

УДК 616.345 / 35-006.6. – 073.7

DOI: 10.17816/pmj38388-96

МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОГО МЕТОДА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НАНОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ БИОСЕНСОРОВ В ДИАГНОСТИКЕ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

А.Н. Белкин^{1}, Г.Г. Фрейн¹, А.Г. Кочетов²*

¹*Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера,*

²*Институт лабораторной медицины, г. Москва, Россия*

MORPHOLOGICAL BASIS FOR POSSIBILITY OF APPLYING ELECTROCHEMICAL METHOD WITH USE OF NANOTECHNOLOGICAL BIOSENSORS IN DIAGNOSIS OF COLORECTAL CANCER

A.N. Belkin^{1}, G.G. Freind¹, A.G. Kochetov²*

¹*E.A. Vagner Perm State Medical University,*

²*Institute of Laboratory Medicine, Moscow, Russian Federation*

Цель. Оценить эффективность электрохимического метода исследования с применением биосенсоров для изучения активности щелочной фосфатазы как маркера функционального атипизма в свежих и фиксированных в формалине биоптатах колоректального рака путем сравнения с результатами морфологического исследования.

Материалы и методы. С помощью электрохимического метода исследованы фрагменты опухолей (аденокарцином) толстой кишки и слизистой оболочки толстой кишки от 78 пациентов, проходивших эндоскопическое исследование ободочной кишки. Оценивали и сравнивали результаты электрохимического и морфологического исследований.

Результаты. В материале от 70 пациентов средняя величина силы тока, полученная при исследовании фрагментов опухоли, составила 49,2 (95 % ДИ 41,3 – 88,9) нА и 33,1 (95 % ДИ 9,5 – 44,2) нА в случае «свежих» и фиксированных в формалине биоптатов соответственно. Средняя величина силы тока,

© Белкин А.Н., Фрейн Г.Г., Кочетов А.Г., 2021

тел. +7 922 335 58 31

e-mail: belkinanton87@gmail.com

[Белкин А.Н. (*контактное лицо) – старший преподаватель кафедры патологической анатомии с секционным курсом; Фрейн Г.Г. – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой патологической анатомии с секционным курсом; Кочетов А.Г. – доктор медицинских наук, профессор, ректор].

© Belkin A.N., Freind G.G., Kochetov A.G., 2021

tel. +7 922 335 58 31

e-mail: belkinanton87@gmail.com

[Belkin A.N. (*contact person) – Lecturer, Department of Pathological Anatomy with Sectional Course; Friend G.G. – MD, PhD, Professor, Head of Department of Pathological Anatomy with Sectional Course; Kochetov A.G. – MD, PhD, Professor, Rector].

полученная при исследовании фрагментов слизистой оболочки, составила 119,7 (95 % ДИ 96,8 – 167,1) нА и 59,6 (95 % ДИ 48,3 – 71) нА в случае «свежих» и фиксированных в формалине биоптатов соответственно. При иммуногистохимическом исследовании в ткани опухолей выявлена низкая экспрессия щелочной фосфатазы в сравнении с неизменной слизистой оболочкой.

Выводы. Показано, что электрохимический метод с применением нанотехнологических биосенсоров может использоваться для быстрой, прямой оценки содержания щелочной фосфатазы в биоптатах колоректальной карциномы. Полученные результаты позволяют рассматривать электрохимический метод как дополнительный метод оценки функционального атипизма опухолевых клеток.

Ключевые слова. Колоректальный рак, щелочная фосфатаза, электрохимический метод, биосенсоры.

Objective. To assess the efficacy of electrochemical method using biosensors for studying the activity of alkaline phosphatase as a marker of functional atypism in the fresh and formalin-fixed biopsies of the colorectal cancer by means of comparing with the results of morphological study.

Materials and methods. Electrochemical method was used to study the fragments of tumors (adenocarcinomas) of the colon and colon mucosa from 78 patients who underwent endoscopic study of the colon. The results of electrochemical and morphological studied were assessed and compared.

Results. In the material from 70 patients, a mean value of the current strength, obtained while studying the tumor fragments, was 49.2 (95 % CI 41.3 – 88.9) nA and 33.1 (95 % CI 9.5 – 44.2) nA in case of “fresh” and formalin-fixed biopsies, respectively. A mean value of the current strength, obtained while studying mucosa fragments, was 119.7 (95 % CI 96.8 – 167.1) nA and 59.6 (95 % CI 48.3 – 71) nA in case of “fresh” and formalin-fixed biopsies, respectively. While conducting immunohistochemical study, in the tumor tissue a low expression of alkaline phosphatase compared to unchanged mucosa was detected.

