

*На правах рукописи*

**ЗАХАРЕНКО МАРГАРИТА ВЛАДИМИРОВНА**

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В  
ОПТИМИЗАЦИИ ДИАГНОСТИКИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА**

3.1.6. Онкология, лучевая терапия

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Москва – 2021 г.

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении “Российский научный центр рентгенорадиологии” Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:**

профессор, доктор медицинских наук **Боженко Владимир Константинович**

**Официальные оппоненты:**

**Кармакова Татьяна Анатольевна**, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник Московского научно-исследовательского института имени П.А. Герцена – филиала федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Лядов Владимир Константинович**, доктор медицинских наук, доцент кафедры онкологии и паллиативной медицины имени академика А.И. Савицкого федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Ведущая организация:** федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение «Северный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «20» января 2022 года в 13-00 часов на заседании диссертационного совета 21.1.032.01 (Д 001.017.01), созданного на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России по адресу: 115478, г. Москва, Каширское шоссе, д. 23.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России по адресу: 115478, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24 и на сайте [www.ronc.ru](http://www.ronc.ru).

Автореферат разослан «.....» ..... 2021 года.

Ученый секретарь диссертационного совета:

доктор медицинских наук, профессор

**Кадагидзе Заира Григорьевна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность и степень разработанности темы исследования

Колоректальный рак (КРР) является серьезной медицинской и социально-экономической проблемой, это одна из наиболее распространенных нозологических форм в структуре онкологических заболеваний во всем мире. По статистике заболеваемости населения России за 2019 КРР занимает 3-е место после рака молочной железы и кожи у женщин, рака легких и предстательной железы у мужчин. При этом за период 2010 – 2020 заболеваемость раком ободочной и прямой кишки у мужчин выросла на 39%, у женщин на 28,5% (Каприн А.Д. и др., 2020). Для КРР характерна высокая смертность и низкий уровень 5-и летней выживаемости, не превышающий 50%. Во многом это обусловлено поздним выявлением заболевания, так, например, ~ 60% впервые выявленных опухолей относятся к II-IV стадиям (Крашенков О.П., и др., 2021). В этой связи разработка и внедрение новых методов диагностики КРР, является чрезвычайно актуальной задачей.

В настоящее время в качестве первичных скрининговых методов КРР рекомендуются колоноскопия и фекальный иммунохимический тест. Однако, данные методы имеют ряд недостатков и ограничений. Внедрение молекулярно-генетических методов в клиническую практику и, в частности, в диагностику заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), позволяет существенно повысить эффективность и специфичность скрининговых программ. В 2021 году на ежегодном съезде Американского общества клинической онкологии (ASCO) большое внимание было уделено проблеме диагностики и лечения опухолей ЖКТ. Молекулярное профилирование в лечении опухолей ЖКТ выбрано в качестве «Достижения года», также отмечена значимость исследований биомаркеров, позволяющих персонализировать лечение различных онкологических заболеваний, в том числе КРР. Молекулярно-генетические исследования в области клинической онкопроктологии являются чрезвычайно важными и актуальными, способствуют улучшению диагностики и лечения различных форм КРР (Smith S.M., et al., 2021).

В настоящее время исследования, посвященные молекулярным механизмам (особенностям) канцерогенеза, позволили выявить нарушения в процессах, ответственных за клеточный метаболизм, передачу пролиферативных сигналов, уклонение от апоптоза, развитие иммуносупрессии, создание возможности репликативного бессмертия, индукцию ангиогенеза, активацию инвазии и метастазирования (Testa U., et al., 2018; Russi S., et al., 2019). Основное внимание в данных работах сосредоточено на изучении молекулярно-генетических изменений в опухолевой ткани и клетках. Однако, имеется ряд публикаций, в которых показано наличие специфических изменений как в тканях, окружающих опухоль, так и в достаточно отдаленных тканях при развитии злокачественного процесса (Aran D. et al., 2017; Graham K. et al., 2011).

Рядом авторов выполнены молекулярно-генетические исследования, в которых подчеркивается важность изучения неизменных тканей при злокачественном поражении органа. Так в работах (Nakansson A., Molin G., 2011; Atay S. 2020) показано, что микроокружение опухолей, состоящее из гетерогенной популяции стромальных клеток, таких как фибробласты и иммунные клетки, а также внеклеточных матричных структур, секретируемых факторов, работает в сложном взаимодействии через внутриклеточную сигнализацию, регуляцию экспрессии генов, трансмембранные межклеточные рецепторы и т.д. Однако, не только микроокружение опухоли, но и ткани пораженного органа на достаточном отдалении от опухолевого узла, имеют фенотипические отличия от нормальных тканей. В отношении колоректальных опухолей в ряде работ показано, что фенотипические изменения в морфологически нормальной ткани, удаленной от ткани опухоли, могут быть использованы для целей прогноза (Солодкий В. А. и др., 2017).

В тоже время, имеются только единичные публикации о диагностических возможностях исследования изменений удаленных от опухоли морфологически нормальных тканей органа. Поэтому исследование молекулярных фенотипических изменений в морфологически неизменных тканях является новой и актуальной современной задачей в области молекулярной онкологии КРР.

### **Цель исследования**

Исследование профилей экспрессии генов в морфологически неизменных тканях разных отделов толстой кишки в норме и при патологии для дифференциальной диагностики доброкачественных, злокачественных новообразований и воспалительных процессов в толстой кишке.

### **Задачи исследования**

1. Исследовать молекулярно-генетические характеристики слизистой оболочки толстой кишки в норме в зависимости от отдела и возраста.
2. Исследовать молекулярно-генетические особенности неизменных тканей при полипах в зависимости от отдела толстой кишки и клинико-морфологических характеристик.
3. Исследовать молекулярно-генетические особенности неизменных тканей толстой кишки при колоректальном раке в зависимости от отдела и клинико-морфологических характеристик.
4. Сравнить профиль экспрессии генов в тканях толстой кишки в зависимости от типа патологического процесса.
5. Изучить возможности применения метода анализа профиля экспрессии генов для дифференциальной диагностики патологического процесса в толстой кишке, где в качестве объекта исследования используется клеточный материал соскоба из прямой кишки.

## Методы и методология исследования

В исследование включено 519 пациентов, проходивших обследование и лечение в ФГБУ «РНЦРР» Минздрава России и Научном Центре Колопроктологии в период с 2011 по 2019 гг. Анализ оценки уровня экспрессии 65 генов (62 функциональных и 3 референсных) проведен методом ПЦР в реальном времени для 926 образцов морфологически неизмененных тканей, полученных из разных отделов толстой кишки от условно здоровых доноров, пациентов с полипами толстой кишки, пациентов с КРР, пациентов с неспецифическим язвенным колитом. Исследование было разделено на два этапа. На первом этапе проведено сравнение профилей экспрессии генов в норме и при патологии в толстой кишке в зависимости от отдела толстой кишки и клинико-морфологических показателей. Образцы биопсийного материала разделили на группы: условно здоровые доноры (n=95), пациенты с полипами толстой кишки (n=29), пациенты с колоректальным раком (n=253). В каждой из групп была исследована зависимость уровня экспрессии мРНК 62 функциональных генов от анатомического отдела толстой кишки. В группе условно здоровых доноров без патологического процесса в толстой кишке было проведено исследование уровня экспрессии мРНК в трех возрастных группах: до 45 лет, 45 – 60 лет и старше 60 лет. Для образцов неизмененных тканей пациентов с полипами толстой кишки выполнено исследование корреляционной зависимости уровня экспрессии мРНК со степенью дисплазии эпителиальных клеток и гистологическим типом полипа. Для образцов неизмененных тканей пациентов с колоректальным раком проведено исследование корреляционной зависимости уровня экспрессии мРНК с клинико-морфологическими показателями: глубиной прорастания опухоли, наличием лимфогенного и гематогенного метастазирования, степенью злокачественности, прогрессирующим заболеванием. Определено изменение уровня экспрессии генов в зависимости от отдела толстой кишки, типа патологического процесса в толстой кишке и клинико-морфологических показателей. Показано, что анализ экспрессионных профилей морфологически неизмененных тканей прямой кишки отражает патологические изменения в толстой кишке.

На втором этапе исследования оценена возможность использования для диагностики патологического процесса в толстой кишке клеточного материала соскобов из ампулярного отдела прямой кишки. Клинический материал получен от пациентов с колоректальным раком (n=44), полипами толстой кишки (n=18), неспецифическим язвенным колитом (n=55). В контрольную группу вошли условно здоровые доноры (n=63) без патологии в толстой кишке. Статистическая обработка включала стандартные параметрические и непараметрические методы оценки достоверности отличий и комплекс многомерных методов статистического анализа. Полученные с помощью статистического анализа результаты позволили создать алгоритм, который может послужить основой для разработки молекулярно-генетической

технологии для дифференциальной диагностики патологических процессов в толстой кишке и скрининга КРР.

