

Соколова Е. А.<sup>1,2</sup>, Боярских У. А.<sup>1</sup>, Ширшова А. Н.<sup>1</sup>, Кель А. Э.<sup>1,3</sup>, Филипенко М. Л.<sup>1,2</sup>**БИОМАРКЕРЫ ДЛЯ СВОЕВРЕМЕННОЙ ДИАГНОСТИКИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА**<sup>1</sup>Лаборатория фармакогеномики ФГБНУ «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, 630090, Новосибирск; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», 630090, Новосибирск; <sup>3</sup>ООО «Биософт.ру», 630090, Новосибирск

*Колоректальный рак (КРР) – один из наиболее распространенных видов рака в мире. Подтверждено, что скрининговые процедуры, направленные на своевременное выявление КРР и аденоматозных полипов, существенно снижают смертность. Широко используемые в качестве скрининговых процедур колоноскопия и анализ кала на скрытую кровь имеют ряд недостатков. Исследования последних 10 лет выявили ряд генетических и эпигенетических маркеров, потенциально позволяющих определять пациентов с КРР в ранних стадиях развития заболевания. В данной работе проанализированы КРР-специфичные микроРНК и выявлены их возможные взаимодействия с различными транскрипционными факторами, которые в составе так называемых сетей с прямым распространением сигнала обеспечивают особую устойчивость работы всей регуляторной системы, и нарушение работы таких сетей нередко приводит к патологическим изменениям.*

К л ю ч е в ы е с л о в а: колоректальный рак; биомаркеры; неинвазивный скрининг; микроРНК; гиперметилирование.

**Для цитирования:** Клиническая лабораторная диагностика. 2015;60(12): 15–23.

Sokolova E.A.<sup>1,2</sup>, Boyarskikh U.A.<sup>1</sup>, Shirshova A.N.<sup>1</sup>, Kel A.E.<sup>1,3</sup>, Filipenko M.L.<sup>1,2</sup>

THE BIOMARKERS FOR TIMELY DIAGNOSTIC OF COLORECTAL CANCER

<sup>1</sup>The laboratory of pharmacogenomics of the institute of chemical biology and fundamental medicine of the Siberian branch of the Russian academy of sciences, 630090 Novosibirsk, Russia; <sup>2</sup>The Novosibirskii national research state university, 630090 Novosibirsk, Russia; <sup>3</sup>The Biosoft.ru, 630090 Novosibirsk, Russia

*The colorectal cancer (CC) is one of the most widespread type of cancer all over the world. It is confirmed that the screening procedures intended for timely detection of CC and adenomatous polyps, significantly decrease mortality. The colonoscopy and analysis of feces for occult blood are widely applied as screening procedures. However, they have a number of shortcomings. The studies of the last decade revealed number of genetic and epigenetic markers potentially permitting revealing patients with CC at early stages of development of disease. The article analyzes CC-specific microRNA and their possible interactions with different transcriptional factors. These factors, being integrated into the structure of so called networks with direct signal propagation, ensure special stability of all regulatory system. The derangement of functioning of these networks quite often results in pathological alterations.*

Key words: colorectal cancer; biomarker; non-invasive screening; microRNA; hyper-methylation

**Citation:** *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika. 2015; 60 (12): 15–23. (in Russ.)*

**Введение.** Рак считают одним из наиболее тяжелых заболеваний человека, и в среднем от него страдает каждый третий мужчина и каждая четвертая женщина [1]. Текущий прогноз заболеваемости раком неутешительный: число заболевших к 2030 г. повысится до 22,2 млн в год. Однако для некоторых видов рака прогнозируется снижение заболеваемости, среди них рак шейки матки и желудка, для других (рак молочной железы – РМЖ), рак простаты (РП), колоректальный рак (КРР)) прогнозируется устойчивый рост [2]. Рак прямой кишки (РПК) занимает третье по распространенности место среди мужчин после рака легкого и РП; у женщин его распространенность уступает только РМЖ. Примерно 10% смертельных исходов приходится на РПК [3].

**Патогенез КРР.** КРР – мультифакториальное заболевание, при этом общепризнано, что факторы окружающей среды, в частности диета, могут спровоцировать его развитие. Злоупотребление алкоголем, чрезмерное потребление пищи, богатой холестерином, недостаток фолиевой кислоты и витамина В<sub>6</sub> – потенциальные факторы риска КРР [4]. Помимо внешних факторов на

предрасположенность к КРР влияют различные генетические факторы, вследствие чего КРР присуща высокая гетерогенность. Подавляющая доля случаев КРР (около 70–80%) классифицируется как спорадический рак. Для данной категории пациентов в качестве основного фактора риска имеет значение возраст. Примерно 7% приходится на известные наследственные формы КРР: семейный аденоматозный полипоз (менее 1%), синдром Линча (от 2 до 5%) и полипоз, ассоциированный с мутацией гена *MYH* (менее 1%). Остальные 20–25% случаев причисляют к пока не описанным наследственным формам [3].

Постепенное накопление генетических и эпигенетических изменений приводит к трансформации нормальной слизистой оболочки толстой кишки в инвазивный рак. Время преобразования варьирует в среднем от 10 до 15 лет, большинству случаев КРР предшествует аденома.

В настоящее время описаны 3 молекулярных механизма развития КРР. Первый, известный как супрессорный молекулярный путь, или путь хромосомной нестабильности, был предложен Е. R. Fearon и В. Vogelstein [5]. Он заключается в накоплении мутаций в протоонкогене (*KRAS*) и генах–супрессорах опухолей (*DCC*, *APC*, *SMAD4*, *TP53*). Независимо от последовательности накопления мутаций их кумулятивный эффект приводит к неопластической трансформации. Вторым механизмом

Для корреспонденции: Соколова Екатерина Алексеевна, sokolovaea2608@gmail.com

For correspondence: Sokolova E.A., sokolovaea2608@gmail.com

завязан на генах репарации ДНК *MSH2*, *MLH1*, *MSH6*, *PMS2*, *MLH3*, *MSH3*, *PMS1*, *Exo1*. Замены в этих генах приводят к накоплению ошибок во время репликации ДНК, которые накапливаются преимущественно в повторяющихся фрагментах ДНК (микросателлитах). Считается, что этот путь лежит в основе синдрома Линча и около 15–20% спорадических случаев КРР [6].

Недавно выявлен третий молекулярный путь – следствие прорыва в эпигенетических исследованиях. Аберрантное гиперметилирование CpG-островков (MCPG) в промоторе генов приводит к их выключению. Такой тип регуляции генов ответствен за 15–20% спорадических форм КРР. Опухоль считается MCPG-положительной, если по крайней мере у трех из нижеперечисленных генов гиперметилированы CpG-островки в промоторе: *CACNA1G*, *IGF2*, *NEUROG1*, *RUNX3*, *SOCS1* [7]. Гиперметилирование чаще выявляют у пожилых женщин и считают неблагоприятным прогностическим признаком при лечении 5-фторурацилом.

