

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАКА ТОЛСТОЙ КИШКИ У БОЛЬНЫХ МОЛОДОГО ВОЗРАСТА

Семьянихина А.В.¹, Поспехова Н.И.¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, e-mail: alexandra_silina@mail.ru

В последние годы отмечается неуклонный рост заболеваемости злокачественными новообразованиями среди пациентов молодого возраста. Снижение возраста постановки диагноза наблюдается и в группе больных раком толстой кишки, занимающим одно из лидирующих мест в структуре онкологической заболеваемости и смертности как в мире, так и в России. Наряду с наследственными факторами, обуславливающими высокий риск опухолей толстой кишки у пациентов – носителей герминальных мутаций в генах, ответственных за развитие синдромальной патологии (такой как синдром Линча, семейный аденоматозный полипоз, синдром Пейтца–Йегерса и др.), молекулярно-генетические изменения в клетках толстокишечного эпителия определяют отличительные клинико-морфологические черты, прогноз и ответ на специфическое лечение у больных колоректальным раком в молодом возрасте. На сегодняшний день выделены основные патогенетические пути, задействованные в реализации онкологического процесса в толстой кишке: хромосомная нестабильность, микросателлитная нестабильность, эпигенетические нарушения, заключающиеся в гипер- или гипометилировании опухолевого генома. Несмотря на хорошо изученный молекулярный канцерогенез колоректального рака, остается много «пробелов» в понимании природы злокачественной патологии у пациентов с диагностированием заболевания в раннем возрасте. В настоящей статье представлено современное состояние изучения данной проблемы.

Ключевые слова: рак толстой кишки, пациенты молодого возраста, хромосомная нестабильность, микросателлитная нестабильность, аномальное метилирование, мутации

MOLECULAR AND GENETIC FEATURES OF EARLY ONSET COLORECTAL CANCER

Semyanikhina A.V.¹, Pospekhova N.I.¹

¹FSBI «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, e-mail: alexandra_silina@mail.ru

There has been a steady increase in the incidence of malignant neoplasms among young patients in recent years. The rejuvenation of the age of diagnosis is also observed among patients with colon cancer that holds one of the leading positions in cancer incidence and mortality both in the world and in Russia. Along with hereditary factors responsible for high risk of colon tumours in patients carrying a germinal mutation in the genes responsible for the development of inherited pathology (i.e. Lynch syndrome, familial adenomatous polyposis, Peutz-Jagers syndrome, etc.), molecular and genetic changes in cells of the colonic epithelium determine distinct clinical and morphological features, prognosis and response to specific treatment in patients with colorectal cancer at a young age. To date, the main pathogenetic pathways involved in the initiation of an oncological process in the colon are thoroughly studied and include: chromosomal instability, microsatellite instability, epigenetic abnormalities including hyper- or hypomethylation of tumour genome. Despite the well-studied molecular carcinogenesis of colorectal cancer there are many “gaps” in understanding the nature of malignant disease in early onset cancer patients. This article presents the current state of studying this problem.

Keywords: colon cancer, young patients, chromosomal instability, microsatellite instability, abnormal methylation, mutations

Рак толстой кишки (РТК) остается одним из самых частых злокачественных новообразований в структуре как мужской, так и женской онкологической заболеваемости. Снижения абсолютного числа вновь выявленных случаев РТК, отмеченного за последние годы, удалось достичь благодаря скрининговым программам, позволяющим своевременно диагностировать и успешно излечивать предопухолевую патологию толстой кишки,

особенно в группе больных старше 50 лет [1, 2]. Отрицательная динамика заболеваемости РТК регистрируется среди пациентов средней возрастной группы, для которой нет регламентированных скрининговых программ [1]. По данным американского статистического центра эпидемиологии у 15% больных РТК заболевание диагностируется в возрасте до 50 лет со средним значением манифестации заболевания 45,2 года [1]. По предварительным расчетам, учитывая существующие тенденции, показатель заболеваемости раком ободочной и прямой кишки к 2030 году вырастет на 90% и 124,2% соответственно для возрастной группы 20–34 года и на 46% – для лиц 35–49 лет [1, 3].

