



Обзор

# Оценка метилирования группы генов в диагностике гидроторакса

В.Е. Покровский<sup>1</sup>✉, А.Н. Федосеев<sup>1</sup>, В.В. Смирнов<sup>1</sup>, С.М. Сороколетов<sup>2</sup><sup>1</sup> ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА», Москва, Россия;<sup>2</sup> ГБУЗ «Московский многопрофильный научно-клинический центр им. С.П. Боткина» Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

✉vasiliy.pokrovsky@gmail.com

## Аннотация

В последнее время особое внимание уделяется развитию новых методов диагностики с использованием молекулярных биомаркеров, в том числе изучению метилирования ДНК. Одним из способов улучшить диагностику гидроторакса неясного генеза может быть метод жидкостной биопсии, при которой предполагается исследование материалов, связанных с раком (т.е. бесклеточной ДНК, белков, экзосом), из крови или других биологических жидкостей. Так, определение метилирования генов SHOX2 и уровня эмбрионального опухолевого антигена (СЕА) в плевральном выпоте имеет высокую диагностическую ценность для выявления причин развития гидроторакса. Метилирование промотора RAR $\beta$  отмечается при ряде опухолей, включая рак легких, молочной железы и пищевода, а также плоскоклеточный рак головы и шеи. Метилирование гена DAPK-1 отмечали при онкологических заболеваниях полости рта, а также при карциноме желчных протоков, В-клеточной лимфоме и раке желудка и кишечника. Метилирование miR-375 отмечали при раке предстательной железы, раке прямой кишки и раке молочной железы. Таким образом, возможно применение исследования метилирования вышеописанной группы генов наряду с рутинными общепринятыми методами для сокращения сроков диагностики и как можно более раннего начала терапии, что соответствует как интересам пациента, так и экономическим интересам системы здравоохранения.

**Ключевые слова:** гидроторакс, метилирование группы генов, SHOX2, RAR $\beta$ , DAPK-1, miR-375.**Для цитирования:** Покровский В.Е., Федосеев А.Н., Смирнов В.В., Сороколетов С.М. Оценка метилирования группы генов в диагностике гидроторакса *Клинический разбор в общей медицине*. 2025; 6 (9): 118–120. DOI: 10.47407/kr2025.6.9.00683

Review

## Assessment of the methylation status of a group of genes for the diagnosis of hydrothorax

Vasily E. Pokrovsky<sup>1</sup>✉, Anatoly N. Fedoseev<sup>1</sup>, Vladimir V. Smirnov<sup>1</sup>, Sergey M. Sorokoletov<sup>2</sup><sup>1</sup> Federal Scientific and Clinical Center for Specialized Types of Medical Care and Medical Technologies of the FMBA of Russia, Moscow, Russia;<sup>2</sup> Botkin Moscow Multidisciplinary Scientific and Clinical Center, Moscow, Russia

✉vasiliy.pokrovsky@gmail.com

## Abstract

Recently, particular attention has been paid to the development of new diagnostic methods using molecular biomarkers, including the study of DNA methylation. One way to improve the diagnosis of hydrothorax of unknown origin may be the liquid biopsy method, which involves the study of cancer-related materials (i.e., cell-free DNA, proteins, exosomes) from blood or other biological fluids. Thus, the determination of SHOX2 gene methylation and embryonic tumor antigen (CEA) levels in pleural effusion has high diagnostic value for identifying the causes of hydrothorax. Methylation of the RAR $\beta$  promoter is observed in a number of tumors, including lung, breast, and esophageal cancer, as well as squamous cell carcinoma of the head and neck. Methylation of the DAPK-1 gene has been observed in oral cancer, as well as in bile duct carcinoma, B-cell lymphoma, and stomach and intestinal cancer. Methylation of miR-375 has been observed in prostate cancer, colorectal cancer and breast cancer. Thus, it is possible to use methylation testing of the above-described group of genes alongside routine standard methods to reduce diagnosis times and start treatment as early as possible, which is in the interests of both the patient and the healthcare system.

