DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-177-5-91-98

Биологические маркеры риска малигнизации пищевода Барретта

Кармакова Т. А., Пирогов С. С., Каприн А. Д.

Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П. А. Герцена — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России

Biological markers of Barrett's esophagus progression to adenocarcinoma

T. A. Karmakova, S. S. Pirogov, A. D. Kaprin

P. A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute, branch of the Federal State Budgetary Institution "National Medical Research Radiological Center" (FSBI NMRRC), Ministry of Health of the Russian Federation

Для цитирования: Кармакова Т. А., Пирогов С. С., Каприн А. Д. Биологические маркеры риска малигнизации пищевода Барретта. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2020;177(5): 91–98. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-177-5-91-98

For citation: Karmakova T. A., Pirogov S. S., Kaprin A. D. Biological markers of Barrett's esophagus progression to adenocarcinoma. *Experimental and Clinical Gastroenterology.* 2020;177(5): 91–98. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-177-5-91-98

Кармакова Татьяна Анатольевна, отделение прогноза эффективности консервативной терапии, ведущий научный сотрудник, доктор биологических наук

Пирогов Сергей Сергеевич, заведующий отделом эндоскопии, доктор медицинских наук.

Каприн Андрей Дмитриевич, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, Генеральный директор ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, России, академик РАН, профессор, доктор медицинских наук

Tatiana A. Karmakova, Department of Prediction of Conservative Treatment Efficiency, Leading Researcher, Dr. Sc. Biol.

Sergey S. Piogov, Endoscopy Department, Head of the Department, Dr. Sc. Med.

Andrey D. Kaprin, Director-General of FSBI NMRRC, Member of RAS, Professor, Dr. Sc. Med.

✉ ***Corresponding author:***
Кармакова Татьяна Анатольевна
Tatiyana A. Karmakova
kalmar123@yandex.ru

Резюме

Пищевод Барретта (ПБ) — состояние, при котором происходит замещение многослойного плоского эпителия в дистальном отделе пищевода метаплазированным цилиндрическим эпителием кишечного типа, является факультативным предраковым заболеванием, связанным с повышенным риском развития аденокарциномы пищевода (АКП). Для раннего выявления злокачественной опухоли действующие клинические руководства рекомендуют эндоскопическое наблюдение с обязательным гистологическим исследованием биоптатов слизистой оболочки пищевода. При этом дисплазия эпителия — единственный значимый показатель вероятности возникновения аденокарциномы на фоне ПБ, который сегодня используется в клинической практике. Существующие многочисленные ограничения эффективности такого подхода делают актуальным поиск дополнительных критериев диагностики ранних неопластических нарушений и оценки риска их прогрессии в эпителии ПБ. В рамках данной статьи рассматриваются наиболее значимые генетические и молекулярные нарушения, которые могут претендовать на роль диагностических или предиктивных биологических маркеров при ПБ.

Ключевые слова: пищевод Барретта, аденокарцинома пищевода, биологические маркеры

Summary

Barrett's esophagus (BE) is a condition in which a stratified squamous epithelium of the distal esophagus is replaced with a metaplastic intestinal-type columnar epithelium. BE is a precancerous condition associated with an increased risk of esophageal adenocarcinoma (EA). Current clinical practice guidelines recommend endoscopic surveillance with histological examination of esophageal biopsies for early detection of the EA. Epithelial dysplasia is the only clinically meaningful indicator of the risk for development carcinoma in BE, which is now used in practice. The existing limitations of this approach require new tools for the detection of early neoplastic disorders in BE and additional criteria to assess a risk for their progression. Within the framework of this review, the most significant genetic and molecular indicators that can claim the role of diagnostic or predictive biological markers in BE are considered.

Keywords: Barrett's esophagus, esophageal adenocarcinoma, biological markers

Пищевод Барретта (ПБ) – патологическое состояние, при котором нормальный многослойный плоский эпителий слизистой оболочки нижней части пищевода замещается цилиндрическим эпителием кишечного типа. ПБ является осложнением гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ) и считается факультативным предопухолевым заболеванием, связанным с повышенным риском развития аденокарциномы пищевода (АКП) [1, 2]. В то же время, возникновение злокачественной опухоли диагностируют только у 1–3% от всех больных с ПБ [3]. Известно, что в общей популяции АКП чаще обнаруживают у мужчин и лиц европеоидной расы, вероятность развития АКП увеличивается с возрастом, при симптоматической ГЭРБ и ожирении, при наличии заболевания АКП или ПБ в семейном анамнезе, при длинном сегменте метаплазии, эрозивном эзофагите и изъязвлениях слизистой оболочки пищевода [4]. Однако, что именно определяет развитие АКП только у некоторых лиц, относимых к группе риска, на сегодняшний день остается неясным.

