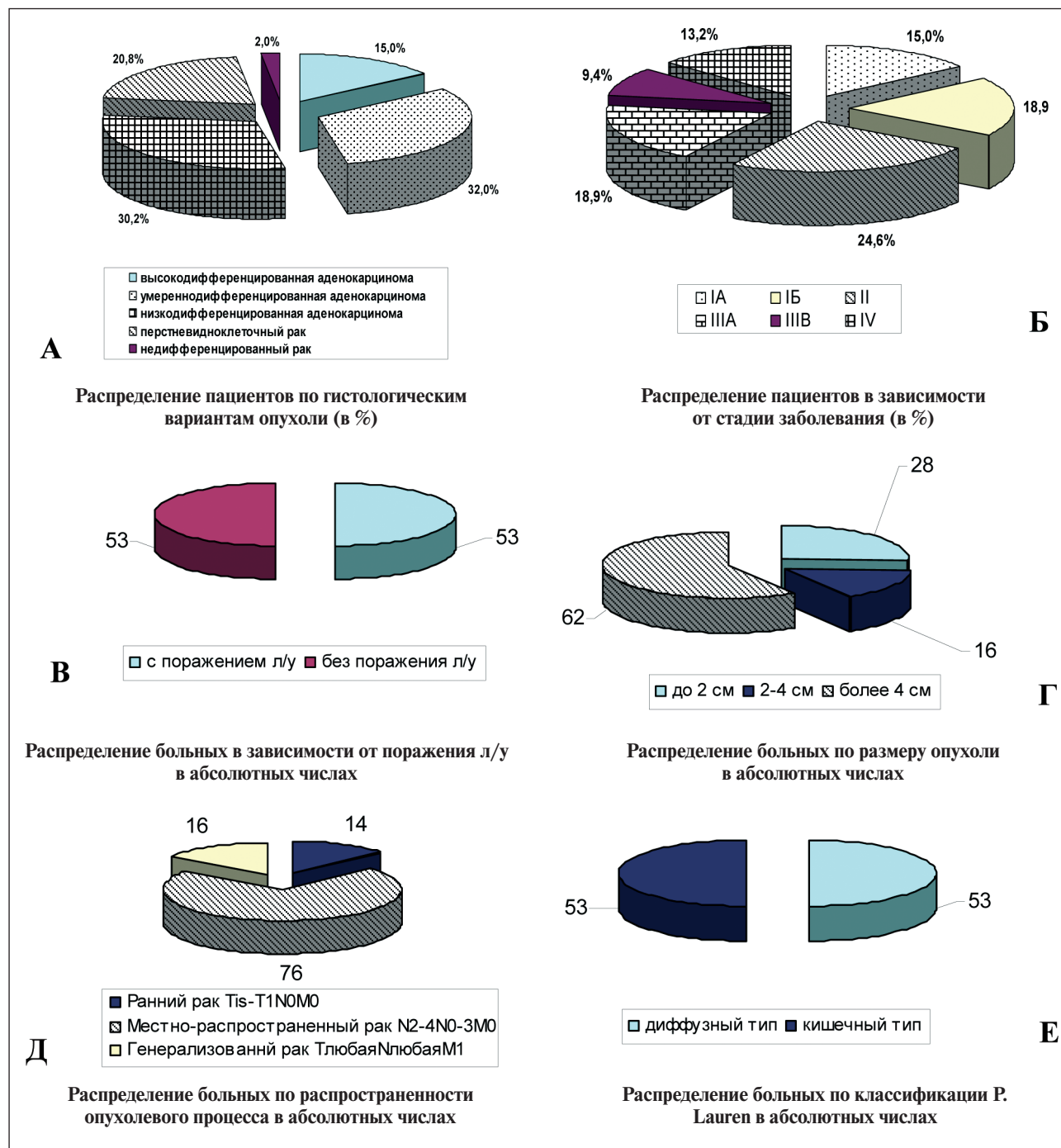


Рис. 2 (а, б, в, г, д, е). Распределение пациентов по клиническим подгруппам

(синтез кДНК) и полученную кДНК амплифицировали методом ПЦР с использованием олигонуклеотидных праймеров, специфичных первичной структуре кДНК исследуемых генов. Также у всех 106 (100%) пациентов в каждом (I-, II-, III-, IV-о) из образцов, полученных интраоперационно, и у 53 (50%) пациентов из образцов, полученных эндоскопически (II-э), исследовали активность теломеразы модифицированным методом TRAP.