РТК с ранним возрастом манифестации заболевания (здесь и далее – молодой РТК, МРТК, *early onset colorectal cancer, EOCRC*) представляет собой гетерогенную группу злокачественных опухолей толстой кишки у пациентов с манифестацией заболевания в возрасте до 50 лет [1, 2]. На сегодняшний день нет единого консенсусного мнения относительно точной возрастной отметки, позволяющей разделить больных РТК на «молодых» и пациентов старшей возрастной группы [3]. Большинство авторов считают пограничным значением 50-летие больных, что обусловлено общепопуляционными скрининговыми наблюдениями, однако данная цифра продолжает варьировать в различных исследованиях [3].

Лишь незначительная часть МРТК обусловлена наследственной синдромальной патологией и/или может быть отнесена к так называемой семейной форме РТК, подавляющее же большинство случаев МРТК характеризуются отличительной молекулярной природой и остаются на сегодня предметом возрастающего числа научно-клинических исследований.

Цель исследования: представить современное состояние проблемы изучения молекулярно-генетических особенностей колоректального рака у больных молодого возраста.

Факторы риска развития МРТК. Канцерогенез РТК является многофакторным и многоступенчатым процессом, на каждом этапе которого возможна реализация как экзо-, так и эндогенных рисков, ассоциированных с РТК, однако ни один из таких факторов не является избирательно специфичным только для МРТК [4]. Табакокурение и употребление алкоголя, питание с высоким содержанием красного мяса и полуфабрикатов, малоактивный образ жизни являются универсальными признанными факторами риска развития РТК. Сахарный диабет повышает вероятность опухолей ободочной кишки на 38%, при этом каждое 5-е значение увеличения индекса массы тела ассоциировано с 13–18%-ным повышением риска развития РТК [4]. Хроническое воспаление наряду с гастроинтестинальным дисбиозом также являются триггерами онкогенеза в толстокишечном

эпителии.

Отягощенный семейный анамнез остается одной из строгих детерминант, определяющих риск развития РТК. Так, наличие родственника первой степени родства (ПСР) с РТК повышает риск развития злокачественных новообразований (ЗНО) толстой кишки в 2–3 раза, двух пораженных родственников второй степени родства (ВСР) или одного родственника ПСР с РТК в возрасте до 50 лет ассоциировано с трехкратным и более увеличением риска РТК [5]. Наличие родственников с аденоматозными полипами также повышает эмпирический риск РТК. Возраст манифестации ЗНО в семье является другим прогностическим показателем. Так, постановка диагноза на девятом десятилетии жизни определяет 1,5-кратное повышение риска РТК для родственника ПСР, на пятом – 4-кратное и более повышение вероятности ЗНО толстой кишки [5].

Большинство больных МРТК, однако, характеризуются отсутствием семейного накопления ЗНО как в первом, так и во втором поколениях [4], что в целом является отличительной чертой МРТК. При исключении наследственной принадлежности и отягощенного анамнеза по хроническим воспалительным заболеваниям толстой кишки подавляющее число пациентов с МРТК могли бы быть отнесены в когорту больных с общепопуляционным риском ЗНО толстой кишки [4].

Негативный семейный анамнез в свою очередь не исключает наличия синдромальной патологии у пациентов с МРТК [4]. Так, только менее половины больных синдромом Линча удовлетворяют критериям «Амстердам», патологический *MSH6*- и *PMS2*-генотип характеризуется неполной пенетрантностью, а синдром семейного аденоматозного полипоза (реже – синдром Линча) ассоциирован с носительством значимых патогенных герминальных мутаций *de-novo* примерно в 15% случаев. По данным секвенирования герминального генома с применением таргетных панелей частота патогенных мутаций среди больных МРТК составляет 15–20%. По данным Chang et al., около 22% случаев РТК, диагностированного у больных моложе 40 лет, может быть обусловлено наследственной онкологической патологией [6]. В проспективном исследовании Pearlman et al. 16% больных МРТК (72/450) явились носителями патогенных мутаций, при этом в 10% случаев герминальные мутации выявлены в генах с высокой пенетрантностью (генах системы репарации неспаренных оснований, *APC*, *MUTYH*, *BRCA1/2*, *CDKN2A* и др.) и у 6% пациентов – в генах с промежуточным риском развития заболевания (*ATM*, *PALB*, *CHEK2* и др.) [7]. При этом значительная часть пациентов в таких исследованиях не соответствовали как клинически, так и анамнестически диагностированному синдрому.