Известно, что на морфологическом уровне развитию инвазивной аденокарциномы при ПБ предшествуют диспластические изменения эпителия нарастающей степени тяжести. Дисплазия эпителия – единственный значимый показатель повышенного риска развития АКП, который сегодня используется на практике [5]. При тяжелой дисплазии эпителия частота прогрессии ПБ до аденокарциномы достигает 40–60% [6], в связи с чем, тяжелая дисплазия рассматривается как непосредственный предшественник злокачественной опухоли, а выявление такого состояния требует эндоскопического лечения [1, 2]. Меньше определенности для выбора оптимальной тактики ведения больных с ПБ представляет диагноз слабой дисплазии и дисплазии неопределенной степени. По результатам подавляющего большинства исследований, частота прогрессии до тяжелой дисплазии или аденокарциномы у больных ПБ со слабой дисплазией выше, чем при ее отсутствии [7–9]. В то же время, оценка степени риска прогрессии в разных исследованиях существенно варьирует, у подавляющего большинства больных ПБ и диагнозом слабой дисплазии не наблюдается прогрессии патологических нарушений, а тяжелую дисплазию или аденокарциному обнаруживают и у пациентов, у которых за время предшествующего обследования не было установлено признаков дисплазии. Причинами этого считаются морфологическая гетерогенность эпителия ПБ, низкая согласованность в оценке степени патоморфологических нарушений при слабо выраженных диспластических изменениях, неодинаковая скорость прогрессии дисплазии в индивидуальных случаях, которая может зависеть от генетических особенностей или факторов микроокружения. Применение современных технологий эндоскопической визуализации и появление новых методов получения биопсийного материала позволяют существенно повысить эффективность диагностических процедур при исследовании слизистой оболочки пищевода [10]. Доказана успешность и безопасность эндоскопической эрадикационной терапии, в частности, радиочастотной абляции, в лечении диспластического ПБ [11]. В то же время, отсутствие надежных эпидемиологических и клинико-морфологических критериев для оценки вероятности появления и прогрессии патологических нарушений при ПБ, ограничивает возможность стратификации пациентов, относящихся к группе высокого или низкого риска. Надежды на решение этой проблемы возлагают на поиск биологических маркеров, ассоциированных с развитием АКП, применение которых поможет усовершенствовать диагностику дисплазии и прогностическую оценку заболевания при ПБ.

Патогенез аденокарциномы пищевода

Хорошо известно, что аденокарцинома чаще всего возникает в дистальном отделе пищевода и имеет четкую связь с ГЭРБ [1, 2]. Считается, что патофизиологические факторы, влияющие на развитие и течение ГЭРБ, непосредственно вовлечены в патогенез АКП. Длительное раздражающее воздействие соляной кислоты, солей желчных кислот и пищеварительных ферментов желудочного сока на слизистую оболочку пищевода приводит к дистрофическим и воспалительным нарушениям, стимулирует пролиферативные процессы и изменение дифференцировки стволовых клеток в сторону появления метаплазированного цилиндрического эпителия желудочного или кишечного типа. Действие раздражающих факторов может провоцировать в клетках эпителия избыточное образование активных форм кислорода, которые повреждают клеточные структуры, в том числе, ядерную и митохондриальную ДНК, оказывая тем самым мутагенный эффект. Подавление активности ферментов репарации ДНК и нарушение окислительно-восстановительного гомеостаза усиливает повреждающее действие окислительного стресса [12]. Воспалительные процессы усугубляют эти нарушения, а выделяемые эпителиальными клетками и клетками воспалительного инфильтрата цитокины стимулируют деление клеток, ангиогенез и ремоделирование стромы [13].

Механизм появления кишечной метаплазии в эпителии пищевода, как на клеточном, так и на молекулярном уровне, до настоящего времени, вызывает споры. Существующие гипотезы рассматривают возможность трансдифференцировки клеток плоского эпителия, изменение направления дифференцировки плюрипотентных клеток базального слоя плоского эпителия и желез подслизистого слоя, а также миграции в слизистую оболочку пищевода стволовых клеток-предшественников из области желудочно–пищеводного соединения или из костного мозга [14]. Принимая во внимание известную клональную гетерогенность эпителия ПБ [15], нельзя исключить, что все эти предположения являются верными. Причины, по которым именно кишечная метаплазия в слизистой оболочке

пищевода, обладает наибольшим потенциалом к малигнизации, пока остаются неясными.

Результаты геномных исследований показывают, что ПБ представляет собой более сложное состояние, чем просто метапластическое перерождение слизистой оболочки пищевода. Эпителий ПБ может нести в себе генетические аномалии, выявляемые, в том числе, и в ткани АКП, и практически всегда содержит множественные эпигенетические изменения, отличающие его от нормального плоского эпителия пищевода или цилиндрического эпителия кардиального отдела желудка [16].

Уже в ранних исследованиях было установлено, что в клетках эпителия ПБ, прилежащем к опухоли, обнаруживаются грубые генетические аномалии, связывающие его с АКП, такие как изменение числа хромосом (анеуплоидия, тетраплоидия), утрата гетерозиготности (Loss of Heterozygosity, LOH) в специфических локусах хромосом (17p, 9p, 5q, 13q), микросателлитная нестабильность, а также масштабные изменения профиля метилирования промотортных участков ДНК [15]. Согласно сложившейся парадигме, утрата активности гена *CDKN2A,* вследствие 9pLOH или метилирования промотора, является наиболее ранним, инициирующим событием в патогенезе АКП, а ключевым фактором прогрессии считается появление в диспластическом эпителии клонов клеток с мутациями, затрагивающими ген *TP53*, которые провоцируют лавинообразное накопление генетических нарушений [12].