### **Научная новизна**

Впервые проведено исследование экспрессионных фенотипов неизмененных тканей толстой кишки в зависимости от анатомического отдела и клинико-морфологических данных для нормальной ткани здоровых доноров и пациентов с доброкачественными и злокачественными новообразованиями толстой кишки. Проведенное исследование позволило установить, что в морфологически неизменной ткани при различных патологических процессах на достаточном отдалении от очага поражения (в других отделах толстой кишки) наблюдаются молекулярно-генетические изменения, характерные для данного типа поражения. Впервые установлено, что экспрессионный фенотип клеточного материала соскоба из прямой кишки с высокой чувствительностью и специфичностью отражает патологические изменения в органе. Показано, что анализ экспрессионных профилей морфологически неизмененных тканей слизистой толстой кишки может являться основой для создания нового метода дифференциальной диагностики патологических процессов толстой кишки.

### **Теоретическая и практическая значимость**

Выявленные особенности экспрессионных фенотипов неизмененных тканей при различных патологических процессах в толстой кишке способствуют более глубокому пониманию фундаментальных основ заболеваний толстой кишки. Проведенное исследование позволило выявить молекулярно-генетические изменения в отдаленных отделах пораженного органа, что имеет большое значение для оценки влияния патологического процесса на орган в целом. Полученные результаты могут быть использованы в учебно-методическом процессе студентов, аспирантов и ординаторов по специальности онкология. Полученные фенотипические особенности ткани толстой кишки будут использованы для разработки молекулярно-генетической технологии при скрининге и дифференциальной диагностике патологий толстой кишки. Применение данной технологии возможно как на амбулаторном этапе оказания медицинской помощи, так и в практике работы специализированных стационарных учреждений.

### **Личный вклад**

Автором изучено состояние проблемы по данным отечественной и зарубежной литературы, определены цели и задачи исследования, объекты и предмет исследования, самостоятельно проведены экспериментальные исследования, статистическая обработка полученных данных. Основные теоретические и практические положения диссертации, результаты исследования докладывались автором на международных и отечественных научно-

практических конференциях, находили отражение в опубликованных результатах научных исследований в научных рецензируемых журналах.

### **Соответствие паспорту специальности**

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 6.3.1.Онкология, лучевая терапия («Биологические науки») и области исследований п.3. Разработка и совершенствование программ скрининга и ранней диагностики.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. При физиологической норме отмечена четкая дифференциация экспрессионных фенотипов эпителиальных тканей в разных анатомических отделах толстой кишки. Уровень экспрессии в отделах толстой кишки достоверно изменяется в разных возрастных группах.

2. Уровень экспрессии в неизмененных тканях при полипах отличается в отделах толстой кишки и коррелирует со степенью дисплазии эпителиальных клеток и гистологическим типом полипа.

3. Уровень экспрессии в морфологически неизмененных тканях толстой кишки при колоректальном раке отличается в отделах толстой кишки и коррелирует с глубиной прорастания опухоли, наличием лимфогенного и гематогенного метастазирования, степенью злокачественности.

4. Определение экспрессионного фенотипа в клеточном материале соскоба из ампулярного отдела прямой кишки позволяет дифференцировать образцы неизмененных тканей при патологии в толстой кишке от тканей здоровых доноров. В перспективе, анализ экспрессии генов может быть использован для дифференциальной диагностики патологических процессов в толстой кишке и скрининга колоректального рака.

### **Внедрение результатов исследования**

Результаты исследования внедрены в клиническую практику научно-исследовательского отдела хирургии и хирургических технологий в онкологии ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» МЗ РФ.

### **Апробация**

Апробация диссертации состоялась на совместном заседании научно-практической конференции и совета по апробациям кандидатских диссертаций ФГБУ «РНЦРР» Минздрава России 31 мая 2021 года. Материалы диссертации представлены на III и IV Международном онкологическом форуме «Белые ночи» (Санкт-Петербург, 2017 г., 2018 г.), III Научно-практической конференции «Парадигмы лекарственной терапии у онкологических больных» (Обнинск, 2021 г.).

## Публикации

По материалам диссертации опубликовано 16 работ: из них 10 статей в журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России, тезисов в материалах научных конференций – 6.

## Объем и структура работы

Диссертация состоит из введения, трёх глав (обзор литературы, методы исследования, результаты собственных исследований), заключения, выводов, списка сокращений и списка использованной литературы. Текст диссертации изложен на 146 страницах машинописного текста, иллюстрирован 31 таблицей и 9 рисунками. Библиографический указатель включает 164 источника: из них 22 русскоязычных, 142 зарубежных.

## СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

### Материалы и методы исследования

В исследование включено 519 пациентов, проходивших плановое обследование и лечение в ФГБУ «РНЦРР» Минздрава России и Научном центре Колопроктологии с 2011 по 2019 гг. От каждого пациента получено добровольное информированное согласие. Протокол исследования №4 от 26.04.19 одобрен комитетом по биомедицинской этике ФГБУ "Российский научный центр рентгенорадиологии" Минздрава России. Исследование от момента забора материала до получения результатов включало четыре основных этапа: морфологическое исследование образцов тканей, молекулярно-генетический анализ, формирование базы данных (данные анамнеза, клинико-морфологические характеристики заболевания, результаты молекулярного исследования) и статистический анализ. Молекулярные фенотипы получены для 926 образцов морфологически неизмененных тканей толстой кишки на основании определения уровня экспрессии мРНК 62 функциональных и 3 нормировочных генов. В исследование были включены гены, отвечающие за регуляцию процессов апоптоза (*BCL2*, *BAX*, *BAG1*, *NDRG1*, *BIRC5*), пролиферации (*Ki-67*, *CCND1*, *CCNB1*, *PTEN*, *STK-15(AURKA)*, *P16INK4A*, *P14ARF*, *HER2 neu (C-erbB2)*, *TERT*), транскрипции (*MYC*, *MYBL2*), дифференцировки клеток (*ESR1*, *PGR*, *CYP19A1*, *GRB7*, *CD45*, *CD56*, *CD68*, *CD69*), межклеточных взаимодействий (*MMP11*, *MMP2*, *MMP7*, *MMP8*, *MMP9*, *CTSL2*, *PAPPA*, *TPA*), а также гены, кодирующие факторы роста (*VEGFA121*, *VEGFA165*, *VEGFA189*, *SCUBE2*, *IGF1*, *IGF2*, *TGFβ*), цитокины и факторы иммунного ответа (*IL1β*, *IL2*, *IL6*, *IL7*, *IL8*, *IL10*, *IL12α*, *IL15*, *COX-2*, *TNFα*, *TLR2*, *TLR4*, *TLR7*, *IFNγ*, *GNLY*, *HLA-G1*, *HLA-G5*, *LIF*, *LIFR*, *LGALS1*, *GATA3*, *IL2Rα*, *GREM1*), многофункциональные гены (*LIF*, *LIFR*). Данные гены были выбраны на основании данных литературы. Из литературных источников известно, что уровень экспрессии маркеров пролиферации, апоптоза, цитокинов, факторов иммунного ответа и других маркеров изменяется

при злокачественном процессе в опухолях разных локализаций (Бурменская О.В. и др., 2020; Aran D. et al., 2017).

На этапе выделения мРНК из образцов тканей толстой кишки использовались коммерческие наборы колонок RNeasy mini Kit (Qiagen, Германия). Обработку исследуемого материала проводили в соответствии с протоколом компании-производителя. Для постановки ПЦР с обратной транскрипцией использовали реактивы и протокол фирмы «ДНК-Технология». Оценка уровней экспрессии мРНК была проведена путем сравнения индикаторных циклов (Cp) с использованием нормализации по контрольным генам (House Keeping Gene) согласно методике, предложенной Vandesompele et al. (Vandesompele J. et al., 2002). Исследование было разделено на два этапа. На первом этапе были исследованы закономерности изменения уровня экспрессии мРНК в биоптатах из толстой кишки, взятых в объеме 1,5 – 2 мм<sup>2</sup> в трех группах образцов: контрольная группа, морфологически неизменные ткани при полипах и при колоректальном раке (Таблица 1).