Забор материала в группе сравнения — у больных ЖКБ — для исследования молекулярно-генетических маркеров проводили следующим образом. Эндоскопически из интактной слизистой тела желудка (точка II-э) был взят материал на этапе дооперационного обследования для последующего проведения предоперационного цитологического и гистологического исследований. В каждом из образцов (II-э) исследовали аномальное метилирование генов *CDH1*, *RASSF1A*, *MLH1*, *N33*, *DAPK*, экспрессию генов *hTERT*, металлопротеиназ *MMP7*, *MMP9*, *BIRC5*, *PTGS2*, *TP53* и активность теломеразы.

Проведен анализ молекулярно-генетических маркеров внутри группы больных раком желудка по клиническим подгруппам, разделенным по ги-

стологическим вариантам опухоли, по распространенности опухолевого процесса, по классификации TNM, по классификации P. Laugen, по поражению лимфоузлов, по размеру опухоли (рис. 2).

Частота метилирования генов *CDH1*, *RASSF1A*, *MLH1*, *N33*, *DAPK*, экспрессия *MMP7*, *PTGS2*, активность теломеразы возрастают с увеличением размера опухоли.

Аномальное метилирование генов *N33*, *CDH1* и увеличение экспрессии *BIRC5*, *MMP7*, *PTGS2* являются маркерами негативного прогноза для рака желудка, связаны с генерализацией опухолевого процесса и метастазированием.

Метилирование гена *DAPK* является маркером благоприятного прогноза, коррелирует с малой вероятностью метастазирования в лимфатические узлы.

Частота метилирования гена *CDH1* достоверно выше, а уровни экспрессии генов *BIRC5* и *hTERT* достоверно ниже в опухолях диффузного типа, чем в опухолях интестинального типа.

Проведен анализ молекулярно-генетических маркеров в группе больных раком желудка в зависимости от области забора (точки I-, II-, III-, IV-о) (табл. 1, 2, 3).

Таблица 1

Частота метилирования генов

N33	CDH1	RASSF1A	MLH1	DAPK
I-о точка				
55,0±6,8	61,25±6,7	4,5±2,7	3,0±2,3	41,5±6,7
II-о точка				
61,15±6,7	53,25±6,8	14,75±4,7	15,15±3,7	35,55±6,6
III-о точка				
58,6±6,7	54,2±6,8	2,8±2,3	2,9±2,3	40,5±6,7
IV-о точка				
68,05±6,5	65,25±6,5	4,85±2,7	5,7±3,3	52,65±6,8

Таблица 2

Уровни экспрессии генов

Показатель экспрессии гена	Точка забора I-о	Точка забора II-о ОПУХОЛЬ	Точка забора III-о	Точка забора IV-о	Интервал для участка II-о (95%)
BIRC5	0,57±0,06	0,97±0,06*	0,78±0,078	0,61±0,06	0,86–1,1
MMP9	0,3±0,04	0,65±0,06	0,38±0,04	0,35±0,05	0,54–0,77
MMP7	0,3±0,06	0,8±0,07	0,3±0,04	0,40±0,067	0,66–0,93
PTGS2	0,16±0,03	0,52±0,06	0,16±0,02	0,16±0,026	0,39–0,64
hTERT	0,15±0,02	0,42±0,043	0,26±0,038	0,25±0,028	0,33–0,5
TP53	0,25±0,08	0,27±0,05	0,13±0,05	0,36±0,09	0,13–0,4