Современные геномные исследования, с одной стороны, подтверждают ранее сформированные представления о происхождении аденокарциномы в пищеводе, с другой стороны, демонстрируют, что патогенез АКП является сложным и, скорее всего, нелинейным процессом [17]. В числе драйверных соматических мутаций, которые наиболее часто обнаруживают в АКП, идентифицированы нарушения, приводящие к утрате активности генов-супрессоров опухоли (*TP53, CDKN2, APC, RUNX1, FHIT* и др.), активации и амплификации онкогенов (*MYC, EGFR, ERBB2/HER2-neu, TGFB1, PCNA* и др.) и генов, контролирующих связанные с ними сигнальные пути (*PI3KCA, PTEN* и др.), амплификации генов, промотирующих опухолевую прогрессию (*IGF1R, MET, VEGFA*), мутации генов, отвечающих за ремоделирование хроматина (*ARID1A, ARID2, SMARCA4, PBRM1*), адгезию клеток (*CDH1, HEWCW1, AJAP1*) и регуляцию воспалительного ответа (*NFкB, TLR*A4) [12].

В ходе исследований генома и экзома в ткани АКП было идентифицировано множество генетических аберраций, включая десятки вариантов нарушения числа и структуры хромосом и тысячи мутаций в специфических генах [18, 19], что позволяет отнести АКП к типу опухолей, которые характеризуются высокой мутационной нагрузкой, сопоставимой с такими новообразованиями, как меланома и рак легкого [20].

По данным полногеномного секвенирования (Whole Genome Sequencing, WGS), генетические нарушения при АКП преимущественно представляют собой крупномасштабные геномные перестройки и изменения количества копий генов, что, в частности, сближает особенности АКП с характеристиками хромосомно-нестабильного молекулярно-генетического варианта рака желудка (CIN) [21]. Внутри своей нозологии АКП отличается высокой генетической гетерогенностью между отдельными случаями, а по набору преобладающих структурных вариаций или соматических мутаций, это заболевание может быть разделено на молекулярные подтипы [22, 23]. Хромосомный набор в клетках эпителия ПБ в целом более стабилен, чем в ткани АКП, в которой до 40% клеток имеют набор хромосом, отличный от диплоидного [17]. При этом генетические ландшафты ПБ и АКП более четко перекрываются именно по хромосомным аберрациями, чем по соматическим мутациям. Предполагается, что ПБ может прогрессировать до карциномы несколькими различными путями, что и приводит к формированию различных молекулярных вариантов опухоли, но на определенном этапе ускоряется из-за критических событий, затрагивающих большие области генома (геномная катастрофа) [22].

Эпителий ПБ, по данным WGS, характеризуется высокой мутационной нагрузкой даже при отсутствии в нем неопластических нарушений [19]. При этом оказалось, что точковые мутации с большей интенсивностью возникают на ранних стадиях, и в ткани ПБ их может быть больше, чем в ткани АКП [22]. При дисплазии количество мутаций в эпителии ПБ сравнимо с АКП, но многие из них, в частности, мутации *CDKN2A*, с высокой частотой встречаются как в карциномах, так и в неопухолевом эпителии, и не позволяют дискриминировать АКП и ПБ. Мутации TP53 характерны для тяжелой дисплазии и для окружающей опухоль ткани, а мутации *SMAD4* определяются только в ткани опухоли [17]. Детальное генетическое картирование слизистой оболочки пищевода, резецированной у больных с тяжелой дисплазией и ранней АКП, показало, что участки ПБ, непосредственно прилегающие к опухоли, могут существенно отличаться от нее по спектру генетических нарушений, что заставляет предполагать либо узко-клональное происхождение карциномы в этих случаях, либо ее развитие вне зависимости от определяемых фоновых генетических аномалий [19, 20].

Аномалии плоидности ДНК

Численные и структурные хромосомные аномалии возникают при нарушении распределения генетического материала в процессе клеточного деления, в результате чего дочерние клетки приобретают поврежденные хромосомы, либо неполный или избыточный набор хромосом. Анеуплоидия (трисомия или моносомия) или тетраплоидия (удвоенный набор хромосом, 4N) в клетках эпителия при ПБ в отсутствии дисплазии обнаруживаются с частотой 10–14%, при слабой дисплазии – 25–60%,

при тяжелой дисплазии – 65–73%, при АКП – в 100% случаев [6, 24]. Reid с соавт. в процессе 5-летнего наблюдения за 327 больными ПБ без дисплазии, с дисплазией неопределенной степени и слабой дисплазией, впервые показали достоверную связь между наличием анеуплоидии/4N в клетках эпителия пищевода и развитием АКП, вне зависимости от гистологического диагноза на время начала наблюдения [6]. В последующем значимость плоидности ДНК для оценки риска малигнизации ПБ получила подтверждение в более продолжительных проспективных исследованиях [25]. По данным последнего опубликованного мета-анализа [26], анеуплоидия, как индивидуальный предикторный маркер развития аденокарциномы в ПБ, характеризуется чувствительностью 52%, специфичностью 87% и AUC0,846. Для тетраплоидии эти показатели составили 49%, 85% и 0,793, соответственно.

