

DOI: <https://doi.org/10.17816/KMJ635015>

УДК 616-006.66



Жидкостная биопсия протоковой аденокарциномы и предраковых состояний поджелудочной железы

Д.П. Атаян¹, Т.И. Рахматуллин^{2,3}, М. Джайн³, Л.М. Самоходская^{2,3}, В.И. Егоров¹¹ Ильинская больница, пос. Ильинское, Россия;² Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия;³ Университетская клиника Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия

АННОТАЦИЯ

Протоковая аденокарцинома поджелудочной железы занимает 7-е место по смертности среди всех онкологических заболеваний и характеризуется общей пятилетней выживаемостью на всех стадиях не более 15%. Столь высокая летальность связана с поздним выявлением данного новообразования — ввиду отсроченной клинической манифестации и раннего метастазирования лишь около 5% протоковых аденокарцином поджелудочной железы диагностируют на I стадии. Кроме того, актуальной остаётся проблема чрезмерного хирургического воздействия на пациентов, имевших доброкачественное или неопухолевое поражение поджелудочной железы, маскирующееся под протоковую аденокарциному. Применение диагностического подхода, способного с высокой чувствительностью выявлять протоковую аденокарциному на ранней стадии и дифференцировать её с доброкачественными заболеваниями поджелудочной железы, позволило бы увеличить выживаемость больных с данным новообразованием и снизить количество бессмысленных травматизирующих операций. Одной из наиболее перспективных технологий для ранней и неинвазивной диагностики злокачественных новообразований является жидкостная биопсия. Под данным термином понимают комплекс аналитических подходов, направленных на выявление характерных для опухоли генетических, эпигенетических и антигенных изменений при анализе опухолевых дериватов в биологических жидкостях организма (таких как плазма, желчь, моча и т. д.). Жидкостная биопсия может быть использована не только для раннего выявления протоковой аденокарциномы поджелудочной железы и её предшественников у пациентов, находящихся в группах риска, но и для её дифференциальной диагностики. В настоящем обзоре рассмотрены работы, посвящённые оценке диагностического потенциала жидкостной биопсии по внеклеточной опухолевой дезоксирибонуклеиновой кислоте и рибонуклеиновой кислоте, а также циркулирующих опухолевых клеток в крови, панкреатическом соке и желчи у пациентов с новообразованиями поджелудочной железы.

Ключевые слова: циркулирующая опухолевая ДНК; микроРНК; циркулирующие опухолевые клетки; жидкостная биопсия; протоковая аденокарцинома поджелудочной железы; обзор.

Как цитировать:

Атаян Д.П., Рахматуллин Т.И., Джайн М., Самоходская Л.М., Егоров В.И. Жидкостная биопсия протоковой аденокарциномы и предраковых состояний поджелудочной железы // Казанский медицинский журнал. 2025. Т. 106, № 2. С. 243–257. doi: <https://doi.org/10.17816/KMJ635015>

DOI: <https://doi.org/10.17816/KMJ635015>

Liquid biopsy in pancreatic ductal adenocarcinoma and precancerous lesions

David P. Atayan¹, Tagir I. Rakhmatullin^{2,3}, Mark Jain³, Larisa M. Samokhodskaya^{2,3}, Vyacheslav I. Egorov¹

¹ Ilyinskaya Hospital, Ilyinskoye, Russia;

² Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia;

³ University Clinic of Moscow State University named after M.V. Lomonosov, Moscow, Russia

ABSTRACT

Pancreatic ductal adenocarcinoma ranks seventh among all cancer-related causes of death and has an overall 5-year survival rate of no more than 15% across all stages. This high mortality rate is largely attributed to delayed diagnosis: due to late clinical manifestation and early metastasis, only about 5% of pancreatic ductal adenocarcinoma cases are detected at stage I. Another important issue is the risk of overtreatment in patients with benign or non-neoplastic pancreatic conditions that mimic pancreatic ductal adenocarcinoma, often resulting in unnecessary and invasive surgeries. A diagnostic approach capable of detecting pancreatic ductal adenocarcinoma with high sensitivity at early stages and distinguishing it from benign pancreatic diseases could improve survival rates and reduce the number of unwarranted high-risk procedures. One of the most promising technologies for early and noninvasive cancer detection is liquid biopsy. This term refers to a set of analytical methods designed to identify tumor-specific genetic, epigenetic, and antigenic alterations by analyzing tumor-derived materials in biological fluids such as plasma, bile, or urine. Liquid biopsy may be used not only for early detection of pancreatic ductal adenocarcinoma and its precursors in high-risk individuals but also for differential diagnosis. This review summarizes current research evaluating the diagnostic potential of liquid biopsy through the detection of extracellular tumor DNA and RNA, as well as circulating tumor cells in blood, pancreatic juice, and bile in patients with pancreatic neoplasms.

Keywords: circulating tumor DNA; microRNA; circulating tumor cells; liquid biopsy; pancreatic ductal adenocarcinoma; review.

To cite this article:

Atayan DP, Rakhmatullin TI, Jain M, Samokhodskaya LM, Egorov VI. Liquid biopsy in pancreatic ductal adenocarcinoma and precancerous lesions. *Kazan Medical Journal*. 2025;106(2):243–257. doi: <https://doi.org/10.17816/KMJ635015>

Received: 12.08.2024

Accepted: 17.12.2024

Published online: 31.01.2025

АКТУАЛЬНОСТЬ

Рак поджелудочной железы (РПЖ) занимает 12-е место по заболеваемости и 7-е место по смертности среди всех онкологических заболеваний [1]. 90% РПЖ составляет протоковая аденокарцинома поджелудочной железы (ПАПЖ) [1]. Относительная пятилетняя выживаемость пациентов с данным заболеванием не превышает 10–15% [1, 2]. Одной из причин столь высокой летальности является поздняя диагностика ПАПЖ [1]. Несмотря на применение современных методов диагностики, таких как компьютерная томография, магнитно-резонансная томография, эндосонография, биопсия под контролем ультразвукового исследования, анализ сывороточных маркеров (СА 19-9, ракового эмбрионального антигена), в настоящий момент лишь около 5% новообразований выявляются на I стадии [1]. В то же время клиническая манифестация и, как следствие, выявление около 70–80% ПАПЖ происходят на стадии локального распространения или метастазирования [1].

Скрининг ПАПЖ среди широких слоёв населения представляется неэффективным ввиду малой распространённости данного заболевания [2]. Вероятно, более целесообразным является поиск ПАПЖ среди лиц с состояниями, предрасполагающими к его развитию. Так, хронический панкреатит (ХП) считается одним из наиболее значимых факторов развития ПАПЖ и увеличивает вероятность возникновения данного новообразования в 2,7–16 раз [2]. К сожалению, пациенты с ХП имеют повышенный уровень СА 19-9 и изменённую структуру поджелудочной железы, из-за чего диагностика ПАПЖ на ранней стадии как с помощью анализа сывороточных маркеров, так и с помощью визуализационных методов у таких больных затруднена [3]. Гистопатологическое исследование является ключевым методом диагностики ПАПЖ, однако у пациентов с ХП, особенно в случае малого количества желёз, отсутствии признаков периневральной или сосудистой инвазии в биоптате, выявление данного новообразования остаётся сложной задачей, выполнение которой в значительной степени зависит от квалификации патологоанатома [4]. Предраковые состояния, к которым относят внутрипротоковую папиллярную муцинозную неоплазию (ВПМН) и внутриэпителиальную неоплазию поджелудочной железы (ВНПЖ) высокой степени злокачественности, также увеличивают риск развития ПАПЖ [5]. В то же время пятилетняя выживаемость пациентов с имеющимися ВПМН или ВНПЖ составляет более 85%, поэтому их раннее выявление может позволить существенно сократить смертность пациентов с ПАПЖ [6, 7]. К сожалению, в силу малых размеров, локализации поджелудочной железы и отсутствия клинических проявлений данные новообразования крайне редко выявляют с помощью современных методов лабораторного и инструментального анализа [8]. Биопсия с последующим гистопатологическим исследованием является «золотым стандартом» диагностики

новообразований поджелудочной железы [9]. Чувствительность и специфичность тонкоигольной аспирационной биопсии под контролем эндоскопической ультрасонографии достигают 93,1 и 100% соответственно [8, 9]. К сожалению, данный метод, несмотря на свои преимущества, характеризуется затруднениями в оценке базальным мембран органа, нежелезистой структуры ткани, а также дифференциальной диагностике предраковых состояний и ПАПЖ, которые могут иметь схожие морфологические признаки [5, 9].

В настоящий момент наиболее оптимальным способом лечения протоковой аденокарциномы является комбинация химиотерапии и оперативного вмешательства [10]. Тонкоигольная биопсия под контролем ультрасонографии обязательна к выполнению для всех пациентов, которым планируется проведение химиотерапии, а также рекомендуется всем пациентам с подозрением на резектабельные новообразования поджелудочной железы. Однако в некоторых случаях операция выполняется без предварительного морфологического исследования новообразования [10]. К сожалению, до 5–10% пациентов, перенёсших резекцию сугубо на основе клинических и радиологических подозрений, на самом деле могут иметь доброкачественное или неопухолевое поражение поджелудочной железы [9, 11]. В идеальных условиях у таких пациентов должна была быть применена менее травматичная операция или вовсе консервативная терапия [12]. И наоборот — очаговые новообразования поджелудочной железы могут длительно протекать под маской ХП или псевдокиста [13]. На сегодняшний день морфологическое исследование биопсийного материала является тем методом, который позволяет с высокой чувствительностью выявить наличие у пациента онкологического заболевания [9, 13]. К сожалению, данная операция является болезненной процедурой, сопряжённой с риском развития жизнеугрожающих состояний и диссеминации опухолевых клеток [10, 11].