**Таблица 1** – Клинико-патологические характеристики для образцов пациентов, у которых была проанализирована гистологически неизменная ткань толстой кишки

<b>КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ</b>	<b>ОБРАЗЦЫ МОРФОЛОГИЧЕСКИ НЕИЗМЕНЕННЫХ ТКАНЕЙ</b>	
	<i>n</i>	%
<b>Злокачественная патология (аденокарцинома)</b>		
<b>ГЛУБИНА ПРОРАСТАНИЯ ОПУХОЛИ</b>		
(T1)	17	6,74%
(T2)	28	11,11%
(T3)	138	58,33%
(T4)	57	23,8 %
<b>МЕТАСТАЗЫ В ЛУ</b>		
НЕТ (N0)	128	52,4%
ЕСТЬ (N1-N3)	112	47,6%
<b>ГЕМАТОГЕННЫЕ МЕТАСТАЗЫ</b>		
НЕТ (M0)	183	75,4%
ЕСТЬ (M1)	56	24,6%
<b>СТЕПЕНЬ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ</b>		
G1(ВЫСОКАЯ)	107	48,5%
G2(УМЕРЕННАЯ)	93	45,04%
G3(НИЗКАЯ)	15	6,43%
<b>КЛИНИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ</b>		
ПЕРВИЧНО-МНОЖЕСТВЕННЫЙ РАК	22	13,58%
ПЕРВИЧНАЯ ОПУХОЛЬ	140	86,42%
<b>ПРОГРЕССИРОВАНИЕ</b>		
ЕСТЬ	63	28,25%
НЕТ	160	71,75%

КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	ОБРАЗЦЫ МОРФОЛОГИЧЕСКИ НЕИЗМЕНЕННЫХ ТКАНЕЙ	
	<i>n</i>	%
<b>ДОБРОКЧЕСТВЕННАЯ ПАТОЛОГИЯ (ПОЛИПЫ)</b>		
ГИПЕРПЛАСТИЧЕСКИЙ ПОЛИП	15	18,29%
ТУБУЛЯРНАЯ И ТУБУЛЯРНО-ВОРСИНЧАТАЯ АДЕНОМА	58	70,73%
ВОРСИНЧАТАЯ АДЕНОМА	9	10,97%
<b>ДИСПЛАЗИЯ</b>		
СТЕПЕНЬ ДИСПЛАЗИИ НИЗКАЯ	31	53,44%
СТЕПЕНЬ ДИСПЛАЗИИ УМЕРЕННАЯ	27	46,56%
<b>УСЛОВНО ЗДОРОВЫЕ ДОНОРЫ (НЕИЗМЕНЕННАЯ ТКАНЬ)</b>		
ВОЗРАСТ ДО 45 ЛЕТ	48	26,52%
ВОЗРАСТ 45-60 ЛЕТ	43	23,76%
ВОЗРАСТ СТАРШЕ 60 ЛЕТ	90	49,72%

Для 253 пациентов с морфологически подтвержденной аденокарциномой толстой кишки разной степени злокачественности уровень экспрессии мРНК проанализирован в образцах тканей края резекции без морфологических признаков опухолевого роста, взятых на расстоянии не менее 15 см от опухолевого узла, а также в биоптатах из отделов толстой кишки, взятых с помощью прицельной биопсии во время диагностической колоноскопии на разном удалении от опухоли (n=310). Для 29 пациентов с аденоматозными и гиперпластическими полипами толстой кишки проанализирован уровень экспрессии в образцах неизмененных тканей без морфологических признаков опухолевого роста, взятых на расстоянии 10 – 15 см от полипа и в 5 отделах толстой кишки на разном удалении от полипа (n=73). В контрольной группе, включающей 55 условно здоровых доноров без патологии в толстой кишке по данным эндоскопического исследования, проанализирован уровень экспрессии в биоптатах из слизистой оболочки 5 отделов толстой кишки (n=177). На первом этапе проведена оценка изменения уровня экспрессии при физиологической норме в зависимости от отдела толстой кишки и возраста пациентов. При полипах в толстой кишке исследована взаимосвязь изменений уровня экспрессии в морфологически неизмененных тканях толстой кишки с отделом толстой кишки, степенью дисплазии в эпителиальных клетках и гистологическим типом полипа. В морфологически неизмененных тканях при колоректальном раке исследована взаимосвязь уровня экспрессии с отделом толстой кишки, глубиной прорастания опухоли, наличием лимфогенного и гематогенного метастазирования, степенью злокачественности, наличием первично-множественного рака, прогрессированием заболевания.

Объектом второго этапа исследования являлся клеточный материал соскобов из неизменной слизистой ампулярного отдела прямой кишки, полученный от здоровых доноров, пациентов с колоректальным раком, полипами толстой кишки и неспецифическим язвенным колитом (Таблица 2).

**Таблица 2** – Группы исследуемых образцов, сформированных по типу тканей

Группа	Количество образцов	Морфологическая характеристика ткани	Описание образцов
«норма»	n=63	морфологически неизменной слизистой из ампулярного отдела прямой кишки. Отсутствие интраэпителиальных изменений при цитологическом исследовании	Образцы получены от доноров без патологии в толстой кишке на момент исследования.
«МНТ при КРР»	n=44		Образцы получены от пациентов с раком ободочной и прямой кишки.
«МНТ при полипах»	n=18		Образцы получены от пациентов с тубулярной, тубулярно-ворсинчатой аденомой и гиперпластическими полипами ТК
«неспецифический язвенный колит»	n=55		Образцы получены от пациентов с неспецифическим язвенным колитом

Забор клеточного материала осуществляли с помощью урогенитального зонда «Цитощетка». Для образцов проведено цитологическое исследование (жидкостная цитология по методу CellPrep. Окраска по Папаниколау). Заключение давались согласно рекомендациям классификации Bethesda (The Bethesda System – TBS) для цитологического исследования анального канала (Найяр, Р., 2017). Согласно заключению: показано отсутствие интраэпителиальных изменений. У пациентов с неспецифическим язвенным колитом, проходившим обследование и лечение в Научном центре Колопроктологии, цитологическое исследование не проводилось.

При анализе базы данных использовали статистические методы: t-критерий Стьюдента, u-критерий Манна–Уитни и статистический метод оценки ранговой корреляции Спирмена, базовый метод регрессионного анализа. Для классификации групп тканей применяли многофакторный дискриминантный анализ с пошаговым методом включения и исключения переменных. Этот метод позволил построить обученную статистическую модель классификации, которая на основании оценки уровня экспрессии мРНК 62 генов распределяет изучаемые образцы ткани в одну из нескольких групп, выбирая наиболее близкую по молекулярному фенотипу группу.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

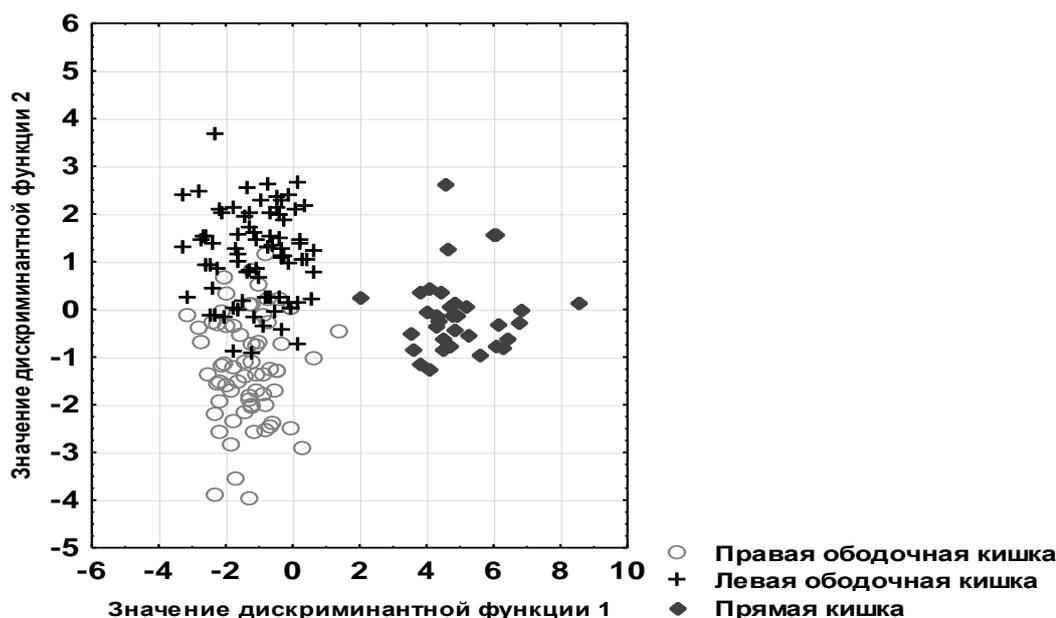
Нами установлена четкая дифференциация отделов толстой кишки по молекулярному фенотипу для 3 групп образцов морфологически неизмененных тканей толстой кишки, полученных от условно здоровых доноров, пациентов с полипами толстой кишки и колоректальным раком. В группе здоровых доноров из 62 исследованных генов для прямой кишки определены достоверные отличия значений медианы (*Me*) экспрессии ( $p < 0,05$ ), полученные с помощью критерия Манна-Уитни для 34 генов функциональных групп пролиферации (*CCND1*, *CCNB1*, *P14ARF (P19ARF)*, *P16INK4A*, *PTEN*), апоптоза (*TERT*, *NDRG1*, *BAG1*), транскрипции (*MYC*, *LGALS1*), ремоделирования межклеточного матрикса (*MMP2*, *MMP7*, *MMP11*, *CTSL2*, *PAPPA*), факторов роста (*IGF2*, *VEGFA121*, *VEGFA165*, *VEGFA189*, *SCUBE2*), факторов иммунного ответа (*IL1b*, *IL2*, *IL2Ra*, *IL8*, *IL10*, *IL12a*, *COX-2*, *TLR4*, *GREM1*, *LIF*, *LIFR*), а также генов регулирующих дифференцировку клеток (*ESR1*, *CYP19A*, *CD68*). Отделы ободочной кишки при парном сравнении достоверно отличались по 10 генам, самыми значимыми из которых являлись маркер пролиферации *CCND1*, антиапоптотический фактор *TERT* и провоспалительный цитокин *IL2*. Дискриминантный анализ, продемонстрировал высокие показатели точности распределения образцов ткани к заданным подгруппам (отделам толстой кишки). Модель включает 39 генов.