Conclusions. Electrochemical method applying nanotechnological biosensors was shown to be used for a rapid, direct estimation of alkaline phosphatase content in the biopsies of the colorectal carcinoma. The obtained results allow considering electrochemical method as an additional method for assessment of functional atypism of tumor cells.

Keywords. Colorectal cancer, alkaline phosphatase, electrochemical method, biosensors.

ВВЕДЕНИЕ

Колоректальный рак (КРР) – одно из самых распространенных онкологических заболеваний, в 2020 г. занял третье место в структуре онкологической заболеваемости в мире [1]. По данным А.Д. Каприна с соавт. [2], в 2018 г. КРР занимал четвертое место в структуре онкологической заболеваемости в России и составлял 29 заболевших на 100 тыс. населения с небольшим преобладанием у женщин. Несмотря на внедрение программ профилактики и скрининга, среднегодовой темп прироста новых случаев КРР демонстрирует одно из самых больших значений (2,86 %) среди всех злокачественных новооб-

разований [2]. Ввиду этого остается актуальным поиск дополнительных методов диагностики КРР, отражающих наибольшее количество значимых показателей для выбора адекватных методов лечения пациентов.

Эндоскопическое исследование толстой кишки с биопсией опухоли является «золотым стандартом» диагностики КРР. В последние десятилетия активно изучается возможность применения биосенсоров в онкологии. Биосенсоры (БС) – устройства, которые используют специфические биохимические реакции с участием ферментов, антигенов и антител, органелл, целых клеток или тканей для обнаружения химических соединений с помощью электрических, тер-

мических или оптических сигналов. Высокая чувствительность и избирательность БС по отношению к исследуемому веществу, миниатюризация, портативность и невысокая стоимость открывают перспективы для успешного использования как инвазивных, так и неинвазивных БС в рутинной клинической практике [3]. При оценке степени злокачественности опухолей наибольшее внимание по-прежнему уделяется маркерам морфологического атипизма. Представляет интерес исследование маркеров функционального атипизма опухолевой ткани КРР с помощью БС, среди которых заслуживает внимания щелочная фосфатаза. В настоящее время кишечная щелочная фосфатаза (ЩФ) рассматривается как маркер дифференцировки кишечного эпителия. Установлено, что максимальная концентрация фермента наблюдается лишь в полностью дифференцированных эпителиальных клетках [4].

Цель исследования – оценить эффективность электрохимического метода исследования с применением биосенсоров для изучения активности щелочной фосфатазы как маркера функционального атипизма в свежих и фиксированных в формалине биоптатах колоректального рака путем сравнения с результатами морфологического исследования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследованы 78 пациентов, проходивших эндоскопическое диагностическое исследование ободочной кишки. У каждого из пациентов забирали фрагменты опухоли толстой кишки и слизистой оболочки толстой кишки для проведения электрохимического исследования с применением БС. Электрохимическое

исследование проводили с использованием восьмиканального высокочувствительного потенциостата Palm Sens, мультиплексора, устройства для непрерывного перемешивания, устройства автономного питания «РИП-24», набора БС. БС представляли собой классические миниатюризированные трехэлектродные ячейки. Каждый БС был изготовлен из очищенной кремниевой пластины, на которую методом трафаретной печати наносили электроды на основе хрома, золота и солей серебра: рабочий электрод, противоэлектрод и электрод сравнения. К каждой кремниевой пластине с помощью эпоксидного клея приклеивали пластиковые цилиндрические камеры (лунки) объемом 300 мкл, ограничивая зону трех электродов.

Для выявления ЩФ в тканях биоптатов использовали специфический субстрат 1-нафтил фосфат (производство Sigma Aldrich, Великобритания, CAS No. 1136-89-6). Биоптаты опухолей и неизменной слизистой оболочки кишки раздельно помещали в лунки БС, содержащие 270 мкл рабочего буфера. После этого БС устанавливали в отсеки перемешивающего устройства. Все электроды соединялись восьмиканальным мультиплексором и работали в непрерывном режиме в условиях перемешивания благодаря подаче воздуха через пипетки перемешивающего устройства. Мультиплексор соединяли с перемешивающим устройством и потенциостатом. Потенциал относительно хлорсеребряного электрода сравнения составлял 300 мВ, интервал времени измерения составлял 1 с. Общее время одного измерения составляло 2000 с. Реакция осуществлялась между ЩФ, содержащейся в биоптатах, и специфическим субстратом 1-нафтилфосфатом, приводя к образованию продуктов (1-нафтола и др), обладающих электро-

химической активностью, т.е. при постоянном напряжении генерирующих электрический ток. Результаты электрохимического исследования оценивали по хроноамперометрограмме. По силе тока, получаемой в ходе эксперимента, судили о количестве выделяемых продуктов реакции и, следовательно, об активности исследуемой ЩФ.

