

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 616.329-006.4-092]:577.21.08

Осминин С.В.¹, Ветшев Ф.П.¹, Руденко В.В.³, Залетаев Д.В.¹, Хоробрых Т.В.¹, Немцова М.В.^{2,3}

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СЛИЗИСТОЙ ПИЩЕВОДА КАК МАРКЕРЫ ОНКОЛОГИЧЕСКОЙ ПРОГРЕССИИ И ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИРЕФЛЮКСНЫХ ОПЕРАЦИЙ У БОЛЬНЫХ ПИЩЕВОДОМ БАРРЕТТА

¹ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава РФ, 119991, Москва;

²ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» Минздрава РФ, 125993, Москва;

³ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», 115478, Москва, Российская Федерация

В основе развития заболевания пищеводом Барретта (ПБ) лежат процессы метаплазии эпителия пищевода, при которых вследствие рефлюкса желудочного сока и желчных кислот нормальный плоскоклеточный эпителий пищевода замещается цилиндрическим эпителием кишечного типа. Затем ПБ прогрессирует до дисплазии и аденокарциномы (АК) пищевода. Прогрессия от предраковых состояний до опухоли связана с появлением в клетках нарушений генома, которые ассоциированы со злокачественной трансформацией. Генетические и эпигенетические изменения, обуславливающие опухолевый рост, могут служить маркерами прогноза клинического течения заболевания. Чтобы получить возможные маркеры прогрессии ПБ, мы исследовали метилирование генов-супрессоров опухолевого роста MGMT, CDH1, p16/CDKN2A, DAPK, RAR-β и RUNX3 у больных с ПБ и АК пищевода, а также оценивали эффективность проведенного антирефлюксного хирургического лечения. Аномальное метилирование исследуемой генетической панели у больных ПБ до хирургического лечения достоверно чаще наблюдали в измененном эпителии по сравнению с неизменным ($p < 0,0001$), при дисплазии по сравнению с метаплазией ($p = 0,0358$) и при наличии длинных (>3 см) сегментов измененного эпителия по сравнению с короткими (<3 см) ($p = 0,0068$). В нормальном эпителии до операции аномальное метилирование панели генов определяли у 7 (12%) из 60 пациентов. На фоне оперативного лечения достоверно уменьшилось количество длинных и коротких сегментов измененного эпителия пищевода ($p < 0,05$), причем в коротких сегментах после операции частота метилирования значительно возросла ($p = 0,0068$). Хотя после операции снизилось количество больных ПБ с дисплазией и метаплазией, однако частота аномального метилирования у остальных пациентов выросла. Нами показано, что антирефлюксная операция улучшает состояние слизистой пищевода при ПБ, однако в случаях без регрессии происходит значительное увеличение частоты аномального метилирования исследуемой панели генов. Это доказывает, что аномальное метилирование системы генов связано с худшим ответом на проведение антирефлюксного оперативного лечения.

Ключевые слова: пищевод Барретта; метаплазия; дисплазия; аномальное метилирование; гены-супрессоры опухолевого роста; антирефлюксная хирургия; панель молекулярных маркеров.

Для цитирования: Осминин С.В., Ветшев Ф.П., Руденко В.В., Залетаев Д.В., Хоробрых Т.В., Немцова М.В. Молекулярно-генетические изменения в слизистой пищевода как маркеры онкологической прогрессии и оценки эффективности антирефлюксных операций у больных пищеводом Барретта. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016;61(10): 681-685

DOI 10.18821/0869-2084-2016-61-10-681-685

Osminin S.V.¹, Vetshev F.P.¹, Rudenko V.V.³, Zaletaev D.V.¹, Khorobrykh T.V.¹, Nemtsova M.V.^{2,3}

THE MOLECULAR GENETIC ALTERATIONS IN MUCOSA OF INTESTINES AS MARKERS OF ONCOLOGIC PROGRESSION AND ESTIMATE OF EFFECTIVENESS OF ANTI-REFLUX OPERATIONS IN PATIENTS WITH BARRETT'S ESOPHAGUS