**Профилактика КРР.** Высокое число спорадических случаев КРР (70–80%), запуск патогенеза которых наиболее зависит от внешних факторов, указывает на чрезвычайную важность профилактических мероприятий. К известным факторам риска неправильного образа жизни относят редкое потребление фруктов и овощей, частое и обильное потребление красного мяса и насыщенных жиров, чрезмерное употребление алкоголя, табакокурение, избыточную массу тела и малоподвижный образ жизни. Очевидно, лучшей профилактикой КРР является здоровый образ жизни, однако также необходимы профилактические мероприятия, направленные на своевременное выявление КРР посредством биомаркеров в доклинической стадии заболевания. Это позволит существенно увеличить шанс на благоприятное течение болезни: 5-летнюю общую выживаемость до 60% при своевременной диагностике КРР в ранних стадиях и менее 15% при выявлении опухоли в поздних III–IV стадиях [3]. Наиболее продуктивный способ профилактики КРР – скрининговые программы для лиц старше 50 лет. Так как возраст является одним из ключевых факторов риска спорадического КРР, скрининг целесообразно проводить именно у пожилых людей. Рекомендации по скрининговым мероприятиям были постулированы в 1999 г. и включали анализ кала на наличие скрытой крови и колоноскопию у людей в возрасте от 50 до 74 лет с периодичностью 1 раз в 1/2 года [8]. Предлагали новые способы скрининга популяции на КРР, которые должны соответствовать 4 ключевым критериям: высокой чувствительности и специфичности; снижению частоты летальных исходов КРР впоследствии; возможности применения в целевой группе лиц; небольшой стоимости [3]. Всем 4 критериям удовлетворяют анализ кала на скрытую кровь, колоноскопия и сигмоидоскопия. Эти методы в разных комбинациях и с разной периодичностью рекомендованы для скрининга во многих странах Европы, Америке, Австралии и Японии [3]. Принципиально все скрининговые методы можно делить на инвазивные и неинвазивные.

**Инвазивные скрининговые методы.** Колоноскопия на сегодняшний день считается общепризнанным «золотым стандартом» диагностики заболеваний кишечника, в том числе с целью скрининга на КРР. При этом чувствительность метода достигает 98%, специфичность – 99% для полипов размером более 6 мм [9]. Снижение смертности составляет 65%. Помимо высокой стоимости колоноскопия имеет существенное ограничение в виде низкой комплаентности населения. Это связано как со сложными процедурами подготовки к исследованию,

включающими строгую диету и прием препаратов для очистки кишечника, так и с психологическим дискомфортом пациентов: страхом анестезии, боязнью самой процедуры исследования, стеснением перед врачом. Колоноскопия рекомендована 1 раз в 10 лет для лиц старше 55 лет в США, Германии и Чехии [3].

**Сигмоидоскопия** – сокращенный вариант колоноскопии. По сравнению с колоноскопией сигмоидоскопия не требует столь сложной подготовки к исследованию, но в то же время с ее помощью возможно обнаружение новообразования только в дистальных отделах толстой кишки. По данным многоцентрового исследования 2010 г., включающего 112 939 необследованных и 57 099 обследованных лиц, сигмоидоскопия позволяет сократить на 33% (0,67; 0,60–0,76) количество случаев КРР и снизить смертность на 43% (0,57; 0,45–0,72) [10]. Однако по чувствительности сигмоидоскопия уступает колоноскопии; по оценкам, она составляет от 78 до 83%. Сигмоидоскопия рекомендована в США с периодичностью 1 раз в 5 лет лицам старше 50 лет и в Италии однократно лицам старше 58 лет [3].

**Ирригоскопия.** Чувствительность ирригоскопии в выявлении полипов размером более 7 мм составляет 73%, КРР – 83% [11]. Ирригоскопию чаще используют как дополнительный тест.

**Компьютерная колонография** – относительно новый метод исследования толстой кишки. Несмотря на то что метод более щадящий для пациента, он также требует предварительной подготовки. Метод достаточно дорогостоящий. Известно, что компьютерная колонография эффективна в выявлении крупных полипов размером более 10 мм (чувствительность 82%), но малоинформативна для выявления новообразований толстой кишки размером менее 5 мм (чувствительность 56%) [12].

**Неинвазивные скрининговые методы.** Низкая комплаентность населения к инвазивным методам скрининга КРР приобретает особую значимость при разработке и использовании неинвазивных процедур ранней диагностики КРР. На сегодня анализ кала на скрытую кровь – наиболее распространенный неинвазивный скрининговый метод. Однако исследования последних лет позволяют надеяться, что число неинвазивных методов будет увеличено за счет выявления новых маркеров для ранней диагностики КРР, среди них изучение гиперметилирования регуляторных сайтов (CpG-островков), модификация гистонов, изменение экспрессии микроРНК, анализ микросателлитной и хромосомной нестабильности.

**Анализ кала на скрытую кровь.** Аденоматозные полипы, представляя собой предраковую стадию КРР, характеризуются кровоточивостью. Однако количество выделяемой с калом крови настолько мало, что его невозможно выявить макро- и микроскопически. В классическом тесте для выявления скрытого кровотечения используют спиртовую настойку гваяковой смолы. Этот тест широко применяют в разных странах, благодаря простоте выполнения он считается наиболее изученным в рандомизированных клинических исследованиях. При условии ежегодного выполнения теста в течение 13 лет снижение смертности от КРР составляет до 33%. Если же этот тест проводить 1 раз в 2 года, снижение смертности достигает только 21% после 10 лет его применения [3]. Несмотря на то что анализ кала на скрытую кровь относится к неинвазивным методам диагностики КРР, он требует подготовки. Это связано с тем, что в основе теста лежит выявление гемоглобина, и проба дает положительный результат не только на гемоглобин человека, но и гемоглобин и миоглобин животного происхождения, поступающий с

пищей. Поэтому перед исследованием необходимо отказаться от мясных и рыбных продуктов, а также некоторых лекарственных препаратов за 3 дня до проведения пробы. Кроме того, при положительном результате необходимо исключить другие заболевания, приводящие к появлению крови в желудочно-кишечном тракте, а именно обострение язвенной болезни, эрозивный гастродуоденит и даже кровоточивость десен. Чувствительность анализа кала на скрытую кровь с использованием гваяковой смолы в отношении неоплазий варьирует в очень широких пределах (от 6,2 до 83,3%) и зависит от применяемого теста. В то же время специфичность практически всегда превышает 80%, достигая, по некоторым оценкам, 98,4% [3].

Помимо гваяковой смолы для выявления скрытой кровоточивости в нижних отделах желудочно-кишечного тракта прибегают к иммунохимическому тесту. В иммунохимическом тесте используют антитела к интактному человеческому глобину и гемоглобину, поэтому он специфичен и не требует особой диеты в отличие от теста с гваяковой смолой. Этот тест несколько дороже, чем тест с гваяковой смолой, но более привлекателен для

обследуемых, чем стандартный анализ кала на скрытую кровь, однако имеет технические ограничения. При этом образцы кала необходимо хранить в холодильнике до исследования, так как высокая температура увеличивает количество ложноположительных результатов [3]. Специфичность и чувствительность теста, по данным литературы, широко варьируют вследствие оценки этих параметров для неоплазий разных локализаций в кишечнике. Чувствительность теста колеблется от 5,4 до 98%, специфичность – от 77 до 99% [3].

Недостаток обоих методов выявления скрытой крови в кале – ложноположительные и ложноотрицательные результаты. Всем обследованным с положительным результатом рекомендовано пройти колоноскопию.