После окончания эксперимента исследованные биоптаты подвергали гистологическому исследованию с окраской гематоксилином и эозином по стандартной методике. Проводили также иммуногистохимическое исследование биоптатов и операционного материала с антителами к ЩФ. Для выявления экспрессии ЩФ использовали парафиновые срезы толщиной 5 мкм, нанесенные на адгезивные стекла (Dako) и инкубированные с кроличьими моноклональными антителами к ЩФ (производство Abcam, Великобритания, # ab65834). В качестве хромогена применяли диаминобензидин. Для восстановления антигенной активности срезы обрабатывали в специализированном мини-автоклаве Retrivale-2100 при температуре 120°C в течение 20 мин с последующим охлаждением в течение 2 ч. Время инкубации с антителами составляло 60 мин при температуре 20 °C. После проведения реакции срезы докрашивали гематоксилином. Положительная экспрессия проявлялась в виде коричневого окрашивания клеточных структур. Оценка интенсивности экспрессии ЩФ оценивалась как слабая, умеренная и выраженная, очаговая и диффузная. Сравнивали результаты электрохимического и морфологического исследований.

Статистическая обработка полученных данных проводилась на ПК с программы Microsoft Office Excel® (© Microsoft, 2016), авторского (© В.С. Шелудько, 2001–2016) пакета прикладных электронных таблиц (ППЭТ)

Stat2015 [5]. При представлении меры центральной тенденции и ее доверительного интервала и при оценке статистической значимости различий (p) количественных переменных предварительно исследовалась нормальность распределения каждой выборки с помощью критерия Колмогорова – Смирнова. При нормальном распределении выборок описательная статистика представлена средней и 95%-ным доверительным интервалом, статистическая значимость различий оценивалась соответствующими критериями Стьюдента для независимых и зависимых выборок. При ненормальном распределении количественных переменных мера центральной тенденции и ее доверительный интервал представлены медианой, 25%-ным и 75%-ным квартилями, статистическая значимость различий при ненормальном распределении хотя бы одной из сравниваемых выборок оценивалась с помощью критерия U Манна – Уитни для независимых выборок и критерия W Вилкоксона для зависимых выборок. Статистическая значимость различий качественных переменных оценивалась с помощью критерия χ^2 . Различия считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На основании анализа результатов гистологического и электрохимического исследований всех пациентов разделили на две группы (табл. 1).

В материале от пациентов группы 1 вследствие высокой активности ЩФ в биоптатах эндоскопически неизменной слизистой оболочки толстой кишки регистрировали силу тока, которая была в 2,4 (нефиксированный материал) и в 1,8 (материал, фиксированный в формалине) раза выше, чем при исследова-

нии биоптатов опухолей (табл. 2). 10%-ный нейтральный забуференный формалин частично разрушает ЩФ, что приводит к снижению концентрации ЩФ в биоптатах, активно реагирующей с субстратом, и, как следствие, к более низкой силе тока.

Гистологически биоптаты опухоли были представлены аденокарциномой различной степени дифференцировки; фрагменты слизистой оболочки вне опухоли не содержали патологических изменений. При иммуногистохимическом исследовании биоптатов с антителами к ЩФ экспрессия фермента отсутствовала в клетках опухолей. В свою очередь поверхностный эпителий и эпителий железистых крипт слизистой оболочки демонстрировал выраженную диффузную мембранную экспрессию ЩФ.

Случаи с неоднородными результатами электрохимического и гистологического исследований вошли в группу 2. В качестве примера демонстрируем одно из исследований (№ 25). Из клинических данных известно, что материал предоставлен от пациента О. (мужчина), 73 года, с опухолью сигмовид-

ной кишки при эндоскопическом обследовании толстой кишки. При плановом гистологическом исследовании выявлено, что опухоль представлена умеренно дифференцированной (G2) аденокарциномой. Было исследовано четыре биоптата опухоли (БС № 1–4) и три биоптата неизменной слизистой оболочки (БС № 5–7). Изначально при электрохимическом исследовании выявлено, что сила тока, полученная при исследовании образцов опухолей, выше, чем при исследовании слизистой оболочки.