Несмотря на успехи современной молекулярной диагностики, ДНК-тестирование остается неинформативным у большинства пациентов с РТК в молодом возрасте.

Расширение диагностической панели, особенно за счет генов-кандидатов со средней пенетрантностью, вероятно, позволит расширить наше представление о молекулярной природе МРТК.

Молекулярный патогенез МРТК. В канцерогенезе РТК задействованы три ведущих генетических механизма: хромосомная нестабильность (chromosomal instability (CIN)), микросателлитная нестабильность (microsatellite instability (MSI)) и CIMP-фенотип (CpG-island methylator phenotype) [8]. Патогенез МРТК в составе синдромальной патологии (синдрома Линча, САП и др.) является хорошо изученной парадигмой, в то время как определение драйверных этапов спорадического МРТК остается предметом научного поиска. В целом для «молодого» ненаследственного РТК характерны стабильный MSI-фенотип (80%) [4], низкий уровень метилирования и/или отсутствие CIMP, а также эуплоидия опухолевых клеток.

MSI-High-МРТК. Высокий показатель микросателлитной нестабильности диагностируется в 21% случаев МРТК, при этом практически у всех больных в дальнейшем подтверждается синдром Линча. Метилирование промотерной области гена *MLH1* с наличием или отсутствием *BRAF*-мутаций у молодых пациентов с MSI-High является крайне редким событием ($p=0,006$ [4]). В двух крупных исследованиях данное сочетание было выявлено лишь однажды, при этом в одной работе возраст пациента составил 49 лет [9, 10]. Примерно в 50% случаев MSI-High-ассоциированного МРТК выявляется та или иная степень хромосомной нестабильности, что демонстрирует молекулярную гетерогенность MSI-High-РТК [9].

Микросателлитно-стабильный (MSS)-РТК и хромосомно-нестабильный пути канцерогенеза. CIN является ведущим патогенетическим путем в канцерогенезе МРТК и выявляется в 50–80% случаев [11]. Данные опухоли характеризуются стабильной системой репарации неспаренных нуклеотидов, хромосомными мутациями, приводящими к изменению их числа, а также хромосомными реаранжировками, амплификацией или потерей экспрессии онкогенов / генов – супрессоров опухолевого роста. Чаще всего в патологический процесс вовлекаются *WNT*- и *MAPK*-сигнальные пути, гены *TP53*, *DCC*, *SMAD2/4* и др. [12].

Хромосомный дисбаланс в опухолях РТК с поздним возрастом начала болезни чаще всего ассоциирован с потерями хромосомных локусов, включающих гены *SMAD4*, *DCC* и *APC* [Bardhan]. МРТК в свою очередь отличается амплификацией участков, содержащих гены *BMPRIA* и *AMP*, а также утратой локусов с генами *TJP2* и кодирующими *FOX*-транскрипционные факторы [13].

Активирующие мутации в гене *KRAS* определяются в 35–40% случаев РТК и являются предикторами резистентности к анти-*EGFR*-таргетной терапии. Частота *KRAS*-

патологического генотипа в группах «молодого» РТК и РТК, диагностированного после 50 лет, варьирует в различных исследованиях и зависит от выборки больных, локализации опухоли, стадии процесса [14, 15].

Соматическая мутация V600E в гене *BRAF* встречается в 4 раза чаще у больных с MSS-МРТК по сравнению с «поздним» MSS-РТК (12% vs 3%, $p < 0,01$) [16].