**Таблица 3** – Результаты дискриминантного анализа: соответствие классификации образцов по молекулярному фенотипу с их принадлежностью к отделу толстой кишки для 5 анатомических отделов толстой кишки

Отдел ТК	Частота совпадения классификации (%)	Распределение образцов по отделам ТК согласно дискриминантной модели				
		Восходящий	Поперечный	Нисходящий	Сигмовидный	Прямая кишка
Восходящий	84,37	27	4	0	1	0
Поперечный	73,52	3	25	3	3	0
Нисходящий	70,58	1	5	24	4	0
Сигмовидный	90,47	0	2	2	38	0
Прямая кишка	100,0	0	0	0	0	35
Среднее по толстой кишке	84,18	Суммарное число образцов распределенных по отделам ТК				
		31	36	29	46	35
Примечание. В таблице представлено число корректно классифицированных образцов исследуемого отдела ТК (на диагонали таблицы) и тех, которые попали не в свои группы (другие отделы ТК). Строки обозначают истинное количество образцов в группе						

В таблице 3 приведены результаты, показывающие достоверные отличия молекулярных фенотипов каждого из отделов толстой кишки. Суммарный процент правильности

классификации более 84%. Дискриминантный анализ подтвердил, отличия молекулярного фенотипа тканей прямой кишки от других отделов, (точность его дифференцировки составила 100%). Самыми значимыми были гены, регулирующие апоптоз и пролиферацию, а также гены, участвующие в регуляции функционирования кишечных стволовых клеток, регенерации кишечного эпителия, факторы роста и маркеры иммунного ответа. Ошибки классификации, возникали, как правило, из-за распределения образцов в соседние отделы, что логично, так как смежные отделы похожи по выполняемым физиологическим функциям и анатомическому строению. Для снижения эффекта субъективности, мы объединили образцы в 3 отдела толстой кишки: «правая ободочная кишка», «левая ободочная кишка», «прямая кишка». При таком объединении образцов общая точность классификации составила 92%. При этом снова точность классификации для тканей прямой кишки составила 100%. На рисунке представлен график двумерного распределения образцов (диаграмма рассеяния) для трёх анатомических отделов ТК в пространстве дискриминантных функций, создаваемых программой Statistica 13.0 (Рисунок 1).



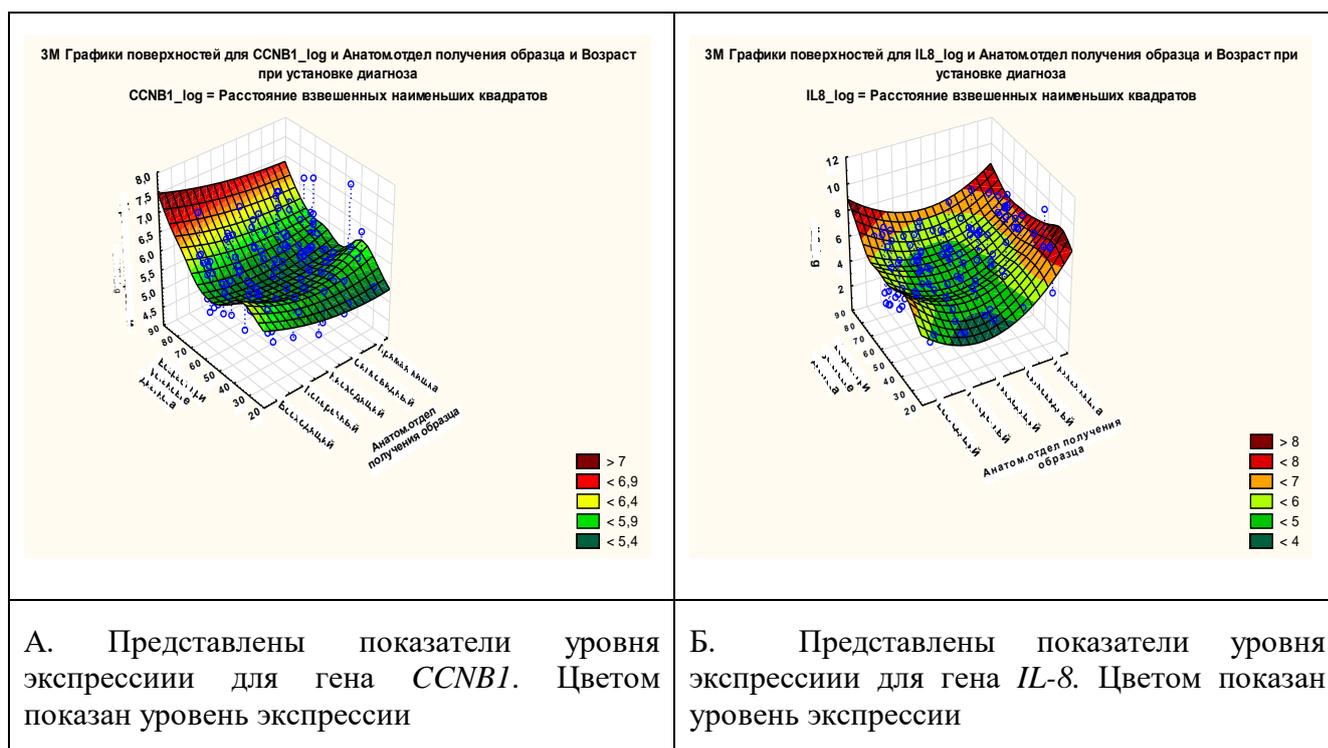
**Рисунок 1** – График двух канонических функций для 3 групп образцов правого, левого отдела ободочной кишки и прямой кишки

На графике показано, что для группы «прямая кишка» отсутствуют пересекающиеся значения с группами «правая» и «левая ободочная кишка». Для групп «правая» и «левая ободочная кишка» отмечены единичные попадания образцов в область другого отдела, что можно объяснить вариабельностью длины поперечного отдела ободочной кишки и отсутствием чёткой границы между левой и правой половиной данного отдела. Таким образом, разные биологические характеристики определяют разную реакцию на общие факторы окружающей среды и проканцерогенные факторы в проксимальном и дистальном отделах толстой кишки,

воздействующие на слизистую оболочку здорового человека. Такой результат дает обоснование считать, что опухоли разных отделов требуют дифференциального подхода в диагностике и лечении патологии ободочной и прямой кишки.

Учитывая важность фактора риска «возраст пациента», мы исследовали экспрессию генов разных функциональных групп у здоровых доноров в трех возрастных группах: 1 группа – возраст менее 45 лет, 2 группа - от 45 до 60 лет и старше 60 лет. Сравнение возрастных групп 1 и 2 показало достоверные отличия 11 маркеров *KI67*, *CCNB1*, *GRB7*, *STK15*, *MYBL2*, *COX-2*, *GREM1*, *IL7*, *IL8*, *IL10*, *VEGFA121*. Сравнение возрастных групп 2 и 3 показало достоверные отличия 20 маркеров *CD68*, *TERT*, *CCNB1*, *GRB7*, *STK15*, *P14ARF (P19ARF)*, *COX-2*, *CYP19A*, *GREM1*, *PAPPA*, *IL12a*, *IL7*, *IL15*, *IL8*, *IFNg*, *VEGFA121*, *BAX*, *HLA-G5*, *GATA3*, *LGALS1*. Сравнение возрастных групп 1 и 3 показало достоверные отличия 8 маркеров *CTSL2*, *TERT*, *P14ARF (P19ARF)*, *IL6*, *IL12a*, *IL15*, *HLA-G5*, *LIFR*. Расчет коэффициента ранговой корреляции  $r$ - Спирмена для 62 генов показал, что в неизменной слизистой оболочке проксимальных и дистальных отделов толстой кишки здорового человека в зависимости от возраста отмечаются разная частота, сила корреляционных зависимостей и участие разных генов. При этом, в каждом отделе ТК определена статистически значимая положительная умеренная корреляция между экспрессией мРНК гена *HLA-G5* и увеличением возраста у здоровых доноров. В злокачественных клетках следствием увеличения экспрессии *HLA-G5* является уклонение опухолей от иммунологического надзора. В сигмовидной кишке отмечена также положительная корреляция цистеиновой протеиназы катепсина L (*CTSL2*). Увеличение экспрессии этого гена усиливает инвазивную активность и неоваскуляризацию (Urbich S. et al., 2005). В группе 45-60 лет в сравнении с группой доноров младше 45 лет выявлено изменение уровня экспрессии 11 маркеров функциональных групп пролиферации и иммунного ответа.

