

**МОЛЕКУЛЯРНО—БИОЛОГИЧЕСКИЙ МАРКЕР CDKN-2A
В РАННЕЙ ДИАГНОСТИКЕ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА****Х. Д. Исламов, С. Б. Абдужаппаров, Я. В. Тен, Я. Ф. Зияев, И. Ф. Зияев,
К. Ш. Израильбекова, М. Ж. Убайдуллаева****Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр
онкологии и радиологии, Ташкент, Узбекистан****Ключевые слова:** злокачественные новообразования, колоректальный рак, гиперметилирование, молекулярный тест.**Таянч сўзлар:** Хавфли ўсмалар, колоректал саратони, гиперметилация, молекуляр тест.**Key words:** Malignant neoplasms, colorectal cancer, hypermethylation, molecular testing.

Актуальность: По данным Globocan 2022 колоректальный рак (КРР) занимает третье место по заболеваемости и второе — по смертности среди всех злокачественных новообразований в мире. КРР продолжает развиваться незаметно в течение длительного времени, часто начинаясь с малозаметных предопухолевых изменений, таких как полипы/полипоз. Тем самым, в последние годы возрастает внимание к включению молекулярных методов диагностики, в том числе оценки метилирования CDKN2A, в стандартные протоколы раннего выявления КРР. Цель исследования: изучить частоту и характеристику гиперметилирования гена CDKN2A у пациентов с полипами и полипозом толстой и прямой кишки. Результаты: настоящее исследование продемонстрировало высокую частоту гиперметилирования гена CDKN2A в группе пациентов с полипами и полипозом кишечника, причём наиболее выраженные эпигенетические изменения выявлены при полипах, сопровождающихся умеренной дисплазией. Эти данные подтверждают потенциал использования CDKN2A как раннего молекулярного биомаркера малигнизации, особенно в популяциях высокого риска. Наличие достоверной связи между метилированием и морфологическими признаками пролиферативной активности позволяет рассматривать CDKN2A как критерий стратификации риска и основание для усиленного клинического наблюдения. Выводы: Гиперметилирование гена CDKN2A является чаще встречается у пациентов с предопухолевыми образованиями толстой и прямой кишки. Частота метилирования существенно выше у пациентов с полипами (65%), чем при полипозе (36,4%), $p < 0,05$. Среди пациентов с гиперметилированием в 70,6% случаев выявлена умеренная дисплазия, что значительно выше, чем в группе без метилирования.

**КОЛОРЕКТАЛ САРАТОННИНГ ЭРТА АНИҚЛАШ CDKN2A
МОЛЕКУЛЯР БИОЛОГИК МАРКЕРНИ ЎРГАНИШ****Х. Д. Исламов, С. Б. Абдужаппаров, Я. В. Тен, Я. Ф. Зияев, И. Ф. Зияев,
К. Ш. Израильбекова, М. Ж. Убайдуллаева****Республика ихтисослаштирилган онкология ва радиология илмий амалий тиббиёт маркази,
Тошкент, Ўзбекистон**

Долзарблиги: Globocan 2022 маълумотларига асосдан, йўғон ичак саратони (ЙИС) дунё бўйлаб барча хавфли ўсмалар орасида касалланиш даражаси бўйича учинчи ва ўлим даражаси бўйича иккинчи ўринда туради. ЙИС узок вақт давомида аниқланмасдан ривожланишда давом этади, кўпинча полиплар каби нозик пре-кансероз лезёнлар билан бошланади. Шу сабабли, сўнгги йилларда стандарт ЙИС эрта аниқлаш протоколларига молекуляр диагностика усуллари, шу жумладан CDKN2A метилациясини баҳолашни киритишга эътибор кучаймоқда. Тадқиқотнинг мақсади: йўғон ичак ва тўғри ичак полиплари ва полипозли беморларда CDKN2A генининг гиперметилациясининг частотаси ва хусусиятларини ўрганиш. Натижалар: Ушбу тадқиқот ичак полиплари ва полипозли бўлган беморлар гуруҳида CDKN2A генининг гиперметилациясининг юқори частотасини кўрсатди, энг аниқ эпигенетик ўзгаришлар ўртача дисплазия бўлган полипларда аниқланди. Ушбу маълумотлар CDKN2A нинг хавфли ўсмаларнинг эрта молекуляр биомаркер сифатида потенциалини тасдиқлайди, айниқса юқори хавфли популяцияларда. Метилация ва пролифератив фаолликнинг морфологик хусусиятлари ўртасидаги муҳим боғлиқлик CDKN2A ни хавфнинг табақаланиш мезони ва кенгайтирилган клиник кузатув учун асос деб ҳисоблаш имконини беради. Хулосалар: CDKN2A генининг гиперметилацияси йўғон ичак ва тўғри ичакнинг саратондан олдинги лезёнлари бўлган беморларда кўпроқ учрайди. Полипли беморларда (65%) метилация частотаси полипозли беморларга (36,4%) нисбатан сезиларли даражада юқори бўлган, $p < 0,05$. Гиперметилация билан оғриган беморларда 70,6% ҳолларда мўтадил дисплазия аниқланган, бу метилациясиз гуруҳга қараганда сезиларли даражада юқори.