Полноэкзомный сиквенс образцов опухолей МРТК (до 45 лет) и РТК у больных в возрасте старше 65 лет не показал достоверных различий в спектре генов с высокой частотой мутаций. Для обеих когорт частота соматических мутаций в генах *APC* достигла значения 81,8%, *TP53* – 74,6%, *KRAS* – 46,4%, *ARID1A* – 19,4%, *PIK3CA* – 13,4%, *FBXW7* – 11,2%, *SMAD4* – 10,1%, *ATM* – 6,3%, *NRAS* – 4,9%, *BRAF* – 4,6% [3], в то время как соматический статус генов, ответственных за наследственный канцерогенез РТК, отличался и характеризовался преобладанием мутаций у пациентов с МРТК – в генах *MSH6* (4,8% vs 1,2%, $p = 0,005$), *MSH2* (2,7% vs 0,0%, $p = 0,004$), *POLE* (1,6% vs 0,0%, $p = 0,008$), *NF1* (5,9% vs 0,5%, $p < 0,001$), *SMAD4* (14,3% vs 8,3%, $p = 0,024$), *PTEN* (4,3% vs 1,4%, $p = 0,03$), *TSC1* (1,1% vs 0,0%, $p = 0,031$), *TSC2* (1,6% vs 0,2%, $p = 0,048$) [3]. В данном исследовании также была оценена мутационная нагрузка в образцах опухолевой ткани. Высокий уровень мутаций (TMB-High ≥ 17 мутаций/Mb) наблюдался чаще у пациентов с МРТК (9,7% vs 2,8%, $p < 0,001$) [3].

Экспрессионный паттерн генов в опухолевых образцах РТК также изменяется в зависимости от возраста манифестации заболевания: EGF, VEGF и классический WNT-пути гиперэкспрессированы среди молодых больных в отличие от поздних форм РТК, что определяет потенциальную эффективность применения анти-EGFR- и анти-VEGF-моноклональных антител у пациентов с МРТК [17].

Микросателлитно- и хромосомно-стабильный МРТК. До 63% случаев MSS-МРТК характеризуются отсутствием хромосомной нестабильности [10]. CIN и MSI-негативные опухоли (CMN-РТК) представляют собой самостоятельный кластер опухолей толстой кишки с молекулярно-генетическими изменениями, определяющими биологическое поведение и фенотипические характеристики опухоли, в большинстве случаев они локализируются в прямой кишке, встречаются у больных с отягощенным семейным анамнезом и диагностируются на поздней стадии процесса. CMN-РТК достоверно чаще определяется среди больных молодого возраста (63,6% vs 12,5%, $p = 0,005$) и ответственен за примерно 50% случаев рака прямой кишки в возрасте до 50 лет [18, 19].

Несмотря на наличие диплоидного кариотипа, признаки хромосомной нестабильности удается выявлять в ряде опухолей CMN-РТК. Однако в данном случае CIN является либо крайне редким, либо крайне поздним патогенетическим событием. Одним из отличительных

признаков CMN-РТК от CIN-ассоциированного РТК является подавление апоптотической активности в CMN-опухолях за счет теломераз-независимого удлинения теломер, в то время как в опухолях с хромосомной нестабильностью образование более коротких теломер происходит с помощью реактивации теломеразы ($p=0,0066$) [19].

Гипометилирование в опухолях МРТК. Гипометилирование является частым и ранним эпигенетическим событием в колоректальном канцерогенезе, затрагивает повторяющиеся геномные фрагменты в опухоли и может быть диагностировано с помощью оценки статуса метилирования LINE1 (Long Interspered Nuclear Element-1) [20, 21]. На экспериментальных моделях показано, что подавление экспрессии DNMT1 индуцирует глобальное ДНК-гипометилирование, потерю гетерозиготности в APC-содержащем локусе и приводит к инициации роста аденом в эпителии [21].

Высокий уровень гипометилирования является одной из характерных черт МРТК ($<0,0001$) и встречается гораздо чаще у молодых больных опухолями толстой кишки [9]. Независимо от возраста пациенты с гипометилированными опухолями могут отмечатьотягощенный семейный анамнез, характеризуются поражением дистальных отделов толстой кишки ($p=0,03$) и превалированием стабильного показателя MSI ($p=0,004$) [22, 23]. Более высокий показатель гипометилирования диагностируется в опухолях с отсутствием хромосомной и микросателлитной нестабильности по сравнению с CIN-РТК ($p=0,004$) [22]. Являясь альтернативным патогенетическим путем, гипометилирование эволюционирует в CIN на поздних этапах канцерогенеза. В MSI-High-опухолях с диплоидным кариотипом также описаны случаи гипометилирования, что, однако, встречается достаточно редко.