Мы провели исследование зависимости уровня экспрессии генов от отдела и возраста в группе здоровых доноров базовым методом регрессионного анализа для оценки неизвестных параметров моделей по выборочным данным. В результате анализа было определено, что уровень экспрессии генов разных функциональных групп изменяется в отделах толстой кишки и корреляционно зависит от возраста. На рисунке 2А представлено изменение уровня экспрессии гена *CCNB1*, отвечающего за переход клетки к митозу в контрольной точке G2/M. Также было показано изменение уровня экспрессии гена – маркера провоспалительного иммунного ответа *IL-8* (Рисунок 2 Б). Стоит отметить, что уровень экспрессии в прямой кишке *IL-8* был выше, по сравнению с другими отделами толстой кишки.



**Рисунок 2** – Изменение уровня экспрессии генов в зависимости от отдела толстой кишки и возраста в группе здоровых доноров

Дискриминантный анализ показал отличия молекулярного фенотипа тканей толстой кишки для трех возрастных групп. Наиболее высокие показатели точности распределения (более 93%) отмечены для групп доноров в возрасте 45-60 лет и старше 60 лет (Таблица 4).

**Таблица 4** – Результаты дискриминантного анализа: соответствие классификации тканей ТК здоровых доноров по возрастным группам согласно дискриминантной модели

Возрастные группы	Частота совпадения классификации %	Распределение по возрастным группам согласно дискриминантной модели (n)		
		Менее 45 лет	45-60 лет	Старше 65 лет
Менее 45 лет	77,08	37	0	11
45-60 лет	93,02	0	40	3
Старше 60 лет	93,33	4	2	84
Общая точность классификации	88,95	41	42	98

Использование модуля дискриминантного анализа с пошаговым исключением переменных позволило дифференцировать возрастную группу доноров старше 60 лет с точностью 81% при включении в модель 4 генов *GRB7*, *TNFa*, *HLA-G5*, *GATA3*, которые наиболее значимы для классификации группы (Таблица 5).

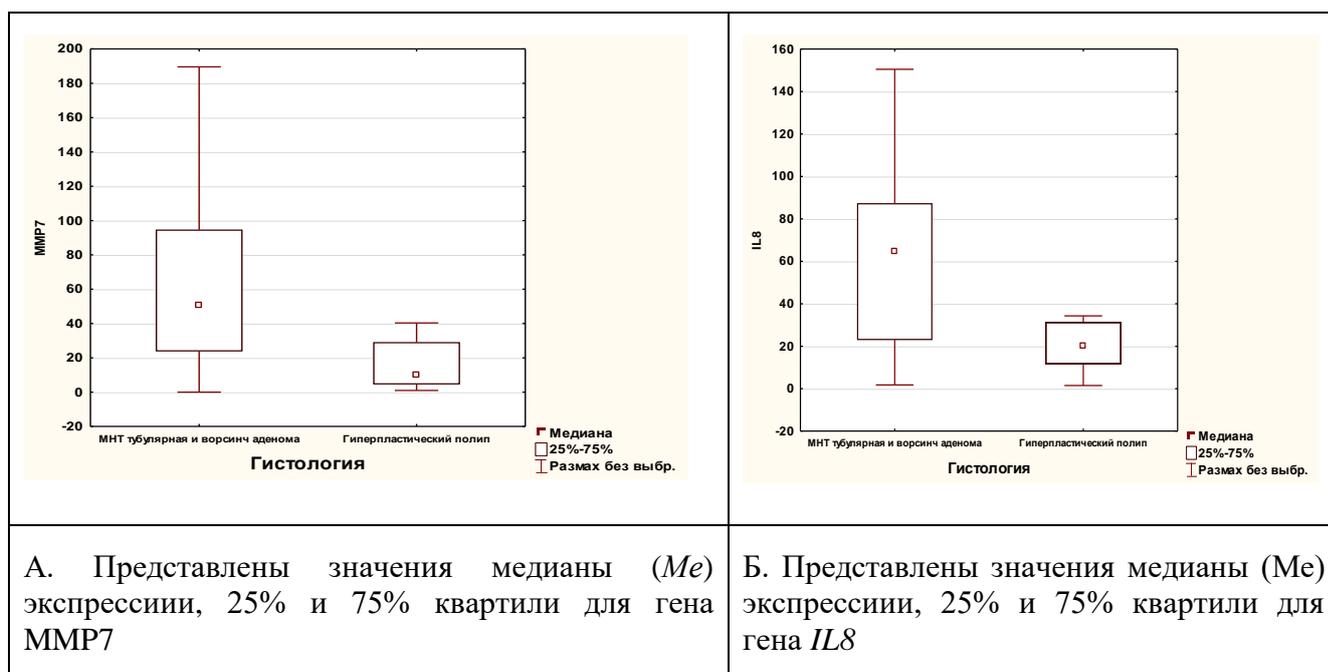
**Таблица 5** – Гены, включенные в модель классификации тканей толстой кишки здоровых доноров для 3 возрастных групп

Наименование гена	Лямбда Уилкса	Частная Лямбда	F-значение	P - значение
<i>GRB7</i>	0,72	0,87	12,88	<0,001
<i>TNF<math>\alpha</math></i>	0,79	0,80	22,32	<0,001
<i>HLA-G5</i>	0,74	0,85	15,21	<0,001
<i>GATA3</i>	0,77	0,82	19,60	<0,001

Три из этих генов участвуют в иммунном и воспалительном ответе, а один (*GRB7*) регулирует пролиферацию и клеточную миграцию. Общая точность в модели классификации по возрасту составила 89%.

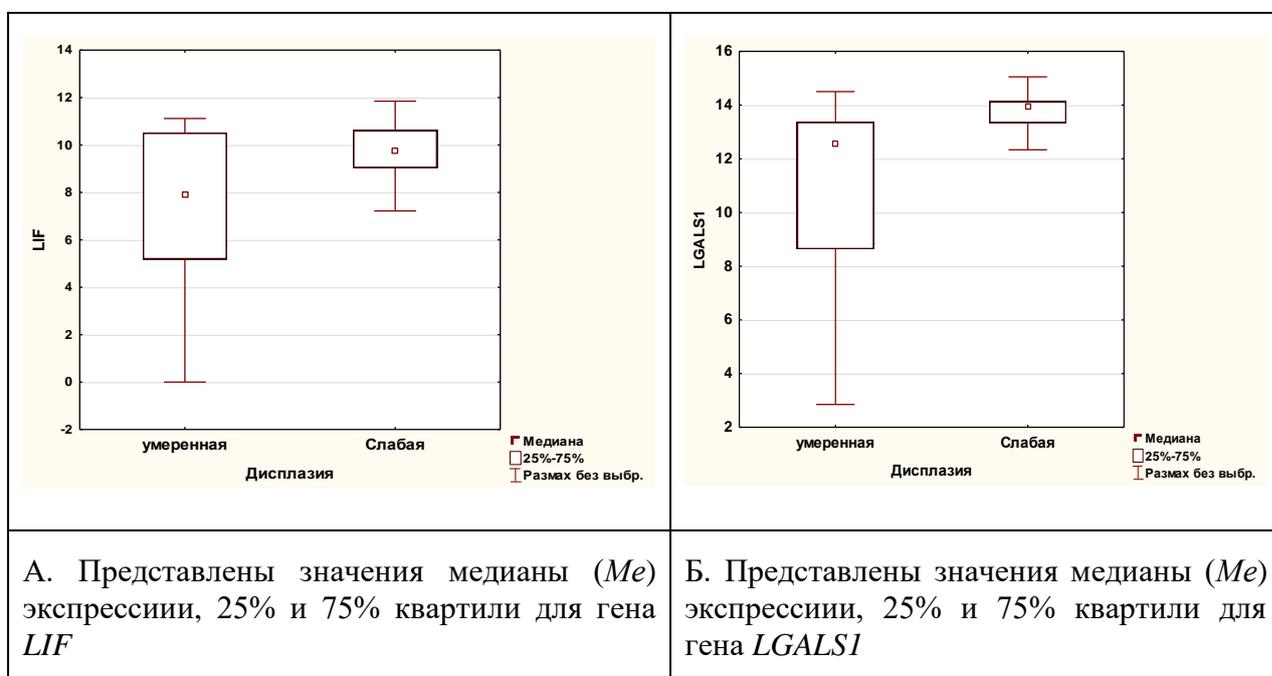
Далее мы провели исследование неизменных тканей толстой кишки при полипах. Принимая во внимание, что опухоли правой и левой ободочной кишки часто развиваются из разных предшественников, мы провели исследование неизменных тканей при полипах в зависимости от отдела толстой кишки. Парное сравнение молекулярных фенотипов неизменных тканей при полипах в 5 отделах толстой кишки показало статистически достоверные отличия экспрессии 22 генов *BCL2*, *BIRC5*, *CCND1*, *NDRG1*, *TERT*, *BAG1*, *ESR1*, *GRB7*, *MYBL2*, *P16INK4A*, *COX-2*, *GREM1*, *PAPPA*, *MMP7*, *IL2Ra*, *IL8*, *IL1b*, *IL10*, *TNF $\alpha$* , *HLA-G1*, *HLA-G5*, *LIF*. Можно отметить, что неизменные ткани при полипозе в отделах толстой кишки имеют сходство с тканью здоровых людей по уровню экспрессии 14 генов: *CCND1*, *NDRG1*, *TERT*, *BAG1*, *ESR1*, *P16INK4A*, *COX-2*, *GREM1*, *PAPPA*, *MMP7*, *IL2Ra*, *IL8*, *IL1b*, *IL10*. В то же время были обнаружены достоверные отличия уровня экспрессии 7 генов (*BCL2*, *BIRC5* (*SURVIVIN*), *MYBL2*, *TNF $\alpha$* , *HLA-G1*, *HLA-G5* и *GRB7*), функционально связанных с активацией пролиферации, ингибированием апоптоза, индуцированием провоспалительного иммунного ответа и ремоделированием ткани, которые отсутствовали в тканях здоровых доноров. Появление этих отличий предполагает наличие молекулярных изменений в нормальной ткани при полипах.