Таким образом, морфологическое исследование биопсийного материала — ключевой метод выявления ПАПЖ и предраковых новообразований, однако существует необходимость в создании метода диагностики, который мог бы дополнять гистологическое исследование и позволял бы неинвазивно или малоинвазивно, а также с высокой эффективностью выявлять ПАПЖ и дифференцировать злокачественные новообразования, предраковые состояния и неопухолевые заболевания поджелудочной железы. В настоящее время уделяется всё больше внимания развитию жидкостной биопсии [19]. Данная технология основана на анализе опухолевых дериватов (внеклеточные опухолевые нуклеиновые кислоты, циркулирующие опухолевые клетки и т. п.) в биологических жидкостях организма. Целью обзора является рассмотрение характеристик жидкостной биопсии в диагностике ПАПЖ, её предшественников и доброкачественных заболеваний поджелудочной железы.

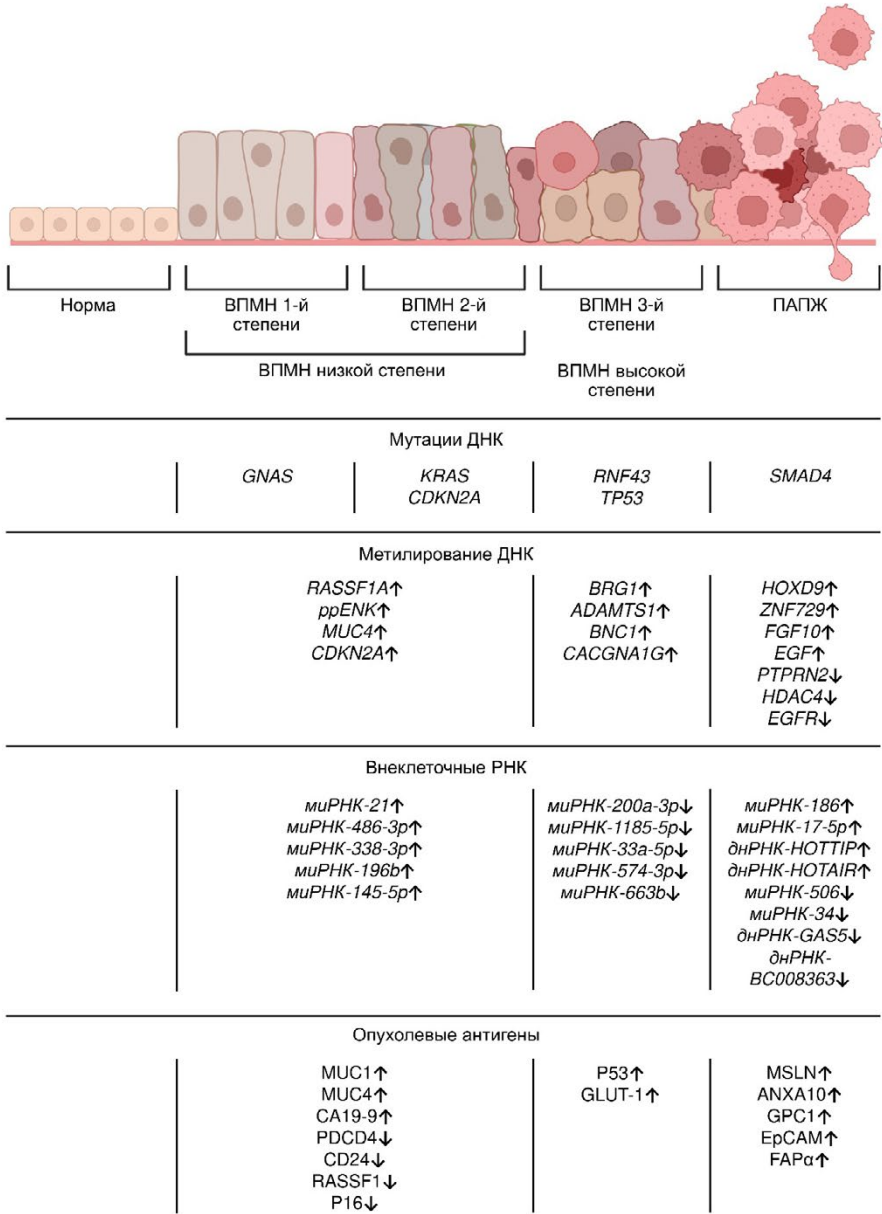


Рис. 1. Основные генетические, эпигенетические и антигенные изменения, характерные для процесса онкогенеза протоковой аденокарциномы поджелудочной железы. ВПМН — внутрипротоковая папиллярная муцинозная неоплазия; ПАПЖ — протоковая аденокарцинома поджелудочной железы.

Fig. 1. General genetic, epigenetic and molecular changes related to pancreatic ductal adenocarcinoma formation.

Настоящее исследование проведено с целью изучения характеристик анализа различных маркёров ПАПЖ в биологических жидкостях пациентов в диагностике и прогнозе данного новообразования. Поиск литературы проводили в базах данных eLibrary.Ru, КиберЛенинка, PubMed и Google Scholar. В исследовании учитывали оригинальные работы, опубликованные с 2010 по 2024 г. Ключевые слова включали: «жидкостная биопсия», «Liquid biopsy», «протоковая аденокарцинома поджелудочной железы», «Pancreatic ductal adenocarcinoma», «внеклеточная опухолевая ДНК», «Cell-free DNA», «внеклеточная опухолевая РНК», «Cell-free RNA», «метилирование», «Methylation», «циркулирующие опухолевые клетки», «Circulating tumor cells».

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОТОВОЙ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Как известно, развитие ПАПЖ представляет собой процесс, в ходе которого опухолевая клетка претерпевает множество преобразований, затрагивающих её генетическую и эпигенетическую регуляцию, а также антигенный состав (рис. 1). Поиск наиболее специфических изменений, характерных для большого числа пациентов и позволяющих выявить наличие опухолевой ткани, составляет одну из главных задач на пути развития жидкостной биопсии [2].

Генетические изменения

Отличительной особенностью ПАПЖ являются мутации кодонов 12, 13 и 61 гена *KRAS*, которые встречаются в 90–95% ПАПЖ и в 30–80% предраковых новообразований [2, 7]. Помимо них, к распространённым генетическим изменениям ПАПЖ относят мутации генов *CDKN2A*, *TP53* и *SMAD4*, которые наблюдаются у 70–80%, 50–70% и 50% пациентов соответственно. Они являются относительно поздними событиями в процессе онкогенеза и имеют значительно большее число кодонов с возможными мутациями. К менее часто встречающимся изменениям относятся мутации генов *ARID1A*, *RNF43*, *TGFBR2*, *LRP1B*, *PREX2*, *GNAS* и *DNMT3A*, которые возникают менее чем у 10% пациентов с ПАПЖ [7, 14, 15]. Среди них определённый интерес представляет мутация кодона 201 гена *GNAS*, которую фиксируют у 6% пациентов с ПАПЖ, но у 19–75% пациентов с ВПМН [16]. Другой особенностью ВПМН являются мутации гена *RNF43*, которые регистрируют в 0–10% ВПМН низкой степени злокачественности, но в 20–75% ВПМН высокой степени злокачественности [16].

Эпигенетические изменения

ПАПЖ характеризуется значительными изменениями паттернов эпигенетической регуляции, которые включают альтерации метилирования генов и концентраций ряда некодирующих РНК (нкРНК) [17, 18]. Наиболее часто гиперметилированными оказываются CpG-сайты генов-супрессоров опухоли: *HOX*, *ZNF729*, *PRKCB*, *KLRG2*, *FGF10* и *EGF*, — а гипометилированными — сайты генов, провоцирующих опухолевое развитие: *PTPRN2*, *HDAC4*, *SERPINB5* и *EGFR*. Помимо этого, в ПАПЖ наблюдается как гипо-, так и гиперметилирование *NOTCH*. Гены *ppENK* и *CDKN2A* являются гиперметилированными, а *MUC4* — гипометилированным как в ПАПЖ, так и в предраковых новообразованиях [17, 18]. Частота гиперметилирования генов *APC*, *WINK2* и *CACNA1G* растёт при увеличении степени злокачественности ВПЖ [17, 18].

нкРНК также являются важным фактором эпигенетического регулирования работы клетки, влияющим на трансляцию матричной РНК. К основным типам нкРНК относят микроРНК, длинные некодирующие, а также кольцевые РНК (миРНК, днРНК и кРНК соответственно), из которых миРНК на сегодняшний момент считаются наиболее изученными. Среди нкРНК, чья экспрессия увеличивается при ПАПЖ, выделяют: *миРНК-21*, *186*, *17-5p*, *196b*, *днРНК HOTTIP*, *HOTAIR*, *PVT1*, *кРНК 0007367* и др. К онкосупрессирующим нкРНК, экспрессия которых обычно снижается в клетках ПАПЖ, относятся *миРНК-506*, *34*, *142*, *216b*, *217*, *днРНК GAS5* и *BC008363* [5, 19, 20]. Маркёры, экспрессия которых увеличивается в предраковых состояниях, включают *миРНК-21*, *486-3p*, *338-3p*, *196b* и т. д. [9, 20]. В ВПМН высокой степени злокачественности отмечается уменьшение уровня *миРНК-200a-3p*, *1185-5p*, *33a-5p*, *574-3p*, *663b* и т. д. [21].