*Неинвазивные скрининговые методы на основе молекулярно-генетического и цитологического тестирования.* К сожалению, в настоящее время в РФ отсутствует стандарт ранней диагностики КРР. Профилактические эндоскопические исследования толстой кишки проводят редко, а колоноскопию назначают людям с явными симптомами поражения толстой кишки – паль-

Таблица 1

**Перечень биомаркеров для своевременной диагностики КРР**

Маркер	Тип маркера	Образец	Чувствительность, %	Специфичность, %
Meth <i>VIM</i> [17]	ДНК	Кал	41–73	89–95
Meth <i>SFRP2</i> [18]	ДНК	"	87–94	93–96
Meth <i>TFPI2</i> [19]	ДНК	"	76	-
Meth <i>Spastic paraplegia-20</i> [3]	ДНК	"	80	100
Meth <i>PHACTR3</i> [3]	ДНК	"	50–60	92–98
Meth <i>TFPI2</i> + long DNA [20]	ДНК	"	87	83
<i>APC</i> + <i>KRAS</i> + <i>p53</i> + long DNA [3]	ДНК	"	25–52	94–96
<i>APC</i> , <i>KRAS</i> , Meth <i>VIM</i> [21]	ДНК	"	58	63
Meth <i>SFRP2</i> , <i>HPPI</i> , <i>MGMT</i> [22]	ДНК	"	96	96
Meth <i>APC</i> , <i>ATM</i> , <i>hMLH1</i> , <i>sFRP2</i> , <i>HLTF</i> , <i>MGMT</i> и <i>GSTP1</i> [23]	ДНК	"	75	90
Meth vimentin, long DNA [3]	ДНК	"	83	82
Meth <i>RASSF2</i> или <i>SFRP2</i> [23]	ДНК	"	75	89
Meth <i>BMP3</i> , <i>hDNA</i> , <i>KRAS</i> , <i>APC</i> [3]	ДНК	"	91	85
Meth <i>VIM</i> , <i>MLH1</i> , <i>MGMT</i> [24]	ДНК	"	75	87
Meth <i>RARB2</i> , p16 <sup>INK4a</sup> , <i>MGMT</i> , <i>APC</i> [25]	ДНК	"	62	100
<i>KRAS</i> , $\alpha$ -actin, Meth <i>NDRG4</i> , <i>BMP3</i> , vimentin, <i>TFPI2</i> [26]	ДНК	"	85	90
$\beta$ -actin, <i>KRAS</i> , meth <i>BMP3</i> и <i>NDRG4</i> , гемоглобин в кале [27]	ДНК	"	98	90
<i>CDA</i> , <i>MGC20553</i> , <i>BANK1</i> , <i>BCNPI</i> , <i>MS4A1</i> [28]	РНК	Кровь	88	64
<i>ANXA3</i> , <i>CLEC4D</i> , <i>LMNB1</i> , <i>PRRG4</i> , <i>TNFAIP6</i> , <i>VNN1</i> , <i>IL2RB</i> [3]	РНК	Плазма	61–78	66–77
miRNA-21, miRNA-106a [14]	МикроРНК	Кал	74	79
MicroRNA-L6 [29]	МикроРНК	Плазма	79	100
miRNA-92 [30]	МикроРНК	"	89	70
miRNA-92a, miRNA-21 [31]	МикроРНК	Кал	72	73
<i>COX2</i> , <i>MMP-7</i> [13]	РНК	"	90	100
<i>APC</i> , <i>KRAS</i> , p53 [32]	ДНК	Плазма	465	100
<i>APC</i> мутации [3]	ДНК	"	73	100
<i>APC</i> , <i>MLH1</i> , <i>HLTF</i> [3]	ДНК	"	6-57	90–100
Meth <i>SEPT9</i> [3]	ДНК	"	58–96	85–90
<i>TMEF2</i> , <i>NGFR</i> , <i>SEPT9</i> [3]	ДНК	"	30–52	95
Meth <i>VIM</i> [17]	ДНК	"	59	93

Таблица 2

**Сравнение и анализ генов-мишеней для трех микроРНК человека, известных в качестве потенциальных биомаркеров для ранней диагностики КРР. Молекулярные пути (GO термины), содержащие наибольшее статистически значимое количество генов-мишеней, общих для трех микроРНК (см. рис. 1)**

Код молекулярного пути	Название молекулярного пути	Количество генов-мишеней, общих для miR-21, miR-106a, miR-92a
GO:0050793	Regulation of developmental process	9
GO:0010629	Negative regulation of gene expression	7
GO:0051252	Regulation of RNA metabolic process	11
GO:0032743	Positive regulation of interleukin-2 production	2
GO:0045595	Regulation of cell differentiation	6
GO:0042110	T cell activation	4
GO:0051147	Regulation of muscle cell differentiation	2
GO:0007179	Transforming growth factor beta receptor signaling pathway	3
GO:0022407	Regulation of cell-cell adhesion	2

пируемым образованием в проекции ободочной кишки, примесью видимой крови в кале, тенезмами, прогрессирующими запорами. Следует отметить, что врачам первого контакта свойственна низкая онкологическая настороженность в отношении КРР, и как следствие колоноскопия назначается с запозданием, а КРР в 70–93% случаев выявляют в запущенной III–IV стадии. Поскольку КРР считают одной из наиболее изученных онкологических нозологий, разработка неинвазивных скрининговых методов на основании полученных знаний по праву является актуальным вопросом практического здравоохранения. К биомаркерам нового поколения относят различные герминальные и соматические мутации, изменение экспрессии генов и микроРНК, а также эпигенетические метки. В качестве образцов для исследования рассматривают кал, кровь, плазму и мочу.

*Анализ ДНК в образцах кала.* Опухолевые клетки при КРР имеют высокий митотический индекс и низкую адгезию к базальной мембране, что приводит к их постоянному слущиванию. В отличие от анализа на скрытую кровь в кале, присутствие которой нерегулярно и есть риск получения ложноотрицательного результата, считают, что слущивающиеся опухолевые клетки присутствуют в кале практически всегда. С другой стороны, только 0,01% от общего количества ДНК в кале приходится на ДНК человека, весь остальной пул формируется из ДНК пищи и бактериальной флоры [3]. Из 0,01% только малая часть приходится на ДНК раковых клеток, а в случае полипов – совсем ничтожная. Это указывает на то, что тесты по выявлению маркеров КРР должны быть очень чувствительными.

Опираясь на уже известные молекулярные механизмы патогенеза КРР, в качестве биомаркеров для ранней диагностики рассматривали мутации генов *KRAS*, *APC*, *TP53* (табл. 1). Однако, несмотря на то что мутации *APC*, *TP53* присутствуют в подавляющем количе-

стве случаев КРР, сами мутации могут происходить по сотням различных положений, что сильно усложняет процесс молекулярно-генетического анализа и делает использование мутаций этих генов в клинической практике малопривлекательным. Другой молекулярный путь – aberrантное гиперметилование CpG-островков промоторов генов в ранних стадиях канцерогенеза. Гиперметилование CpG-островков привлекательно как мишень поиска биомаркеров именно в своевременной диагностике КРР. Более того, в отличие от анализа кала на скрытую кровь, характеризующегося низкой чувствительностью к проксимальным поражениям кишечника, анализ гиперметилирования не зависит от локализации поражения [3]. Третий подход – выявление так называемой длинной ДНК (long DNA). Известно, что апоптоз у неопластических клеток отличается от апоптоза у нормальных, для которых характерно расщепление и деградация ДНК. Неопластические клетки можно определить по наличию нерасщепленной длинной ДНК размером более 150–200 пар нуклеотидов. Чувствительность определения КРР по наличию в кале длинной ДНК превышает 80% (см. табл. 1). Главной проблемой анализа ДНК в кале в настоящее время является стоимость теста, а также потребность в специальном оборудовании и квалифицированных кадрах.

