

Исследование уровня экспрессии генов-маркеров пролиферативной активности в слизистой оболочке толстой кишки при различной патологии

Т.М. Кулинич, М.В. Захаренко, Е.Л. Джикия, А.Л. Сенчукова, У.С. Станоевич, И.Б. Грунин, Н.В. Мельникова, С.В. Гончаров, Т.В. Крашихина, Е.А. Кудинова, О.П. Близнюков, В.К. Боженко

ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Минздрава России; Россия, 117997 Москва, ул. Профсоюзная, 86

Контакты: Маргарита Владимировна Захаренко zak-margarita@mail.ru

Введение. Поиск молекулярных маркеров диагностики заболеваний толстой кишки, способных с высокой чувствительностью и специфичностью выявлять и дифференцировать патологический процесс, является актуальной клинически важной задачей. Уровень экспрессии генов, ответственных за процессы пролиферации, может отражать картину изменений в тканях пораженного органа.

Цель исследования – сравнительный анализ молекулярно-генетических маркеров пролиферативной активности при доброкачественных и злокачественных новообразованиях толстой кишки.

Материалы и методы. Методом полимеразной цепной реакции в реальном времени проведен анализ изменений экспрессии маркеров пролиферации (CCND1, c-MYC, Ki-67, HER2neu, TERT) в следующих тканях: аденокарциномы толстой кишки (n = 259), края резекции (около 15–20 см от опухолевого узла) (n = 251), неизменной слизистой оболочки толстой кишки здоровых доноров (n = 247), полипов (n = 28), неизменной слизистой оболочки толстой кишки при полипах (10–15 см от полипа) (n = 75).

Результаты и заключение. Установлено, что в тканях полипов толстой кишки наблюдаются достоверные различия в уровне экспрессии генов, ответственных за процессы пролиферации (c-MYC, CCND1, TERT). Выявленные различия специфичны для типа патологического процесса, что позволяет рассматривать данные гены в качестве наиболее перспективных кандидатов при разработке дифференциального метода диагностики заболеваний толстой кишки.

Ключевые слова: колоректальный рак, экспрессия генов, морфологически неизменная ткань, полип толстой кишки, маркеры пролиферации

Для цитирования: Кулинич Т.М., Захаренко М.В., Джикия Е.Л. и др. Исследование уровня экспрессии генов-маркеров пролиферативной активности в слизистой оболочке толстой кишки при различной патологии. Успехи молекулярной онкологии 2020;7(2): 39–46.

DOI: 10.17650/2313-805X-2020-7-2-39-46



Investigation of the expression level of genes-markers of proliferative activity in the mucosa at normal and various pathologies of the colon

T.M. Kulinich, M.V. Zakharenko, E.L. Dzhikiya, A.L. Senchukova, U.S. Stanoevich, I.B. Grunin, N.V. Melnikova, S.V. Goncharov, T.V. Krashikhina, E.A. Kudinova, O.P. Bliznyukov, V.K. Bozhenko

Russian Scientific Center of Roentgenoradiology, Ministry of Health of Russia;
86 Profsoyuznaya St., Moscow 117997, Russia

Background. The search for molecular markers of colon diseases allowing highly specific and sensitive identification and differentiation of pathological processes is a clinically important problem. Expression levels of genes responsible for proliferation can reflect the changes in the affected tissues.

The study objective is to perform comparative analysis of molecular and genetic markers of proliferative activity in benign and malignant neoplasms of the colon.

Materials and methods. Analysis of the changes in proliferation markers (CCND1, c-MYC, Ki-67, HER2neu, TERT) in adenocarcinoma of the colon (n = 259), resection margin (about 15–20 cm from the tumor lesion) (n = 251), unchanged colon mucosa from healthy donors (n = 247), polyps (n = 28), unchanged colon mucosa intestinal polyposis (10–15 cm from the polyp) (n = 75) was performed using RT-PCR.

Results and conclusion. It was shown that morphologically unchanged tissue of intestinal mucosa in malignant tumors has significant differences from normal tissue of healthy donors. Significant differences in the level of expression of genes responsible for the processes of proliferation, c-MYC, CCND1, TERT were found in benign hyperproliferative diseases (polyps). Moreover, these changes were specific to the type of pathological process, which allows us to consider these genes as the most promising candidates in the development of a differential method for diagnosing colon diseases.

Key words: colorectal cancer, gene expression, morphologically unchanged tissue, colon polyp, proliferation marker

For citation: Kulinich T.M., Zakharenko M.V., Dzhikiya E.L. et al. Investigation of the expression level of genes-markers of proliferative activity in the mucosa at normal and various pathologies of the colon. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2020;7(2):39–46. (In Russ.).

Введение

Ранняя диагностика и скрининг онкологических заболеваний желудочно-кишечного тракта являются чрезвычайно актуальной проблемой. По статистике заболеваемости населения России колоректальный рак (КРР) занимает 3-е место. При этом за последние 10 лет заболеваемость выросла на 24 % [1]. Несмотря на различные программы скрининга, выявляемость КРР на ранних стадиях составляет менее 40 %, что снижает показатели 5-летней выживаемости до 10 % [2]. Внедрение молекулярно-генетических методов исследований в клиническую онкологию позволило решить ряд вопросов этиологии и патогенеза КРР, однако проблема ранней диагностики данного заболевания остается нерешенной. Это делает необходимым поиск новых подходов к ранней диагностике КРР.