Клиническое течение и прогноз МРТК. Если ранее полагалось, что МРТК характеризуется негативным прогнозом, то исследования последних лет показывают вариабельность клинических исходов у пациентов с РТК в молодом возрасте. Так, в работе Watson et al. показатель общей выживаемости (ОВ) у больных МРТК с III и IV стадиями заболевания был достоверно лучше по сравнению с РТК у больных с манифестацией заболевания после 50 лет (34 vs 28 месяцев, $p=0,0145$, и 30 vs 11 месяцев, $p<0,0001$ соответственно) [14]. По данным другого исследования, представившего данные 5-летней ОВ для больных со II и IV стадиями, пациенты с МРТК также характеризовались лучшими отдаленными результатами лечения [24]. Представленная прогностическая значимость возраста манифестации РТК может быть обусловлена коморбидным фоном у больных старшей возрастной группы, ограничивающим лечебные подходы, в том числе хирургическое пособие, применение различных химиотерапевтических режимов и т.д. Пациенты с МРТК, перенесшие только оперативное лечение, демонстрируют лучший показатель 5-летней РТК-ассоциированной выживаемости независимо от стадии

заболевания, а также более низкие значения хирургической смертности (0,7 vs 5,0%, $p=0,026$) [25]. «Молодые» больные обладают большими ресурсами для переносимости агрессивных химиотерапевтических режимов, а по данным ряда исследований характеризуются повышенной терапевтической чувствительностью, что является другим возможным объяснением лучшей ОВ больных IV стадией МРТК [25]. Высокая частота синдрома Линча среди пациентов молодого возраста (15–20%) также значительно улучшает статистические показатели в данной группе больных.

MSI-High-MPTK. Немеастический MSI-High-РТК относится к группе благоприятного клинического прогноза, при этом, чем позже диагностировано заболевание, тем менее выражен данный положительный эффект. Внутри МРТК-группы пациенты с опухолями с высоким значением микросателлитной нестабильности характеризуются лучшей ОВ ($p=0,045$) и более частым диагностированием заболевания на ранних стадиях, нежели больные с MSS (51,9 vs 29,7%, $p=0,03$) [16].

CIN-MPTK. Патологический *KRAS*-генотип опухоли у пациентов с CIN-ассоциированным МРТК обуславливает худший прогноз по сравнению с носителями «дикого типа» данного гена. Большинство *KRAS*-позитивных опухолей у больных молодого возраста встречаются в дистальных отделах толстой кишки (62%) и диагностируются на III и IV стадиях (26% и 63% соответственно).

Другим негативным прогностическим маркером для MSS-MPTK являются соматические активирующие мутации в гене *BRAF*, приводящие к конституциональной активации *RAF*-киназы и агрессивному клиническому течению [16]. До 100% случаев РТК с *BRAF*-мутациями определяются на III и IV стадиях заболевания, что обуславливает худшие показатели выживаемости [16]. Так, 5-летняя РТК-специфичная выживаемость (disease-specific survival, DSS) для пациентов с *mutBRAF*-МРТК составляет только 16% [16].

CIN-, MSI-негативный МРТК. Независимо от возраста манифестации заболевания высокий метастатический потенциал опухолей данной группы определяет раннее распространение процесса за пределы толстой кишки и неблагоприятный клинический прогноз (HR=2,44, $p=0,0004$) [26]. Показатели выживаемости уступают таковым в группах больных и с наличием хромосомной и микросателлитной нестабильности ($p=0,0013$), что особенно прослеживается у пациентов с МРТК [26].

CMN-РТК является менее иммуногенным по сравнению с CIN- и/или MSI-ассоциированными опухолями ($p<0,0001$) [26]. Стабильный геном CMN-РТК приводит к сниженной лимфоцитарной инфильтрации как самой опухоли, так и ее микроокружения с подавлением экспрессии INF γ и IL18. Отсутствие или сниженная продукция поверхностных антигенов позволяют CMN-РТК избегать иммунного ответа.