¹The I.M. Sechenov first Moscow state medical university of Minzdrav of Russia, 119992, Moscow, Russia

²The Russian medical academy of post-graduate education of Minzdrav of Russia, 123995 Moscow, Russia

³The medical genetic research center, 115478 Moscow, Russia

The development of disease of Barrett's esophagus is based on processes of metaplasia of epithelium of esophagus when as a result of reflux of gastric juice and bile acids the normal planocellular epithelium of esophagus is replaced by cylindrical epithelium of intestinal type. Thereupon, Barrett's esophagus is progressing up to dysplasia and adenocarcinoma of esophagus. The progression from precancerous states up to tumor is related to development of genome disorders in cells associated with malignant transformation. The genetic and epigenetic alterations conditioning tumor growth can be used as markers of prognosis of clinical course of disease. To receive possible markers of progression of Barrett's esophagus the study was organized concerning methylation of such genes-suppressors of tumor growth as MGMT, CDH1, p16/CDKN2A, DAPK, RAR-β and RUNX3 in patients with Barrett's esophagus and adenocarcinoma of esophagus. The effectiveness of applied anti-reflux surgical treatment was evaluated too. The abnormal methylation of studied genetic panel in patients with Barrett's esophagus prior to surgical treatment was observed reliably more frequently in altered epithelium as compared with unaltered epithelium ($p < 0.0001$), under dysplasia as compared with metaplasia ($p < 0.0358$) and in the presence of long (>3 cm) segments of altered epithelium as compared with short (<3 cm) segments ($p = 0.0068$). In normal epithelium, prior to operation, abnormal methylation of panel of genes was detected in 7/60 (12%) of patients. Against the background of surgical treatment number of long and short segments of altered epithelium of esophagus reliably decreased ($p < 0.05$). At that, in short segments after operation rate of methylation increased significantly ($p = 0.0068$). Though after operation number of patients with Barrett's esophagus and dysplasia and metaplasia decreased, the rate of abnormal

Для корреспонденции: Немцова Марина Вячеславовна, д-р биол. наук, проф. каф. медицинской генетики ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава РФ, e-mail: nemtsova_m_v@mail.ru

methylation in the other patients increased. It is demonstrated that anti-reflux operation ameliorates condition of mucous membrane of esophagus under Barrett's esophagus. However, in cases without regression significant increasing of rate of abnormal methylation of studied panel of genes is occurred. This is a proof that abnormal methylation of system of genes is related to worse response to application of anti-reflux surgical treatment.

Key words: *Barrett's esophagus; metaplasia; dysplasia; abnormal methylation; gene-suppressor of tumor growth; anti-reflux surgery; panel of molecular markers*

For citation: Osminin S.V., Vetshev F.P., Rudenko V.V., Zaletaev D.V., Khorobrykh T.V., Nemtsova M.V. The molecular genetic alterations in mucosa of intestines as markers of oncologic progression and estimate of effectiveness of anti-reflux operations in patients with Barrett's esophagus. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)* 2016; 61 (10): 681-685. (in Russ.). DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-10-681-685

For correspondence: *Nemtsova M.V.*, doctor of biological sciences, professor of the chair of medical genetics of the Russian medical academy of post-graduate education of Minzdrav of Russia, e-mail: nemtsova_m_v@mail.ru

Conflict of interests. *The authors declare absence of conflict of interests.*

Financing. *The study had no sponsor support.*

Received 21.04.2016
Accepted 15.05.2016

Введение. Рак пищевода занимает шестое место в мировой статистике причин смерти от онкологических заболеваний и располагается на восьмой позиции среди наиболее распространенных видов рака [1]. В течение последних трех десятилетий существенно изменялся «гистологический портрет» рака пищевода, произошло снижение заболеваемости плоскоклеточным раком на фоне возросшей в 6 раз частоты аденокарциномы пищевода [2]. Пятилетняя выживаемость при аденокарциноме пищевода зачастую не превышает 15—25%, что обусловлено поздней диагностикой заболевания и быстрой, анатомически обоснованной, диссеминацией опухолевого процесса.