Высокую вероятность развития КРР имеют пациенты, страдающие воспалительными заболеваниями толстой кишки (прежде всего неспецифическим язвенным колитом), с семейной предрасположенностью к данной форме рака и/или имеющие полипы толстой кишки. Частота случаев развития рака из ворсинчатых аденом (полипов) диаметром >2 см составляет 35–53 %. При полипах диаметром >3 см вероятность их малигнизации приближается к 100 % [3]. Оценка вероятности малигнизации аденоматозных полипов толстой кишки в настоящее время проводится на основании их размеров, количества и патологических характеристик. Однако в ряде исследований показано, что молекулярные характеристики полипов могут предоставить информацию о канцерогенном риске прогрессии полипа [4, 5].

Поиск новых маркеров ранней диагностики рака толстой кишки, способных выявлять заболевание с высокой чувствительностью и специфичностью и дифференцировать патологический процесс, является актуальной задачей. Наиболее перспективным представляется использование комплексов/панелей патогенетически значимых молекулярных маркеров, которые смогут повысить точность дифференциальной диагностики заболеваний толстой кишки, определять факторы риска прогрессирования, а также позволят сформировать новые программы скрининга пациентов.

Цель исследования – проведение сравнительного анализа молекулярно-генетических маркеров пролиферативной активности при доброкачественных и злокачественных новообразованиях толстой кишки.

Материалы и методы

Исследование одобрено этическим комитетом Российского научного центра рентгенорадиологии. Все лица, включенные в исследование, подписали

информированное добровольное согласие. Проведен анализ образцов послеоперационного материала 215 пациентов с морфологически подтвержденным диагнозом КРР, проходивших обследование и лечение в Российском научном центре рентгенорадиологии в период с 2011 по 2018 г. Образцы ткани аденокарциномы ($n = 259$) и морфологически неизменной ткани (МНТ) края резекции ($n = 215$) получены в результате оперативного лечения больных первичным раком толстой кишки стадии I–IVB. По гистологическому типу все образцы опухоли представляли аденокарциному (G_{1-3}) и были объединены в группу «опухоль». Высокодифференцированные аденокарциномы выявлены в 48 % случаев, умеренно-дифференцированные – в 45 %, низкодифференцированные – в 7 %. Образцы МНТ края резекции отбирали из зоны на расстоянии 15–20 см от опухолевого узла, при гистологическом исследовании определено отсутствие признаков инвазивного роста.

Во время диагностической колоноскопии пациентов с морфологически подтвержденным диагнозом полипов толстой кишки получены образцы тканей полипов и МНТ полипа, взятой на расстоянии не менее 10 см от полипа. Образцы полипов были объединены в группу «полип» ($n = 28$). По данным гистологического исследования тубулярные аденомы диагностированы у 18, тубулярно-ворсинчатые – у 4, гиперпластические полипы – у 6 пациентов. Однако ввиду малого размера данной группы при анализе результатов не проводилось деления относительно гистологического типа при оценке полученных результатов как характеристики доброкачественного гиперпролиферативного процесса. Образцы МНТ вошли в группу «МНТ полипа» ($n = 78$). Контрольную группу «норма» составили образцы, полученные в ходе профилактической колоноскопии у добровольцев без патологии в толстой кишке ($n = 247$). Для всех образцов выполнено гистологическое исследование и получено заключение: «морфологически неизменная слизистая оболочка толстой кишки». Средний возраст пациентов группы «опухоль» составил 64,5 года, группы «полип» – 62,6 года, группы «норма» – 55,5 года.

Образцы биологического материала после получения немедленно помещали в стабилизирующий раствор (EverFresh RNA, Sileks, Россия) для сохранности нуклеиновых кислот и хранили при температуре -70°C . Выделение РНК проводили с помощью набора RNeasy Mini Kit (Qiagen, Германия) в соответствии с инструкцией производителя. Для постановки двухступенчатой полимеразной цепной реакции (ПЦР) с обратной транскрипцией использовали ген-специфические праймеры, наборы реагентов, протоколы и оборудование

ЗАО «НПФ ДНК-Технология» (Россия). Реакционную смесь инкубировали при температуре 40 °С в течение 30 мин с последующей инактивацией обратной транскриптазы при 95 °С в течение 5 мин. Полученную комплементарную ДНК сразу использовали для постановки ПЦР в реальном времени. ПЦР-анализ выполняли в 2 повторах, каждый объемом 12 мкл, по следующей программе: 15 циклов – при 80 °С 5 с, при 94 °С 5 с; 1 цикл – при 94 °С 5 мин; 50 циклов – при 94 °С 10 с, при 64 °С 20 с.

Определен уровень экспрессии генов, контролирующих процессы пролиферации: *CCND1* (циклин D1), *c-MYC*, *Ki-67*, *TERT*, *HER2neu*. Уровень экспрессии матричной РНК (мРНК) для каждого гена определяли в относительных единицах согласно методике, предложенной J. Vandesompele и соавт. в 2002 г. [6]. Мы посчитали наиболее целесообразным использовать нормировку на несколько генов для нивелирования их возможных колебаний. В качестве референсных использовали гены *GUSB*, *B2M* и *HPRT*. Выбор эталонных генов был сделан на основании результатов ряда исследований [7–9]. Статистический анализ проводили в программе Statistica 10 (StatSoft, США) с применением методов однофакторного дисперсионного анализа. Различия считали статистически достоверными при $p < 0,05$.