МРТК с гипометилированием. Гипометилирование при РТК является облигатным негативным прогностическим маркером для опухолей проксимальной локализации. Низкий показатель метилирования коррелирует с поздней стадией на момент постановки диагноза ($p=0,0001$) и 5-летней общей выживаемостью 48% ($p=0,02$) [23]. Механизм, лежащий в основе данного негативного влияния, до конца остается неясным. Гипометилирование генома приводит к повышению экспрессии транскрипционных протоонкогенов (*MET* и др.), хромосомной нестабильности, активации транспозонов, индукции оксидативного стресса, что по отдельности и в совокупности определяет агрессивное поведение опухоли и негативный прогноз [27]. Кроме того, опухоли с низким уровнем метилирования, так же как и CMN-РТК, обладают сниженной иммуногенностью и характеризуются низким числом опухоль-инфильтрирующих Т-лимфоцитов [28].

Выводы

Отмечается стабильное увеличение заболеваемости РТК в молодом возрасте с прогнозом возрастания данного показателя до 142% к 2030 г.

На сегодняшний день не выделено единого фактора риска, обуславливающего данную динамику заболеваемости среди лиц молодого возраста.

Несмотря на позднюю стадию заболевания на момент постановки диагноза и агрессивное клиническое течение, пациентов с МРТК отличают лучшие показатели отдаленных результатов лечения в сравнении с больными РТК старшей возрастной группы.

При подозрении на синдром Линча обязательным диагностическим исследованием является оценка статуса микросателлитной нестабильности с последующим исследованием генов системы MMR. В случае клинического и анамнестического указания на другую наследственную патологию ДНК-генотипирование следует выполнять на первом диагностическом этапе.

В 15–20% случаев природа МРТК обусловлена микросателлитной нестабильностью, в подавляющем большинстве случаев – хромосомной нестабильностью.

Гипометилирование является важным независимым фактором негативного прогноза в группе пациентов с МРТК и представляет собой новый возможный механизм канцерогенеза злокачественных новообразований у больных молодого возраста.

Список литературы

1. Chen F.W., Sundaram V., Chew T.A., Ladabaum U. Advanced-stage colorectal cancer in persons younger than 50 years not associated with longer duration of symptoms or time to diagnosis. Clin. Gastroenterol. Hepatol. 2017. vol. 15. P. 728–737.