Изменения антигенного состава и морфологических характеристик опухолевой ткани

Морфологически ПАПЖ представляет собой железистые структуры неправильной формы с выраженной десмопластической реакцией стромы или в некоторых случаях с наличием саркомоподобного компонента с минимальной стромой между клетками [4]. Кроме того, обнаружение муцина при микроскопическом исследовании (в том числе с помощью окрашивания альциановым синим или муцин-кармином) является важным диагностическим признаком муцинозных кистозных новообразований поджелудочной железы [9].

Клетки ПАПЖ характеризуются изменённым составом поверхностных антигенов, что может быть использовано с целью выявления циркулирующих опухолевых клеток. К антигенам, экспрессия которых значительно увеличивается в ПАПЖ по сравнению с нормальными клетками, относят *MSLN*, *ANXA10* и *GPC1* [22]. Клетки ПАПЖ также характеризуются наличием антигенов *EpCAM* и *FAPα*, а также продуктов экспрессии мутантных генов *KRAS* и *TP53*. Кроме того, экспрессия *MUC1*, *MUC4*, *MUC5*, а также *CA19-9* характерна для ВПЖ и ВПМН [9, 23, 24]. В то же время в клетках ПАПЖ отмечается сниженная экспрессия *p16*, метастина, а также исчезновение мембранного и появление цитоплазматического Е-кадгерина [4].

ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ЖИДКОСТНОЙ БИОПСИИ ПРОТОВОЙ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ПРЕДРАКОВЫХ СОСТОЯНИЙ

Жидкостная биопсия позволяет обнаруживать наличие онкологического заболевания при помощи анализа опухолевых дериватов в биологических жидкостях организма. В настоящем разделе описаны различные способы выявления и количественного анализа подобных дериватов у лиц с ПАПЖ и высоким риском возникновения данного заболевания [25–34].

Внеклеточная ДНК

Внеклеточная ДНК (вкДНК) выделяется в процессе клеточной гибели или направленной секреции. Её концентрация в биологических жидкостях в норме не превышает 40 нг/мл, однако может в несколько раз увеличиваться при прогрессировании онкологических заболеваний ввиду возникновения гипоксической среды с низким pH, ведущей к стрессу и гибели клеток [25, 26]. Таким образом, вкДНК является важным маркёром данных состояний. В то же время на ранних стадиях её содержание может не отличаться от такового у пациентов

с доброкачественными заболеваниями поджелудочной железы и здоровых людей [27]. Следовательно, для ранней диагностики онкологических заболеваний необходимо избирательное выявление опухолевой фракции вкДНК (водНК). Данное положение является умозаключением авторов настоящей рукописи. Ввиду того, что генетический материал и клеточные процессы в опухолевых клетках подвергаются значительным изменениям, водНК, как правило, в среднем на 20–30 п. н. короче нормальной вкДНК, что может быть использовано для ее дифференцирования [27]. К сожалению, на ранних стадиях доля водНК в вкДНК относительно невысока, что препятствует её обнаружению на основе анализа размера её фрагментов [27]. Для этого более целесообразен анализ специфических изменений водНК, которые включают генетический и эпигенетический компонент.

Выявление водНК может производиться в различных биологических жидкостях, но наиболее часто изучаемым субстратом является плазма. Благодаря небольшому количеству мутационных сайтов и широкой распространённости среди пациентов однонуклеотидные замены в гене *KRAS* являются предпочтительными для анализа генетическими изменениями при ПАПЖ (табл. 1). Как чувствительность, так и специфичность выявления ПАПЖ на III–IV стадиях достигает 70–90% [28, 29], впрочем, в исследовании P. Kirchweber и соавт. чувствительность составляет 64,3% [30]. ПАПЖ на I–II стадиях выделяют значительно меньше водНК, в результате чего чувствительность диагностики на основе выявления данного маркера снижается до 30–35% при специфичности 99,5–100% [31–33]. В исследовании A. Berger и соавт. с помощью анализа мутаций *GNAS* в плазме также удалось выявить пациентов с ВПМН с чувствительностью и специфичностью лишь 50 и 100% соответственно ($p < 0,0001$). При этом дифференцировка пациентов с ПАПЖ и с ВПМН производилась также с чувствительностью 50% при специфичности 100% [29]. Не менее важной задачей является дифференциальная диагностика протоковой аденокарциномы и ХП, а также доброкачественных новообразований поджелудочной железы. A.R. Wang и соавт. продемонстрировали возможность дифференциальной диагностики ПАПЖ и доброкачественного новообразования с чувствительностью 35,2% и специфичностью 88,6% при анализе мутаций *KRAS* [34].

Панкреатический сок является субстратом, более тесно контактирующим с опухолевой массой, ввиду чего он превосходит плазму по абсолютному содержанию водНК более чем в 100 раз [35]. Было показано, что его исследование с помощью геномного секвенирования нового поколения (NGS) позволяет выявлять как ПАПЖ, так и ВПМН с чувствительностью, близкой к 100% [36, 37]. В нашей предыдущей экспериментальной работе также был изучен диагностический потенциал жидкостной биопсии плазмы и желчи в диагностике ПАПЖ. Чувствительность анализа желчи составила около 90%, в то время как анализа плазмы — лишь 60%. Желчь превосходила плазму

как по абсолютному (248,6 [6,743; 1068] копий/мл против 3,26 [0; 19,225] копий/мл, $p < 0,001$), так и по относительному (0,045 [0; 0,413]% против 1,74 [0,2; 11,11]%, $p = 0,002$) содержанию водНК [38].

Анализ метилирования вкДНК также является перспективным с диагностической точки зрения. Чаще всего исследуют гены *ADAMTS1*, *ADAMTS2*, *BNC1*, *BMP3* (табл. 2). Исследование метилирования одиночных генов позволяет диагностировать ПАПЖ с чувствительностью до 50–80% и специфичностью более 80% [39, 40]. С помощью комбинированного анализа метилирования *ADAMTS1* и/или *BNC1* можно диагностировать ПАПЖ I и II стадий с высокой (до 90–95%) чувствительностью [41]. В то же время высокопроизводительный анализ метилирования широких панелей генов позволяет диагностировать ПАПЖ с чувствительностью до 80–90% [42]. Эффективность анализа метилирования панелей генов подтверждается высокой (>90%) чувствительностью и специфичностью жидкостной биопсии при дифференциальной диагностике ПАПЖ и ХП [43, 44].

В работе S. Majumder и соавт. при анализе панкреатического сока чувствительность и специфичность диагностики ПАПЖ I–II стадии составили 70 и 86% соответственно [45]. Тогда как в исследовании S. Yokoyama и соавт. с помощью анализа метилирования генов семейства *MUC*, содержащихся в панкреатическом соке, удалось с чувствительностью 100% и специфичностью 88% выявить ВПМН кишечного типа [46].

Внеклеточная РНК

Выделение внеклеточной РНК, в отличие от вкДНК, происходит, как правило, вследствие направленной секреции, а не клеточной гибели [20]. При возникновении онкологических заболеваний в биологических жидкостях организма выявляются нкРНК, уровень экспрессии которых может в десятки раз отличаться от такового у здоровых людей, что можно использовать в диагностических целях [47–50].

Среди различных типов внеклеточных РНК в диагностике ПАПЖ наиболее подробно описаны *миРНК-10b*, *19b-3p*, *21*, *25-3p*, *210* (табл. 3). Чувствительность и специфичность диагностики ПАПЖ при анализе лишь одной миРНК в сыворотке варьирует от 70 до 90% [47]. Однако диагностической мишенью исследований жидкостной биопсии, как правило, становятся панели миРНК, анализ которых способен выявить ПАПЖ с высокими чувствительностью и специфичностью (до 90–95%) [48]. В исследовании X. Lai и соавт. при анализе *миРНК-10b*, *21*, *30c* и *181a* в плазме достигалась 100% чувствительность и специфичность, однако в данной работе было ограниченное количество участников: всего 29 пациентов с ПАПЖ и 6 здоровых добровольцев [49]. Таким образом, наиболее часто изучаемым маркером среди внеклеточных РНК являются миРНК, впрочем, внимание уделяется и другим нкРНК. Так, в работе С. Хи и соавт., в которой изучался диагностический потенциал жидкостной биопсии ПАПЖ на основе

Таблица 1. Данные анализа генетических изменений внеклеточной опухолевой ДНК в диагностике протоковой аденокарциномы поджелудочной железы и предраковых состояний**Table 1.** Analysis data of genetic alterations of cell-free DNA in diagnosis of pancreatic ductal adenocarcinoma and premalignant pancreatic neoplasms