Результаты

Молекулярно-биологические особенности взаимоотношений доброкачественных гиперпролиферативных заболеваний и неизмененных окружающих тканей недостаточно изучены [10, 11]. В то же время актуальными являются проблема дифференциальной диагностики заболеваний толстой кишки и изучение вероятности малигнизации доброкачественных опухолей [3, 12]. В результате проведенного исследования изменений экспрессии генов *c-MYC*, *CCND1*, *Ki-67*, *TERT*, *HER2neu* в группах «МНТ края резекции», «опухоль», «полип», «МНТ полипа» и «норма» выявлены их фенотипические особенности.

Уровень экспрессии гена *Ki-67* – стандартного маркера пролиферативной активности – был достаточно высоким для всех исследуемых типов тканей (рис. 1). Достоверно выше уровень экспрессии *Ki-67* был в тканях аденокарцином, что позволило дифференцировать ткань неизмененного эпителия толстой кишки и материал злокачественной опухоли (см. таблицу). Выявленные особенности хорошо согласуются с широко известными данными об усилении экспрессии *Ki-67* в тканях опухоли и использовании данного гена при иммуногистохимическом анализе оценки пролиферации и степени злокачественности опухоли [13, 14]. При полипозе толстой кишки достоверные различия наблюдались для групп «полип»/«норма» и отсутствовали при сравнении групп «полип»/«МНТ полипа» и «МНТ полипа»/«норма». Группа «МНТ полипа» характеризовалась большим разбросом

значений и отсутствием достоверных различий в уровне экспрессии *Ki-67* от групп «норма» и «полип», причем наблюдались как незначительные различия средних уровней экспрессии *Ki-67* в группах «полип» и «МНТ полипа», так и большой разброс значений внутри данных групп.

Отсутствие различий экспрессии *Ki-67* при сравнении групп «МНТ полипа»/«норма» определяет ограничения применения данного молекулярного маркера при доброкачественных заболеваниях толстой кишки.

Регуляторная функция *c-MYC* в отношении *CCND1* и их взаимосвязь [15] определили схожий характер изменений данных генов в исследуемых тканях (см. рис. 1). Показано, что наибольший уровень экспрессии *c-MYC* и *CCND1* определяется в тканях аденокарциномы как показатель высокой пролиферативной активности. Экспрессия снижается в ряду опухоль–МНТ края резекции–норма, причем изменения экспрессии генов *c-MYC* и *CCND1* достоверны для этих 3 типов ткани (см. таблицу). В тканях полипов толстой кишки также отмечены высокие уровни экспрессии *c-MYC* и *CCND1*, достоверно отличающиеся как от уровней в слизистой оболочке толстой кишки здоровых доноров, так и от значений в тканях опухолей и МНТ полипа. Оценка уровней экспрессии генов *c-MYC* и *CCND1*, характеризующих пролиферативную активность ткани, может

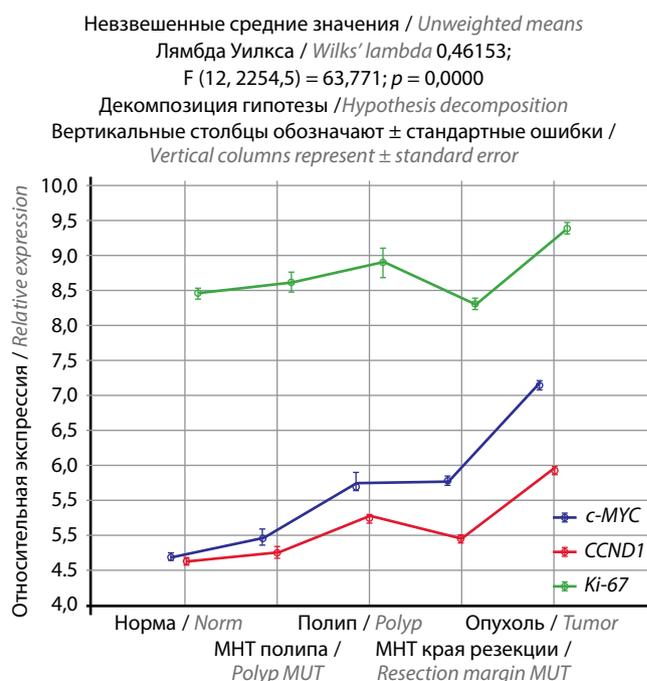


Рис. 1. Изменение экспрессии генов *Ki-67*, *c-MYC* и *CCND1* в тканях опухолей, морфологически неизмененных тканях (МНТ) края резекции при колоректальном раке, полипах, неизменной слизистой оболочке при полипозе и нормальной слизистой оболочке толстой кишки условно здоровых доноров

Fig. 1. Changes in expression of *Ki-67*, *c-MYC* and *CCND1* genes in tumor tissues, morphologically unchanged tissues (MUT) of the resection margin in colorectal cancer, intestinal polyposis, unchanged mucosa in polyposis and normal mucosa in healthy donors