Известно, что пищевод Барретта (ПБ) является предшественником аденокарциномы (АК) пищевода, увеличивая риск ее развития в 30—125 раз [3]. В основе развития ПБ лежат процессы метаплазии эпителия пищевода, при которых под действием различных факторов нормальный плоскоклеточный эпителий замещается цилиндрическим эпителием кишечного типа, затем ПБ прогрессирует до стадии дисплазии и до АК пищевода [4]. В эмбриогенезе пищевода изначально выстилали цилиндрические клетки мерцательного эпителия, которые заменялись многослойным плоским эпителием в процессе развития, а при ПБ происходит обратный процесс [5]. Метаплазия является защитной реакцией эпителия при хроническом воспалении, возникающем вследствие рефлюкс-эзофагита, которым страдает до 62% населения развитых стран [6]. Рефлюкс-эзофагит — это патологический заброс кислот желудочного сока и желчи в пищевод в результате нарушения клапанного механизма кардиального отдела желудка. Частота выявления ПБ при эндоскопическом исследовании может достигать 32%, а при аутопсии составляет 376 на 100 тыс. человек [7].

Переключение фенотипа клеток эпителия с плоскоклеточного на цилиндрический происходит из-за изменения экспрессии ряда ключевых генов-регуляторов фенотипа [5]. Аномальная экспрессия генов, наблюдаемая в эпителии при ПБ, возвращается к норме после выполнения антирефлюксных операций, что подтверждает возможность регенерации эпителия при устранении факторов развития хронического воспаления [8, 9]. Однако в ряде случаев независимо от проведенного лечения происходит прогрессия ПБ в дисплазию и далее в АК пищевода. Прогрессия предраковых состояний до опухолей связана с появлением в клетках нарушений генома, которые ассоциированы со злокачественной трансформацией. Генетические и эпигенетические изменения, обуславливающие опухолевый рост, могут служить маркерами раннего определения и клинического течения заболевания.

Нарушение метилирования генов-супрессоров является одним из ранних событий канцерогенеза, его можно опреде-

лить до клинического проявления опухолевого роста, в таких предопухолевых поражениях, как метаплазия и дисплазия. Чтобы получить возможные маркеры прогрессии ПБ, мы исследовали метилирование генов-супрессоров опухолевого роста *MGMT*, *CDH1*, *p16/CDKN2A*, *DAPK*, *RAR-β* и *RUNX3* у больных ПБ с метаплазией, ПБ с дисплазией и АК пищевода.

Материал и методы. У 60 больных, оперированных в клинике факультетской хирургии им. Н.Н. Бурденко Первого МГМУ им. И.М. Сеченова по поводу рефлюкс-эзофагита, осложненного ПБ, до и после хирургического лечения выполняли исследование метилирования генов *MGMT*, *CDH1*, *p16/CDKN2A*, *DAPK*, *RAR-β* и *RUNX3* в измененном и неизменном эпителии пищевода. Из 60 пациентов с ПБ у 32 определяли метаплазию эпителия пищевода, у 28 — дисплазию эпителия. При хирургическом лечении пациентам традиционным или лапароскопическим методом выполняли антирефлюксную операцию по принятой в клинике методике. В дооперационном и послеоперационном периоде у всех больных проводилось эндоскопическое исследование длины измененных сегментов слизистой пищевода, их протяженность до 3 см определялась как короткие сегменты, свыше 3 см — как длинные сегменты. Для получения материала пациентам с ПБ при эндоскопическом исследовании до и после оперативного лечения выполняли четырехквadrантную биопсию из участков визуально измененной и нормальной слизистой оболочки дистальных отделов пищевода. После операции забор материала у пациентов с ПБ осуществляли в период от 6 до 54 мес.

Также аномальное метилирование генов *MGMT*, *CDH1*, *p16/CDKN2A*, *DAPK*, *RAR-β* и *RUNX3* исследовали в операционных образцах у 34 больных с АК пищевода. В зависимости от локализации опухоли больным АК пищевода проводили трансторакальную или транسخиатальную экстирпацию пищевода с одномоментной пластикой желудочной трубкой с лимфаденэктомией 2S или 2F, образцы эпителия получали из макропрепарата.