*Анализ уровней экспрессии РНК и микроРНК в кале.* Определение уровня экспрессии мРНК генов *COX-2* и *MMP-7* в образцах кала позволяет выявить больных КРР с чувствительностью теста более 90% [13]. МикроРНК – короткие не кодирующие белок РНК длинной 18–22 нуклеотида, регулирующие экспрессию гена на посттранскрипционном уровне [3]. Больные КРР имеют уникальный паттерн микроРНК, который может быть определен при анализе кала. В качестве мишеней микроРНК в настоящее время используют miRNA-21, miRNA-106a, Mi-croRNA-L6, miRNA-92, miRNA-92a. Чувствительность анализа, детектирующего повышенную экспрессию miRNA-21 и miRNA-106a, достигает 74%, а специфичность – 79% [14].

*Белок в кале.* Определение мутантных белков в кале – S100-кальцийсвязывающего белка A12 и тканевого ингибитора металлопротеиназы-1 – также предложен как метод выявления больных КРР. Чувствительность метода – 85%, специфичность – 95% [15].

Таблица 3

**Сравнение и анализ генов-мишеней для трех микроРНК человека, известных в качестве потенциальных биомаркеров для ранней диагностики КРР. Болезни, ассоциированные с общими генами-мишенями для трех микроРНК**

Болезнь	Количество генов-мишеней, общих для miR-21, miR-106a, miR-92a
Карцинома роговых клеток (carcinoma, squamous cell)	5
Опухоль слюнных желез (salivary gland neoplasms)	2
Опухоль поджелудочной железы (pancreatic neoplasms)	2
Опухоль печени (liver neoplasms)	2
Заболевания поджелудочной железы (pancreatic diseases)	2
Опухоль желудочно-кишечного тракта (digestive system neoplasms)	3

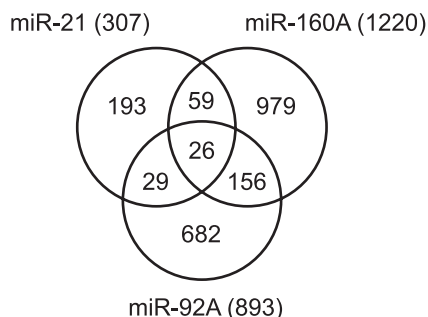


Рис. 1. Сравнение и анализ генов-мишеней для трех микроРНК человека, известных в качестве потенциальных биомаркеров для ранней диагностики КРР. Диаграмма Вена, показывающая сравнение числа генов-мишеней для трех микроРНК.

**Анализ крови и плазмы.** В отличие от образцов кала образцы крови и плазмы менее пригодны для скрининга и своевременного выявления КРР и непригодны для

выявления полипов. Тем не менее некоторые маркеры КРР в образцах плазмы и крови описаны в литературе. В качестве ДНК маркеров используют мутации гена *APC*, гиперметилирование *Septine 9* (см. табл. 1). По наличию высокого уровня микроРНК miR92 и MicroRNA-L6 можно с чувствительностью 89 и 79% соответственно выявить больных КРР (см. табл. 1).

**Анализ мочи.** ДНК раковых клеток может содержаться в моче. В. Р. Song и соавт. отметили, что гиперметилированная ДНК гена *VIM*, кодирующего виментин, статистически значимо чаще выявляется у больных КРР, чем в контроле ( $p < 0,0001$ ) [16].

**Потенциальные биомаркеры для своевременной диагностики КРР.** Для ряда молекулярно-генетических и цитогенетических факторов на сегодняшний день еще не оценены специфичность и чувствительность, однако потенциально они могут служить прогностическими биомаркерами.

**Цитогенетические маркеры.** Приобретение геномных нестабильностей может быть одной из причин развития КРР. Хромосомная нестабильность встречается в

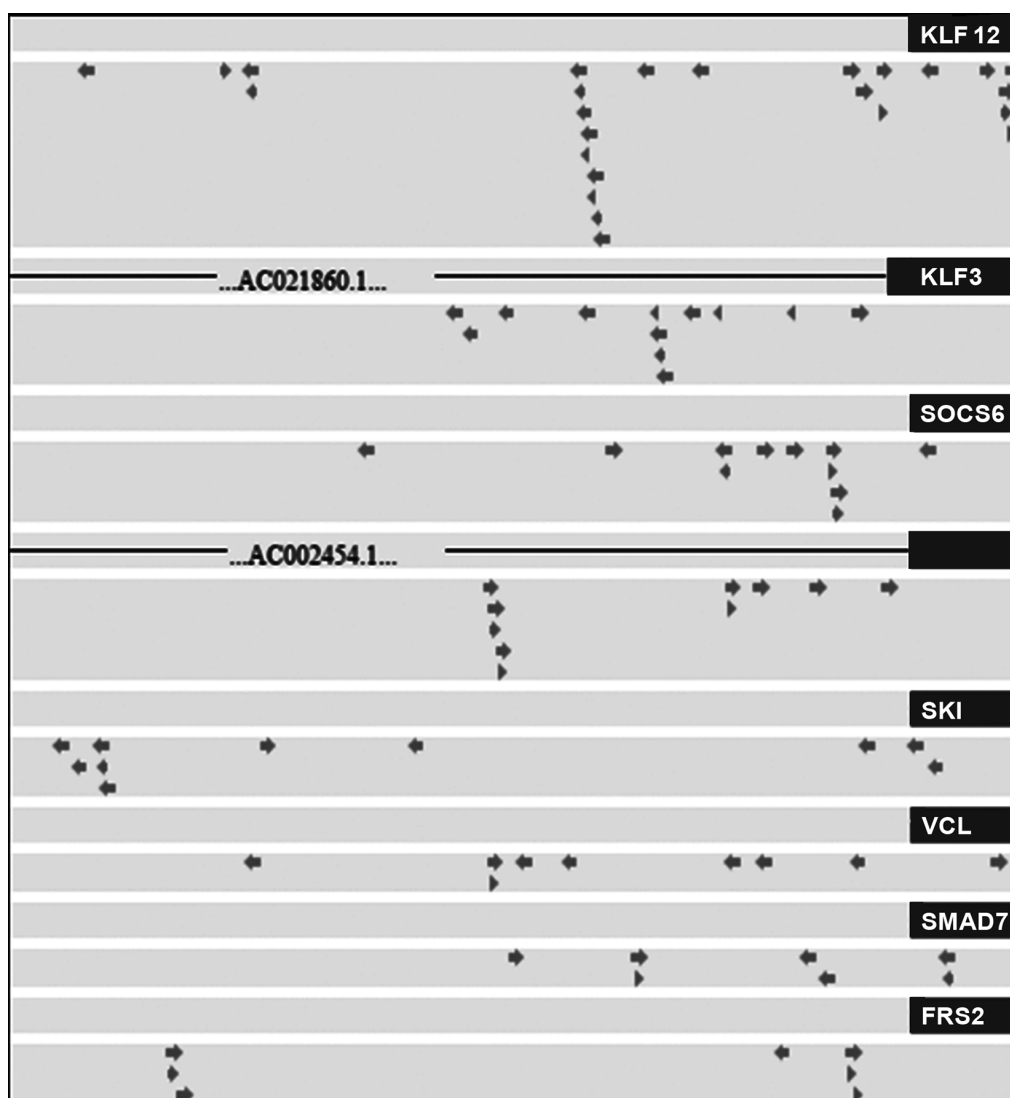


Рис. 2. Схема сайтов связывания транскрипционных факторов, найденных в промоторах (от -1000 до +100 относительно старта транскрипции) 26 общих генов-мишеней, общих для miR-21, miR-106a, miR-92a. Для каждого из генов на этой схеме показан промотор (белая полоса), начало 1-го экзона (серый прямоугольник) и сайты связывания для двух семейств факторов Klf и Vcl (обозначены стрелками).