Достоверность различий экспрессии исследованных генов при парном сравнении групп тканей

Significance of differences in expression of the studied genes in pairwise comparison of tissue groups

Тип ткани Tissue type	<i>c-MYC</i>	<i>CCND1</i>	<i>TERT</i>	<i>Ki-67</i>	<i>HER2new</i>
Опухоль G ₁ /Опухоль G ₂ Tumor G ₁ /Tumor G ₂	0,440	0,743	0,003*	0,996	0,896
Опухоль G ₁ /Опухоль G ₃ Tumor G ₁ /Tumor G ₃	0,273	0,542	0,031*	0,088	0,011*
Опухоль G ₂ /Опухоль G ₃ Tumor G ₂ /Tumor G ₃	0,250	0,468	0,563	0,098	0,044*
Опухоль G ₁₋₃ /край резекции Tumor G ₁₋₃ /resection margin	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
Опухоль G ₁₋₃ /норма Tumor G ₁₋₃ /norm	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
Край резекции/норма Resection margin/norm	0,000*	0,000*	0,000*	0,001*	0,174
Опухоль G ₁₋₃ /полип Tumor G ₁₋₃ /polyp	0,000*	0,001*	0,000*	0,019*	0,040*
Опухоль G ₁₋₃ /МНТ полипа Tumor G ₁₋₃ /polyp MUT	0,000*	0,000*	0,875	0,000*	0,000*
Полип/МНТ полипа Polyp/polyp MUT	0,000*	0,001*	0,000*	0,073	0,028*
Полип/норма Polyp/norm	0,000*	0,000*	0,000*	0,001*	0,140
МНТ полипа/норма Polyp MUT/norm	0,000*	0,017*	0,000*	0,361	0,011*
МНТ полипа/край резекции Polyp MUT/resection margin	0,002*	0,015*	0,372	0,023*	0,017*

*Достоверные различия ($p < 0,05$).

Примечание. МНТ – морфологически неизменная ткань.

*Significant differences ($p < 0.05$).

Note. MUT – morphologically unchanged tissue.

служить маркером типа патологического процесса и использоваться в дифференциальной диагностике патологических изменений толстой кишки.

Изменения экспрессии генов *c-MYC* и *CCND1* специфичны для всех исследуемых типов тканей и позволяют достоверно отличить не только ткани злокачественных и доброкачественных новообразований, но и МНТ слизистой оболочки толстой кишки. Также важно отметить, что для всех исследуемых генов получены достоверные различия между группами «МНТ полипа» и «МНТ края резекции», таким образом, МНТ толстой кишки демонстрируют специфические изменения в зависимости от типа патологического процесса.

Изменения экспрессии гена *HER2neu* характеризовались снижением уровня экспрессии в группах «опухоль» и «МНТ края резекции». В группах «полип»/«норма» и «МНТ край резекции»/«норма» при парном сравнении достоверных различий не отмечено. Вероятно, изменения экспрессии гена *HER2neu* происходят непосредственно в тканях опухолевого узла при КРР и не распространяются на прилежащие ткани кишки.

При проведении сравнительного анализа изменений экспрессии исследуемых генов внутри группы «опухоль» в зависимости от степени злокачественности аденокарциномы показано наличие достоверных различий только по уровню экспрессии *HER2neu* (см. таблицу, рис. 2). Уровень экспрессии достоверно различался в подгруппах опухолей G₁/G₃ и G₂/G₃, максимально снижаясь в подгруппе опухолей G₃ (см. рис. 2).

Продукт гена *TERT* (обратной транскриптазы, основные функции которой – удлинение и стабилизация теломера), также вызывает усиление пролиферации клеток и повышение их жизнеспособности, участвует в регуляции экспрессии некоторых генов, ответа на повреждение ДНК [16]. Результаты исследования гена *TERT* показали достоверное снижение уровня его экспрессии в тканях при гиперпролиферативных заболеваниях толстой кишки, причем наиболее резкое снижение отмечено в тканях полипа (см. рис. 2). Полученный результат можно объяснить высокой активностью *TERT* в слизистой оболочке толстой кишки