Исследование	Участники исследования (n)	Биоматериал	Метод анализа	Мишени	Результаты
J. Wu и соавт., 2014 [28]	ПАПЖ: 36 Контроль: 24	Плазма (0,2 мл)	ПЦРрв	<i>KRAS</i> : G12V/D/R, G13S/D	Чувствительность 72,2% Специфичность 100%
A. Berger и соавт., 2016 [29]	ПАПЖ: 24 ВПМН: 21 Контроль: 38	Плазма*	цкПЦР	<i>GNAS</i> R201C/H <i>KRAS</i> G12V/D	ВПМН против контроля: Чувствительность 80,95% Специфичность 84,21% ПАПЖ против контроля: Чувствительность 83,33% Специфичность 92,11%
P. Kirchweiger и соавт., 2022 [30]	ПАПЖ: 70	Плазма (10 мл)	цкПЦР	<i>KRAS</i> : G12V/D/C/A/S G13D/R/V Q61H/K/L Q61R, 183A>T, Q61H, 183A>C,	Чувствительность 64,3%
J. Cohen и соавт., 2017 [31]	ПАПЖ: 221 Контроль: 182	Плазма (7,5 мл)	Safe-SeqS	<i>KRAS</i> : G12V/D/R/A/C Q61H	Чувствительность 29,9% Специфичность 99,5%
K. Affolter и соавт., 2021 [32]	ПАПЖ: 14 Контроль: 4	Плазма (5 мл)	NGS	Панель из 118 генов	Чувствительность 35,7% Специфичность 100%
K. Watanabe и соавт., 2022 [33]	РПЖ без лечения: 71 РПЖ после лечения: 74	Плазма (4 мл)	NGS	Панель 52 генов	Чувствительность (без лечения) 56% Чувствительность (после лечения) 36%
R. Wang и соавт., 2022 [34]	ПАПЖ: 105 Доброкачественное новообразование ПЖ: 44	Плазма (2,5 мл)	цкПЦР	<i>KRAS</i> : G12V/D/R	Чувствительность 35,2% Специфичность 88,6%
A. Volckmar и соавт., 2019 [36]	ВПМН: 12 Псевдокисты: 3	Панкреатический сок (0,5 мл)	NGS	<i>KRAS</i> G12V/D/R, G13D/L Q61H <i>GNAS</i> R201C/H/S	Чувствительность 100% Специфичность 100%
M. Choi и соавт., 2019 [37]	ПАПЖ: 21	Панкреатический сок*	NGS	Панели мутаций <i>KRAS</i> , <i>TP53</i>	<i>KRAS</i> : Чувствительность 86% <i>TP53</i> : Чувствительность 29%
M. Jain и соавт., 2024 [38]	ПАПЖ: 95 ВПМН + доброкачественные новообразования ПЖ: 18 Контроль: 38	Плазма (5 мл) Жельч (5 мл)	цкПЦР	<i>KRAS</i> G12A/C/D/R/S/V, G13D, Q61H(183A>C)/ Q61H (183A>T)/ K/L/R	Плазма (ПАПЖ/контроль): Чувствительность 61,0% Специфичность 100% Плазма (ПАПЖ/другие новообразования): Чувствительность 61,0% Специфичность 94,0% Жельч: Чувствительность 90,0%

Примечание здесь и в табл. 2–4. ПАПЖ — протоковая аденокарцинома поджелудочной железы; РПЖ — рак поджелудочной железы; ХП — хронический панкреатит; ВПМН — внутрипротоковая папиллярная муцинозная неоплазия; цкПЦР — цифровая капельная полимеразная цепная реакция; Safe-SeqS — система безопасного секвенирования (safe-sequencing system); NGS — геномное секвенирование нового поколения. * Данные не указаны в публикации.

Таблица 2. Данные анализа метилирования внеклеточной опухолевой ДНК в диагностике протоковой аденокарциномы поджелудочной железы и предраковых состояний

Table 2. Cell-free DNA Methylation analysis data in diagnosis of pancreatic ductal adenocarcinoma and premalignant pancreatic neoplasms

Исследование	Участники исследования (n)	Биоматериал	Метод анализа	Мишени	Результаты
K. Shinjo и соавт., 2020 [39]	РПЖ: 47 Контроль: 14	Плазма (1 мл)	цкПЦР	<i>ADAMTS2, HOXA1, PCDH10, SEMA5A, SPSB4</i>	Чувствительность 49,0% Специфичность 86,0%
J. Yi и соавт., 2013 [40]	РПЖ: 42 Контроль: 26	Плазма*	ПЦРрв	<i>ADAMTS1, BNC1</i>	<i>ADAMTS1:</i> Чувствительность 48,0% Специфичность 92,0% <i>BNC1:</i> Чувствительность 79,0% Специфичность 89,0%
M. Eissa и соавт., 2019 [41]	ПАПЖ: 39 Контроль: 95 ХП: 8	Плазма (2 мл)	ПЦРрв	Промотеры <i>ADAMTS1, BNC1</i>	ПАПЖ/ контроль: Чувствительность 97,3% Специфичность 91,6% ПАПЖ/ ХП: Чувствительность 87,5% Специфичность 91,6%
H. Wu и соавт., 2022 [42]	ПАПЖ: 74 ХП: 25 Контроль: 65	Плазма (5 мл)	Секвенирование	Панель из 56 мар- кёров	ПАПЖ/контроль: Чувствительность 82% Специфичность 88% ПАПЖ/ХП: AUC 85,0%
T. Liggett и соавт., 2010 [43]	РПЖ: 30 ХП: 30	Плазма (0,2 мл)	ПЦРрв	Панель метилирова- ния 17 генов	Чувствительность 91,2% Специфичность 90,8%
Y. Wu и соавт., 2023 [44]	ПАПЖ: 8 ХП: 8	Плазма (2 мл)	NGS	Панель метилирова- ния 6 сайтов <i>PRKCB</i> и 4 сайтов <i>KLRG2</i>	AUC 100%
S. Majumder и соавт., 2021 [45]	ПАПЖ + ВПМН (группа 1) высокой степени: 38 Доброкачественное новообразование + контроль (группа 2): 73	Панкреатиче- ский сок (1 мл)	ПЦРрв	<i>C13orf18, FER1L4, BMP3</i>	Группа 1/группа 2: Чувствительность 83% Специфичность 86% ПАПЖ I–II стадий/группа 2: Чувствительность 70% Специфичность 86%
S. Yokoyama и соавт., 2014 [46]	ПАПЖ: 15 ВПМН кишечного типа: 8 Контроль: 2	Панкреатиче- ский сок*	ПЦРрв	<i>MUC1, MUC2, MUC4</i>	ПАПЖ/контроль: Чувствительность 87% Специфичность 80% ВПМН/контроль: Чувствительность 100% Специфичность 88%

Примечание здесь и в табл. 3, 4. ПЦРрв — ПЦР в реальном времени; AUC — площадь под ROC-кривой. * Данные не указаны в публикации.

анализа панели *кРНК-0060733, 0006117, 0064288, 0007895 и 0007367*, чувствительность оказалась равна 84%, а специфичность — 71% [50].

Анализ *миРНК* в плазме также показал хорошую способность к дифференциальной диагностике ПАПЖ и ХП (чувствительность и специфичность до 81,5 и 93,3% соответственно) [51–53]. Анализ *миРНК-16, 21 и 25* в панкреатическом соке, по всей видимости, не обладает значительно большей эффективностью в дифференциальной диагностике ПАПЖ и ХП, по сравнению с анализом плазмы (чувствительность и специфичность 84,2 и 81,5%

соответственно) [54]. К сожалению, дифференцировать ПАПЖ и другие новообразования поджелудочной железы оказывается сложнее. Так, в исследовании Z. Сао и соавт. при анализе ряда *миРНК* чувствительность и специфичность жидкостной биопсии составили 64,8 и 64,9% соответственно [51].

Что же касается ВПМН, анализ панели из 30 *миРНК* плазмы в исследовании J. Permeth-Wey и соавт. позволил диагностировать данное новообразование с чувствительностью и специфичностью 78,6% и 62,5% соответственно [55]. В работах N. Kuratomi и соавт. и C. Vicentini и соавт.

Таблица 3. Данные анализа некодирующих РНК в диагностике протоковой аденокарциномы поджелудочной железы и предраковых состояний**Table 3.** Analysis data of non-coding RNA in diagnosis of pancreatic ductal adenocarcinoma and premalignant pancreatic neoplasms