Таблица 3

Анализ активности теломеразы

Точка забора I-о	Точка забора II-о	Точка забора III-о	Точка забора IV-о	Интервал для II-о (95%)
31,0±4,8	66,1±5,8	32,6±4,9	27,6±5,1	77,7–54,5

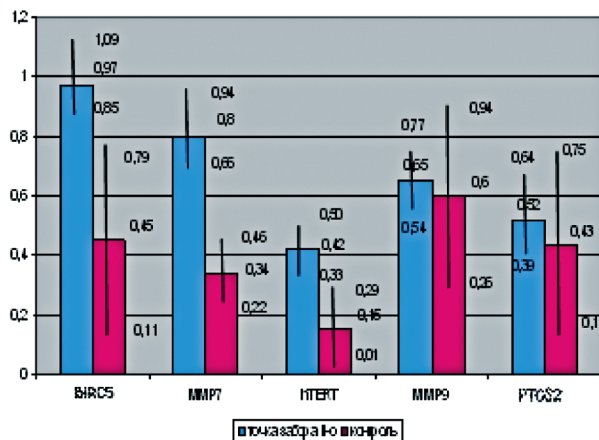


Рис. 3. Уровни экспрессии генов (95% ДИ)

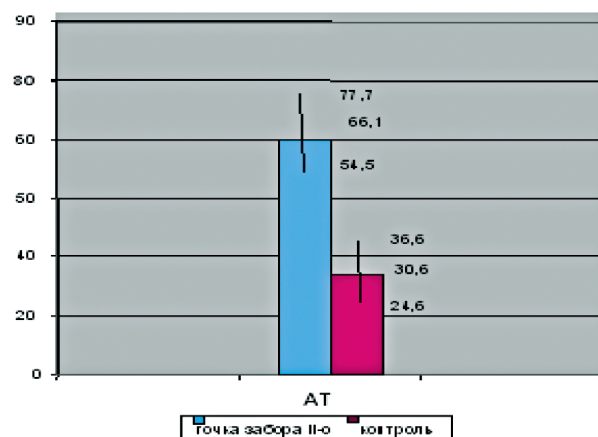


Рис. 4. Уровни активности теломеразы (95% ДИ)

Анализ активности маркеров при заборе в разных участках слизистой желудка в группе исследования показал, что в точке II-о (опухоль) метилирование генов *RASSF1A*, *MLH1*, экспрессия генов *hTERT*, *PTGS2*, *MMP7*, *MMP9*, *BIRC5* и активность теломеразы достоверно выше, чем в точках I-, III-, IV-о (слизистая близлежащих и отдаленных от опухоли участков). Показатели маркеров прилежащих к опухоли участков и отдаленных от нее участков слизистой (I-, III-, IV-о) между собой не отличаются. Таким образом, показатели маркеров в опухоли и других участках слизистой желудка отличаются.

Анализ молекулярно-генетических маркеров в группе больных раком (группа исследования) по

отношению к группе больных ЖКБ (группа сравнения) (табл. 4, рис. 3, 4).

В группе сравнения отмечаются низкие уровни метилирования по генам *N33*, *CDH1*, *DAPK* и отсутствие метилирования по генам *RASSF1A*, *MLH1*, низкие показатели экспрессии *hTERT*, *MMP7*, *BIRC5*, низкая активность теломеразы. Таким образом, данные маркеры потенциально могут быть использованы как маркеры изменений в слизистой характерные для канцерогенеза.

Анализ молекулярно-генетических маркеров в группе больных раком желудка в зависимости от способа забора (интраоперационно и при ЭГДС, точки II-о и II-э) (табл. 5, 6, 7).