**Keywords:** hydrothorax, gene group methylation, SHOX2, RAR $\beta$ , DAPK-1, miR-375.**For citation:** Pokrovsky V.E., Fedoseev A.N., Smirnov V.V.; Sorokoletov S.M. Assessment of the methylation status of a group of genes for the diagnosis of hydrothorax *Clinical review for general practice*. 2025; 6 (9): 118–120 (In Russ.). DOI: 10.47407/kr2025.6.9.00683

Пациент Л., мужчина в возрасте 70 лет, поступил в стационар с жалобами на затруднение дыхания, одышку, усиливающуюся в положении лежа, кашель и боль в груди во время вдоха. При осмотре пациент нормального питания, сложение нормостеническое, температура при поступлении в стационар 37,2 °С, артериальное давление – 135/80 мм рт. ст. При осмотре отмечается сухой кашель с одышкой, частое поверхностное дыхание, синюшность губ и ногтевых фаланг пальцев кистей. Также при осмотре отмечено выбухание межреберных

промежутков и ослабление дыхательных движений грудной клетки. При аускультации слышно ослабление везикулярного дыхания. В анамнезе у пациента гастрит, стенокардия, гипертония 2-й степени. В общем анализе крови гемоглобин – 100 г/л, эритроциты – 3,8 г/л, тромбоциты – 300000/мкл, лейкоциты – 15×10<sup>9</sup>/л, СОЭ – 25 мм/ч. В биохимическом анализе крови общий белок – 70 г/л, общий холестерин – 5,2 ммоль/л, триглицериды – 1,5 ммоль/л, аспартатаминотрансфераза – 35 ед/л, аланинаминотрансфераза – 37 ед/л, общий би-

лирубин – 18 мкмоль/л, мочевины – 7,5 ммоль/л, креатинин – 98 мкмоль/л, глюкоза – 5,1 ммоль/л, железо – 25 мкмоль/л, калий – 5,2 ммоль/л, натрий – 138 ммоль/л, кальций – 2,54 ммоль/л, магний – 1,02 ммоль/л.

При рентгенографии грудной клетки определяется однородное затемнение, которое представляет собой скопление жидкости в плевральной полости справа, приблизительно объем жидкости около 500 мл. Пациенту был выполнен торакоцентез с проведением цитологического и бактериологического исследования плевральной жидкости. Опухолевые клетки и бактерии не выявлены. При проведении компьютерной томографии (КТ) с контрастированием был точно определен уровень жидкости в плевральной полости, опухоли, инфильтраты, инородные тела и патология сосудов выявлены не были. Тромбоэмболия легочной артерии была исключена. Также провели исследование плевральной жидкости для выявления следующих онкомаркеров: СЕА (эмбриональный опухолевый антиген), СА 19-9 (углеводный антиген, вырабатываемый клетками эпителия желудочно-кишечного тракта), СА 125 (высокомолекулярный гликопротеин) и биомаркеров BrdU, CD15, CD30 и цитокератины. Онкомаркеры и биомаркеры в плевральной жидкости не обнаружили. Пациенту провели консультацию пульмонолога и онколога. Причина развития гидроторакса не была установлена. В связи с затруднением выявления этиологии гидроторакса пациент был включен в научное исследование по метилированию группы генов при гидротораксе неясного генеза. В данном исследовании выявили метилирование промотора гена SHOX2 и гена  $\beta$ -рецептора ретиноевой кислоты (RAR $\beta$ ). Метилирование генов DAPK1 и miR-375 у пациента не выявили.

В последнее время особое внимание уделяется развитию новых методов диагностики с использованием молекулярных биомаркеров, в том числе и изучению метилирования ДНК. Одним из способов улучшить диагностику гидроторакса неясного генеза может быть метод жидкостной биопсии. Жидкостная биопсия предполагает исследование материалов, связанных с раком (т. е. бесклеточной ДНК, белков, экзосом), из крови или других биологических жидкостей. Жидкости для жидкостной биопсии содержат бесклеточную ДНК (cfDNA) [1–4], в которой может присутствовать фракция циркулирующей опухолевой ДНК (ctDNA); фракция ctDNA варьируется в зависимости от типа опухоли и стадии заболевания [5–7]. Присутствие фракции ctDNA можно обнаружить путем тестирования образцов cfDNA на опухолеспецифическое метилирование ДНК. Биомаркеры метилирования ДНК являются более информативными, чем мутации ДНК, поскольку метилирование ДНК, специфичное для рака, происходит в большей части образцов опухолей, чем мутации ДНК [8]. Кроме того, метилирование ДНК может быть специфичным для нескольких типов рака, которые развиваются в разных органах и тканях [4]. Поскольку раковые опухоли имеют много аномально метилированных участков ДНК [9–11], можно исследовать несколько геномных локусов с помощью qPCR, специфичного для метилирования ДНК, на наличие опухолеспецифического мети-

лирования ДНК и тем самым повысить чувствительность теста [12].