Аномальное метилирование панели генов исследовали методом многократной метилчувствительной ПЦР, с использованием рестрикционной эндонуклеазы HpaII, на ДНК, полученной из всех образцов ткани пищевода по стандартной методике [10].

Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием программы Prism 6 (GraphPad-Prism version 6.0). Сравнение по частоте встречаемости метилирования между двумя независимыми группами определяли с помощью точного двустороннего критерия Фишера, для сравнения более чем двух независимых групп использовали двусторонний тест χ^2 или тест Краскела—Уоллиса. Для всех использованных тестов достоверными считали различия при

Результаты исследования аномального метилирования генов *MGMT*, *CDH1*, *p16/CDKN2A*, *DAPK*, *RAR-β* и *RUNX3* у пациентов с пищеводом Барретта и аденокарциномой пищевода

Показатель	Признак (число больных)	Met+	Met-	<i>p</i>	
Пациенты	ПБ (60)	36	24	н.д.	
	АК (34)	22	12		
Стадии АК (TNM 2009)					
IA	2	—	2	0,0084	
IIA	4	2	2		
IIIB	10	4	6		
IIIC	10	10	—		
IV	8	6	2		
До лечения					
1-я	Метаплазия (32/60)	15	17	0,0358	
	Дисплазия (28/60)	21	7		
2-я	Нормальный эпителий (60)	7	53	0,0001	
	Измененный эпителий (60)	31	29		
3-я	Длинные сегменты (18/60)	17	1	0,0068	
	Короткие сегменты (42/60)	19	23		
После лечения					
1-я	Метаплазия (13)	10	3	н. д.	
	Дисплазия (5)	5	0		
2-я	Нормальный эпителий (60)	4	56	0,0194	
	Измененный эпителий (60)	14	46		
	Длинные сегменты (6)	4	2		н. д.
	Короткие сегменты (12)	11	1		

Примечание. н.д. — результаты сравнения недостоверны; 1–3-я – группы.

$p \leq 0,05$. Прогностическая ценность маркера метилирования определялась по критериям чувствительности (Ч) и специфичности (С), рассчитываемым по формулам $Ч = ИП/(ИП + ЛО)$ и $С = ИО/(ИО + ЛП)$ соответственно, где ИП — метилирование, выявленное в группе пациентов, не ответивших на хирургическую коррекцию морфологическим восстановлением дис-/метапластической ткани (истинноположительные результаты); ЛО — пациенты без метилирования до лечения, не ответившие на хирургическую коррекцию морфологическим восстановлением дис-/метапластической ткани (ложноотрицательные результаты); ИО — пациенты без метилирования до лечения, ответившие морфологическим восстановлением дис-/метапластической ткани до нормальной (истинноотрицательные результаты); ЛП — метилирование, выявленное в группе пациентов, ответивших на хирургическую коррекцию морфологическим восстановлением дис-/метапластической ткани (ложноположительные результаты).

Результаты. Для определения возможности использования аномального метилирования в качестве маркера для прогнозирования прогрессии ПБ в АК пищевода мы изучили

метилирование генов *MGMT*, *CDH1*, *p16/CDKN2A*, *DAPK*, *RAR-β* и *RUNX3* в измененном и неизменном эпителии пищевода при ПБ до и после хирургического лечения, а также при АК. Пациенты с аномальным метилированием хотя бы одного гена из предложенной системы составили группу мет+, а без метилирования — группу мет-. Полученные результаты представлены в таблице.

Аномальное метилирование генетической панели наблюдалось у 22 (65%) из 34 больных АК пищевода. Выявлено достоверное возрастание частоты метилирования генетических маркеров по мере прогрессирования стадии опухолевого процесса от IA и IIA до IIIC и IV ($p = 0,0084$) (рис. 1).

Корреляция между частотой аномального метилирования и увеличением стадии АК пищевода подтверждается данными о накоплении генетических и эпигенетических повреждений с ростом и прогрессией опухоли. Преобладания аномального метилирования какого-либо одного гена в зависимости от стадии рака пищевода выявить не удалось, возможно, это связано с ограниченной 34 наблюдениями выборкой пациентов.