Утрата гетерозиготности генов-супрессоров опухоли

Большинство мутаций, ассоциированных с неопластической прогрессией, являются рецессивными и не проявляются фенотипически, благодаря существованию нормального аллеля в парной хромосоме. Сочетание таких нарушений с хромосомными или точковыми мутациями, затрагивающими нормальный аллель (LOH) влечет за собой экспрессию дефектных генов или полную потерю соответствующей функции.

В ткани АКП идентифицировано множество LOH в специфических локусах, среди которых наиболее значимыми является утрата участков, содержащих гены-супрессоры опухолевого роста: 17p13.1 (ген *TP53*), 9p21 (ген *CDKN2A*), 3p21 (гены *RASSF1, ABLU, SEMA3B, hMLH1*), 5q21 (ген *APC*) [16]. Варианты LOH, определяющие аберрантную экспрессию *TP53* (17pLOH), обнаруживаются в эпителии ПБ, прилегающем к опухоли, и практически не встречаются при ПБ без признаков неопластических нарушений. По результатам многолетнего проспективного исследования [25], наличие 17pLOH в эпителии без признаков дисплазии в 10,6 раз увеличивает риск прогрессии ПБ до аденокарциномы, а сочетание 17pLOH с 9pLOH и аномалиями плоидности ДНК увеличивает риск развития аденокарциномы в 38,7 раз, по сравнению со случаями, в которых данные нарушения не определяются.

Выявление 17pLOH в биопсиях ассоциировано с тетраплоидией и, таким образом, связано с участками нестабильности генома, в то время как 9pLOH встречается по всей протяженности ПБ и, как считается, предшествует появлению 17pLOH [16]. По данным упомянутого выше мета-анализа, обобщающего результаты нескольких проспективных исследований [26], чувствительность 17pLOH и 9pLOH, как индивидуальных предикторных маркеров прогрессии ПБ, сравнима (61% и 62%, соответственно), но 17pLOH существенно превосходит 9pLOH по специфичности (89% и 50%, соответственно).

Аберрантная экспрессия TP53

Продукт гена *TP53* – белок p53, является фактором транскрипции и контролирует в клетке множество процессов, включая репарацию ДНК, регуляцию клеточного цикла, индукцию апоптоза, координацию метаболических процессов и межклеточных взаимодействий [27]. Мутации TP53 обнаруживают в большинстве злокачественных опухолей, в том числе, в аденокарциноме пищевода [18]. Нарушение экспрессии TP53 считается ключевым событием, которое индуцирует процессы малигнизации в ПБ [28].

Аберрации экспрессии p53 в эпителии пищевода обнаруживаются методами иммуногистохимии и выражаются либо увеличением количества белка в клетках, что связано с накоплением мутантного, функционального неактивного продукта *TP53*, либо полной утратой p53, вследствие инактивации гена. Результаты первого масштабного проспективного исследования Kastelein F. и соавт. [29], включавшего 1432 больных ПБ без дисплазии и со слабой дисплазией эпителия, показали, что аберрантная экспрессия p53, по результатам иммуногистохимического (ИГХ) окрашивания биопсий, коррелирует с выявлением у пациентов в процессе наблюдения тяжелой дисплазии или АКП. Специфичность прогностической оценки составила 86%, чувствительность – 49%. При этом, ИГХ оценка экспрессии p53 оказалась более надежным предиктивным показателем, чем морфологический диагноз слабой дисплазии [29]. В последующем эти результаты получили подтверждение в независимых аналогичных исследованиях [28, 30].

Аберрации экспрессии p53, выявляемые методом ИГХ окрашивания, не всегда соответствуют наличию соответствующих генетических нарушений в индивидуальных случаях. По данным Davelaar A. L. и соавт. [31], сочетание ИГХ исследования экспрессии p53 и определения 17pLOH методом флуоресцентной гибридизации in situ (FISH) в материале браш-биопсии дает возможность увеличить чувствительность прогностической оценки риска прогрессии ПБ до 82% при специфичности 85%. Среди 21 больного, у которых были обнаружены оба признака аберрантной экспрессии *TP53*, тяжелая дисплазия или АКП в течение 3 лет наблюдения были выявлены в 43% случаев, в группе из 70 больных, у которых не было выявлено *TP53*-ассоциированных нарушений – только в 3% случаев [31].

Di Pietro и соавт. [32] использовали комплексный подход для диагностики тяжелой дисплазии и карциномы *in situ* в слизистой оболочке ПБ, который включал аутофлуоресцентную эндоскопию (AFI) и конфокальную лазерную эндомикроскопию для поиска участков, подозрительных на наличие патологических нарушений, а также ИГХ исследование экспрессии p53 и циклина А (белка-регулятора клеточного цикла) и определение плоидности ДНК в биопсийном материале

Данный подход позволил авторам достичь 100% чувствительности диагностики при специфичности 87,8% [32].