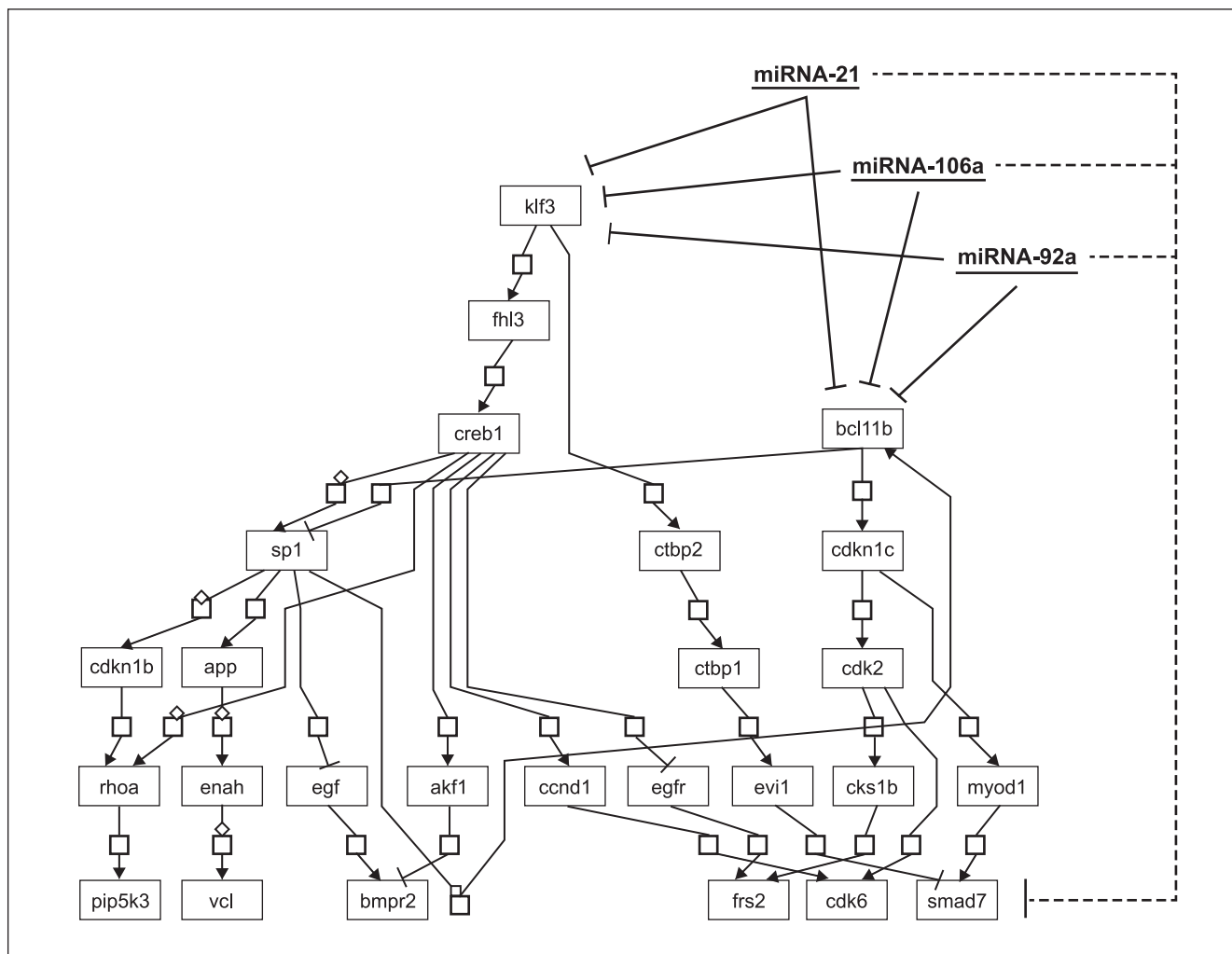


Рис. 3. СПС под контролем микроРНК, специфичных для КРР, и транскрипционных факторов, играющих важную роль в клеточной пролиферации и дифференцировке. Сеть построена на основе применения алгоритма поиска ключевых звеньев с использованием базы данных Gene Ways [41].

80–85% случаев КРР. Вследствие хромосомной нестабильности могут быть утеряны гены-супрессоры рака *APC*, *TP53*, *SMAD4* [33]. Отмечено, что накопление делеций в регионах 8q21, 15q11-q21, 17p12-13, 18q12-21 и вставок в 8q23, 13q14, 20q13 ассоциировано с трансформацией аденомы в карциному [34].

**Эпигенетические маркеры. Гиперметилирование CpG-островков.** Большинство CpG-островков у млекопитающих метилированы, однако есть области генома, где они не метилированы. Метилирование CpG-островков регуляторных областей изменяет ДНК/белоквзаимодействие и как следствие изменяет экспрессию генов. Выявлены 17 генов, промоторы которых при КРР гиперметилированы: *MGMT* (O-6-methylguanine-DNA methyltransferase), *hMLH1* (mut L homolog 1, colon cancer, nonpolyposis type 2 (*E. coli*)), *p16<sup>INK4a</sup>* (cyclin-dependent kinase inhibitor 2A (melanoma, p16, inhibits CDK4)), *MINT1* (methylated in tumor 1), *MINT31* (methylated in tumor 31), *COX2* (prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (prostaglandin G/H synthase and cyclooxygenase)), *cyclinA1*, *CDX1* (caudal type homeobox transcription factor 1), *RAR*-, *MYOD1* (myogenic factor 3), *p15<sup>INK4b</sup>* (cyclin-dependent kinase inhibitor 2B), *CDH13* (cadherin 13, N-cadherin (heart)), *CXX1* (CAAXbox 1), *p73* (tumor protein p73) и *WT1* (Wilmstumor1) [35].

**Модификация гистонов.** Ковалентную модификацию гистонов хроматина также относят к эпигенетическим изменениям. Ацетилирование гистонов приводит к активации участка хроматина, в то время как фосфорилирование серина 10 в гистоне H<sub>3</sub> коррелирует с инактивацией генов у млекопитающих, а метилирование лизина 9 в гистоне H<sub>3</sub> связано с выключением гена. В настоящее время описаны 2 гена, продукты которых участвуют в модификации гистонов, а изменение экспрессии генов ассоциировано с КРР. Эпигенетическая инактивация гена-супрессора опухоли *CDH5* (Chromodomain helicase DNA-binding protein 5) приводит к aberrантному структурному изменению хроматина в геномах больных КРР [36]. Вторым ген – *RGC-32* (Response gene to complement 32). У больных КРР в поздних стадиях выявлен высокий уровень продукта *RGC-32*. Продукт этого гена регулирует ген *CDC2*, ответственный за индукцию клеточного цикла. Также известно, что нокаут этого гена приводит к увеличению ацетилирования гистонов *H2BK5*, *H2BK15*, *H3K9*, *H3K18*, *H4K8*, а также уменьшению экспрессии *SIRT1* и триметилирования гистона *H3K27*. Кроме того, нокаут *RGC-32* вызывает вхождение SW480-клеток в S-фазу и впоследствии в G<sub>2</sub>/M. Эти данные подтверждают, что *RGC-32* может влиять на развитие КРР за счет регуляции хроматинового ансамбля [37].