Исследование	Участники исследования (n)	Биоматериал	Метод анализа	Мишени	Нормализация	Результаты
R. Que и соавт., 2013 [47]	ПАПЖ: 22 Доброкачественные новообразования + ампулярная карцинома + ХП + контроль: 47	Сыворотка (1 мл)	ПЦРрв	миРНК-21, 17-5р, 155, 196-а	U6	<i>miR-17-5p</i> : Чувствительность 72,7% Специфичность 92,6% <i>miR-21</i> : Чувствительность 95,5% Специфичность 81,5%
X. Zou и соавт., 2019 [48]	ПАПЖ: 30 Контроль: 30	Плазма (0,2 мл)	ПЦРрв	Панель: <i>let-7b-5p</i> , <i>miRНК-192-5p</i> , <i>19a-3p</i> , <i>19b-3p</i> , <i>223-3p</i> , <i>25-3p</i>	миРНК-34	Чувствительность 93,3% Специфичность 96,0%
X. Lai и соавт., 2017 [49]	ПАПЖ: 29 Контроль: 6	Плазма (0,25 мл)	ПЦРрв	миРНК-10b, 21, 30c, 181a	миРНК-425-5р	<i>miRНК-10b/21/30c/181a</i> : Чувствительность 100% Специфичность 100%
C. Xu и соавт., 2024 [50]	ПАПЖ: 88 Контроль: 46	Плазма (0,2 мл)	ПЦРрв	hsa_circ_0060733, 0006117, 0064288, 0007895, 0007367	B-actin	Чувствительность 84,0% Специфичность 71,0%
Z. Sao и соавт., 2016 [51]	ПАПЖ: 156 Другие новообразования: 85 ХП: 57	Плазма (0,625 мл)	ПЦРрв	Панель 1: <i>miRНК-486-5p</i> , <i>126-3p</i> , <i>106b-3p</i> Панель 2: <i>miRНК-486-5p</i> , <i>126-3p</i> , <i>106b-3p</i> , <i>938</i> , <i>26b-3p</i> , <i>1285</i>	U6, миРНК-16	ПАПЖ/ХП (панель 1): Чувствительность 82,7% Специфичность 84,4% ПАПЖ/другие новообразования (панель 2): Чувствительность 64,8% Специфичность 64,9%
S. Guo и соавт., 2021 [52]	ПАПЖ: 27 ХП: 15	Плазма (1 мл)	ПЦРрв	миРНК-95-3р, 26b-5р	Набор миРНК, выявлявшихся в каждом образце	Чувствительность 81,5% Специфичность 93,3%
C. Vicentini и соавт., 2020 [53]	ПАПЖ: 58 ВПМН: 20 ХП: 15	Плазма (0,4 мл)	FISH ПЦРрв	Панель 800 миРНК	U6	*
K. Nesteruk и соавт., 2022 [54]	ПАПЖ: 54 Контроль: 118	Панкреатический сок (0,2 мл) Плазма (0,2 мл)	ПЦРрв	ПС: <i>miRНК-16</i> , <i>21</i> , <i>25</i> Плазма: <i>miRНК-210</i> , <i>CA19-9</i>	Среднее значение сигнала в группе контроля	Чувствительность 84,2% Специфичность 81,5%
J. Permuth-Wey и соавт., 2015 [55]	ВПМН: 42 Контроль: 24	Плазма (0,5 мл)	Прямое мультиплексное измерение экспрессии генов	Панель из 30 миРНК	мРНК генов «домашнего хозяйства» <i>ACTB</i> , <i>B2M</i> , <i>GAPDH</i> , <i>RPL19</i> , <i>RPLP0</i>	Чувствительность 78,6% Специфичность 62,5%
N. Kuratomi и соавт., 2021 [56]	ВПМН: 13	Панкреатический сок (0,5 мл)	NGS	миРНК-10a-5р, 106b-5р, 197-3р, 664a-3р, let-7d-3р	Уровни данных нкРНК в здоровых тканях	*

Примечание здесь и в табл. 4. FISH — флуоресцентная гибридизация *in situ*. * Данные не указаны в публикации.

показано, что плазма и панкреатический сок пациентов с ВПМН, ХП и здоровых добровольцев различаются по содержанию некоторых мРНК. К сожалению, авторы не ставили цель зафиксировать чувствительность и специфичность анализа [53, 56].

Циркулирующие опухолевые клетки

Циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) — гетерогенная клеточная популяция, включающая как жизнеспособные, так и апоптотические клетки, происходящие из первичной опухоли или её метастазов. Поскольку ЦОК сохраняют фенотипические и генотипические изменения опухоли, их анализ в плазме может являться многообещающим способом диагностики ПАПЖ [24, 57–61].

Несмотря на то что большая часть исследований жидкостной биопсии ПАПЖ на сегодняшний момент сосредоточена на анализе воДНК и воРНК, в некоторых работах, посвящённых выявлению ЦОК, были достигнуты значимые результаты. Как правило, выявление ЦОК выполняют с помощью флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), иммунофлуоресцентного или цитологического исследований. Клетка признаётся опухолевой, если имеет фенотип: CD45–, DAPI+, CK+, EpCAM+ (табл. 4). Анализ ЦОК в плазме крови позволяет с чувствительностью 50–90% и специфичностью около 100% диагностировать ПАПЖ [24, 57–59]. При этом частота обнаружения ЦОК была выше у пациентов с более высокой стадией ПАПЖ (от 60% на I–II стадии до 97% на стадии IV) [57, 58]. В исследовании J. Kuvendjiska и соавт. диагностика ВПМН при помощи анализа маркёров L1CAM+ VIM+ PDX1+ в крови обладала чувствительностью 37% и специфичностью 100% [60]. В исследовании E. Buscail и соавт. изучалась возможность дифференциальной диагностики ПАПЖ и ВПМН, однако чувствительность анализа не превышала 30% [61].

Чувствительность жидкостной биопсии в диагностике ПАПЖ при анализе ЦОК в панкреатическом соке составляет 77,8% [62]. Чувствительность и специфичность цитологического исследования панкреатического секрета в выявлении ВПМН в исследовании M. Tag-Adeen и соавт. не превышает 60 и 79% соответственно [63]. В то же время в исследовании K. Miyamoto и соавт. с чувствительностью 40% удалось выполнить дифференциальную диагностику ВПМН низкой и высокой степени злокачественности [64].

ОБСУЖДЕНИЕ

Гистопатологическое исследование биопсийного материала является важнейшим методом диагностики ПАПЖ, позволяющим с высокой чувствительностью и специфичностью обнаруживать даже очаговые новообразования поджелудочной железы [13]. Однако успех данной процедуры сильно зависит от квалификации патологоанатома и полноты взятия биоптата [4, 9]. Вероятно, жидкостная биопсия может найти применение как дополнительный

метод диагностики онкологических заболеваний. Данная технология демонстрирует значительную (до 90–95%) чувствительность и специфичность в диагностике ПАПЖ на III–IV стадиях при анализе как внеклеточных нуклеиновых кислот, так и ЦОК в различных биологических жидкостях (табл. 1–4). В то же время наблюдаются ограничения, препятствующие выявлению ПАПЖ на более ранних стадиях, ВПМН, а также дифференциальной диагностике их с ХП и другими новообразованиями поджелудочной железы.

Основной причиной низкой чувствительности, вероятно, является малое количество специфических маркёров, выделяемых вышеуказанными новообразованиями, по сравнению с ПАПЖ на поздних стадиях. Так, концентрация вкДНК в плазме зачастую составляет до 30 нг/мл, в то время как панкреатический сок содержит до 2600 нг/мл вкДНК [35]. Как видно из приведённых исследований, анализ секрета поджелудочной железы в большинстве случаев обладает большей чувствительностью в диагностике ПАПЖ на I–II стадиях, а также дифференцировке их от ХП и ВПМН (табл. 1–4). К сожалению, ретрохолангиопанкреатография, в ходе которой осуществляется забор данного биоматериала, является дорогой, трудоёмкой и высокоинвазивной процедурой [36, 37]. Кроме того, её применение связано с риском возникновения холангита, панкреатита и кровотечений, что препятствует рутинному сбору панкреатического сока [65]. В нашем предыдущем исследовании показано, что желчь как субстрат, более тесно контактирующий с опухолевой тканью, также превосходит плазму по содержанию воДНК [38]. Её рутинный сбор возможен примерно в 40% случаев, когда ПАПЖ локализуется в головке поджелудочной железы и приводит к механической желтухе, требующей дренирования желчи. К сожалению, нарушение оттока происходит на поздней стадии, что препятствует раннему обнаружению ПАПЖ. Анализ желчи также, вероятно, не позволит диагностировать ПАПЖ, локализованную в теле или хвосте железы.

На результаты жидкостной биопсии также влияет количество исследуемого субстрата и способ выделения и анализа дериватов опухоли. В приведённых исследованиях выделение маркёров производилось из 0,2–10 мл плазмы и 0,2–1 мл панкреатического сока (табл. 1–4), что вкупе с использованием наборов для выделения нуклеиновых кислот с различной эффективностью могло влиять на результаты анализа [66]. Известно, что ПЦР в реальном времени (ПЦРрв) характеризуется меньшей чувствительностью при работе в диапазоне низких концентраций нуклеиновых кислот и слабой устойчивостью к ингибиторам ПЦР в отличие, например, от цифровой капельной ПЦР (цкПЦР) и NGS, что особенно заметно при анализе одиночных воДНК в плазме [67, 68]. Тем не менее при анализе панелей маркёров или исследовании панкреатического секрета, результаты ПЦРрв во многом сходны с таковыми у цкПЦР и NGS (табл. 1–4).

Таблица 4. Данные анализа циркулирующих опухолевых клеток в диагностике протоковой аденокарциномы поджелудочной железы и предраковых состояний**Table 4.** Analysis data of circulating tumor cells in diagnosis of pancreatic ductal adenocarcinoma and premalignant pancreatic neoplasms

Исследование	Участники исследования (n)	Биоматериал	Метод анализа	Мишени	Результаты
I. Freed и соавт., 2023 [24]	ПАПЖ: 68 Контроль: 11	Кровь (2 мл)	ПЦФМ	CD45– DAPI+ СК (++/+–)/VIM (+/–) EpCAM+/FAPα+	Чувствительность 97,6% Специфичность 100%
H. Liu и соавт., 2017 [57]	ПАПЖ: 95 Контроль: 48	Кровь (2 мл)	FISH, ИФЛА	CD45– DAPI+ CEP8>2	Чувствительность 75,8% Специфичность 68,7%
J. Ankeny и соавт., 2016 [58]	ПАПЖ: 72 Контроль: 28	Кровь (4 мл)	ИФЛА	CD45– DAPI+ СК+/CEA+	Чувствительность 75,0% Специфичность 96,4%
E. Dotan и соавт., 2016 [59]	РПЖ: 50	Кровь (7,5 мл)	FISH	CD45– DAPI+ СК+ MUC-1	Чувствительность 48%
J. Kuvendjiska и соавт., 2023 [60]	ВПМН: 27 Контроль: 5	Кровь (6 мл)	ИФЛА	EpCAM+ L1CAM+ VIM+ PDX1+	Чувствительность 37% Специфичность 100%
E. Buscail и соавт., 2019 [61]	ПАПЖ: 22 ВПМН: 8 Контроль: 20	Кровь (7,5 мл)	ИФЛА	CD45– DAPI+ СК+ EpCAM+	Чувствительность (ПАПЖ/ ВПМН) 30% Специфичность (ПАПЖ/ ВПМН) 100% Чувствительность (ПАПЖ/ контроль) 50% Специфичность (ПАПЖ про- тив контроль) 90%
E. Buscail и соавт., 2019 [61]	ПАПЖ: 22 Контроль: 20	Кровь (7,5 мл)	ИФЛА	GPC1	Чувствительность 50% Специфичность 90%
K. Kitagawa и соавт., 2023 [62]	ПАПЖ: 9 Контроль: 13	Панкреатический сок*	Цитологическое исследование	—	Чувствительность 77,8% Специфичность 100%
M. Tag-Adeen и соавт., 2018 [63]	ВПМН: 29	Панкреатический сок*	Цитологическое исследование	—	Чувствительность 60% Специфичность 79%
K. Miyamoto и соавт., 2020 [64]	Злокачественная ВПМН: 15 Доброкачественная ВПМН: 23	Панкреатический сок*	Цитологическое исследование	—	Чувствительность 40,0% Специфичность 100%

Примечание. ИФЛА — иммунофлуоресцентный анализ; ПЦФМ — проточная цитофлуориметрия. * Данные не указаны.