Таблица 4

Анализ метилирования генов

<i>N33</i>	<i>CDH1</i>	<i>RASSF1A</i>	<i>MLH1</i>	<i>DAPK</i>
Группа исследования, больные раком желудка (II-о точка — опухоль)				
61,15±6,7	53,25±6,8	14,75±4,7	15,15±3,7	35,55±6,6
Группа сравнения, больные ЖКБ (II-э точка)				
12,5±5,6	25,0±6,5	0,0	0,0	12,5±5,6

Таблица 5

Частота метилирования генов

N33	CDH1	RASSF1A	MLH1	DAPK	p
II-о точка					>0,05
61,15±6,7	53,25±6,8	14,75±4,7	15,15±3,7	35,55±6,6	
II- э точка					
63,0±6,6	63,0±6,6	13,1±4,3	14,8±4,7	50,0±6,8	

Таблица 6

Анализ уровней экспрессии

Показатель	Точка забора II-о	Точка забора II-э	р
BIRC5	0,97±0,06	0,89±0,05	>0,05
MMP9	0,65±0,06	0,7±0,05	>0,05
MMP7	0,8±0,07	0,77±0,06	>0,05
PTGS2	0,52±0,06	0,47±0,07	>0,05
hTERT	0,42±0,043	0,49±0,05	>0,05

Таблица 7

Анализ активности теломеразы

Показатель	Точка II-о	Точка II-э	p
Активность теломеразы	66,1±5,8	62,0±4,9	>0,05

В результате проведенного исследования удалось показать принципиальную возможность определения метилирования и экспрессии выбранных генов, активности теломеразы в слизистой желудка на дооперационном этапе.

Полученный в результате эндоскопического исследования материал является достаточным по объему для осуществления молекулярно-генетических исследований.

Анализ молекулярно-генетических маркеров в группе больных раком желудка (группа исследования) в точках забора слизистой желудка отдаленных от опухоли (приближенных к краю резекции, точ-

ки I-, III-о) по отношению к группе больных ЖКБ (группа сравнения) (табл. 8, 9, 10).

Отсутствие достоверной разницы между показателями метилирования генов *RASSF1A* и *MLH1*, уровнями экспрессии генов *hTERT*, металлопротеиназ *MMP7*, *MMP9*, *BIRC5*, *PTGS2*, а также активностью теломеразы в исследуемой группе (больные раком желудка) в точках I-, III-о и соответствующими показателями в группе сравнения (больные ЖКБ) подтверждает, что объемы операции (субтотальная дистальная резекция или проксимальная резекция желудка), выполняемых при местно-распространенном росте опухоли, являются правомочными, поскольку выполняются в пределах не только морфологически неизмененных тканей, но и на фоне молекулярно-генетических изменений, несущих лишь возможный потенциал, который не реализован в развитии опухолевого процесса (экспрессии генов, синтезе белка).

Оценка статистических показателей диагностической ценности молекулярно-генетических маркеров рака желудка (табл. 11).

Таблица 8

Частота метилирования генов

Показатель	Точка забора I-о	Точка забора III-о	ЖКБ	p
N33	55,0±6,8	58,6±6,7	12,5±5,6	<0,05
CDH1	61,25±6,7	54,2±6,8	25,0±6,5	<0,05
DAPK	41,5±6,7	40,5±6,7	12,5±5,6	<0,05

Метилирование генов *RASSF1A* и *MLH1* в группе сравнения не определялось.

Таблица 9

Уровни экспрессии генов

Показатель	Точка забора I-о	Точка забора III-о	ЖКБ	p
BIRC5	0,57±0,06	0,78±0,078	0,45±0,17	>0,05
ММП9	0,3±0,04	0,38±0,04	0,6±0,17	>0,05
ММП7	0,3±0,06	0,3±0,04	0,34±0,06	>0,05
PTGS2	0,16±0,03	0,16±0,02	0,43±0,16	>0,05
hTERT	0,15±0,02	0,26±0,038	0,15±0,07	>0,05

Таблица 10

Активность теломеразы

Точка забора I-о	Точка забора III-о	ЖКБ	p
31,0±4,8	32,6±4,9	30,6±3,0	>0,05

Таблица 11

Чувствительность и специфичность, положительная и отрицательная предиктивная оценка, точность, отношение правдоподобия положительного и отрицательного результатов (ОППР), отношение шансов диагностического теста (ОШДТ) в определении диагностической ценности молекулярно-генетических маркеров рака желудка