Аномальное метилирование исследуемой генетической панели у больных ПБ до хирургического лечения достоверно чаще наблюдали в измененном эпителии по сравнению с неизменным ($p = 0,0001$), при дисплазии по сравнению с метаплазией ($p = 0,0358$) и при наличии длинных (более 3 см) сегментов измененного эпителиа по сравнению с короткими (менее 3 см) ($p = 0,0068$). В нормальном эпителии до операции аномальное метилирование панели генов определяли у 7 (12%) из 60 пациентов.

После проведенного хирургического лечения достоверно уменьшилось количество больных с метаплазией и дисплазией эпителиа пищевода ($p < 0,0001$). В измененном эпителии наблюдали статистически значимое снижение частоты метилирования после лечения ($p = 0,0024$) (рис. 2). При сравнении измененного и неизменного эпителиа после лечения частота аномального метилирования в измененном эпителии осталась достоверно выше ($p = 0,0194$).

После лечения ПБ с метаплазией определяли в 10 случаях, а ПБ с дисплазией — в 5 случаях. При этом у 7 (12%) из 60 пациентов, имеющих аномальное метилирование в нормальном эпителии до лечения, у 4 (6%) из 60 больных его наблюдали и после операции. Визуально же у всех 4 больных отмечали некоторую регрессию воспалительных изменений в пищеводе. После оперативного лечения в измененном эпителии у двух больных с метаплазией и одного с дисплазией при гистологическом исследовании регрессии выявлено не было, лишь у одного пациента с дисплазией до операции после лечения диагностировали метаплазию клеток эпителиа.

На фоне оперативного лечения достоверно уменьшилось

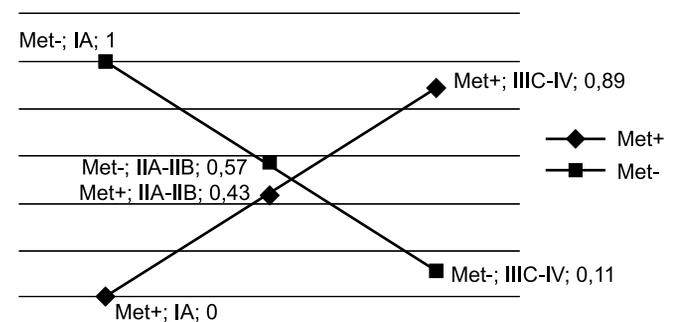


Рис. 1. Изменение частоты аномального метилирования панели маркеров в зависимости от стадии аденокарциномы пищевода, *p* (уровень достоверности, указан под стадией рака пищевода).

БИОХИМИЯ



Рис. 2. Частота метилирования панели исследуемых генов до и после лечения у пациентов с ПБ (в %). По оси ординат — число пациентов ПБ.

количество длинных и коротких сегментов измененного пищевода ($p < 0,05$). Причем в коротких сегментах после операции частота метилирования у 11 (91%) из 12 значительно возросла по сравнению с частотой до лечения ($p = 0,0068$). Хотя после операции количество больных ПБ с дисплазией снизилось с 28 до 5, однако все больные попали в группу мет+. Частота метилирования у пациентов с метаплазией после операции также выросла — до 10 (76%) из 13. У больных с длинными сегментами ПБ после операции аномальное метилирование выявляли у 4 (66%) из 6, а у больных с короткими сегментами — у 11 (91%) из 12.

Частоты метилирования каждого гена у пациентов с АК пищевода, ПБ с метаплазией и ПБ с дисплазией представлены на рис. 3.

Из проведенного исследования видно, что чаще всего во всех трех группах выявляли метилирование гена *MGMT* (53% при ПБ с метаплазией, 57% при ПБ с дисплазией и 54% при АК пищевода). Метилирование гена *RAR-β* не было выявлено у пациентов с ПБ с метаплазией, частота его увеличивалась с 5% при ПБ с дисплазией до 15% при АК пищевода, также как и частота метилирования гена *DAPK*, которая нарастала от ПБ с метаплазией (7%) до ПБ с дисплазией (9%) и АК пищевода (18%). Наибольшая частота метилирования гена *RUNX3* была характерна для ПБ с дисплазией (52%).