Сравнение неизменных тканей в зависимости от гистологического типа полипа показало достоверные отличия уровня экспрессии 6 генов: *CTSL2*, *GRB7*, *MMP7*, *IL6*, *IL8*, *HLA-G5*. Уровень экспрессии провоспалительных интерлейкинов *IL6*, *IL8* и гена межклеточной адгезии *MMP7* в группе «табулярная аденома» был достоверно ( $p < 0,05$ ) выше, чем в образцах, взятых в 10 см от участка гиперплазии (Рисунок 3).



**Рисунок 3** – Отличия уровня экспрессии генов в образцах неизменных тканей при полипах в зависимости от гистологического типа полипа

Сравнение неизменных тканей в зависимости от степени дисплазии эпителиальных клеток показало достоверные отличия ( $p < 0,05$ ) средних значений уровня экспрессии 26 генов, включающих функциональные группы: пролиферации, апоптоза, иммунного ответа, факторы роста и рецепторного статуса, перестройки межклеточного матрикса (Рисунок 4).



**Рисунок 4** – Отличия уровня экспрессии генов в образцах неизменных тканей при полипах в зависимости от степени дисплазии эпителиальных клеток

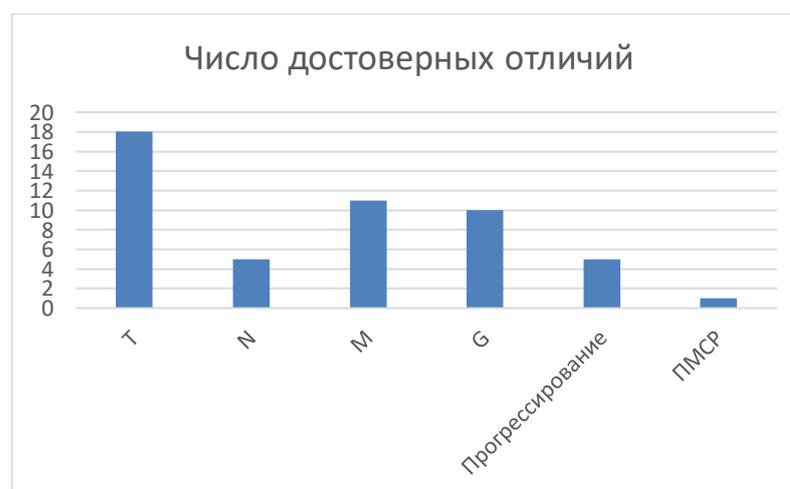
Далее мы исследовали неизменные ткани при колоректальном раке. В большинстве случаев получить образцы из 5 отделов было невозможно из-за особенности забора ткани края

резекции на исследование, зависящей от объема операции, и небольшим количеством образцов, полученных во время эндоскопического исследования. Поэтому мы провели сравнительный анализ для отделов: правая, левая ободочная и прямая кишка, учитывая клиническую важность этих отделов (Таблица 6).

**Таблица 6** – Результаты дискриминантного анализа: соответствие классификации образцов по молекулярному фенотипу с их принадлежностью к отделу ТК для 3 анатомических отделов толстой кишки согласно дискриминантной модели

Отдел ТК	Частота совпадения классификации (%)	Распределение образцов по отделам ТК согласно дискриминантной модели (n)		
		Правая ОК	Левая ОК	Прямая кишка
Правая ОК	87,5	21	3	0
Левая ОК	87,8	6	86	6
Прямая кишка	93,9	0	2	31
Общая точность классификации	89,0	27	91	37

Общая точность молекулярного фенотипирования трех отделов толстой кишки составила 89%. Статистически достоверные отличия экспрессии получены для 37 генов. Прямая кишка отличалась от левой ободочной по 30 генам, от правой ободочной по 27 генам, левая ободочная отличалась от правой по 8 генам. Далее мы провели анализ взаимосвязи уровня экспрессии генов в неизменных тканях при КРР с учетом клинико-морфологических характеристик опухоли (Рисунок 5).



**Рисунок 5** – Число достоверных отличий уровня экспрессии генов в образцах неизменных тканей при КРР в зависимости от клинико-морфологических характеристик опухоли

Анализ показал достоверное изменение уровня экспрессии 18 генов в зависимости от глубины прорастания опухоли (Т), 5 генов при наличии лимфогенных метастазов (N), 11 генов при отдаленном метастазировании (M), 10 генов при изменении степени злокачественности (G). В группе больных с последующим прогрессированием заболевания обнаружены отличия 5 генов, входящих в функциональную группу регуляции пролиферации, клеточной дифференцировки, ингибирования апоптоза. В группе пациентов с первично-множественным раком (ПМСР) определены более высокие значения экспрессии гена пролиферации *TERT* (Рисунок 7). Таким образом, показано, что молекулярные изменения МНТ при КРР также зависят от отдела, в котором локализуется опухоль. Кроме этого, мы определили наличие молекулярных отличий и их корреляцию с распространенностью злокачественного процесса (TNM), степенью злокачественности опухоли, и прогрессированием заболевания.

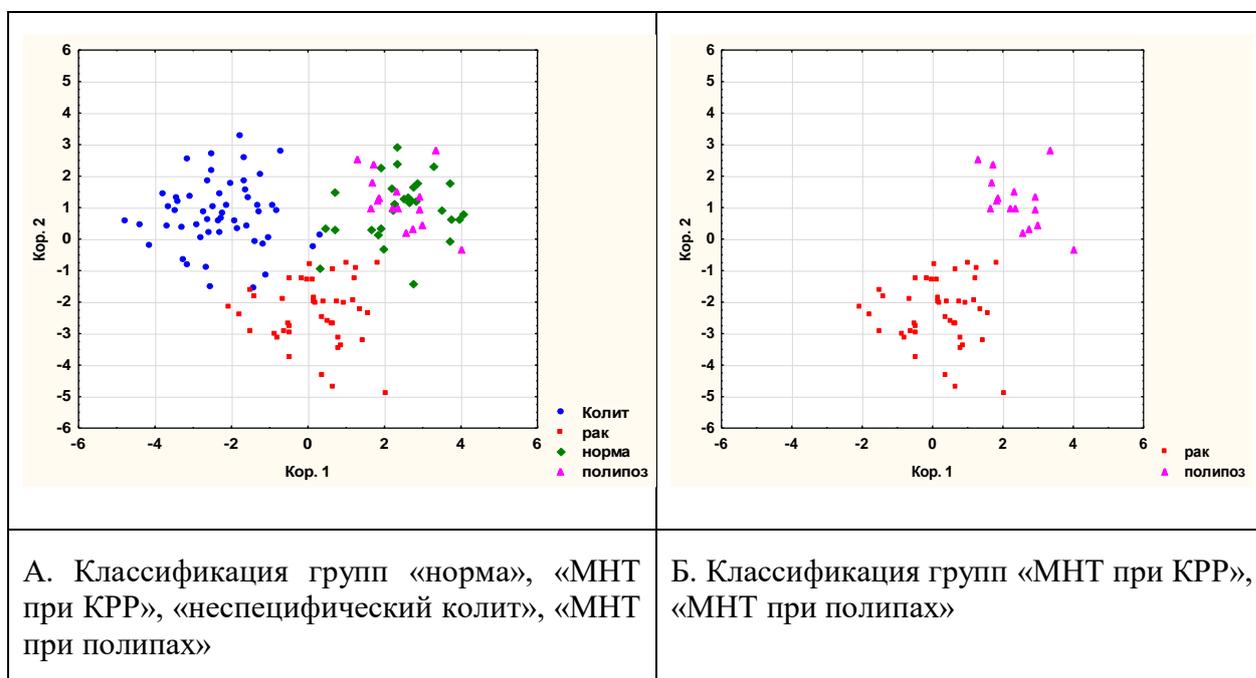
В группе МНТ при колоректальном раке мы также наблюдали большую вариабельность значений уровня экспрессии ряда генов пролиферации и апоптоза, и особенно генов, регулирующих иммунный ответ, в сравнении с группами тканей здоровых доноров и МНТ при полипах. Суммируя полученные результаты первого этапа исследования мы выяснили, что молекулярные фенотипы нормальной слизистой оболочки толстой кишки, МНТ при полипозе и МНТ при колоректальном раке отличаются в разных отделах толстой кишки, уровень экспрессии генов коррелирует с типом патологического процесса и клинико-морфологическими показателями. Проведенное исследование позволило установить, что в морфологически неизменной ткани толстой кишки при различных патологических процессах молекулярно-генетические изменения наблюдаются на достаточном отдалении от очага поражения (в других отделах толстой кишки).