	Чувс-ть	Спец-ть	ПоложитПО	ОтрицПО	Точность	ОППР	ОПОР	ОШДТ
MLH1	16,3	98,0	100,0	58,0	53,8	8,15*	0,85	9,6
RASSF1A	15,9	98,0	100,0	57,5	52,6	7,95*	0,86	9,2
BIRC5	69,8	87,5	78,6	60,9	79,5	5,58*	0,35**	15,9
MMP7	84,9	87,5	75,0	75,7	89,7	6,79*	0,17*	39,9
hTERT	62,3	99,0	100,0	55,5	74,4	62,3*	0,38**	163,9
AT	66,7	97,0	100,0	58,1	76,9	22,2*	0,34**	65,3

* Наиболее полезные для диагностики тесты

** Полезные для диагностики тесты

С учетом оценки статистических показателей диагностической ценности маркеров экспрессию *hTERT*, *MMP7*, *BIRC5*, а также определение активности теломеразы целесообразно использовать для дооперационной дифференциальной диагностики у пациентов с предварительным диагнозом рака желудка.

ВЫВОДЫ

1. Параллельно с морфологическим исследованием тканевого материала, полученного при эндоскопическом исследовании, у пациентов с предварительным диагнозом рака желудка рекомендуется проводить анализ молекулярно-генетических маркеров. При этом возможно получение дополнительной диагностической информации в сомнительной клинической ситуации.

2. Для дооперационной дифференциальной диагностики у пациентов с предварительным диагнозом рака желудка могут быть использованы следующие молекулярно-генетические маркеры — экспрессия генов *MMP7*, *hTERT*, *BIRC5* и активность теломеразы.

3. Определение экспрессии генов *hTERT*, *BIRC5*, а также активности теломеразы полезно в диагностике рака; определение экспрессии *MMP7* наиболее перспективно.

4. Экспрессия гена *hTERT* показывает наибольшую вероятность злокачественного заболевания у пациентов с положительным результатом теста.

5. Исследование аномального метилирования генов *CDH1*, *RASSF1A*, *MLH1*, *N33*, *DAPK*, экспрес-

сии генов *MMP9*, *PTGS2* рационально проводить для оценки состояния слизистой оболочки после резекции желудка по поводу ракового процесса при динамическом наблюдении за больными с целью исключения истинного рецидива заболевания.

Список литературы

1. Аруин Л.И., Капуллер Л.Л., Исаков В.А. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника. — М.: Трида-Х, 1998. — 496 с.
2. Двойрин В.В., Аксель Е.М., Трапезников Н.Н. Заболеваемость и смертность от злокачественных новообразований населения России и некоторых других стран СНГ в 1993 г. — М.: ОНЦ РАМН, 1995. — 231 с.
3. Новик А.А., Камилова Т.А., Цыган В.Н. Введение в молекулярную биологию канцерогенеза: Учеб. пособие для студентов мед. вузов. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2004. — 224 с.
4. Системы генетических и эпигенетических маркеров в диагностике онкологических заболеваний / Под ред. М.А. Пальцева и Д.В. Залетаева. — М.: Медицина, 2009. — 384 с.
5. Kondo T., Oue N., Mitani Y. et al. Loss of heterozygosity and histone hypoacetylation of the *PINX1* gene are associated with reduced expression in gastric carcinoma // *Oncogene*. — 2005. — № 24. — P. 157–164.
6. Rozen P. Cancer of the gastrointestinal tract: Early detection or early prevention? // *Eur. J. Cancer Prev.* — 2004. — Vol. 13. — P. 71–75.
7. Suzuki H. Endoscopic treatment of early cancer in Japan have we reached the limit? // *Endoscopy*. — 1998. — Vol. 30. — № 6. — 578 p.