Интересно отметить, что среди у 6 (10%) из 60 больных с триадой Saint (сочетание грыжи пищеводного отверстия диафрагмы, желчнокаменной болезни и дивертикулеза кишечника), а также при сочетании атрофического гастрита, бульбита и/или язвы двенадцатиперстной кишки аномальное метилирование системы наблюдали достоверно чаще ($p = 0,0181$).

Обсуждение. Изменение клеточного фенотипа при метаплазии и дисплазии ПБ, а также прогрессия до АК пищевода происходят вследствие изменения в клетке экспрессии ряда генов в результате их перестроек, накопления мутаций или эпигенетической инактивации. Накопленные изменения клеточного генома можно выявить лабораторными методами и составить из них систему маркеров, ассоциированную с клиническим поведением опухоли, ее прогрессией, инвазией или метастазированием. Современное развитие лабораторных методов исследования, в том числе и полногеномных, позволяет определить гены и их продукты, которые отличают опухолевые и предопухольные изменения. Опубликованные в 2011 г. результаты полногеномных исследования профилей метилирования ДНК при ПБ и АК пищевода показали значительные различия в профилях метилирования генов при этих процессах, а также позволили идентифицировать десятки генов, метилирование которых различается при этих состояниях [11]. Однако чтобы собрать метилированные гены в системы, которые можно использовать в практической медицине, необходимо проводить их исследование на

различных выборках больных с получением статистически значимых ассоциаций. Гены, используемые нами в системе, характеризуются высокой частотой метилирования и клинически значимыми ассоциациями.

Исследователи определили метилирование 9 генов (*APC*, *CDKN2A*, *ID4*, *MGMT*, *RBPI*, *RUNX3*, *SFRP1*, *TIMP3*, *TMEFF2*) в образцах пациентов с ПБ, АК пищевода и в нормальном эпителии и установили, что частота метилирования для *CDKN2A* и *RUNX3* была значительно выше для АК по сравнению с образцами пациентов с ПБ [12]. В своем исследовании мы не стремились определить частоты метилирования отдельных генов, а использовали все гены в панели, чтобы сделать различия более достоверными.

Zhe Jin и соавт. [13] в ходе двойного слепого мультицентрового исследования изучили аномальное метилирование панели генов (*p16*, *RUNX3*, *HPP1*, *NELL1*, *TAC1*, *SST*, *AKAP12*, *CDH13*) в 195 образцах биопсий эпителия пищевода у больных ПБ с целью использования данных маркеров для оценки риска прогрессии заболевания. Было показано, что метилирование генов *HPP1*, *p16* и *RUNX3* выявляется достоверно чаще при прогрессировании ПБ до дисплазии высокой степени и АК пищевода ($p = 0,0025$; $0,0066$ и $0,0002$ соответственно) в сравнении с остальными 5 маркерами из исследованной панели. Использование всей панели из 8 генов позволило выявить более 50% больных ПБ с прогрессией до дисплазии высокой степени и АК пищевода, которые не удавалось выявить на столь раннем этапе без применения биомаркеров. Специфичность панели, по данным авторов, достигала 90%, а чувствительность — 50%. Специфичность предложенной и исследованной нами панели генетических маркеров (*MGMT*, *CDH1*, *p16/CDKN2A*, *DAPK*, *RAR-β* и *RUNX3*) составила 60%, чувствительность — 86%. Таким образом, у больных группы мет+ вероятность прогрессии заболевания почти в 10 раз выше ($OR = 9,559$). При этом мы в своем исследовании тестировали результаты проведенной антирефлюксной операции и соотносили его с показаниями эндоскопического исследования. Подобное исследование представлено в работе M.R. Timmer и соавт. [14]: авторы исследовали систему маркеров, в которую входили структурные изменения локусов 8q24 (*MYC*), 9p21 (*CDKN2A/p16*), 17q12 (*erbB2/HER-2/Neu*) и 20q13.2 (*ZNF217*) в материале, полученном от 181 пациента с ПБ, которым проводилось консервативное лечение с