В ходе контрольного гистологического исследования получены данные о том, что опухолевой ткани в исследуемом материале нет. В БС выявлены следующие фрагменты: БС № 1, № 2 – фрагменты слизистой оболочки с MALT-структурами, БС № 3 – неизменная слизистая оболочка, БС № 4 – фрагмент гладкомышечной ткани, БС № 5 – 7 – неизменная слизистая оболочка. Неоднородность полученных данных послужила основанием для оценки силы тока, полученного при исследовании каждого биоптата в отдельности (табл. 3).

Таблица 1

Характеристика групп пациентов

Группа	Нефиксированный материал, абс. (%)	Материал, фиксированный в формалине, абс. (%)
№ 1	42 (60)	28 (40)
№ 2	6 (75)	2 (25)

Таблица 2

Сила тока, полученная при исследовании биоптатов опухолей и неизменной слизистой оболочки толстой кишки у пациентов группы № 1

Материал		Сила тока, средняя (95 % ДИ), нА
Свежие биоптаты	Опухоль	49,2 (41,3–88,9)
	Слизистая оболочка	119,7* (96,8–167,1)
Биоптаты, фиксированные в формалине	Опухоль	33,1 (9,5–44,2)
	Слизистая оболочка	59,6* (48,3–71)

Примечание: * – различие статистически значимо ($p < 0,05$).

Таблица 3

**Средняя величина силы тока, полученного
в ходе электрохимического исследования биоптатов № 25**

Характер материала	Средняя величина силы тока (нА), SD (N изм. = 200 / БС)
БС № 1, № 2 – фрагменты слизистой оболочки с лимфогистиоцитарной инфильтрацией, фрагментами MALT-структур	БС № 1 – $23,3 \pm 2,9$ БС № 2 – $29,4 \pm 5,0$
БС № 3 – неизменная слизистая оболочка	$36,1 \pm 5,8$
БС № 4 – мышечная и соединительная ткань	$15,0 \pm 2,6$
БС № 5 – 7 – неизменная слизистая оболочка	БС № 5 – $16,8 \pm 7,1$ БС № 6 – $18,6 \pm 6,5$ БС № 7 – $15,6 \pm 1,9$

Гистологическое исследование биоптатов, предварительно подвергнутых электрохимическому исследованию, позволило уточнить причины неоднородности силы тока: в ряде БС характер материала не соответствовал первоначальной маркировке. Последнее, очевидно, могло быть вызвано неоднородностью опухолевой ткани: возможностью присутствия в биоптатах наряду с опухолевыми клетками грануляционной и волокнистой соединительной, мышечной тканей, что подтверждается данными, полученными в исследовании материала пациентов группы 2.

При иммуногистохимическом исследовании с антителами к ЩФ выявлена слабая диффузная мембранная и цитоплазматическая экспрессия фермента в макрофагах, инфильтрирующих опухолевую ткань, а также в мультиполярных нейронах крупных нервных сплетений. Элементы сосудистой стенки (эндотелий, перициты), волокнистой и рыхлой соединительной ткани (фибробласты, фиброциты, волокна) – как в составе опухолевой стромы, так и в составе собственной пластинки слизистой оболочки и подслизистой основы стенки толстой кишки, клетки мышечной ткани не экспрессировали ЩФ.

Таким образом, в ходе настоящей работы электрохимическое исследование с использо-

ванием нанотехнологических БС показало высокую эффективность в оценке активности ЩФ в биоптатах опухолей и неизменной слизистой оболочки толстой кишки у пациентов с КРР.

При нарушении дифференцировки эпителия в злокачественных опухолях, т.е. с нарастанием морфологической и функциональной атипии секреторная активность клеток значительно снижается. Низкий сигнал тока, полученный при электрохимическом выявлении ЩФ в биоптатах опухолей в группе № 1, отражает низкую концентрацию фермента в опухолевых клетках и, следовательно, нарушение клеточной дифференцировки. Эти изменения являются одним из проявлений функциональной атипии, свойственной злокачественным новообразованиям. Аналогичные различия были получены в ходе гистологического и иммуногистохимического исследований опухолей и неизменной слизистой оболочки толстой кишки.