Таблица 4

## Коммерческие тест-системы, направленные на своевременное выявление КРР и прогнозирование его течения

Тест	Компания-производитель	Биологический материал	Биомаркер	Чувствительность, %	Специфичность, %	URL
ColoSure™	«DNA Direct, Inc.» (США)	Кал	Метилирование гена Vimentin	77	83	<a href="http://www.biospace.com/News/dna-direct-announces-availability-of-colosuretm/111778">http://www.biospace.com/News/dna-direct-announces-availability-of-colosuretm/111778</a>
ColoVantage®	«Quest Diagnostic» (США)	Плазма	Метилирование гена SEPT9	70	89	<a href="http://www.questdiagnostics.com/home/physicians/testing-services/by-test-name/colovantage.html">http://www.questdiagnostics.com/home/physicians/testing-services/by-test-name/colovantage.html</a>
ColoPrint®	«Agendia Inc.» (США)	Опухоль	Экспрессия мРНК (MCTP1, LAMA3, CTSC, PYROX D1, EDEM1, IL2RB, ZNF697, SLC6A11, IL2RA, CYFIP2, PIM3, LIF, PLIN3, HSD3B1, ZBED4, PPARA, THNSL2, CA4388O2)	Прогностический классификатор (HR = 2,69; $p = 0,003$ )		<a href="http://www.agendia.com/managed-care/colon-cancer/coloprint/">http://www.agendia.com/managed-care/colon-cancer/coloprint/</a>
OncoType DX®	«Colon Cancer Alliance» (США)	"	Экспрессия мРНК (Ki-67, C-MYC, MYBL2, FAP, BGN, INHBA, GADD45B, ATP5E, PGK1, GPX1, UBB, VDAC2)	Прогностический классификатор (HR = 1,43; $p = 0,006$ )		<a href="http://www.ccalliance.org/treatment/surgery_oncotype.html">http://www.ccalliance.org/treatment/surgery_oncotype.html</a>
Previstage™	«DiagnoCure, Inc.» (США)	Лимфоузлы	Экспрессия мРНК гена GCC (GUCY2C)	92	98	<a href="http://www.diagnocure.com/en/products-projects/colorectal-cancer/colorectal-cancer.php">http://www.diagnocure.com/en/products-projects/colorectal-cancer/colorectal-cancer.php</a>
COLOGIG®	«CML Health Care» (Канада)	Кровь	Количество GTA-446 в крови	86	90	<a href="http://www.cologiclabtest.com/science.html">http://www.cologiclabtest.com/science.html</a>

**Полиморфные локусы.** Полиморфные локусы генов, ассоциированные с КРР, тоже могут выступать в роли биомаркеров в случае успешной валидации. К настоящему моменту выявлена ассоциация полиморфных локусов следующих генов и регионов генома: *GSTT1*, *GSTM1*, *COX2*, *MTHFR*, *NAT3*, *MTR*, *SMAD7*, *APC*, *IGF1*, 8q23.3, 8q24, 10p14, 11q23, 15q13, 14q22.2, 16q22.1, 18q21, 19q13.1, 20p12.3 [38].

**Анализ регуляторных механизмов патогенеза КРР.** Для выявления перспективных биомаркеров КРР, которые могли бы обеспечивать высокоточную диагностику патологии в ранних стадиях и давать устойчивые результаты для различных когорт пациентов, необходимо понимание регуляторных механизмов патогенеза КРР.

Нами проанализировано возможное взаимодействие в патогенезе КРР двух основных уровней регуляции экспрессии генов – регуляция на уровне транскрипции, осуществляемой в клетках транскрипционными факторами, и регуляция на посттранскрипционном уровне с помощью микроРНК. Особое внимание в последнее время привлекают регуляторные взаимодействия между микроРНК и транскрипционными факторами на основе так называемых сетей с прямым распространением сигнала (СПС) (feed-forward networks), которые обеспечивают стабильную регуляцию работы генов в различных клеточных состояниях в норме и при патологии [39]. СПС обычно включают несколько микроРНК, регулирующих активность своих генов-мишеней не только напрямую, но и посредством транскрипционных факторов, которые регулируют транскрипцию этих же генов-мишеней. Такая сложная регуляция обеспечивает особую устойчивость работы всей регуляторной системы, а нарушение работы таких СПС нередко приводит к патологии.

Нашей задачей было обнаружение потенциальных

СПС, возникающих при КРР, для выявления механизма патогенеза и выбора на основе этого механизма наиболее перспективных биомаркеров для неинвазивных методов определения КРР. В качестве одних из самых перспективных классов биомаркеров нами рассмотрены микроРНК с повышенной экспрессией при КРР, которые можно детектировать в плазме крови или кале. Из представленных в табл. 1 маркеров в настоящее время выявлены 3 основных микроРНК в качестве потенциальных ранних биомаркеров КРР – miRNA-21, miRNA-106a и miRNA-92a. Мы воспользовались базой данных TargetScan (<http://www.targetscan.org/>) и проанализировали списки мишеней этих трех микроРНК. На рис. 1 и в табл. 2 и 3 показан результат сравнения мишеней и функционального анализа общих генов-мишеней для этих трех микроРНК.

Выявили 26 генов, которые являются общими мишенями для трех рассматриваемых микроРНК. Примечательно, что среди них находится много генов, кодирующих транскрипционные факторы таких генов, как *BCL11B*, *CSRNP3*, *GATAD2B*, *KLF12*, *KLF3*, *NFAT5*, *NFIB*, *SMAD7*. Это свидетельствует о наличии сложной регуляции между микроРНК, транскрипционными факторами и их мишенями.

С целью выявления потенциальных механизмов регуляции транскрипции 26 генов проведен анализ их промоторов с помощью метода F-Match, разработанного нами ранее [40] и доступного в компьютерной среде «geneXplain platform» ([www.genexplain.com](http://www.genexplain.com)). На рис. 2 показаны результаты такого анализа и выделены 2 семейства транскрипционных факторов Klf и Vcl, сайты которых перепредставлены в промоторах 26 общих генов-мишеней, общих для miR-21, miR-106a, miR-92a, а сами эти факторы кодируются некоторыми из этих же генов, обеспечивая, таким образом, устойчивую саморегуляцию.

Выявленные в результате такого анализа взаимоотношения между микроРНК, транскрипционными факторами и генами-мишенями для обоих типов регуляторов хорошо описываются СПС, схематически показанной на рис. 3. В результате проведенного анализа можно сделать вывод о потенциальном возникновении одной или нескольких СПС при развитии КРР, которые, по-видимому, обеспечивают стабилизацию патологического состояния клеток. Дальнейшая экспериментальная валидация этих выявленных механизмов патогенеза КРР позволит подойти к вопросу подбора перспективных биомаркеров с рациональной точки зрения.