Бисульфитная конверсия — метод, используемый для анализа метилирования воДНК в некоторых исследованиях. Ввиду того, что данная реакция может приводить к деградации 50–90% нуклеиновых кислот, диагностика ПАПЖ с её использованием характеризуется чувствительностью до 50% [39, 40, 69]. Анализ эпигенетической регуляции панелей генов позволяет увеличить чувствительность до 82% [42]. Однако использование метил-чувствительных рестриктаз, высокоспецифичных к определённым участкам ДНК, может значительно снизить потери воДНК

и увеличить чувствительность анализа до 91% [43, 70]. К сожалению, далеко не все последовательности нуклеотидов, содержащие перспективные для анализа участки метилирования, несут сайты рестрикции, пригодные для применения созданных на текущий момент рестриктаз [71].

Поиск ЦОК осуществлялся, как правило, с помощью цитологического исследования, которое зависит от квалификации персонала. Это могло стать причиной относительно низкой (30–80%) чувствительности диагностики

(см. табл. 4). Исследование I. Freed и соавт., в котором использовалась проточная цитометрия, характеризовалось крайне высокой чувствительностью 97,6%. В то же время в данной работе не были указаны клинические характеристики участников исследования, в том числе стадии заболевания [24]. Существуют и другие данные в пользу того, что выявление ЦОК при помощи цитологического исследования позволяет с чувствительностью свыше 90% обнаружить ПАПЖ на IV стадии [58]. Однако данных для оценки эффективности подобного подхода на ранних стадиях заболевания недостаточно.

Наконец, чувствительность и специфичность жидкостной биопсии определяются разнообразием и количеством исследуемых маркеров. Как правило, анализ панелей превосходит анализ одиночной молекулы (табл. 1–3). При комбинированном анализе водНК/миРНК и СА19-9 чувствительность диагностики ПАПЖ на ранних стадиях повышается до 70–80%, а специфичность — до 95% [28, 50]. К сожалению, в рассмотренных нами работах не исследовались некоторые маркеры, которые могли бы значительно увеличить эффективность анализа. К таковым относятся, например, водНК с мутациями генов *CDKN2A*, *TP53* и *SMAD4*, встречающимися у 30–70% пациентов с ПАПЖ, или мутациями гена *GNAS*, которые наблюдаются в значительной доле ВПМН [16]. Кроме того, не анализировалось наличие MUC1, MUC2 и MUC4 в качестве маркеров ЦОК.

В настоящем обзоре обсуждали исключительно диагностическую роль жидкостной биопсии. Однако стоит отметить, что данный метод способен выполнять более широкий спектр задач. Во-первых, с помощью жидкостной биопсии возможно прогнозирование течения ПАПЖ. Известно, что пациенты с MUC-1-положительными ЦОК имеют более низкую среднюю выживаемость [2,7 мес (95% доверительный интервал (ДИ) 0,1–7,6)] по сравнению с пациентами с MUC-1-отрицательными ЦОК [9,6 мес (95% ДИ 3,9–12,8); $p=0,044$] или их отсутствием [8,8 мес (95% ДИ 6,0–10,9) $p=0,014$] [59]. Кроме того, наличие некоторых генетических изменений, например, мутаций *KRAS G12V* и *G12D* является неблагоприятным фактором выживаемости пациентов, тогда как генотипирование нерезектабельной опухоли с целью их обнаружения может выполняться посредством жидкостной биопсии [34]. миРНК-335-5p в сочетании с миРНК-340-5p являются потенциальными прогностическими биомаркерами метастазирования [52]. В исследовании J. Ankeny и соавт. пациенты с ЦОК ≥ 3 на 4 мл крови имели в 6,39 раза большую частоту наличия метастатического поражения на момент первичного обследования по сравнению с пациентами с меньшей концентрацией свободных клеток [58]. Наконец, количество водНК и миРНК в биологических жидкостях пациента, как правило, уменьшается после успешных хирургического вмешательства или применения курса химиотерапии, что теоретически позволяет оценить эффективность лечения [30, 49].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, жидкостная биопсия поджелудочной железы является перспективным инструментом диагностики, прогноза и определения эффективности терапии ПАПЖ. Несмотря на ограничения в выявлении ПАПЖ на ранней стадии и ВПМН, а также дифференциальной диагностике этих состояний с доброкачественными заболеваниями поджелудочной железы, жидкостная биопсия может найти место в клинической практике. Однако данная технология пока что не способна заменить классические методы диагностики, в особенности гистопатологическое исследование. Для её развития необходимы стандартизация применяемых протоколов, а также проведение более крупных рандомизированных исследований, в том числе с определением выгоды от внедрения подобных высокотехнологичных процедур для системы здравоохранения.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). Наибольший вклад распределён следующим образом: А.Д.П. — концептуализация, анализ, создание черновика, редактирование рукописи; Р.Т.И. — концептуализация, анализ, создание черновика, редактирование рукописи; Д.М. — концептуализация, редактирование рукописи, валидация; С.Л.М. — концептуализация, редактирование рукописи, валидация; Е.В.И. — редактирование рукописи, валидация, общее руководство.

Источник финансирования. Исследование выполнено в рамках государственного задания Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Благодарности. Мы благодарим Татьяну Евгеньевну Дахтлер за помощь в концептуализации и редактировании рукописи.