Более низкие величины силы тока, полученные при электрохимическом исследовании биоптатов, фиксированных в 10%-ном забуференном нейтральном формалине, обусловлены инактивацией ЩФ. Несмотря на это выявлялись достоверные различия

при исследовании опухолевой ткани и неизменной слизистой оболочки толстой кишки, аналогичные таковым в нефиксированных биоптатах. Полученные данные свидетельствуют, что исследование активности энзимов в операционном и биопсийном материале с помощью электрохимического метода предпочтительно проводить в свежем материале либо после его минимальной фиксации в формалине.

Особый интерес представляют пациенты группы 2. При гистологическом исследовании биоптатов, ранее изученных в ходе электрохимического исследования, выявлено, что часть биоптатов содержала не только ткань опухоли, но и фрагменты грануляционной и волокнистой соединительной ткани, гладкой мышечной ткани с различной степенью выраженности воспалительно-клеточной инфильтрации. Можно предположить, что фрагменты волокнистой соединительной ткани – это элементы опухоли с участками выраженного преобладания стромы и отсутствием опухолевых клеток либо элементы подслизистой основы стенки кишки; фрагменты мышечной ткани – это элементы мышечного слоя стенки толстой кишки; фрагменты грануляционной ткани – это участки постнекротического «заживления» опухолевой ткани либо материал из поврежденной слизистой оболочки толстой кишки непосредственно вблизи роста опухоли. Кроме этого, было показано, что в состав фрагментов слизистой оболочки толстой кишки могут входить MALT-структуры и прилежащая подслизистая основа стенки толстой кишки. Из полученных данных следует, что при взятии материала врачом-эндоскопистом следует учитывать возможность попадания в исследование тканей, дающих ложноположительный результат

при электрохимическом исследовании в виде увеличения силы тока I , несмотря на фиксированный размер биоптатов. По данным ряда исследователей [6, 7], ЩФ может выявляться в лимфоцитах MALT-структур слизистой оболочки кишечника, фибробластах подслизистого слоя стенки кишки, эндотелиальных клетках кровеносных сосудов подслизистого слоя стенки кишечника, в дифференцированных нейтрофилах и моноцитах. Последние, наряду с макрофагами и NK-клетками, являются важным звеном системы противоопухолевого иммунитета, выявляются в строме опухоли [8]. Нейтрофилы могут обнаруживаться в опухолевой ткани при развитии в ней некротических процессов обычно на поздней стадии заболевания; показано, что концентрация ЩФ в них возрастает при КРР [9].

Гетерогенность строения опухолевой ткани КРР, проявляющаяся в недетерминированном соотношении опухолевого и стромального компонентов в каждом из биоптатов, также не позволяет стандартизировать количественно результаты электрохимического исследования активности ЩФ в биоптатах опухолей. При анализе литературы нами не было выявлено данных о частоте обнаружения в биоптатах различных типов тканей, не являющихся опухолью при биопсии КРР в ходе эндоскопического исследования, но на примере одного из исследований показано, что число ложноотрицательных результатов колоноскопии при выявлении КРР минимально, составляет не более трех из 85 (3,5 %) случаев [10].

В ходе иммуногистохимического исследования опухолевой стромы, а также элементов стенки толстой кишки (собственной пластинки слизистой оболочки, подслизистой основы и мышечного слоя) нами было

установлено, что ЩФ может экспрессироваться в различных клеточных элементах, не являющихся эпителиальной тканью, что объясняет неоднородность результатов электрохимического исследования материала пациентов группы 2. Выявлена умеренная экспрессия ЩФ в нейронах мышечного слоя стенки толстой кишки, что также соотносится с литературными данными [11]. Таким образом, иммуногистохимическое исследование с использованием моноклональных антител к ЩФ позволило уточнить причину ложноположительных результатов, полученных в ходе электрохимического исследования биоптатов ряда пациентов. Учитывая результаты, полученные при исследовании биоптатов от пациентов из группы 2, можно заключить, что ввиду возможности одновременной перекрестной реакции различных изоформ ЩФ (кишечной, неспецифической) с субстратом (1-нафтил фосфатом) электрохимическое исследование фермента с целью изучения степени дифференцировки кишечного эпителия имеет низкую практическую значимость.

Выводы

1. Настоящее исследование показало, что электрохимический метод с применением нанотехнологических БС может использоваться для быстрой, прямой, недорогой по стоимости оценки содержания щелочной фосфатазы в биоптатах колоректальной карциномы.