В. Vixby и соавт. разработали Sentinel-MPE, новый надежный тест жидкой биопсии для выявления рака [13]. Тест Sentinel-MPE основан на обнаружении специфического для опухоли метилирования ДНК в десяти геномных локусах [14].

В ряде исследований, в которых изучали метилирование ДНК, было показано, что оценка метилирования промотора гена SHOX2 является многообещающим биомаркером для установления причины развития гидроторакса [15]. Метаанализ исследований, в которых изучали метилирование промотора гена SHOX2 при раке легких, показал, что частота метилирования промотора гена SHOX2 увеличивалась в ткани рака легких, что свидетельствует о значительной связи метилирования SHOX2 с раком легких [16, 17].

S. Chen и соавт. [18] провели исследование, в котором изучали диагностическую ценность метилирования генов SHOX2 в сочетании с определением уровня эмбрионального опухолевого антигена (СЕА) при гидротораксе, вызванном злокачественными опухолями (злокачественным плевральным выпотом). Авторы пришли к выводу, что определение метилирования генов SHOX2 и уровня СЕА в плевральном выпоте имеет высокую диагностическую ценность для выявления причин развития гидроторакса. Из-за небольшого размера выборки данное исследование также имеет некоторые ограничения. Во-первых, до сих пор не установлено, существует ли разница в метилировании ДНК у различных патологических типов злокачественного плеврального выпота. Во-вторых, уровень метилирования ДНК является только качественным определением, а не количественным статистическим анализом. В будущем исследователи планируют проверять выводы данного исследования, расширяя размер выборки, проводя иерархический анализ статуса метилирования ДНК злокачественного плеврального выпота разных патологических типов и проводя количественный анализ уровня метилирования ДНК [18].

Ретиноиды являются ингибиторами опухолеобразования, их действие опосредуется связыванием с ядерными ретиноидными рецепторами. Ядерные ретиноидные рецепторы состоят из двух различных семейств: рецепторов ретиноевой кислоты (RAR) и ретиноидных X-рецепторов (RXR), каждый из которых имеет три подтипа ( $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$ ) [19]. Каждый подтип имеет несколько изоформ, образующихся в результате использования различных промоторов и альтернативного сплайсинга. Среди этих рецепторов RAR $\beta$ , а точнее изоформа  $\beta$ 2, снижается или подавляется в ряде опухолей, включая рак легких, молочной железы и пищевода, а также плоскоклеточный рак головы и шеи [20–23]. Кроме того, мРНК и белок RAR $\beta$  избирательно теряются в тканях рака простаты [24]. Экзогенная экспрессия гена RAR $\beta$  в RAR $\beta$ -отрицательных раковых клетках увеличивает их чувствительность к ингибированию роста и индукции апоптоза ретиноевой кислотой [25]. Однако о механизмах, лежащих в основе подавления экспрессии RAR $\beta$  в опухолевых клетках, известно мало.

Ген RAR $\beta$  характеризуется двумя различными промоторами и транскриптами, которые производятся путем альтернативного сплайсинга. Большинство клеток человека экспрессируют RAR $\beta$ 2 в качестве основной изоформы. Промотор RAR $\beta$ 2 характеризуется областью, богатой CpG (цитидинфосфатгуанозин), CpG-островком (Gardiner-Garden and Frommer, 1987), который расположен в 5'-нетранслируемой области, наряду с несколькими мотивами, которые являются потенциальными сайтами связывания для транскрипционных факторов, таких как AP-1, AP-2 и Sp1. Кроме того, RARE,  $\beta$ RARE и TATA-бокс расположены вблизи сайта инициации транскрипции [26, 27].

Метилирование ДНК, особенно в богатых CpG участках промотора, ингибирует транскрипцию, препятствуя инициации или снижая аффинность связывания последовательностных транскрипционных факторов. Недавно было продемонстрировано, что метил-CpG-связывающие белки рекрутируют репрессоры транскрипции, такие как гистондеацетилаза [28].

Таким образом, в ряде исследований было продемонстрировано метилирование RAR $\beta$  при ряде опухолей.