ADDITIONAL INFORMATION

Authors' contribution. D.P.A. — conceptualization, formal analysis, writing — original draft, writing — review and editing; T.I.R. — conceptualization, formal Analysis, writing — original draft, writing — review and editing; M.J. — conceptualization, writing — original draft, validation; L.M.S. — conceptualization, writing — original draft, validation; V.I.E. — writing — original draft, validation, supervision. Thereby, all authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Funding source. The study was carried within the state assignment of Lomonosov Moscow State University.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Acknowledgments. We highly appreciate the help of Tatjana Dakhtler in conceptualization and editing the review.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Bengtsson A, Andersson R, Ansari D. The actual 5-year survivors of pancreatic ductal adenocarcinoma based on real-world data. *Sci Rep*. 2020;10(1):16425. doi: 10.1038/S41598-020-73525-Y
2. Shangina OV, Maximovich DM, Zaridze DG. Descriptive, analytical and molecular epidemiology of pancreatic cancer. *Siberian Journal of Oncology*. 2022;21(3):90–103. doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-90-103
3. Zeid HA, Salfi G, Mansour R, et al. Differentiating Between Mass-forming Chronic Pancreatitis and Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: A Challenging Clinical Approach. *International Journal of Clinical Research*. 2022;3(1):292–300. doi: 10.38179/IJCR.V3I1.244
4. Paklina OV, Setdikova GR, Chekmareva IA. Chronic pancreatitis or pancreatic ductal adenocarcinoma? *I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*. 2016;(1):6–18. EDN: WCDFX
5. Kniazeva MS, Shestopalova TM, Zabegina LM, et al. Prospects of differential diagnosis of focal lesion of pancreas by the microRNA assessment. *South Russian Journal of Cancer*. 2023;4(3):20–35. doi: 10.37748/2686-9039-2023-4-3-3
6. Chang XY, Wu Y, Li Y, et al. Intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas: Clinical association with KRAS. *Mol Med Rep*. 2018;17(6):8061. doi: 10.3892/MMR.2018.8875
7. Sagami R, Yamao K, Nakahodo J, et al. Pre-Operative Imaging and Pathological Diagnosis of Localized High-Grade Pancreatic Intra-Epithelial Neoplasia without Invasive Carcinoma. *Cancers*. 2021;13(5):1–23. doi: 10.3390/CANCERS13050945
8. Mikhethko AA, Artemieva AS, Ivko OV, et al. Endoscopic endosonography with fine-needle aspiration biopsy in the diagnosis of pancreatic tumors. *Vopr Onkol*. 2021;67(3):397–404. doi: 10.37469/0507-3758-2021-67-3-397-404
9. Baranova IB. Diagnosis of cystic formations of the pancreas. study of material obtained by the fine-needle biopsy. *Russian News of Clinical Cytology*. 2020;24(3):19–30. doi: 10.24412/1562-4943-2020-3-0004 EDN: JRUFAP
10. Pkataev IA, Gladkov OA, Zagainov VE, et al. Practical guidelines for drug treatment of pancreas cancer. *Malignant Tumours*. 2021;11(3S2–1). doi: 10.18027/2224-5057-2021
11. Asbun HJ, Conlon K, Fernandez-Cruz L, et al. When to perform a pancreatoduodenectomy in the absence of positive histology? A consensus statement by the International Study Group of Pancreatic Surgery. *Surgery*. 2014;155(5):887–892. doi: 10.1016/J.SURG.2013.12.032
12. Beger HG. Benign Tumors of the Pancreas-Radical Surgery Versus Parenchyma-Sparing Local Resection-the Challenge Facing Surgeons. *J Gastrointest Surg*. 2018;22(3):562–566. doi: 10.1007/S11605-017-3644-2
13. Khatkov IE, Poroshina EG, Solovyeva OI, et al. Diagnostics and treatment of intraductal papillary mucinous pancreas neoplasm. *Ter Arkh*. 2023;95(8):686–691. doi: 10.26442/00403660.2023.08.202340
14. Yang Y, Ding Y, Gong Y, et al. The genetic landscape of pancreatic head ductal adenocarcinoma in China and prognosis stratification. *BMC Cancer*. 2022;22(1):1–12. doi: 10.1186/S12885-022-09279-9/FIGURES/2
15. Hayashi A, Hong J, Iacobuzio-Donahue CA. The pancreatic cancer genome revisited. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2021;18(7):469–481. doi: 10.1038/S41575-021-00463-Z
16. Mas L, Lupinacci RM, Cros J, et al. Intraductal Papillary Mucinous Carcinoma Versus Conventional Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: A Comprehensive Review of Clinical-Pathological Features, Outcomes, and Molecular Insights. *Int J Mol Sci*. 2021;22(13):6756. doi: 10.3390/IJMS22136756
17. Bararia A, Dey S, Gulati S, et al. Differential methylation landscape of pancreatic ductal adenocarcinoma and its precancerous lesions. *Hepatobiliary & Pancreatic Diseases International*. 2020;19(3):205–217. doi: 10.1016/J.HBPD.2020.03.010
18. Mishra NK, Guda C. Genome-wide DNA methylation analysis reveals molecular subtypes of pancreatic cancer. *Oncotarget*. 2017;8(17):28990. doi: 10.18632/ONCOTARGET.15993
19. Trifylli EM, Kriebardis AG, Koustas E, et al. A Current Synopsis of the Emerging Role of Extracellular Vesicles and Micro-RNAs in Pancreatic Cancer: A Forward-Looking Plan for Diagnosis and Treatment. *Int J Mol Sci*. 2024;25(6):3406. doi: 10.3390/IJMS25063406
20. Yu J, Li A, Hong SM, et al. MicroRNA alterations of pancreatic intraepithelial neoplasias. *Clin Cancer Res*. 2012;18(4):981–992. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-2347
21. Permuth-Wey J, Chen DT, Fulp WJ, et al. Plasma MicroRNAs as Novel Biomarkers for Patients with Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms of the Pancreas. *Cancer Prev Res*. 2015;8(9):826. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-15-0094
22. Nicoletti A, Vitale F, Quero G, et al. Immunohistochemical Evaluation of the Expression of Specific Membrane Antigens in Patients with Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Cancers*. 2023;15(18):4586. doi: 10.3390/CANCERS15184586/S1
23. Guo J, Xie K, Zheng S. Molecular Biomarkers of Pancreatic Intraepithelial Neoplasia and Their Implications in Early Diagnosis and Therapeutic Intervention of Pancreatic Cancer. *Int J Biol Sci*. 2016;12(3):292–301. doi: 10.7150/IJBS.14995
24. Freed IM, Kasi A, Fateru O, et al. Circulating Tumor Cell Subpopulations Predict Treatment Outcome in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma (PDAC) Patients. *Cells*. 2023;12(18):2266. doi: 10.3390/CELLS12182266/S1
25. Stejskal P, Goodarzi H, Srovnal J, et al. Circulating tumor nucleic acids: biology, release mechanisms, and clinical relevance. *Molecular Cancer*. 2023;22(1):1–21. doi: 10.1186/S12943-022-01710-W
26. Faria G, Silva E, Da Fonseca C, Quirico-Santos T. Circulating Cell-Free DNA as a Prognostic and Molecular Marker for Patients with Brain Tumors under Perillyl Alcohol-Based Therapy. *Int J Mol Sci*. 2018;19(6). doi: 10.3390/IJMS19061610
27. Underhill HR. Leveraging the Fragment Length of Circulating Tumour DNA to Improve Molecular Profiling of Solid Tumour Malignancies with Next-Generation Sequencing: A Pathway to Advanced Non-invasive Diagnostics in Precision Oncology? *Mol Diagn Ther*. 2021;25(4):389. doi: 10.1007/S40291-021-00534-6
28. Wu J, Zhou Y, Zhang CY, et al. Co-amplification at lower denaturation-temperature PCR combined with unlabeled-probe high-resolution melting to detect KRAS codon 12 and 13 mutations in plasma-circulating DNA of pancreatic adenocarcinoma cases. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(24):10647–10652. doi: 10.7314/APJCP.2014.15.24.10647
29. Berger AW, Schwerdel D, Costa IG, et al. Detection of Hot-Spot Mutations in Circulating Cell-Free DNA From Patients with Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms of the Pancreas. *Gastroenterology*. 2016;151(2):267–270. doi: 10.1053/J.GASTRO.2016.04.034
30. Kirchweiger P, Kupferthaler A, Burghofer J, et al. Prediction of response to systemic treatment by kinetics of circulating tumor DNA