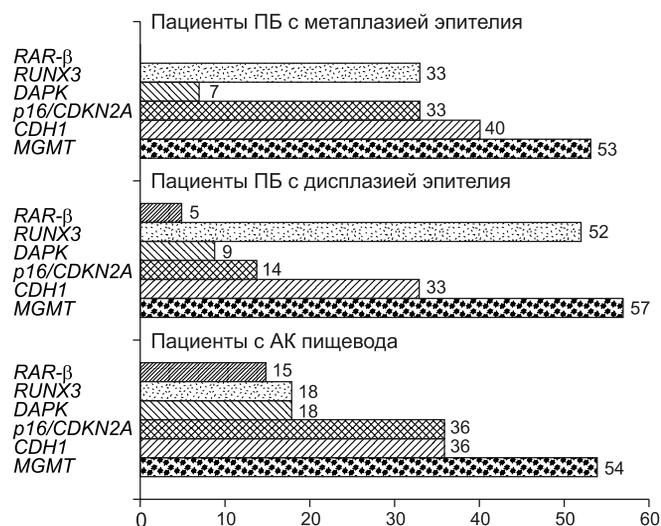


Рис. 3. Частота аномального метилирования генов *MGMT*, *CDH1*, *p16/CDKN2A*, *DAPK*, *RAR-β* и *RUNX3* в измененном эпителии до хирургического лечения (в %).

применением эндоскопической резекции слизистой в сочетании с медикаментозной терапией [14]. Авторы наблюдали полную регрессию изменений слизистой у 72% больных и прогрессию у 16% пациентов. Изменения копийности исследуемых локусов изучаемой панели, соответствующие группе мет+ в нашем исследовании, авторы наблюдали у 88 (44%) из 181 больного. На этом основании авторы полагают, что нарушение копийности генов, входящих в их систему, связано с негативной реакцией на проведенное лечение, и систему можно использовать в качестве дополнения к стандартному гистологическому исследованию при мониторинге пациентов после проведения лечения пациентов ПБ с помощью эндоскопической резекции слизистой в сочетании с медикаментозной терапией.

Снижение частоты аномального метилирования после выполнения антирефлюксных операций доказывает высокий потенциал к регенерации слизистой пищевода при устранении основных патогенетических факторов агрессии, что оправдывает правомочность и целесообразность хирургического лечения данной категории больных. Нами показано, что проведенное оперативное лечение улучшает состояние слизистой пищевода при ПБ, однако в оставшихся без регрессии случаях происходит значительное увеличение частоты аномального метилирования исследуемой панели генов. Это доказывает, что аномальное метилирование системы генов связано с худшим ответом на проведенное лечение. Такое перераспределение частоты метилирования генов можно объяснить тем, что после операции аномальное метилирование генов остается у пациентов с более тяжелыми изменениями и потенциально склонными к дальнейшей прогрессии. У таких пациентов не происходит нормализации слизистой пищевода за время наблюдения и им требуется дополнительный мониторинг для контроля дальнейшего лечения до полного выздоровления или для контроля возможной прогрессии ПБ в АК пищевода. Кроме того, наша система позволила выявить пациентов с метилированием в пограничной нормальной ткани, которое не всегда нормализуется после проведения антирефлюксного лечения. Такие пациенты являются потенциально склонными к дальнейшей прогрессии и требуют контроля и мониторинга после лечения.

Анализируя полученные результаты, можно предположить, что использование предложенной нами системы молекулярно-генетических маркеров у больных ПБ позволит на раннем этапе диагностировать, начать адекватное лечение и осуществлять мониторинг данной группы пациентов с целью формирования группы риска развития АК пищевода — что, несомненно, требует внедрения данной панели в клиническую практику.