**Коммерческие тест-системы для выявления и прогнозирования течения КРР.** Имеется ряд коммерческих тест-систем, направленных на своевременное выявление КРР и прогнозирование его течения (табл. 4). ColoSure™ определяет метилирование гена *VIM*. Для теста необходим образец кала. Специфичность (83%) и чувствительность (77%) теста высоки, особенно по сравнению с анализом кала на скрытую кровь, для которого чувствительность варьирует в очень широком диапазоне. С помощью теста ColoVantage® определяют метилирование гена *Septin9* в образцах плазмы. Тест Previstage™ используют для определения стадии заболевания. На практике сложно определить наличие метастазов в регионарных лимфоузлах, экспрессия гена *GCC* коррелирует со стадией заболевания. ColoPrint® применяют для прогноза течения, а OncoType DX® – для прогнозирования рецидива у пациентов со II стадией КРР. Тест COLOGIC производится в Канаде, также доступен жителям Японии. Тест измеряет количество защитного метаболита в крови GTA-446 с помощью масс-спектрометра, при низком показателе пациента относят к группе риска развития КРР, и ему рекомендовано дальнейшее обследование. При количестве метаболита в пределах нормы рекомендуют проходить повторное тестирование каждые 2 года. Клинические исследования подтверждают высокую чувствительность (86%) и специфичность (90%) теста [42].

**Заключение.** КРР – самая распространенная онкологическая нозология. Подтверждено, что скрининговые методы, направленные на своевременное выявление КРР и аденоматозных полипов, существенно снижают смертность. В ряде стран разработаны рекомендации по проведению скрининговых процедур, однако они требуют значительной подготовки пациента перед исследованием с точки зрения как диеты, так и психологического настроения. В последнее десятилетие предложены техники, предусматривающие использование в качестве биомаркеров ДНК, РНК, микроРНК и белка в образцах плазмы, кала и мочи, которые потенциально могут увеличить комплаентность населения к скрининговым процедурам, а при успешной комбинации нескольких биомаркеров существенно повысить чувствительность и специфичность методов анализа.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы», Соглашение № 14.604.21.0101, уникальный идентификатор прикладных научных исследований (проект) RFMEFI60414X0101.*

#### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Siegel R., Ward E., Brawley O., Jemal A. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. *CA Cancer J. Clin.* 2011; 61: 212–6.

2. Bray F., Jemal A., Grey N., Ferlay J., Forman D. Global cancer transitions according to the Human Development Index (2008–2030): a population-based study. *Lancet Oncol.* 2012; 13: 790–801.
3. Binefa G., Rodríguez-Moranta F., Teule A., Medina-Hayas M. Colorectal cancer: from prevention to personalized medicine. *World J. Gastroenterol.* 2014; 20: 6786–808.
4. Vargas A.J., Thompson P.A. Diet and nutrient factors in colorectal cancer risk. *Nutr. Clin. Pract.* 2012; 27: 613–23.
5. Fearon E.R., Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell.* 1990; 61: 759–67.
6. Boland C.R., Sinicrope F.A., Brenner D.E., Carethers J.M. Colorectal cancer prevention and treatment. *Gastroenterology.* 2000; 118: S115–28.
7. Weisenberger D.J., Siegmund K.D., Campan M., Young J., Long T.I., Faasse M.A. et al. CpG island methylator phenotype underlies sporadic microsatellite instability and is tightly associated with BRAF mutation in colorectal cancer. *Nat Genet.* 2006; 38: 787–93.
8. Recommendations on cancer screening in the European union. Advisory Committee on Cancer Prevention. *Eur. J. Cancer.* 2000; 36: 1473–8.
9. Rockey D.C., Paulson E., Niedzwiecki D., Davis W., Bosworth H.B., Sanders L. et al. Analysis of air contrast barium enema, computed tomographic colonography, and colonoscopy: prospective comparison. *Lancet.* 2005; 365: 305–11.
10. Atkin W.S., Edwards R., Kralj-Hans I., Wooldrage K., Hart A.R., Northover J.M. et al. Once-only flexible sigmoidoscopy screening in prevention of colorectal cancer: a multicentre randomised controlled trial. *Lancet.* 2010; 375: 1624–33.
11. Rex D.K., Rahmani E.Y., Haseman J.H., Lemmel G.T., Kaster S., Buckeley J.S. Relative sensitivity of colonoscopy and barium enema for detection of colorectal cancer in clinical practice. *Gastroenterology.* 1997; 112: 17–23.
12. Rosman A.S., Korsten M.A. Meta-analysis comparing CT colonography, air contrast barium enema, and colonoscopy. *Am. J. Med.* 2007; 120: 203–10.e4.
13. Takai T., Kanaoka S., Yoshida K., Hamaya Y., Ikuma M., Miura N. et al. (2009) Fecal cyclooxygenase 2 plus matrix metalloproteinase 7 mRNA assays as a marker for colorectal cancer screening. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2009; 18: 1888–93.
14. Link A., Balaguer F., Shen Y., Nagasaka T., Lozano J.J., Boland C.R. et al. Fecal MicroRNAs as novel biomarkers for colon cancer screening. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2010; 19: 1766–74.
15. Karl J., Wild N., Tacke M., Andres H., Garczarek U., Rollinger W. et al. Improved diagnosis of colorectal cancer using a combination of fecal occult blood and novel fecal protein markers. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2008; 6: 1122–8.
16. Song B.P., Jain S., Lin S.Y., Chen Q., Block T.M., Song W. et al. Detection of hypermethylated vimentin in urine of patients with colorectal cancer. *J. Mol. Diagn.* 2012; 14: 112–9.
17. Li M., Chen W.D., Papadopoulos N., Goodman S.N., Bjerregaard N.C., Laurberg S. et al. Sensitive digital quantification of DNA methylation in clinical samples. *Nat. Biotechnol.* 2009; 27: 858–63.
18. Wang D.R., Tang D. Hypermethylated SFRP2 gene in fecal DNA is a high potential biomarker for colorectal cancer noninvasive screening. *World J. Gastroenterol.* 2008; 14: 524–31.
19. Glöckner S.C., Dhir M., Yi J.M., McGarvey K.E., Van Neste L., Louwagie J. et al. Methylation of TFPI2 in stool DNA: a potential novel biomarker for the detection of colorectal cancer. *Cancer Res.* 2009; 69: 4691–9.
20. Zhang J., Yang S., Xie Y., Chen X., Zhao Y., He D. et al. Detection of methylated tissue factor pathway inhibitor 2 and human long DNA in fecal samples of patients with colorectal cancer in China. *Cancer Epidemiol.* 2012; 36: 73–7.
21. Ahlquist D.A., Sargent D.J., Loprinzi C.L., Levin T.R., Rex D.K., Ahnen D.J. et al. Stool DNA and occult blood testing for screen detection of colorectal neoplasia. *Ann. Intern. Med.* 2008; 149: 441–50, W81.
22. Huang Z., Li L., Wang J. Hypermethylation of SFRP2 as a potential marker for stool-based detection of colorectal cancer and precancerous lesions. *Dig. Dis. Sci.* 2007; 52: 2287–91.
23. Nagasaka T., Tanaka N., Cullings H.M., Sun D.S., Sasamoto H., Uchida T. et al. Analysis of fecal DNA methylation to detect gastrointestinal neoplasia. *J. Natl. Cancer Inst.* 2009; 101: 1244–58.
24. Baek Y.H., Chang E., Kim Y.J., Kim B.K., Sohn J.H., Park D.I. Stool methylation-specific polymerase chain reaction assay for the detection of colorectal neoplasia in Korean patients. *Dis. Colon. Rectum.* 2009; 52: 1452–9; discussion 1459–63.
25. Azuara D., Rodriguez-Moranta F., de Oca J., Soriano-Izquierdo A., Mora J., Guardiola J. et al. (2010) Novel methylation panel for the