Накопленные к настоящему времени данные ретроспективных и когортных исследований убедительно свидетельствуют о том, что аберрантная экспрессия p53 является клинически значимым фактором высокого риска прогрессии ПБ до тяжелой дисплазии и АКП, а ИГХ оценка экспрессии p53 в образцах биопсии слизистой оболочки пищевода может быть полезна для стратификации пациентов по группам риска, и отбора больных, которым целесообразно назначение более интенсивного наблюдения или эндоскопического лечения [33]. Британское общество гастроэнтерологов включило ИГХ исследование экспрессии p53, в качестве дополнения к традиционным диагностическим методам, в рекомендации по диагностике и лечению ПБ (уровень рекомендации B) [34].

Генетические и эпигенетические маркеры

В ряде исследований прослежена достоверная связь между количеством генетических аберраций в эпителии ПБ и нарастанием тяжести морфологических нарушений [35], что дает основание рассматривать нестабильность генома как самостоятельный показатель, обладающий потенциальной диагностической или прогностической значимостью. Суррогатными маркерами нестабильности генома являются множественные однонуклеотидные мутации, большое количество хромосомных аберраций, нарушения плоидности и так называемая микросателлитная нестабильность. Stachler M. D. и соавт. [28] провели ретроспективное исследование мутационной нагрузки в образцах биопсий слизистой оболочки пищевода у 24 больных ПБ с гистологически верифицированной тяжелой дисплазией или АКП («прогрессоры»), и у 73 больных ПБ без признаков дисплазии («не прогрессоры»), наблюдавшихся в течение нескольких лет. Анализ образцов биопсий, полученных в процессе наблюдения за пациентами, показал, что геномный профиль у «прогрессоров» и «не прогрессоров» имеет существенные отличия за год и более до того, как у пациентов в группе «прогрессоров» были диагностированы патологические нарушения. При этом появление мутаций *TP53* коррелировало с развитием тяжелой дисплазии и АКП, но было выявлено, в том числе, в эпителии ПБ без признаков атипии и вне связи с анеуплоидией, что авторы объяснили высокой чувствительностью используемых ими методов. Мутации *CDKN2A* с равной частотой встречались среди «прогрессоров» и «не прогрессоров» и, таким образом, не несли прогностической значимости [28].

Das A. и соавт [36] использовали анализ микросателлитной нестабильности для стратификации больных ПБ по группам риска с целью оптимизации тактики наблюдения и лечения. В группе больных ПБ, не имевших дисплазии на время начала проспективного исследования, была выполнена оценка клинической и экономической эффективности мониторинга, выполнявшегося по четырем принципиально отличавшимся стратегиям, одна из которых включала стратификацию больных по группам риска в соответствии с уровнем нестабильность генома и мутационной нагрузки. Панель маркеров включала определение LOH, наиболее значимых для диагностики АКП (17 p, 9 p, 1 p, 3 p, 5q, 10q, 17q, 18q, 21q и 22q). Причем высокий показатель микросателлитной нестабильности в образцах биопсий служил показанием к эндоскопической абляции. В результате анализа полученных данных авторы приходят к выводу, что стратегия, учитывающая профиль генетических маркеров, доминировала над другими стратегиями, обеспечивая наибольшее количество лет жизни пациентов с наименьшими затратами на их обследование. В этой группе больных за время наблюдения было диагностировано меньше случаев АКП, и относительный риск развития опухоли, по сравнению с группой, которая наблюдалась в соответствии с общепринятыми клиническими рекомендациями, составил 0,49 [36].

То обстоятельство, что возникновение АКП может быть результатом прогрессирования отдельных клонов метаплазированного эпителия ПБ, имеющих различное происхождение и находящихся под влиянием особых факторов микроокружения, в определенной степени осложняет поиск специфических генетических маркеров ранних предопухолевых нарушений. Martinez P. и соавт. [37] в ходе проспективного когортного исследования проследили динамику индивидуальных генетических нарушений у 320 пациентов с ПБ без признаков дисплазии с использованием панели генетических маркеров и обнаружили, что не динамика экспансии отдельных клонов, но высокая их дивергенция может служить маркером прогрессии ПБ до АКП. Авторы пришли к заключению, что определенные клоны метапластического эпителия, по-видимому, изначально содержат потенциал к малигнизации [37].

Эпигенетика описывает механизмы регуляции экспрессии генов, не затрагивающие последовательность ДНК, такие как метилирование промоторов, ацетилирование белков-гистонов, спектр активности микро-РНК. За последние годы изучению эпигенетических особенностей ПБ и АКП, а также роли эпигенетической регуляции в прогрессии ПБ до аденокарциномы, было посвящено множество исследований [38]. В систематическом обзоре этих работ Nieto T. с соавт. [39] подчеркивают, что многие из опубликованных исследований включают анализ относительно небольшого числа пациентов, как правило, являются ретроспективными и не прибегают к независимой валидации. Несмотря на это, есть основания полагать, что некоторые подходы, такие как, например, определение гиперметилирования генов-супрессоров опухоли *CDKN2A*, *HPP1*, *RUNX3* и *APC* в комбинации с клиническими факторами риска, имеют перспективы для применения в качестве диагностических или предикторных биологических маркеров [39].