Ключевой задачей нашего исследования являлась оценка возможности использования анализа экспрессионного фенотипа для диагностики патологического процесса в толстой кишке. С практической точки зрения наибольший интерес представляют молекулярные изменения в прямой кишке, так как она является наиболее доступным отделом для забора биологического материала. На втором этапе мы оценивали возможность дифференцировать патологию в толстой кишке по материалу мазка из прямой кишки, предполагая, что при возникновении патологии, может быть затронут весь пораженный орган. Были сформированы 4 группы по типу патологии в толстой кишке – они включали клеточный материал соскобов при КРР, полипозе, неспецифическом язвенном колите и контрольную группу условно здоровых доноров. Важно, что участки воспаления, доброкачественная и злокачественная опухоль располагались в разных отделах толстой кишки. Анализ классификации молекулярных фенотипов клеточного материала соскобов из прямой кишки, проведенный для 4 групп образцов, показал, что с высокой достоверностью мы можем классифицировать группы

«норма», «МНТ при КРР» и «неспецифический колит» (Таблица 7, Рисунок 6А). Исключение составила группа МНТ при полипах, в которой 55% образцов распределились в группу «норма», что возможно объяснить начальным небольшим количеством молекулярных изменений при доброкачественном опухолевом процессе. При этом 45% образцов правильно распределились в группу «МНТ при полипах». Модель включает 31 ген.

**Таблица 7** – Классификационная матрица фенотипических отличий тканей прямой кишки для групп «норма», «Неспецифический колит», «МНТ при полипах», «МНТ при КРР»

Наблюдаемые группы	Частота совпадения классификации (%)	Распределение в группы ткани согласно дискриминантной модели (n)			
		Норма	МНТ при полипах	неспецифический колит	МНТ при КРР
Норма	95,08	58	1	0	2
МНТ при полипах	44,44	10	8	0	0
Неспецифический колит	92,73	2	0	51	2
МНТ при КРР	86,36	5	0	1	38
Всего	87,08	75	9	52	42



**Рисунок 6** – График рассеяния канонических значений, определяющий вклад дискриминантных функций в разделение между группами «норма», «МНТ при КРР», «неспецифический колит», «МНТ при полипах»

Таким образом, молекулярно-генетические характеристики неизменной ткани при полипах, по-видимому, могут быть разделены на прогностически благоприятную группу, с низким уровнем пролиферации и группу с менее благоприятным прогнозом – с высоким уровнем пролиферации клеток и началом нарушения контроля апоптоза. Дальнейшие исследования в этом направлении позволят более точно ответить на этот вопрос. Стоит отметить, что ни один образец неизменной ткани при полипах не был распределен в злокачественную и воспалительную патологию. В то же время при постановке задачи дифференцирования дисплазии от неопластических изменений слизистой оболочки толстой кишки модель показала высокую точность. Включение в модель 23 генов позволило классифицировать молекулярный фенотип неизменной ткани прямой кишки при колоректальном раке правильно в 100% случаев, при полипах - в 94% случаев. При этом опухоль и полип располагались как в проксимальных, так и дистальных отделах толстой кишки (Рисунок 6 Б, Таблица 8).

**Таблица 8** – Классификационная матрица фенотипических отличий тканей прямой кишки в группах «МНТ при полипах» и «МНТ при КРР»

Наблюдаемые группы	Частота совпадения классификация %	Распределение по группам ткани согласно дискриминантной модели (n)	
		МНТ при КРР	МНТ при полипах
МНТ при КРР	100	44	0
МНТ при полипах	94,44	1	17
Точность модели	98,39	45	17

При классификации групп «норма» и «МНТ при КРР», образцы нормальной слизистой здоровых доноров распределились правильно в 100% случаев (специфичность), т.е. с отсутствием ложно-положительных результатов, что важно с точки зрения возможного применения метода в качестве скрининга. Образцы неизменной ткани из прямой кишки пациентов с КРР были правильно распределены в свою группу в 86,36% случаев (чувствительность) (Таблица 9). На основании полученных данных были определены 16 генов: *MYC*, *CD56*, *COX-2*, *P16INK4A*, *PTEN*, *GREM1*, *IL7*, *TLR2*, *IL8*, *GNLY*, *TNF $\alpha$* , *HER2*, *MMP9*, *P14ARF (P19ARF)*, *CCNB1*, *TPA*, которые можно рассматривать в качестве потенциальных диагностических маркеров для скрининга КРР.

**Таблица 9** – Классификационная матрица фенотипических отличий тканей прямой кишки в группах «норма» и «КРР»

Наблюдаемые группы	Частота совпадения классификации %	Распределение по группам ткани согласно дискриминантной модели (n)	
		МНТ при КРР	Норма
МНТ при КРР	86,36	38	6
Норма	100,00	0	61
Точность модели	94,28	38	67

Алгоритм применения модели на основе изменения экспрессии мРНК в клеточном материале соскобов из прямой кишки предполагает определение уровня экспрессии 45 генов, которые в разных комбинациях, в зависимости от поставленной диагностической задачи, позволяют дифференцировать молекулярные фенотипы неизмененных тканей в «норме» и при патологии толстой кишки (Таблица 10).

**Таблица 10** – Гены – кандидаты для дифференциальной диагностики заболеваний толстой кишки

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ГРУППА	НАИМЕНОВАНИЕ ГЕНА
ПРОЛИФЕРАЦИЯ	<i>CCNB1, CCND1, STK15, PTEN, P16INK4A, P14ARF (P19ARF), KI67</i>
ТРАНСКРИПЦИЯ	<i>MYC</i>
АПОПТОЗ	<i>BAX, BAG1, TERT, BCL2, NDRG1, BIRC5</i>
ФАКТОРЫ РОСТА	<i>VEGFA121, VEGFA165, VEGFA189, TGFb, IGF2</i>
ДИФФЕРЕНЦИРОВКА/РЕЦЕПТОРЫ	<i>CD56, CD68, HER2, GRB7, ESR1, LIFR, LIF,</i>
МЕЖКЛЕТОЧНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ	<i>MMP2, MMP8, MMP9, MMP11, CTSL2, TPA</i>
ЦИТОКИНЫ И ФАКТОРЫ ИММУННОГО ОТВЕТА	<i>IL1b, IL2, IL2Ra, IL7, IL8, IL12a, IL15, LGALS1, TLR2, COX-2, GNLY, TNFa, GREM1</i>

В зависимости от профиля лечебного учреждения и цели можно использовать разные панели. Например, модель, включающая 16 генов, позволяет дифференцировать «норму» от рака. Чувствительность теста составляет 86,3% при уровне специфичности 100% (Таблица 9). Модель, включающая 31 ген, позволяет дифференцировать патологический процесс в толстой кишке (рак, полипы, неспецифический язвенный колит) от «нормы» в 95% случаев (Таблица 7). При распределении образца в группы патологии в толстой кишке или группу «рак» (при использовании панели, включающей 16 генов) пациент направляется на дополнительное обследование. Таким образом, результаты наших исследований предполагают возможность включения анализа экспрессии генов в обследование категории больных с полипами толстой кишки, неспецифическим язвенным колитом и колоректальным раком с целью выявления

пациентов с высоким риском развития рака, а также повышения эффективности наблюдения и ведения каждой группы пациентов. Использование анализа экспрессии мРНК для создания карт фенотипического профиля толстой кишки в норме и при патологических процессах в толстой кишке может помочь выявить потенциальные биомаркеры и определить механизмы, лежащие в основе прогрессирования заболевания, а также улучшить наше понимание биологии КРР, развивающегося из спорадических аденом и на фоне воспалительных заболеваний кишечника.