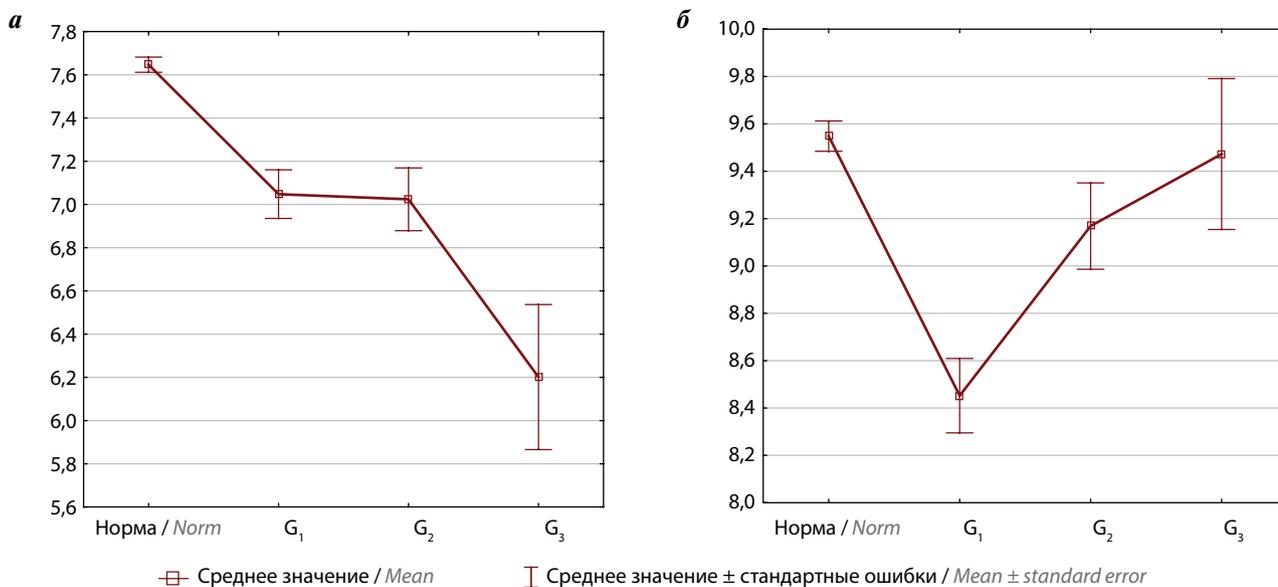


Рис. 2. Изменение среднего значения экспрессии гена *HER2neu* (а) и гена *TERT* (б) в группах «норма» и «опухоль» в зависимости от степени злокачественности *G* (Grade)

Fig. 2. Changes in mean expression of *HER2neu* (a) and *TERT* (б) genes in the “norm” and “cancer” groups, depending on the grade of malignancy *G* (Grade)

в норме в связи с высокой функционально-обусловленной пролиферативной активностью клеток и включением так называемых дисрегуляторных механизмов при злокачественных опухолях [17]. Достоверные различия получены между всеми группами, кроме групп «опухоль»/«МНТ края резекции», «опухоль»/«МНТ полипа», «МНТ полипа»/«МНТ края резекции» (см. таблицу). При анализе уровней экспрессии *TERT* в тканях полипа обнаружена большая гетерогенность. В литературе имеются единичные работы, также выделяющие большой разброс уровня *TERT* при доброкачественных заболеваниях толстой кишки и связывающие его с вероятностью озлокачествления процесса [18]. В нашем исследовании показано, что уровень экспрессии *TERT* возрастал в ряду норма–МНТ края резекции–опухоль. При сравнении образцов внутри группы «опухоль» уровень экспрессии *TERT* достоверно различался в подгруппах опухолей G_1/G_3 и G_1/G_2 , максимально возрастая в подгруппе опухолей G_3 (см. рис. 2).

Обсуждение

Проллиферативная активность – одна из основных морфологических характеристик опухолевого процесса. В настоящее время наибольшую диагностическую значимость имеют иммуногистохимические маркеры пролиферации и апоптоза p53, *HER2neu* и *Ki-67* [19]. Определение уровней *HER2neu* и *Ki-67* в биопсийном и операционном материале при КРП позволяет оценить степень пролиферативной активности опухоли и является одним из определяющих факторов при выборе тактики лечения, в том числе назначения химиотерапии. При полипозе кишечника исследование молекулярно-генетических маркеров не столь распространено и не носит обязательного характера, однако высокий уровень перерождения полипов дик-

тует поиск критериев, определяющих прогноз и тактику ведения пациентов с полипозом и позволяющих оценивать риск развития КРП (озлокачествления полипов).

Так, в работе Р.М. Смоляковой и соавт. продемонстрировано, что уровень *Ki-67* в ткани полипа толстой кишки может быть прогностическим фактором, определяющим вероятность малигнизации [20]. Результаты исследования О.А. Харловой и соавт. показали ряд молекулярных отличий внутри группы зубчатых образований толстой кишки, которые могут являться факторами канцерогенного риска, а также молекулярными маркерами, позволяющими с высокой точностью проводить дифференциальную диагностику образований толстой кишки [21].

Определение уровня экспрессии *c-MYC* и *CCND1* не является «стандартным» тестом при диагностике патологий толстой кишки, однако данные гены играют фундаментальную роль в регуляции пролиферации и количества клеток крипты слизистой оболочки толстой кишки. Ген *c-MYC* участвует в различных аспектах пролиферации, инвазии и контроля апоптоза раковых клеток. Экспрессия *c-MYC* повышена в 70 % случаев КРП [22].

Кроме этого, *c-MYC* тесно связан с геном *APC* (ген аденоматозного полипа) через активацию сигнального пути Wnt [23]. Важная роль гена *c-MYC* в «эволюции» неопластического процесса доказана в большом количестве исследований [24–27]. Показано, что уровень цитоплазматического *c-MYC* возрастает в ряду нормальная слизистая оболочка толстой кишки–аденоматозный полип–опухоль [28].