Не эндоскопические способы получения образцов ткани

Задачи в направлении поиска маркеров малигнизации ПБ сегодня четко смещаются в область идентификации ранних событий, которые охватывают весь геном и способны указать на наличие дисплазии и степень ее тяжести, дать надежный прогноз в отношении вероятности прогрессии имеющихся и скрытых патологических нарушений, в том числе в формате скрининга. Важнейшее значение для успешного решения этих задач придают совершенствованию способов отбора образцов ткани, которое сведет к минимуму объективные и субъективные ограничения традиционной щипцовой эндоскопической биопсии. К настоящему времени предложено несколько вариантов прикрепленных к нити баллонных капсул, которые заглатываются пациентом, а при извлечении широко захватывают тканевой материал со слизистой оболочки пищевода (*Cytosponge*, *Esocheck*, *EsophaCap*) [10].

Наиболее продвинувшаяся на пути к клиническому применению технология Cytosponge включает в себя определение в полученном материале маркера кишечной метаплазии, белка TTF3 (Trefoil Factor 3). Многоцентровое проспективное исследование BEST2 (Barrett's oESophagus trial 2) [40], включавшее 468 больных ПБ (TFF3+) без дисплазии (n=376) и с тяжелой дисплазией или аденокарциномой in situ (n=92), показало, что при гистологическом исследовании полученного с применением *Cytosponge* материала тяжелые прединвазивные патологические нарушения в слизистой оболочке пищевода определяются со специфичностью 94% и чувствительностью 64%. Для результатов иммуногистохимического исследования экспрессии p53 данные показатели составили 96% и 58%, соответственно; для сочетания оценки экспрессии p53 с определением мутационного статуса *TP53* методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) – 83% и 72%, соответственно; для иммуногистохимического окрашивания Aurora kinase A* (суррогатный маркер анеуплоидии) – 70% и 78%, соответственно [40]. Стратификация пациентов согласно комплексной оценке, с учетом наличия в исследуемом материале железистой атипии, оценки аномалий *TP53*, возраста, показателя степени висцерального ожирения и длины ПБ, не дала однозначного соответствия с гистологическим диагнозом. Тем не менее, авторы заключают, что комбинация биомаркеров на образцах *Cytosponge* обладает прогностическим потенциалом, который можно использовать для стратификации пациентов с пищеводом Барретта в группы низкого и высокого риска прогрессирования заболевания [40]. Katz-Summercorn A. и соавт. [41] использовали тканевой материал, полученный с применением технологии *Cytosponge* для последующего мультиплексного ПЦР-анализа (Ion AmpliSeq™ Cancer Hotspot Panel v2), позволяющего идентифицировать свыше 2800 «hot-spot» мутаций в 50 онкогенах. Сравнение с гистологическим диагнозом, полученным при исследовании эндоскопической биопсии у 28 больных с дисплазией эпителия ПБ и 31 больного ПБ без дисплазии, показало, что данный подход выявляет диспластические нарушения при ПБ со специфичностью 90% и чувствительностью 74% [41].

Заключение

На сегодняшний день применение биологических маркеров для оценки риска малигнизации ПБ еще не достигло того уровня, на котором данный подход может быть рекомендованы к широкому применению в клинической практике. Опыт клинических исследований свидетельствует о том, что подавляющее большинство известных молекулярных и генетических маркеров прогрессии ПБ недостаточно информативны, чтобы быть безусловно полезными для диагностики или прогноза течения заболевания. Принимая во внимание множественность и сложность патофизиологических процессов, которые определяют развитие аденокарциномы на фоне ПБ, дальнейший прогресс на этом пути может быть связан с возможностями «омиксных» технологий, позволяющих получать и анализировать большие массивы данных при исследовании биологического материала. На сегодняшний день эти методы достаточно трудоемки, технически сложны и, как правило, дорогостоящи. Однако, возможно, что со временем такие подходы смогут доказать свою экономическую целесообразность, либо обрести приемлемый для клинической практики формат исследования. Фундаментальные достижения современных биомедицинских наук дают все основания надеяться, что в будущем биологические маркеры займут свое место в перечне клинических рекомендаций по диагностике и лечению ПБ.

Литература | References

1. *Ивашкин В.Т, Маев И.В, Трухманов А. С. и соавт.* Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению гастроэзофагеальной рефлюксной болезни // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. – 2017. – Т. 27, № 4. – С. 75–95.

   Ivashkin V. T., Mayev I. V., A.s. Trukhmanov I..., Baranskaya Y. K., et al. Diagnostics and treatment of gastroesophageal reflux disease: clinical guidelines of the Russian gastroenterological association. Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology. 2017;27(4):75–95. (In Russ.) https://doi.org/10.22416/1382–4376–2017–27–4–75–95

2. ASGE guideline on screening and surveillance of Barrett's esophagus. Gastrointest Endosc. – 2019. – Vol. 90, № 3. – P. 335–359.