2. Полученные результаты позволяют рассматривать электрохимический метод как дополнительный метод оценки функционального атипизма опухолевых клеток.

3. Представляет научный и практический интерес продолжение исследования с

целью поиска более специфических маркеров как КРР, так и опухолей других локализаций, изучение корреляции результатов электрохимического и лабораторных методов исследования, улучшения методологии.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Ye P., Xi Y., Huang Z., Xu P.* Linking obesity with colorectal cancer: epidemiology and mechanistic insights. *Cancers* 2020; 12 (1408).
2. Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена 2019; 250.
3. *Wang J.* Electrochemical biosensors: towards point-of-care cancer diagnostics. *Biosensors and Bioelectronics* 2006; 21 (10): 1887–1892.
4. *Barnard J.A., Warwick G.* Butyrate rapidly induces growth inhibition and differentiation in HT-29 cells. *Cell growth and differentiation* 1993; 4: 495–501.
5. *Шелудько В.С., Девятков Г.И.* Теоретические основы медицинской статистики (статистические методы обработки и анализа материалов научно-исследовательских работ). Пермь: ФГБОУ ВО «ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера» Минздрава России 2016.
6. *Kabbat E. A., Furth J.* A histochemical study of distribution of alkaline phosphatase in various normal and neoplastic tissues. *American journal of pathology* 1940; 27: 40–61.
7. *Stewart C.* Leukocyte alkaline phosphatase in myeloid maturation. *Pathology* 1974; 6: 287–293.
8. *Kumar V., Abbas A., Aster J.* Robbins basic pathology 10th edition. Elsevier 2017; 952.
9. *Walach N., Guterman A., Zaidman J.L., Kaufman S., Scharf S.* Leukocyte alkaline

phosphatase and carcinoembryonic antigen in colorectal cancer patients (usefulness in the assessment of the stage). *Oncology* 1991; 48 (2): 128–130.

10. *Than M., Witherspoon J., Shami J., Patil P., Saklani A.* Diagnostic miss rate for colorectal cancer: an audit. *Annals of gastroenterology* 2015; 28: 94–98.

11. *Song Z.M., Brookes S.J., Costa M.* Characterization of alkaline phosphatase-reactive neurons in the guinea-pig small intestine. *Neuroscience* 1994; 63 (4): 1153–1167.

REFERENCES

1. *Ye P., Xi Y., Huang Z., Xu P.* Linking obesity with colorectal cancer: epidemiology and mechanistic insights. *Cancers* 2020; 12 (1408).

2. Malignant neoplasms in Russia in 2018 (morbidity and mortality). Edited by A.D. Kaprin, V.V. Starinskiy, G.V. Petrova. Moscow: NMRRC named after Herzen PA 2019 (in Russian).

3. *Wang J.* Electrochemical biosensors: towards point-of-care cancer diagnostics. *Biosensors and Bioelectronics* 2006; 21 (10): 1887–1892.

4. *Barnard J.A., Warwick G.* Butyrate rapidly induces growth inhibition and differentiation in HT-29 cells. *Cell growth and differentiation* 1993; 4: 495–501.

5. *Sheludko V.S., Devyatkov G.I.* Theoretical foundations of medical statistics

(statistical methods of processing and analysis of research materials). Perm: PSMU named after acad. E.A. Wagner of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation 2016 (in Russian).

6. *Kabbat E. A., Furth J.* A histochemical study of distribution of alkaline phosphatase in various normal and neoplastic tissues. *American journal of pathology* 1940; 27: 40–61.

7. *Stewart C.* Leukocyte alkaline phosphatase in myeloid maturation. *Pathology* 1974; 6: 287–293.

8. *Kumar V., Abbas A., Aster J.* Robbins basic pathology. 10th edition. *Elsevier* 2017; 952.

9. *Walach N., Guterman A., Zaidman J.L., Kaufman S., Scharf S.* Leukocyte alkaline phosphatase and carcinoembryonic antigen in colorectal cancer patients (usefulness in the assessment of the stage). *Oncology* 1991; 48 (2): 128–130.

10. *Than M., Witherspoon J., Shami J., Patil P., Saklani A.* Diagnostic miss rate for colorectal cancer: an audit. *Annals of gastroenterology* 2015; 28: 94–98.

11. *Song Z.M., Brookes S.J., Costa M.* Characterization of alkaline phosphatase-reactive neurons in the guinea-pig small intestine. *Neuroscience* 1994; 63 (4): 1153–1167.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Материал поступил в редакцию 04.03.2021