Ген DAPK-1 играет ключевую роль среди молекул, которые могут подвергаться гиперметилированию ДНК. P. Paradopoulos и соавт. [29] изучили метилирование ДНК гена DAPK-1 при потенциально злокачественных заболеваниях полости рта и плоскоклеточной карциноме полости рта по сравнению с нормальным эпителием полости рта, а также оценили возможную роль метилированного DAPK-1 в качестве индикатора раннего начала злокачественной трансформации потенциально злокачественных заболеваний полости рта. Было продемонстрировано, что при исследовании образцов ткани плоскоклеточной карциномы полости рта во всех 39 образцах отметили метилирование в промоторной области DAPK-1, тогда как только 2 из 12 образцов нормальных тканей показали гиперметилирование промотора DAPK-1. Поскольку эпигенетические изменения происходят на ранних стадиях канцерогенеза и потенциально обратимы, их можно использовать в качестве биомаркеров заболевания для диагностики, прогнозирования и предсказания, а также в качестве терапевти-

ческих мишеней. Метилирование DAPK-1 в основном присутствует на ранних стадиях дисплазии, а также во всех случаях рака полости рта.

Также метилирование гена DAPK-1 отмечали при других онкологических заболеваниях, в частности при карциноме желчных протоков [30], В-клеточной лимфоме [31], раке желудка и кишечника [32].

Недавние исследования показали, что метилирование ДНК в промоторе miR-375 снижает его экспрессию во время онкогенеза. Метилирование miR-375 отмечали при раке предстательной железы [33], раке прямой кишки [34], раке молочной железы [35].

Таким образом, несмотря на то, что в ходе клинического обследования в стационаре не было выявлено причины развития гидроторакса, после изучения метилирования генов у пациента Л. можно было предположить наличие онкологического заболевания, которое, однако, не подтверждалось данными традиционных лабораторных и инструментальных обследований. В связи с этим пациент после дренирования плевральной полости и улучшения состояния был выписан из стационара и ему была рекомендована контрольная госпитализация с обследованием через 3 мес. При контрольной госпитализации через 3 мес у пациента снова обнаружили гидроторакс справа, провели торакоцентез и КТ. На данной КТ в динамике было выявлено образование размером 15 мм в нижней доле правого легкого. После проведения трансбронхиальной биопсии у пациента была выявлена аденокарцинома легкого.

Таким образом, применение исследования метилирования вышеописанной группы генов наряду с рутинными общепринятыми методами может помочь сократить сроки диагностики и способствовать раннему началу терапии, что соответствует как интересам пациента, так и экономическим интересам системы здравоохранения.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interests.** The authors declare that there is not conflict of interests.

Список литературы доступен на сайте журнала <https://klin-razbor.ru/>

The list of references is available on the journal's website <https://klin-razbor.ru/>

## ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

**Покровский Василий Евгеньевич** – аспирант, каф. внутренних болезней Академии постдипломного образования, ФНКЦ ФМБА России. E-mail: vasily.pokrovsky@gmail.com

**Федосеев Анатолий Николаевич** – д-р мед. наук, проф., проф. каф. внутренних болезней Академии постдипломного образования, ФНКЦ ФМБА России

**Смирнов Владимир Вячеславович** – д-р мед. наук, проф., зав. каф. внутренних болезней Академии постдипломного образования, ФНКЦ ФМБА России

**Сороколетов Сергей Михайлович** – д-р мед. наук, проф. IAME, зам. глав. врача по терапевтической помощи, вед. науч. сотр., ГБУЗ «ММНКЦ им. С.П. Боткина»

Поступила в редакцию: 08.07.2025

Поступила после рецензирования: 25.07.2025

Принята к публикации: 07.08.2025

## INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Vasily E. Pokrovsky** – Graduate Student, Federal Scientific and Clinical Center for Specialized Types of Medical Care and Medical Technologies of the FMBA of Russia. E-mail: vasily.pokrovsky@gmail.com

**Anatoly N. Fedoseev** – Dr. Sci. (Med.), Full Prof., Federal Scientific and Clinical Center for Specialized Types of Medical Care and Medical Technologies of the FMBA of Russia

**Vladimir V. Smirnov** – Dr. Sci. (Med.), Full Prof., Federal Scientific and Clinical Center for Specialized Types of Medical Care and Medical Technologies of the FMBA of Russia

**Sergey M. Sorokoletov** – Dr. Sci. (Med.), Prof. IAME, Leading Res. Officer, Deputy Chief doctor, Botkin Moscow Multidisciplinary Scientific and Clinical Center

Received: 08.07.2025

Revised: 25.07.2025

Accepted: 07.08.2025