3. *Gatenby P., Caygill C., Wall C., et al.* Lifetime risk of esophageal adenocarcinoma in patients with Barrett's esophagus. World J Gastroenterol. – 2014. – Vol. 20, № 28. – P. 9611–9617.

4. *Falk G. W.* Barrett's oesophagus: frequency and prediction of dysplasia and cancer. Best Pract Res Clin Gastroenterol. – 2015. – Vol. 29, № 1. – P. 125–138.
5. *Whitson M.J., Falk G. W.* Predictors of progression to high-grade dysplasia or adenocarcinoma in Barrett's esophagus. Gastroenterol Clin North Am. – 2015. – Vol. 44, № 2. – P. 299–315.
6. *Reid B.J., Levine D. S., Longton G., et al.* Predictors of progression to cancer in Barrett's esophagus: baseline histology and flow cytometry identify low- and high-risk patient subsets. Am J Gastroenterol. – 2000. – Vol. 95, № 7. – P. 1669–1676.
7. *Duits L.C., Phoa K. N., Curvers W. L., et al.* Barrett's oesophagus patients with low-grade dysplasia can be accurately risk-stratified after histological review by an expert pathology panel. Gut. – 2015. – Vol. 64, № 5. – P. 700–706.
8. *de Jonge P. J., van Blankenstein M., Looman C. W., et al.* Risk of malignant progression in patients with Barrett's oesophagus: a Dutch nationwide cohort study. Gut. – 2010. – Vol. 59, № 8. – P. 1030–1036.
9. *Rugge M., Zaninotto G., Parente P., et al.* Barrett's esophagus and adenocarcinoma risk: the experience of the North-Eastern Italian Registry (EBRA). Ann Surg. – 2012. – Vol. 256, № 5. – P. 788–794.
10. *Sanghi V., Thota P. N.* Barrett's esophagus: novel strategies for screening and surveillance. Ther Adv Chronic Dis. – 2019. – Vol. 26, № 10. – P. 2040622319837851.
11. *Pandey G., Mulla M., Lewis W. G., et al.* Systematic review and meta-analysis of the effectiveness of radiofrequency ablation in low grade dysplastic Barrett's esophagus. Endoscopy. – 2018. – Vol. 50, № 10. P. 953–960.
12. *Caspa Gokulan R., Garcia-Buitrago M.T., Zaika A. I.* From genetics to signaling pathways: molecular pathogenesis of esophageal adenocarcinoma. Biochim Biophys Acta Rev Cancer. – 2019. – Vol. 1872, № 1. – P. 37–48.
13. *Abdel-Latif M.M., Duggan S., Reynolds J. V., Kelleher D.* Inflammation and esophageal carcinogenesis. Curr Opin Pharmacol. – 2009. – Vol. 9. – P. 396–404.
14. *Que J., Garman K. S., Souza R. F., Spechler S. J.* Pathogenesis and cells of origin of Barrett's esophagus. Gastroenterology. – 2019. – Vol. 157, № 2. – P. 349–364.
15. *Reid B. J.* Early events during neoplastic progression in Barrett's esophagus. Cancer Biomark. –2010. – Vol. 9, № 1–6. – P. 307–24.
16. *Kaz A.M., Grady W. M., Stachler M. D., Bass A. J.* Genetic and epigenetic alterations in Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma. Gastroenterol Clin North Am. –2015. – Vol. 44, № 2. – P. 473–489.
17. *Contino G., Vaughan T. L., Whiteman D., Fitzgerald R. C.* The evolving genomic landscape of Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma. Gastroenterology. – 2017. – Vol. 153, № 3. – P. 657–673.e1.
18. *Dulak A.M., Stojanov P., Peng S. et al.* Exome and whole-genome sequencing of esophageal adenocarcinoma identifies recurrent driver events and mutational complexity. Nat Genet. – 2013. – Vol. 45, № 5. – P. 478–486.
19. *Ross-Innes C.S., Becq J., Warren A., et al.* Whole-genome sequencing provides new insights into the clonal architecture of Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma. Nat Genet. 2015. – Vol. 47, № 9. – P. 1038–1046.
20. *Gregson E.M., Bornschein J., Fitzgerald R. C.* Genetic progression of Barrett's oesophagus to oesophageal adenocarcinoma. Br J Cancer. – 2016. – Vol. 115, № 4. – P. 403–410.
21. Integrated genomic characterization of oesophageal carcinoma. Nature. – 2017. – Vol. 541, № 7636. – P. 169–175.
22. *Nones K., Waddell N., Wayte N., et al.* Genomic catastrophes frequently arise in esophageal adenocarcinoma and drive tumorigenesis. Nat Commun. – 2014. – Vol. 5. – P. 5224.
23. *Secrier M., Li X., de Silva N., et al.* Mutational signatures in esophageal adenocarcinoma define etiologically distinct subgroups with therapeutic relevance. Nat Genet. – 2016. – Vol. 48, № 10. – P. 1131–1141.
24. *Fang M., Lew E., Klein M., et al.* DNA abnormalities as marker of risk for progression of Barrett's esophagus to adenocarcinoma: image cytometric DNA analysis in formalin-fixed tissues. Am J Gastroenterol. – 2004. – Vol. 99, № 10. – P. 1887–1894.
25. *Galipeau P.C., Li X., Blount P. L., Maley C. C., et al.* NSAIDs modulate CDKN2A, TP53, and DNA content risk for progression to esophageal adenocarcinoma. PLoS Med. – 2007. – Vol. 4, № 2. – P. e67.
26. *Altaf K., Xiong J. J., la Iglesia D. et al.* Meta-analysis of biomarkers predicting risk of malignant progression in Barrett's oesophagus. Br J Surg. – 2017. Vol. 104, № 5. – P. 493–502.
27. *Чумаков П. М.* Белок p53 и его универсальные функции в многоклеточном организме // Успехи биол. Химии. – 2007. – Т. 47. – С. 3–52.