2. Patel S.G., Ahnen D.J. Colorectal Cancer in the Young. *Curr. Gastroenterol. Rep.* 2018. vol. 20. no. 15. P. 2-11.
3. Puccini A., Lenz H.J., Marshall J.L., Arguello D., Raghavan D., Korn W.M., Weinberg B.A., Poorman K., Heeke A.L., Philip P.A., Shields A.F., Goldberg R.M., Salem M.E. Impact of Patient Age on Molecular Alterations of Left-Sided Colorectal Tumors. *Oncologist.* 2018. Published Ahead on Print.
4. Cavestro G.M., Mannucci A., Zuppardo R.A., Di Leo M., Stoffel E., Tonon G. Early onset sporadic colorectal cancer: Worrisome trends and oncogenic features. *Dig. Liver. Dis.* 2018. vol. 50. no. 6. P. 521-532.
5. Jasperson K.W., Tuohy T.M., Neklason D.W., Burt R.W. Inheritance of Colorectal Cancer. 2007. vol. 4. no. 4. P. 293-300.
6. Chang D.T., Pai R.K., Rybicki L.A., Dimaio M.A., Limaye M., Jayachandran P., Koong A.C., Kunz P.A., Fisher G.A., Ford J.M., Welton M., Shelton A., Ma L., Arber D.A., Pai R.K. Clinicopathologic and molecular features of sporadic early-onset colorectal adenocarcinoma: an adenocarcinoma with frequent signet ring cell differentiation, rectal and sigmoid involvement, and adverse morphologic features. *Mod Pathol.* 2012. vol. 25. P. 1128-1139.
7. Pearlman R., Frankel W.L., Swanson B., Zhao W., Yilmaz A., Miller K., Bacher J., Bigley C., Nelsen L., Goodfellow P.J., Goldberg R.M., Paskett E., Shields P.G., Freudenheim J.L., Stanich P.P., Lattimer I., Arnold M., Liyanarachchi S., Kalady M., Heald B., Greenwood C., Paquette I., Prues M., Draper D.J., Lindeman C., Kuebler J.P., Reynolds K., Brell J.M., Shaper A.A., Mahesh S., Buie N., Weeman K., Shine K., Haut M., Edwards J., Bastola S., Wickham K., Khanduja K.S., Zacks R., Pritchard C.C., Shirts B.H., Jacobson A., Allen B., de la Chapelle A., Hampel H.; Ohio Colorectal Cancer Prevention Initiative Study Group. Prevalence and spectrum of germline cancer susceptibility gene mutations among patients with early-onset colorectal cancer. *JAMA Oncol.* 2017. vol. 3. P. 464-471.
8. Grady W.M., Markowitz S.D. The molecular pathogenesis of colorectal cancer and its potential application to colorectal cancer screening. *Dig. Dis. Sci.* 2015. vol. 60. P. 762-772.
9. Antelo M., Balaguer F., Shia J., Shen Y., Hur K., Moreira L., Cuatrecasas M., Bujanda L., Giraldez M.D., Takahashi M., Cabanne A., Barugel M.E., Arnold M., Roca E.L., Andreu M., Castellvi-Bel S., Llor X., Jover R., Castells A., Boland C.R., Goel A. A high degree of LINE-1 hypomethylation is a unique feature of early-onset colorectal cancer. *PLoS One.* 2012. vol. 7. e45357.
10. Losi L., Gregorio C. Di, Pedroni M., Ponti G., Roncucci L., Scarselli A., Genuardi M., Baglioni S., Marino M., Rossi G., Benatti P., Maffei S., Menigatti M., Roncari B., Ponz de Leon M. Molecular genetic alterations and clinical features in early-onset colorectal carcinomas and their

role for the recognition of hereditary cancer syndromes. *Am. J. Gastroenterol.* 2005. vol. 100. P. 2280-2287.

11. Bardhan K., Liu K. Epigenetics and colorectal cancer pathogenesis. *Cancers.* 2013. vol. 5. P. 676-713.

12. Arriba M., García J.L., Inglada-Pérez L., Rueda D., Osorio I., Rodríguez Y., Álvaro E., Sánchez R., Fernández T., Pérez J., Hernández J.M., Benítez J., González-Sarmiento R., Urioste M., Perea J. DNA copy number profiling reveals different patterns of chromosomal instability within colorectal cancer according to the age of onset. *Mol. Carcinog.* 2015. vol. 55. P. 705-716.

13. Berg M., Agesen T.H., Thiis-Evensen E., INFAC-study group, Merok M.A., Teixeira M.R., Vatn M.H., Nesbakken A., Skotheim R.I., Lothe R.A. Distinct high resolution genome profiles of early onset and late onset colorectal cancer integrated with gene expression data identify candidate susceptibility loci. *Mol. Cancer.* 2010. vol. 9. P. 100.

14. Watson R., Liu T.-C., Ruzinova M.B. High frequency of KRAS mutation in early onset colorectal adenocarcinoma: implications for pathogenesis. *Hum. Pathol.* 2016. vol. 56. P.163-170.

15. Yantiss R.K., Goodarzi M., Zhou X.K., Rennert H., Pirog E.C., Banner B.F., Chen Y.T. Clinical, pathologic, and molecular features of early-onset colorectal carcinoma. *Am. J. Surg. Pathol.* 2009. vol. 33. P. 572-582.

16. Khan S.A., Morris M., Idrees K., Gimbel M.I., Rosenberg S., Zeng Z., Li F., Gan G., Shia J., LaQuaglia M.P., Paty P.B. Colorectal cancer in the very young: a comparative study of tumor markers, pathology and survival in early onset and adult onset patients. *J. Pediatr. Surg.* 2016. vol. 51. P.1812-1817.