Работ, посвященных анализу молекулярных изменений в МНТ пораженного опухолью органа, на сегодняшний день немного. Однако не вызывает

сомнений, что развитие гиперпролиферативного процесса сопровождается изменениями, затрагивающими не только весь пораженный орган, но и организм в целом [29, 30]. Интересные результаты в проведенном исследовании получены для экспрессии гена *TERT* (см. рис. 2): уровень *TERT* в норме выше, чем в тканях опухоли. Однако в большинстве данных литературы уровень *TERT* выше в опухолевых тканях, чем в норме [31, 32]. Мы объясняем эти существенные различия принципиально другим подходом в формировании контрольной группы «норма»: обычно в исследованиях в качестве нормы используют МНТ края резекции. В нашем исследовании уровень *TERT* в группе «МНТ края резекции» был ниже, чем в группе «опухоль». Таким образом, если бы группа «МНТ края резекции» использовалась в качестве контрольной, то результаты соответствовали данным литературы. Однако в настоящее время многими исследователями подчеркивается, что край резекции нельзя считать нормальной тканью [12, 33, 34], так как при формировании опухоли процессы канцерогенеза затрагивают весь орган, в данном случае толстую кишку. Полученные в нашей работе значения экспрессии *TERT* в группах «норма», «МНТ края резекции», «опухоль», во-первых, вносят дополнительную информацию об отличиях молекулярных процессов в клетке, во-вторых, подчеркивают

важность правильного выбора контрольных групп при планировании исследования.

Проведенный анализ молекулярно-генетических изменений в тканях толстой кишки показывает наличие и нарастание изменений в экспрессии генов, отвечающих за взаимодействие механизмов, регулирующих процессы клеточной пролиферации.

Заключение

Результаты проведенного исследования экспрессии генов *c-MYC*, *CCND1*, *Ki-67*, *HER2neu*, *TERT* показали, что в МНТ толстой кишки наблюдаются изменения как при возникновении злокачественных опухолей, так и при полипозе. Результаты демонстрируют, что под воздействием гиперпластического процесса изменения, возникающие в толстой кишке, затрагивают орган целиком. Установлено, что и при доброкачественных гиперпролиферативных заболеваниях (полипах) наблюдаются достоверные различия в уровне экспрессии генов, ответственных за процессы пролиферации. Эти изменения специфичны для типа патологического процесса, что позволяет рассматривать данные гены (молекулярно-генетические маркеры) в качестве наиболее перспективных кандидатов при разработке дифференциального метода диагностики заболеваний толстой кишки

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Состояние онкологической помощи населению России в 2018 году. Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2019. С. 18. [State of oncological care in Russia in 2018. Eds.: A.D. Kaprin, V.V. Starinskiy, G.V. Petrova. Moscow: MNIIOI im. P.A. Gertsena – filial FGBU “NMITS radiologii” Minzdrava Rossii, 2019. P. 18. (In Russ.)].
2. Солодкий В.А., Чхиквадзе В.Д., Станоевич У.С. и др. Ранняя диагностика колоректального рака. Врач 2012;11:20–3. [Solodkiy V.A., Chkhivadze V.D., Stanoevich U.S. et al. Early diagnosis of colorectal cancer. *Vrach = Doctor* 2012;11:20–3. (In Russ.)].
3. Агейкина Н.В. Комбинированное эндоскопическое лечение малигнизированных полипов толстой кишки. Дис. ... канд. мед. наук. М., 2011. [Ageykina N.V. Combination endoscopic treatment of malignant colon polyps. PhD in Medicine dissertation. Moscow, 2011. (In Russ.)].
4. Juárez M., Egoavil C., Rodríguez-Soler M. et al. KRAS and BRAF somatic mutations in colonic polyps and the risk of metachronous neoplasia. *PLoS One* 2017;12(9):e0184937. DOI: 10.1371/journal.pone.0184937.
5. Xue-Qi C., Jia-Yu M., Wen-Bin L. et al. Association between CYP24A1 polymorphisms and the risk of colonic polyps and colon cancer in a Chinese population. *World J Gastroenterol* 2017;23(28):5179–86. DOI: 10.3748/wjg.v23.i28.5179.
6. Vandesompele J., De Preter K., Pattyn F. et al. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biology* 2002;3(7):research0034. DOI: 10.1186/gb-2002-3-7-research0034.
7. Dowling S.M., Walsh D., Coffey D.S., Keely P.A. The importance of choosing the appropriate reference genes for quantitative real-time PCR, as shown using colon cancer cells and tissues. *F1000 Res* 2016;5:99. DOI: 10.12688/f1000research.7656.2.
8. Krzystek-Korpacka M., Diakowska D., Bania J., Gamian A. Expression stability of common housekeeping genes is differentially affected by bowel inflammation and cancer: implications for finding suitable normalizers for inflammatory bowel disease studies. *Inflamm Bowel Dis* 2014;20(7):1147–56. DOI: 10.1097/MIB.0000000000000067.
9. De Kok J.B., Roelofs R.W., Giesendorf B.A. et al. Normalization of gene expression measurements in tumor tissues: comparison of 13 endogenous control genes. *LabInvest* 2005;85(1):154–9. DOI: 10.1038/labinvest.3700208.
10. Станоевич У.С., Захаренко М.В., Боженко В.К. и др. Роль молекулярных изменений в морфологически неизменной слизистой оболочке толстой кишки при колоректальном раке. Гастроэнтерология Санкт-Петербурга 2018;2:99–99a. [Stanoevich U.S., Zakharenko M.V., Bozhenko V.K. et al. The role of molecular changes in morphologically unchanged colon mucosa in colorectal cancer. *Gastroenterologiya Sankt-Peterburga = Saint Petersburg Gastroenterology* 2018;2:99–a. (In Russ.)].
11. Bujanda L., Cosme A., Gill. et al. Malignant colorectal polyps. *World J Gastroenterol* 2010;16(25):3103–11. DOI: 10.3748/wjg.v16.i25.3103.
12. Боженко В.К., Станоевич У.С., Троценко И.Д. и др. Сравнение экспрессии мРНК матричных