- in metastatic pancreatic cancer. *Front Oncol.* 2022;12:902177. doi: 10.3389/FONC.2022.902177
31. Cohen JD, Javed AA, Thoburn C, et al. Combined circulating tumor DNA and protein biomarker-based liquid biopsy for the earlier detection of pancreatic cancers. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2017;114(38):10202–10207. doi: 10.1073/PNAS.1704961114
 32. Affolter KE, Hellwig S, Nix DA, et al. Detection of circulating tumor DNA without a tumor-informed search using next-generation sequencing is a prognostic biomarker in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Neoplasia.* 2021;23(9):859. doi: 10.1016/J.NEO.2021.06.005
 33. Watanabe K, Nakamura T, Kimura Y, et al. Tumor-Informed Approach Improved ctDNA Detection Rate in Resected Pancreatic Cancer. *Int J Mol Sci.* 2022;23(19):11521. doi: 10.3390/IJMS231911521/S1
 34. Wang R, Zhao Y, Wang Y, et al. Diagnostic and Prognostic Values of KRAS Mutations on EUS-FNA Specimens and Circulating Tumor DNA in Patients with Pancreatic Cancer. *Clin Transl Gastroenterol.* 2022;13(5):e00487. doi: 10.14309/CTG.0000000000000487
 35. Levink IJM, Jansen MPH, Azmani Z, et al. Mutation Analysis of Pancreatic Juice and Plasma for the Detection of Pancreatic Cancer. *Int J Mol Sci.* 2023;24(17):13116. doi: 10.3390/IJMS241713116
 36. Volckmar AL, Endris V, Gaida MM, et al. Next generation sequencing of the cellular and liquid fraction of pancreatic cyst fluid supports discrimination of IPMN from pseudocysts and reveals cases with multiple mutated driver clones: First findings from the prospective ZYTEUS biomarker study. *Genes Chromosomes Cancer.* 2019;58(1):3–11. doi: 10.1002/GCC.22682
 37. Choi MH, Mejlaender-Andersen E, Manueldas S, et al. Mutation analysis by deep sequencing of pancreatic juice from patients with pancreatic ductal adenocarcinoma. *BMC Cancer.* 2019;19(1):1–12. doi: 10.1186/S12885-018-5195-7
 38. Jain M, Atayan D, Rakhmatullin T, et al. Cell-Free Tumor DNA Detection-Based Liquid Biopsy of Plasma and Bile in Patients with Various Pancreatic Neoplasms. *Biomedicines.* 2024;12(1):220. doi: 10.3390/BIOMEDICINES12010220
 39. Shinjo K, Hara K, Nagae G, et al. A novel sensitive detection method for DNA methylation in circulating free DNA of pancreatic cancer. *PLoS One.* 2020;15(6):e0233782. doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0233782
 40. Yi JM, Guzzetta AA, Bailey VJ, et al. Novel methylation biomarker panel for the early detection of pancreatic cancer. *Clin Cancer Res.* 2013;19(23):6544–6555. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-3224
 41. Eissa MAL, Lerner L, Abdelfatah E, et al. Promoter methylation of ADAMTS1 and BNC1 as potential biomarkers for early detection of pancreatic cancer in blood. *Clin Epigenetics.* 2019;11(1):59. doi: 10.1186/S13148-019-0650-0
 42. Wu H, Guo S, Liu X, et al. Noninvasive detection of pancreatic ductal adenocarcinoma using the methylation signature of circulating tumour DNA. *BMC Med.* 2022;20(1):1–17. doi: 10.1186/S12916-022-02647-Z/TABLES/3
 43. Liggett T, Melnikov A, Yi QL, et al. Differential methylation of cell-free circulating DNA among patients with pancreatic cancer versus chronic pancreatitis. *Cancer.* 2010;116(7):1674–1680. doi: 10.1002/CNCR.24893
 44. Wu Y, Seufert I, Al-Shaheri FN, et al. DNA-methylation signature accurately differentiates pancreatic cancer from chronic pancreatitis in tissue and plasma. *Gut.* 2023;72(12):2344–2353. doi: 10.1136/GUTJNL-2023-330155
 45. Majumder S, Raimondo M, Taylor WR, et al. Methylated DNA in Pancreatic Juice Distinguishes Patients with Pancreatic Cancer From Controls. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2020;18(3):676. doi: 10.1016/J.CGH.2019.07.017
 46. Yokoyama S, Kitamoto S, Higashi M, et al. Diagnosis of Pancreatic Neoplasms Using a Novel Method of DNA Methylation Analysis of Mucin Expression in Pancreatic Juice. *PLoS One.* 2014;9(4):93760. doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0093760
 47. Que R, Ding G, Chen J, Cao L. Analysis of serum exosomal microRNAs and clinicopathologic features of patients with pancreatic adenocarcinoma. *World J Surg Oncol.* 2013;11:219. doi: 10.1186/1477-7819-11-219
 48. Zou X, Wei J, Huang Z, et al. Identification of a six-miRNA panel in serum benefiting pancreatic cancer diagnosis. *Cancer Med.* 2019;8(6):2810–2822. doi: 10.1002/CAM4.2145
 49. Lai X, Wang M, McElyea SD, et al. A microRNA signature in circulating exosomes is superior to exosomal glypican-1 levels for diagnosing pancreatic cancer. *Cancer Lett.* 2017;393:86–93. doi: 10.1016/J.CANLET.2017.02.019
 50. Xu C, Jun E, Okugawa Y, et al. A Circulating Panel of circRNA Biomarkers for the Noninvasive and Early Detection of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Gastroenterology.* 2024;166(1):178–190.e16. doi: 10.1053/J.GASTRO.2023.09.050
 51. Cao Z, Liu C, Xu J, et al. Plasma microRNA panels to diagnose pancreatic cancer: Results from a multicenter study. *Oncotarget.* 2016;7(27):41575–41583. doi: 10.18632/ONCOTARGET.9491
 52. Guo S, Qin H, Liu K, et al. Blood small extracellular vesicles derived miRNAs to differentiate pancreatic ductal adenocarcinoma from chronic pancreatitis. *Clin Transl Med.* 2021;11(9):11. doi: 10.1002/CTM2.520
 53. Vicentini C, Calore F, Nigita G, et al. Exosomal miRNA signatures of pancreatic lesions. *BMC Gastroenterol.* 2020;20(1):1–11. doi: 10.1186/S12876-020-01287-Y/FIGURES/4
 54. Nesteruk K, Levink IJM, de Vries E, et al. Extracellular vesicle-derived microRNAs in pancreatic juice as biomarkers for detection of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Pancreatol.* 2022;22(5):626–635. doi: 10.1016/J.PAN.2022.04.010
 55. Permeth-Wey J, Chen DT, Fulp WJ, et al. Plasma MicroRNAs as Novel Biomarkers for Patients with Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms of the Pancreas. *Cancer Prev Res.* 2015;8(9):826. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-15-0094
 56. Kuratomi N, Takano S, Fukasawa M, et al. MiR-10a in Pancreatic Juice as a Biomarker for Invasive Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm by miRNA Sequencing. *Int J Mol Sci.* 2021;22(6):1–12. doi: 10.3390/IJMS22063221
 57. Liu H, Sun B, Wang S, et al. Circulating Tumor Cells as a Biomarker in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Cell Physiol Biochem.* 2017;42(1):373–382. doi: 10.1159/000477481
 58. Ankeny JS, Court CM, Hou S, et al. Circulating tumour cells as a biomarker for diagnosis and staging in pancreatic cancer. *Br J Cancer.* 2016;114(12):1367–1375. doi: 10.1038/BJC.2016.121
 59. Dotan E, Alpaugh RK, Ruth K, et al. Prognostic Significance of MUC-1 in Circulating Tumor Cells in Patients with Metastatic Pancreatic Adenocarcinoma. *Pancreas.* 2016;45(8):1131–1135. doi: 10.1097/MPA.0000000000000619
 60. Kuvendjiska J, Müller F, Bronsert P, et al. Circulating Epithelial Cells in Patients with Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm of the Pancreas. *Life.* 2023;13(7):1570. doi: 10.3390/life13071570
 61. Buscail E, Alix-Panabières C, Quincy P, et al. High Clinical Value of Liquid Biopsy to Detect Circulating Tumor Cells and Tumor Exosomes

in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Patients Eligible for Up-Front Surgery. *Cancers*. 2019;11(11):1656. doi: 10.3390/CANCERS11111656

62. Kitagawa K, Mitoro A, Tomooka F, et al. Diagnostic yield of liquid-based cytology in serial pancreatic juice aspiration cytological examination. *DEN open*. 2022;3(1):e177. doi: 10.1002/DEO2.177

63. Tag-Adeen M, Ozawa E, Ogihara K, et al. The role of pancreatic juice cytology in the diagnosis of pancreatic intraductal papillary mucinous neoplasm. *Revista espanola de enfermedades digestivas*. 2018;110(12):775–781. doi: 10.17235/REED.2018.5564/2018

64. Miyamoto K, Matsumoto K, Kato H, et al. The efficacy of pancreatic juice cytology with liquid-based cytology for evaluating malignancy in patients with intraductal papillary mucinous neoplasm. *BMC Gastroenterol*. 2020;20(1):319. doi: 10.1186/S12876-020-01465-Y

65. Özcan Ö, Arikan S. Determining the Risk Factors of Complications Due to Endoscopic Retrograde Cholangiopancreatography. *Cureus*. 2024;16(1):e51666. doi: 10.7759/CUREUS.51666

66. Sorber L, Zwaenepoel K, Deschoolmeester V, et al. A Comparison of Cell-Free DNA Isolation Kits: Isolation and Quantification of Cell-Free DNA in Plasma. *The Journal of Molecular Diagnostics*. 2017;19(1):162–168. doi: 10.1016/J.JMOLDX.2016.09.009

67. Taylor SC, Laperriere G, Germain H. Droplet Digital PCR versus qPCR for gene expression analysis with low abundant targets: from variable nonsense to publication quality data. *Scientific Reports*. 2017;7(1):1–8. doi: 10.1038/s41598-017-02217-x

68. Cheng YW, Stefaniuk C, Jakubowski MA. Real-time PCR and targeted next-generation sequencing in the detection of low level EGFR mutations: Instructive case analyses. *Respir Med Case Rep*. 2019;28:100901. doi: 10.1016/J.RMCR.2019.100901

69. Hong SR, Shin KJ. Bisulfite-Converted DNA Quantity Evaluation: A Multiplex Quantitative Real-Time PCR System for Evaluation of Bisulfite Conversion. *Front Genet*. 2021;12:618955. doi: 10.3389/FGENE.2021.618955/BIBTEX

70. Martisova A, Holcakova J, Izadi N, et al. DNA Methylation in Solid Tumors: Functions and Methods of Detection. *Int J Mol Sci*. 2021;22(8):4247. doi: 10.3390/IJMS22084247

71. Methylation-sensitive restriction enzymes (MSREs). Accessed February 23, 2024. https://www.takarabio.com/us/products/cell_biology_and_epigenetics/epigenetics/dna_preparation/msre_overview

ОБ АВТОРАХ

* **Рахматуллин Тагир Ирекович**, студ., стажёр, отд. лабораторной диагностики; адрес: Россия, 119991, ул. Ленинские горы, д. 1, Москва; ORCID: 0000-0002-4601-3478; eLibrary SPIN: 7068-1678; e-mail: tagir.rakhmatullin@internet.ru

Атаян Давид Павлович, зав. отд., отд. онкологии и гематологии; ORCID: 0000-0001-9816-3008; e-mail: d.atayan@ihospital.ru

Джайн Марк, канд. биол. наук, ст. науч. сотр., отд. лабораторной диагностики; ORCID: 0000-0002-6594-8113; eLibrary SPIN: 3783-4441; e-mail: jain-mark@outlook.com

Самоходская Лариса Михайловна, канд. мед. наук, доц., зав. отд., отд. лабораторной диагностики; ORCID: 0000-0001-6734-3989; eLibrary SPIN: 5404-6202; e-mail: slm@fbm.msu.ru

Егоров Вячеслав Иванович, д-р мед. наук, проф., рук. службы гепато-панкреато-билиарной хирургии; ORCID: 0000-0002-8805-7604; eLibrary SPIN: 4487-1663; e-mail: egorov12333@gmail.com

AUTHORS' INFO

* **Tagir I. Rakhmatullin**, Student, Rsch. Asst., Depart. of laboratory diagnosis; address: 1 st. Leninskie Gory, Moscow 119991, Russia; ORCID: 0000-0002-4601-3478; eLibrary SPIN: 7068-1678; e-mail: Tagir.rakhmatullin@internet.ru

David P. Atayan, Head of Depart., Depart. of Oncology and Hematology; ORCID: 0000-0001-9816-3008; e-mail: d.atayan@ihospital.ru

Mark Jain, Cand. Sci. (Bio.), Head and Senior Researcher, Depart. of laboratory diagnosis; ORCID: 0000-0002-6594-8113; eLibrary SPIN: 3783-4441; e-mail: jain-mark@outlook.com

Larisa M. Samokhodskaya, Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Head of Depart., Depart. of laboratory diagnosis; ORCID: 0000-0001-6734-3989; eLibrary SPIN: 5404-6202; e-mail: slm@fbm.msu.ru

Vyacheslav I. Egorov, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of Depart., Depart. hepatobiliarypancreatic surgery; ORCID: 0000-0002-8805-7604; eLibrary SPIN: 4487-1663; e-mail: egorov12333@gmail.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author