    Chumakov P. M. Protein p53 and its universal functions in a multicellular organism. Uspekhi biol. Chemistry. 2007, vol. 47, pp. 3–52.
28. *Stachler M.D., Camarda N. D., Deitrick C., et al.* Detection of mutations in Barrett's esophagus before progression to high-grade dysplasia or adenocarcinoma. Gastroenterology. – 2018. – Vol. 155. – P. 156–167.
29. *Kastelein F., Biermann K., Steyerberg E. W., et al.* Aberrant p53 protein expression is associated with an increased risk of neoplastic progression in patients with Barrett's oesophagus. Gut. – 2013. – Vol. 62, № 12. – P. 1676–1683.
30. *Younes M., Brown K., Lauwers G. Y., et al.* P53 protein accumulation predicts malignant progression in Barrett's metaplasia: a prospective study of 275 patients. Histopathology. – 2017. – Vol.71. – P. 27–33.
31. *Davelaar A.L., Calpe S., Lau L., et al.* Aberrant TP53 detected by combining immunohistochemistry and DNA-FISH improves Barrett's esophagus progression prediction: a prospective follow-up study. Genes Chromosomes Cancer. – 2015. – Vol. 54, № 2. – P. 82–90.
32. *di Pietro M., Boerwinkel D. F., Shariff M. K., et al.* The combination of autofluorescence endoscopy and molecular biomarkers is a novel diagnostic tool for dysplasia in Barrett's oesophagus. Gut. – 2015. – Vol. 64, № 1. – P. 49–56.
33. *Snyder P., Dunbar K., Cipher D., et al.* Aberrant p53 immunostaining in Barrett's esophagus predicts neoplastic progression: Systematic review and meta-analyses. Dig Dis Sci. – 2019. – Vol. 64, № 5. – P. 1089–1097.
34. *Fitzgerald R.C., di Pietro M., Ragunath K., et al.* British Society of gastroenterology guidelines on the diagnosis and management of Barrett's oesophagus. Gut. – 2014. – Vol. 63. – P. 7–42.
35. *Khara H.S., Jackson S. A., Nair S., et al.* Assessment of mutational load in biopsy tissue provides additional information about genomic instability to histological classifications of Barrett's esophagus. J Gastrointest Cancer. – 2014. – Vol. 45, № 2. – P. 137–145.

36. *Das A., Callenberg K. M., Styn M. A., Jackson S. A.* Endoscopic ablation is a cost-effective cancer preventative therapy in patients with Barrett's esophagus who have elevated genomic instability. Endosc Int Open. – 2016. – Vol. 4, № 5. – P. E549–559.
37. *Martinez P., Timmer M. R., Lau C. T., et al.* Dynamic clonal equilibrium and predetermined cancer risk in Barrett's oesophagus. Nat Commun. – 2016. – Vol. 7. – P. 12158.
38. *Kailasam A., Mittal S. K., Agrawal D. K.* Epigenetics in the pathogenesis of esophageal adenocarcinoma. Clin Transl Sci. – 2015. – Vol. 8, № 4. – P. 394–402.
39. *Nieto T., Tomlinson C. L., Dretzke J., et al.* A systematic review of epigenetic biomarkers in progression from non-dysplastic Barrett's oesophagus to oesophageal adenocarcinoma. BMJ Open. – 2018. – Vol. 8, № 6. – P. e020427.
40. *Ross-Innes C.S., Chettouh H., Achilleos A., et al.* Risk stratification of Barrett's oesophagus using a non-endoscopic sampling method coupled with a biomarker panel: a cohort study. Lancet Gastroenterol Hepatol. – 2017. – Vol. 2. – P. 23–31.
41. *Katz-Summercorn A., Anand S., Ingledew S., et al.* Application of a multi-gene next-generation sequencing panel to a non-invasive oesophageal cell-sampling device to diagnose dysplastic Barrett's oesophagus. J Pathol Clin Res. – 2017. – Vol. 3, № 4. – P. 258–267.