- металлопротеиназ в морфологически нормальной, неопластической и метастатической тканях толстого кишечника и в биоптатах здоровых доноров. Биомедицинская химия 2018;64(1):46–52. [Bozhenko V.K., Stanoevich U.S., Trotsenko I.D. et al. Comparison of matrix proteinase mRNA expression in morphologically normal, neoplastic, and metastatic colon tissue and colon biopsies from healthy donors. *Biomeditsinskaya khimiya = Biomedical Chemistry* 2018;64(1):46–52. (In Russ.)].
13. Станоевич У.С., Боженко В.К., Захаренко М.В. и др. Роль молекулярно-генетических исследований в планировании неадьювантной химиолучевой терапии при раке прямой кишки. Злокачественные опухоли 2016;4-S1(21):258–9. [Stanoevich U.S., Bozhenko V.K., Zakharenko M.V. et al. The role of molecular and genetic studies in planning of neoadjuvant chemoradiation therapy for rectal cancer. *Zlokachestvennye opukholi = Malignant Tumors* 2016;4-S1(21):258–9. (In Russ.)].
 14. Reimers M.S., Zeestraten E.C.M., Kuppen P.J.K. et al. Biomarkers in precision therapy in colorectal cancer. *Gastroenterol Rep(Oxf)* 2013;1(3):166–83. DOI: 10.1093/gastro/got022.
 15. Chen Y., Jiang J., Zhao M. et al. MicroRNA-374a suppresses colon cancer progression by directly reducing CCND1 to inactivate the PI3K/AKT pathway. *Oncotarget* 2016;7(27):41306–19. DOI: 10.18632/oncotarget.9320.
 16. Gaspar T.B., Sá A., Lopes J.M. et al. Telomere maintenance mechanisms in cancer. *Genes(Basel)* 2018;9(5):241. DOI: 10.3390/genes9050241.
 17. Cordero D., Solé X., Crous-Bou M. et al. Large differences in global transcriptional regulatory programs of normal and tumor colon cells. *BMC Cancer* 2014;14:708. DOI: 10.1186/1471-2407-14-708.
 18. Druliner B.R., Ruan X., Johnson R. et al. Time lapse to colorectal cancer: telomere dynamics define the malignant potential of polyps. *Clin Transl Gastroenterol* 2016;7(9):e188. DOI: 10.1038/ctg.2016.48.
 19. Belt E.J.Th, Brosens R.P.M., Delisvan Diemen P.M. et al. Cell cycle proteins predict recurrence in stage II and III colon cancer. *Ann Surg Oncol* 2012;19 Suppl 3:S682–92. DOI: 10.1245/s10434-012-2216-7.
 20. Смолякова Р.М., Машевский А.А., Кохнюк В.Т. и др. Прогностическая значимость экспрессии маркеров опухолевой пролиферации Ki-67, P53 и BCL-2 у больных колоректальным раком и полипозом. Онкологический журнал 2008;1(5):29–39. [Smolyakova R.M., Mashevskiy A.A., Kokhnyuk V.T. et al. Prognostic significance of expression of Ki-67, P53 and BCL-2 tumor proliferation markers in patients with colorectal cancer and polyposis. *Onkologicheskij zhurnal = Oncological Journal* 2008;1(5):29–39. (In Russ.)].
 21. Харлова О.А., Олейникова Н.А., Мальков П.Г., Данилова Н.В. Новые подходы в классификации зубчатых образований толстой кишки. Современные проблемы науки и образования 2018;2:24. [Kharlova O.A., Oleynikova N.A., Malkov P.G., Danilova N.V. New approaches to the classification of colon serrated lesions. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education* 2018;2:24. (In Russ.)].
 22. Dang C.V. MYC on the path to cancer. *Cell* 2012;149(1):22–35. DOI: 10.1016/j.cell.2012.03.003.
 23. Liu S., Tackmann N.R., Yang J. et al. Disruption of the RP-MDM2-p53 pathway accelerates APC loss-induced colorectal tumorigenesis. *Oncogene* 2017;36(10):1374–83. DOI: 10.1038/onc.2016.301.
 24. Gabay M., Li Y., Felsner D.W. MYC activation is a hallmark of cancer initiation and maintenance. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2014;4(6):a014241. DOI: 10.1101/cshperspect.a014241.
 25. Cascon A., Robledo M. MAX and MYC: a heritable breakup. *Cancer Res* 2012;72(13):3119–24. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-3891.
 26. Wolfer A., Ramaswamy S. MYC and metastasis. *Cancer Res* 2011;71(6):2034–7. DOI: 10.1158/0008-5472.can-10-3776.
 27. Melnik S., Werth N., Boeuf S. et al. Impact of c-MYC expression on proliferation, differentiation, and risk of neoplastic transformation of human mesenchymal stromal cells. *Stem Cell Res Ther* 2019;10(1):73. DOI: 10.1186/s13287-019-1187-z.
 28. Stewart J., Evan G., Watson J. et al. Detection of the c-MYC oncogene product in colonic polyps and carcinomas. *Br J Cancer* 1986;53(1):1–6.
 29. Egeblad M., Nakasone E.S., Werb Z. Tumors as organs: complex tissues that interface with the entire organism. *Dev Cell* 2010;18:884–901. DOI: 10.1016/j.devcel.2010.05.012.
 30. Graham K., de las Morenas A., Tripathi A. et al. Gene expression in histologically normal epithelium from breast cancer patients and from cancer-free prophylactic mastectomy patients shares a similar profile. *Br J Cancer* 2010;102(8):1284–93. DOI: 10.1038/sj.bjc.6605576.
 31. Ayiomamitis G.D., Notas G., Zaravinos A. et al. Differences in telomerase activity between colon and rectal cancer. *Canad J Surg* 2014;57(3):199–208. DOI: 10.1503/cjs.031312.
 32. Nowak J., Januszkiewicz D., Lewandowski K. et al. Activity and expression of human telomerase in normal and malignant cells in gastric and colon cancer patients. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003;15:75–80. DOI: 10.1097/00042737-200301000-00013.
 33. Aran D., Camarda R., Odegaard J. et al. Comprehensive analysis of normal adjacent to tumor transcriptomes. *Nat Commun* 2017;8:1077. DOI: 10.1038/s41467-017-01027-z.
 34. Sanz-Pamplona R., Berenguer A., Cordero D. Aberrant gene expression in mucosa adjacent to tumor reveals a molecular crosstalk in colon cancer. *Mol Cancer* 2014;13:46. DOI: 10.1186/1476-4598-13-46.