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Исследование не имело спонсорской поддержки.*

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1—8, 11—14)
см. REFERENCES)

9. Черноусов А.Ф., Хоробрых Т.В., Немцова М.В., Ветшев Ф.П., Осминин С.В., Абдулхакимов Н.М. Возможности органосохраняющих операций в лечении пищевода Барретта с учетом данных молекулярно-генетического анализа. *Вестник хирургической гастроэнтерологии*. 2015; (1-2): 6—12.

10. Кекеева Т.В., Жевлова А.И., Подистов Ю.И., Соловьева Ю.В., Залетаев Д.В., Немцова М.В. Аномальное метилирование генов-супрессоров опухолевого роста и микросателлитная нестабильность в предраковых состояниях шейки матки. *Молекулярная биология*. 2006; 40(2): 224—30.

Поступила 21.04.16

REFERENCES

1. Pennathur A., Gibson M.K., Jobe B.A., Luketich J.D. Oesophageal carcinoma. *Lancet*. 2013; 381(9864): 400—12.
2. Jemal A., Siegel R., Ward E., Hao Y., Xu J., Thun M.J. Cancer statistics. 2009. *CA Cancer J. Clin.* 2009; 59(4): 225—49.
3. Wang K.K., Sampliner R.E.; Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. Updated guidelines 2008 for the diagnosis, surveillance and therapy of Barrett's esophagus. *Am. J. Gastroenterol.* 2008; 103(3): 788—97.
4. Spechler S.J. Clinical practice. Barrett's Esophagus. *N. Engl. J. Med.* 2002; 346(11): 836—42.
5. Wang D.H., Souza R.F. Biology of Barrett's Esophagus and Esophageal Adenocarcinoma. *Gastrointest. Endosc. Clin. N. Am.* 2011; 21(1): 25—38.
6. Tosh D., Slack J.M. How cells change their phenotype. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2002; 3(3): 187—94.
7. Chandrasoma P.T., Der R., Ma Y., Peters J., Demeester T. Histologic classification of patients based on mapping biopsies of the gastroesophageal junction. *Am. J. Surg. Pathol.* 2003; 27(7): 929—36.
8. Martinez de Haro L.F., Ortiz A., Parrilla P., Munitiz V., Martinez C.M., Revilla B. et al. Long-term follow-up of malignancy biomarkers in patients with Barrett's oesophagus undergoing medical or surgical treatment. *Ann. Surg.* 2012; 255(5): 916—21.
9. Chernousov A.F., Khorobrykh T.V., Nemtsova M.V., Vetshev F.P., Osminin S.V., Abdulkhakimov N.M. Options of organ-preserve procedures in treatment of patients with Barrett's esophagus in view of molecular-genetics analysis. *Vestnik khirurgicheskoy gastroenterologii*. 2015; (1-2): 6—12. (in Russian)
10. Kekeeva T.V., Zhevlova A.I., Podistov Yu.I., Solov'eva Yu.V., Zaletaev D.V., Nemtsova M.V. Abnormal methylation of tumor suppressor genes and tumor microsatellite instability in precancerous cervical conditions. *Molekulyarnaya biologiya*. 2006; 40(2): 224—30. (in Russian)
11. Kaz A.M., Wong C.J., Luo Y., Virgin J.B., Washington M.K., Willis J.E. et al. DNA methylation profiling in Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma reveals unique methylation signatures and molecular subclasses. *Epigenetics*. 2011; 6(12): 1403—12.
12. Smith E., De Young N.J., Pavey S.J., Hayward N.K., Nancarrow D.J., Whiteman D.C. et al. Similarity of aberrant DNA methylation in Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma. *Mol. Cancer*. 2008; 7: 75.
13. Jin Z., Cheng Y., Gu W., Zheng Y., Sato F., Mori Y. et al. A multicenter, double-blinded validation study of methylation biomarkers for progression prediction in Barrett's esophagus. *Cancer Res.* 2009; 69(10): 4112—5.
14. Timmer M.R., Brankley S.M., Gorospe E.C., Sun G., Lutzke L.S., Iyer P.G. et al. Prediction of response to endoscopic therapy of Barrett's dysplasia using genetic biomarkers. *Gastrointest. Endosc.* 2014; 80(6): 984—91.

Received 21.04.16