17. Laurent-Puig P., Manceau G., Zucman- Rossi J., Blons H. Dual blockade of epidermal growth factor receptor-induced pathways: a new avenue to treat metastatic colorectal cancer. *J. Clin. Oncol.* 2012. vol. 30. P. 1550-1552.

18. Chan L., Curtis L.C., Leung S.Y., Farrington S.M., Ho J.W., Chan A.S., Lam P.W., Tse C.W., Dunlop M.G., Wyllie A.H., Yuen S.T. Early-onset colorectal cancer with stable microsatellite DNA and near-diploid chromosomes. *Oncogene.* 2001. vol. 20. P. 4871-4876.

19. Boardman L.A., Johnson R.A., Petersen G.M., Oberg A.L., Kabat B.F., Slusser J.P., Wang L., Morlan B.W., French A.J., Smyrk T.C., Lindor N.M., Thibodeau S.N. Higher frequency of diploidy in young-onset microsatellite-stable colorectal cancer. *Clin. Cancer Res.* 2007. vol. 13. P. 2323-2328.

20. Suzuki K., Suzuki I., Leodolter A., Alonso S., Horiuchi S., Yamashita K., Perucho M. Global DNA demethylation in gastrointestinal cancer is age dependent and precedes genomic damage. *Cancer Cell.* 2006. vol. 9. P. 199-207.

21. Sheaffer K.L., Elliott E.N., Kaestner K.H. DNA hypomethylation contributes to genomic instability and intestinal cancer initiation. *Cancer Prev. Res.* 2016. vol. 9. P. 534-546.
22. Ogino S., Nishihara R., Lochhead P., Imamura Y., Kuchiba A., Morikawa T., Yamauchi M., Liao X., Qian Z.R., Sun R., Sato K., Kirkner G.J., Wang M., Spiegelman D., Meyerhardt J.A., Schernhammer E.S., Chan A.T., Giovannucci E., Fuchs C.S. Prospective study of family history and colorectal cancer risk by tumor LINE-1 methylation level. *J. Natl. Cancer Inst.* 2013. vol. 105. P. 130-140.
23. Mima K., Nowak J.A., Qian Z.R., Cao Y., Song M., Masugi Y., Shi Y., da Silva A., Gu M., Li W., Hamada T., Zhang X., Wu K., Meyerhardt J.A., Baba H., Giovannucci E.L., Chan A.T., Fuchs C.S., Ogino S., Nishihara R. Tumor LINE-1 methylation level and colorectal cancer location in relation to patient survival. *Oncotarget.* 2016. vol. 7. P. 55098-55109.
24. O'Connell J.B., Maggard M.A., Liu J.H., Etzioni D.A., Livingston E.H., Ko C.Y. Do young colon cancer patients have worse outcomes? *World J. Surg.* 2004. vol. 28. P. 558-562.
25. Liang J.-T., Huang K.-C., Cheng Y.-M., Hsu H.-C., Cheng A.-L., Hsu C.-H., Yeh K.H., Wang S.M., Chang K.J. P53 overexpression predicts poor chemosensitivity to high-dose 5-fluorouracil plus leucovorin chemotherapy for stage IV colorectal cancers after palliative bowel resection. *Int. J. Cancer.* 2002. vol. 97. P. 451-457.
26. Banerjea A., Hands R.E., Powar M.P., Bustin S.A., Dorudi S. Microsatellite and chromosomal stable colorectal cancers demonstrate poor immunogenicity and early disease recurrence. *Colorectal Dis.* 2009. vol. 11. P. 601-608.
27. Jones P.A., Baylin S.B. The epigenomics of cancer. *Cell.* 2007. vol. 128. P. 683-692.
28. Nosho K., Baba Y., Tanaka N., Shima K., Hayashi M., Meyerhardt J.A., Giovannucci E., Dranoff G., Fuchs C.S., Ogino S. Tumour-infiltrating T-cell subsets, molecular changes in colorectal cancer, and prognosis: cohort study and literature review. *J. Pathol.* 2010. vol. 222. P. 350-366.