- early detection of colorectal tumors in stool DNA. *Clin. Colorectal Cancer*. 2010; 9: 168–76.
26. Ahlquist D.A., Zou H., Domanico M., Mahoney D.W., Yab T.C., Taylor W.R. et al. Next-generation stool DNA test accurately detects colorectal cancer and large adenomas. *Gastroenterology*. 2012; 142: 248–56; quiz e25–6.
  27. Lidgard G.P., Domanico M.J., Bruinsma J.J., Light J., Gagrat Z.D., Oldham-Haltom R.L. et al. Clinical performance of an automated stool DNA assay for detection of colorectal neoplasia. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2013; 11: 1313–8.
  28. Han M., Liew C.T., Zhang H.W., Chao S., Zheng R., Yip K.T. et al. Novel blood-based, five-gene biomarker set for the detection of colorectal cancer. *Clin. Cancer Res.* 2008; 14: 455–60.
  29. Schiadeck T.H.K., Wellm C., Roblick U.J., Broll R., Bruch H.P. Diagnosis and monitoring of colorectal cancer by L6 blood serum polymerase chain reaction is superior to carcinoembryonic antigen-enzyme-linked immunosorbent assay. *Dis Colon Rectum*. 2003; 46: 818–25.
  30. Ng E.K., Chong W.W.S., Jin H., Lam E.K.Y., Shin V.Y., Yu J. et al. Differential expression of microRNAs in plasma of patients with colorectal cancer: a potential marker for colorectal cancer screening. *Gut*. 2009; 58: 1375–81.
  31. Wu C.W., Ng S.S., Dong Y.J., Ng S.C., Leung W.W., Lee C.W. et al. Detection of miR-92a and miR-21 in stool samples as potential screening biomarkers for colorectal cancer and polyps. *Gut*. 2012; 61: 739–45.
  32. Wang J.Y., Hsieh J.S., Chang M.Y., Huang T.J., Chen F.M., Cheng T.L. et al. Molecular detection of APC, K-ras, and p53 mutations in the serum of colorectal cancer patients as circulating biomarkers. *World J. Surg.* 2004; 28: 721–6.
  33. Markowitz S.D., Bertagnoli M.M. Molecular origins of cancer: Molecular basis of colorectal cancer. *N. Engl. J. Med.* 2009; 361: 2449–60.
  34. Hermsen M., Postma C., Baak J., Weiss M., Rapallo A., Sciotto A. et al. Colorectal adenoma to carcinoma progression follows multiple pathways of chromosomal instability. *Gastroenterology*. 2002; 123: 1109–19.
  35. Xu X.L., Yu J., Zhang H.Y., Sun M.H., Gu J., Du X. et al. Methylation profile of the promoter CpG islands of 31 genes that may contribute to colorectal carcinogenesis. *World J. Gastroenterol.* 2004; 10: 3441–54.
  36. Mulero-Navarro S., Esteller M. Chromatin remodeling factor CHD5 is silenced by promoter CpG island hypermethylation in human cancer. *Epigenetics*. 2008; 3: 210–5.
  37. Vlaicu S.I., Tegla C.A., Cudrici C.D., Fosbrink M., Nguyen V., Azimzadeh P. et al. Epigenetic modifications induced by RGC-32 in colon cancer. *Exp. Mol. Pathol.* 2010; 88: 67–76.
  38. Migliore L., Migheli F., Spisni R., Coppè F. Genetics, cytogenetics, and epigenetics of colorectal cancer. *J. Biomed. Biotechnol.* 2011; 2011: 792362.
  39. Sun J., Gong X., Purow B., Zhao Z. Uncovering MicroRNA and Transcription Factor Mediated Regulatory Networks in Glioblastoma. *PLoS Comput. Biol.* 2012; 8: e1002488.
  40. Kel A., Voss N., Jauregui R., Kel-Margoulis O., Wingender E. Beyond microarrays: find key transcription factors controlling signal transduction pathways. *BMC Bioinformatics*. 2006; 7(2): S13.
  41. Iossifov I., Rodriguez-Esteban R., Mayzus I., Millen K.J., Rzhetsky A. Looking at cerebellar malformations through text-mined interactomes of mice and humans. *PLoS Comput. Biol.* 2009; 5: e1000559.
  42. Ritchie S.A., Tonita J., Alvi R., Lehotay D., Elshoni H., Myat S. et al. Low-serum GTA-446 anti-inflammatory fatty acid levels as a new risk factor for colon cancer. *Int. J. Cancer*. 2013; 132: 355–62.

Поступила 15.02.15  
Received 15.02.15

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 616.72-007.17-092:612.015.311-074

Гасанова А. Г., Матвеева Е. Л., Спиркина Е. С.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МИНЕРАЛЬНОГО ОБМЕНА У БОЛЬНЫХ С ДЕГЕНЕРАТИВНО-ДИСТРОФИЧЕСКИМИ ПОРАЖЕНИЯМИ СУСТАВОВ

ФГБУ «Российский научный центр "Восстановительная травматология и ортопедия" им. акад. Г. А. Илизарова», Минздрова России, 640014, Курган

*Изучение показателей минерального обмена у больных с дегенеративно-дистрофическими поражениями суставов показало, что при развитии остеоартрозного процесса происходит изменение показателей концентрации электролитов в сыворотке крови, моче и синовиальной жидкости. II стадия процесса характеризуется максимальными изменениями показателей; значимым коэффициентом корреляции оказался показатель связи концентрации фосфат-иона и индекса фосфатаз сыворотки крови.*

**Ключевые слова:** остеоартроз; минеральный обмен; кальций; фосфор; кислая фосфатаза; щелочная фосфатаза; синовиальная жидкость; сыворотка крови.

**Для цитирования:** Клиническая лабораторная диагностика. 2015; 60(12): 23–25.

*Gasanova A.G., Matveeva E.L., Spirikina E.S.*

### THE ANALYSIS OF INDICATORS OF MINERAL METABOLISM IN PATIENTS WITH DEGENERATIVE DYSTROPHIC AFFECTIONS OF JOINTS

The academician G.A. Ilizarov Russian research center "Restorative traumatology and orthopedics" of Minzdrav of Russia, 640014 Kurgan, Russia

*The analysis of indicators of mineral metabolism in patients with degenerative dystrophic affections of joints demonstrated that under development of osteoarthritis process the alteration of indicators of concentration of electrolytes in blood serum, urine and synovial fluid occurs. The stage II of process is characterized by maximal alterations of indicators. The indicator of relationship between concentration of phosphate-ion and index of phosphatases of blood serum turned out the significant coefficient of correlation.*

**Key words:** phosphorus; mineral metabolism; calcium; osteoarthritis; acid phosphatase; alkaline phosphatase; synovial fluid; blood serum

**Citation:** *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2015; 60 (12): 23–25. (in Russ.)

Для корреспонденции: Гасанова А.Г., gasanova.08@mail.ru

For correspondence: Gasanova A.G. gasanova.08@mail.ru