Вклад авторов

Т.М. Кулинич: научное редактирование текста, подготовка рукописи к публикации;
М.В. Захаренко: получение данных для анализа, анализ полученных данных, обзор публикаций по теме статьи, написание отдельных глав рукописи;

Е.Л. Джикия: обзор публикаций по теме статьи, написание отдельных глав рукописи, формирование общего списка литературы, подготовка рукописи к публикации;

А.Л. Сенчукова: получение данных для анализа, анализ полученных данных;

У.С. Станоевич: получение данных для анализа, обзор публикаций по теме статьи, научное редактирование текста;

И.Б. Грунин, С.В. Гончаров, Т.В. Крашихина: получение данных для анализа,

Н.В. Мельникова, Е.А. Кудинова: написание отдельных глав рукописи;

О.П. Близиюков: получение данных для анализа, научное редактирование текста;

В.К. Боженко: научное редактирование текста, разработка дизайна обзора.

Authors' contributions

T.M. Kulinich: scientific editing, manuscript preparation for publication;
M.V. Zakharenko: obtaining data for analysis, analysis of the obtained data, reviewing of publications of the article's theme, writing individual chapters of the manuscript;
E.L. Dzhikiya: reviewing of publications of the article's theme, writing individual chapters of the manuscript, formation of a general list of references, manuscript preparation for publication;
A.L. Senchukova: obtaining data for analysis, analysis of the obtained data;
U.S. Stanoevich: obtaining data for analysis, reviewing of publications of the article's theme, scientific editing;
I.B. Grunin, S.V. Goncharov, T.V. Krashikhina: obtaining data for analysis;
N.V. Melnikova, E.A. Kudinova: writing individual chapters of the manuscript;
O.P. Bliznyukov: obtaining data for analysis; scientific editing;
V.K. Bozhenko: scientific editing, developing the research design.

ORCID авторов / ORCID of authors

T.M. Кулинич / T.M. Kulinich: <https://orcid.org/0000-0003-2331-5753>
M.B. Захаренко / M.V. Zakharenko: <https://orcid.org/0000-0003-2480-4145>
A.L. Сенчукова / A.L. Senchukova: <https://orcid.org/0000-0001-9268-3221>
У.С. Станоевич / U.S. Stanoevich: <https://orcid.org/0000-0002-9057-6227>
Н.В. Мельникова / N.V. Melnikova: <https://orcid.org/0000-0003-1193-352X>
С.В. Гончаров / S.V. Goncharov: <https://orcid.org/0000-0001-7914-1882>
Т.В. Крашихина / T.V. Krashikhina: <https://orcid.org/0000-0001-7567-8308>
Е.А. Кудинова / E.A. Kudinova: <https://orcid.org/0000-0002-5530-0591>
О.П. Близнюков / O.P. Bliznyukov: <https://orcid.org/0000-0003-2401-5007>
В.К. Боженко / V.K. Bozhenko: <https://orcid.org/0000-0001-8351-8152>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.
Financing. The study was performed without external funding.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Протокол исследования № 4 от 26.04.2019 одобрен комитетом по биомедицинской ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Минздрава России. Председатель этического комитета Центра к.м.н. А.А. Моргунов.
Все участники исследования подписали информированное согласие на участие в исследовании.
Compliance with patient rights and principles of bioethics
The study protocol No 4 dated 26.04.2019 was approved by the biomedical ethics committee Russian Scientific Center of Roentgenoradiology, Ministry of Health of Russia. Chairman of the ethics committee of the Center, Ph.D. A.A. Morgunov.
All study participants gave written informed consent to participate in the study.