## **ВЫВОДЫ**

1. Молекулярный фенотип слизистой толстой кишки, определяемый на основании профиля экспрессии мРНК, отличается в различных анатомических отделах толстой кишки. Профиль экспрессии достоверно меняется с возрастом.

2. Уровень экспрессии в морфологически неизменной ткани при полипозе достоверно различается в отделах толстой кишки и коррелирует со степенью дисплазии и гистологическим типом полипа.

3. Уровень экспрессии в морфологически неизменных тканях при колоректальном раке достоверно различается в отделах толстой кишки и коррелирует с глубиной прорастания опухоли, наличием лимфогенного и гематогенного метастазирования, степенью злокачественности.

4. Морфологически неизменная ткань слизистой толстой кишки при различной патологии (полипоз, колоректальный рак, неспецифический язвенный колит) достоверно отличается по профилю экспрессии, как от нормальной ткани здоровых доноров, так и между собой.

5. Исследование экспрессионного профиля клеточного материала соскобов прямой кишки позволяет дифференцировать наличие патологического процесса (полипоз, колоректальный рак, неспецифический язвенный колит) в толстой кишке. Отличия, могут быть использованы для скрининга и дифференциальной диагностики патологии толстой кишки.

## **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. **Захаренко М.В.** Исследование профилей экспрессии мРНК генов, участвующих в регуляции основных клеточных функций в неизменённом эпителии толстой кишки у здоровых доноров / М.В. Захаренко, В.К. Боженко, Я.Ю. Киселёва, Е.Л. Джикия, У.С. Станоевич, Т.М. Кулинич, Н.В. Мельникова, А.Л. Сенчукова, А.Б. Уракова, И.Б. Грунин, С.В. Гончаров, О.П. Близнюков, В.А.Солодкий // Биомедицинская химия. — 2021. — Т. 67 — № 4 — С.366-373.

2. Боженко В.К. Фенотипические изменения в морфологически нормальной ткани опухолевого окружения. Диагностические перспективы / В.К. Боженко, **М.В. Захаренко**, С.В. Гончаров, У. Станоевич, Е.А. Кудинова, В.А. Солодкий // Клиническая лабораторная диагностика. —2021. —Т. 66. — № S4. — С. 17-18.

3. Солодкий В.А. Скрининг колоректального рака: прошлое, настоящее, будущее / В.А. Солодкий, У. Станоевич, В.К. Боженко, **М.В. Захаренко**, С.В. Гончаров, Т.В. Крашихина, В.А. Рагимов, Е.Н. Гребенкин // Вестник Российского научного центра рентгенорадиологии. — 2020. — Т. 20. — № 2. — С. 144-161.

4. Боженко В.К. Исследование уровня экспрессии гена TERT в слизистой оболочке толстой кишки при различной патологии / В.К. Боженко, **М.В. Захаренко**, Т.М. Кулинич, Е.Л. Джикия, А.Л. Сенчукова, У.С. Станоевич, И.Б. Грунин, Н.В. Мельникова, Т.В. Крашихина, О.П. Близнюков, С.В. Гончаров, Е.А. Кудинова // Вестник Российского научного центра рентгенорадиологии. — 2020. — Т. 20. — № 3. — С. 15-39.

5. Кулинич Т.М. Исследование уровня экспрессии генов-маркеров пролиферативной активности в слизистой оболочке толстой кишки при различной патологии // Т.М. Кулинич, **М.В. Захаренко**, Е.Л. Джикия, А.Л. Сенчукова, У.С. Станоевич, И.Б. Грунин, Н.В. Мельникова, С.В. Гончаров, Т.В. Крашихина, Е.А. Кудинова, О.П. Близнюков, В.К. Боженко // Успехи молекулярной онкологии. — 2020. — Т. 7. — № 2. — С. 39-46.

6. Углеша С.С. Особенности молекулярных изменений в морфологически неизменной слизистой оболочке толстой кишки при колоректальном раке / С.С. Углеша, **М.В. Захаренко**, В.А. Солодкий, Т.В. Крашихина, В.Д. Чхиквадзе, И.Д. Троценко, В.К. Боженко // В книге: Материалы IV Петербургского международного онкологического форума "Белые ночи 2018". Тезисы. Автономная некоммерческая научно-медицинская организация «Вопросы онкологии». — 2018. — С. 23.

7. Боженко В.К. Сравнение экспрессии мРНК матриксных металлопротеиназ в морфологически нормальной, неопластической и метастатической тканях толстого кишечника и в биоптатах здоровых доноров / В.К. Боженко, У.С. Станоевич, И.Д. Троценко, **М.В. Захаренко**, Я.Ю. Киселева, В.А. Солодкий // Биомедицинская химия. — 2018. — Т. 64. — № 1. — С. 46-52.

8. Станоевич У. Роль молекулярных изменений в морфологически неизменной слизистой оболочке толстой кишки при колоректальном раке / У. Станоевич, **М.В. Захаренко**, В.К. Боженко, И.Д. Троценко, Т.В. Крашихина, В.А. Рагимов // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. — 2018. — № 2. — С. 99-99а.

9. Солодкий В.А. Исследование уровней экспрессии ключевых генов онкогенеза при колоректальном раке / В.А. Солодкий, У. Станоевич, **М.В. Захаренко**, В.К. Боженко, В.Д. Чхиквадзе, И.Д. Троценко, Т.В. Крашихина // Исследования и практика в медицине. — 2018. — Т. 5. — № S2. — С. 74.

10. Станоевич У. Молекулярно-генетические характеристики глубины инвазии колоректального рака / У. Станоевич, И.Д. Троценко, В.К. Боженко, В.Д. Чхиквадзе,

**М.В.Захаренко**, П.Г. Колесников, Н.В. Харченко // В книге: Сборник научных работ III Петербургского Международного онкологического форума "Белые ночи 2017". ФГБУ "НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова" Минздрава России. — 2017. — С. 29.

11. Солодкий В.А. Возможности прогнозирования течения колоректального рака / В.А. Солодкий, У. Станоевич, И.Д. Троценко, В.К. Боженко, **М.В. Захаренко**, В.А. Рагимов, Т.В. Крашихина // В книге: Сборник научных работ III Петербургского Международного онкологического форума "Белые ночи 2017". ФГБУ "НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова" Минздрава России. — 2017. — С. 31.

12. Троценко И.Д. Сравнительный анализ профиля экспрессии и профиля корреляции генов в нормальном эпителии толстой кишки, окружающей ткани и опухоли у больных колоректальным раком // И.Д. Троценко, У. Станоевич, В.К. Боженко, В.А. Солодкий, **М.В. Захаренко** // В книге: Сборник научных работ III Петербургского Международного онкологического форума "Белые ночи 2017". ФГБУ "НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова" Минздрава России. — 2017. — С. 31-32.

13. **Захаренко М.В.** Оценка диагностической значимости изменения профиля экспрессии генов в морфологически неизменной ткани при колоректальном раке / М.В. Захаренко, Т.М. Кулинич, У.С. Станоевич, И.Д. Троценко, Я.Ю. Киселева, А.Л. Сенчукова, Е.Л. Джикия, Д.А. Буйнова, В.К. Боженко // В книге: Сборник научных работ III Петербургского Международного онкологического форума "Белые ночи 2017". ФГБУ "НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова" Минздрава России. — 2017. — С. 88-89.

14. Солодкий В.А. Клиническое применение молекулярно-генетических исследований при колоректальном раке / В.А. Солодкий, У. Станоевич, В.К. Боженко, **М.В. Захаренко**, И.Д. Троценко // Колопроктология. — 2017. — № S3 (61). — С. 65.

15. Станоевич У. Изменение профиля экспрессии ключевых генов онкогенеза при различных стадиях колоректального рака / У. Станоевич, В.К. Боженко, **М.В. Захаренко**, И.Д. Троценко, Т.В. Крашихина, В.А. Солодкий // Злокачественные опухоли. — 2017. — Т. 7. — № 3S1. — С. 209.

16. Станоевич У.С. Роль молекулярно-генетических исследований в планировании неoadьювантной химиолучевой терапии при раке прямой кишки // У.С. Станоевич, В.К. Боженко, **М.В. Захаренко**, С.В. Гончаров, В.А. Солодкий // Злокачественные опухоли. — 2016. — № 4S1 (21). — С. 258-259.