MOLECULAR BIOLOGICAL MARKER CDKN-2A IN EARLY DIAGNOSIS OF COLORECTAL CANCER**H. Dj. Islamov, S. B. Abdujapparov, Y. V. Ten, Y. F. Ziyaev, I. F. Ziyaev, K. Sh. Izrailbekova, M. J. Ubaydullaeva**
Republican specialized scientific and practical medical center of oncology and radiology, Tashkent, Uzbekistan

Abstract: According to the GLOBOCAN 2022 colorectal cancer (CRC) ranks third in incidence and second in mortality among all malignancies worldwide. CRC continues to develop undetected over a long period of time, often beginning with subtle precancerous lesions such as polyps. Therefore, in recent years, there has been increasing attention to the inclusion of molecular diagnostic methods, including CDKN2A methylation assessment, in standard CRC early detection protocols. Objective: To study the frequency and characteristics of CDKN2A gene hypermethylation in patients with colon and rectal polyps and polyposis. Results: This study demonstrated a high frequency of CDKN2A

gene hypermethylation in a group of patients with intestinal polyps and polyposis, with the most pronounced epigenetic changes detected in polyps with moderate dysplasia. These data confirm the potential of CDKN2A as an early molecular biomarker of malignancy, particularly in high-risk populations. The significant association between methylation and morphological features of proliferative activity allows CDKN2A to be considered a risk stratification criterion and a basis for enhanced clinical surveillance. Conclusions: Hypermethylation of the CDKN2A gene is more common in patients with precancerous lesions of the colon and rectum. The methylation frequency was significantly higher in patients with polyps (65%) than in those with polyposis (36.4%), $p < 0.05$. Among patients with hypermethylation, moderate dysplasia was detected in 70.6% of cases, which is significantly higher than in the group without methylation.

Введение. Колоректальный рак (КРР) является одной из наиболее значимых онкологических проблем современности как с клинической, так и с эпидемиологической точки зрения. По данным глобальной статистики GLOBOCAN 2022, КРР занимает третье место по заболеваемости и второе — по смертности среди всех злокачественных новообразований в мире: в 2022 году зарегистрировано 1,93 миллиона новых случаев и 935 тысяч летальных исходов. Несмотря на то, что в странах с высоким уровнем дохода в последние годы наблюдаются тенденции к снижению смертности благодаря скрининговым программам и раннему лечению, в государствах со средним и низким уровнем дохода, включая Узбекистан, показатели остаются тревожными. В частности, в Республике Узбекистан в 2022 году было зарегистрировано 2 125 новых случаев КРР, при этом доля пациентов, впервые выявленных на III–IV стадии, превышает 50% [1, 2, 12].

Основной причиной высокой смертности при КРР является поздняя диагностика, обусловленная отсутствием национальной программы скрининга, недостаточной информированностью населения, ограниченной доступностью колоноскопии, а также недостатками маршрутизации пациентов на первичном звене здравоохранения [2]. Поэтому поиск новых, более чувствительных, доступных и воспроизводимых маркеров ранней диагностики приобретает особую актуальность. Одним из приоритетных направлений в этой области является внедрение молекулярно-генетических и эпигенетических методов, позволяющих выявить опухолевую трансформацию на доклиническом этапе, задолго до появления морфологических изменений [6].

Ген CDKN2A (cyclin-dependent kinase inhibitor 2A), локализованный в области 9p21.3, представляет собой один из наиболее изученных супрессоров опухолей в онкологии. Он кодирует два независимых белка: p16INK4a, ингибирующий CDK4/6 и тем самым контролирующей фазу G1 клеточного цикла, и p14ARF, стабилизирующий p53 за счёт ингибирования MDM2. Нарушение экспрессии этих белков приводит к пролиферации, подавлению апоптоза и активной фазе канцерогенеза. Одним из ключевых механизмов инактивации CDKN2A считается гиперметилирование его промоторной области, что делает этот ген особенно интересным для молекулярной диагностики в онкологии, в том числе при КРР [4, 6, 7].

Одними из первых фундаментальных работ стали исследования Toyota et al. (2000), которые продемонстрировали наличие гиперметилирования CDKN2A в аденоматозных полипах кишечника — задолго до формирования инвазивной карциномы. Это позволило рассматривать метилирование как раннее событие в каскаде аденома-карцинома. Эти выводы были подтверждены в последующих масштабных мета-анализах, включая Esteller et al. (2001), где гиперметилирование p16 было обнаружено у более чем 40% пациентов с ранними стадиями КРР [3, 11].

В рамках проекта The Cancer Genome Atlas (TCGA) установлено, что CDKN2A входит в число наиболее часто эпигенетически инактивируемых генов в опухолях толстой кишки. Это сопровождается нарушением как ретинобластомного, так и p53-зависимого путей, что резко снижает клеточный контроль над делением. Кроме того, в COSMIC (Catalogue of Somatic Mutations in Cancer) и PanCancer Atlas регулярно публикуются данные о частоте мутаций и эпигенетических изменений CDKN2A, показывая его значимость как универсального маркера во многих опухолях, включая колоректальный рак [4, 5, 9].

Методы, применяемые для изучения метилирования CDKN2A, разнообразны. Помимо классической метил-специфической ПЦР (MSP-PCR), широко используются бисульфитное секвенирование (qMSP), а в последние годы — массивы ДНК (Illumina 450K и EPIC), а также метилирование-ориентированное секвенирование (MeDIP-seq). Исследование Nishida et

al. (2020) стало поворотным для клинической практики, показав, что гиперметилирование CDKN2A может быть эффективно определено в циркулирующей свободной ДНК (cfDNA), что позволило создать платформу для жидкостной биопсии — метода, позволяющего мониторировать опухолевую активность без инвазивных вмешательств [8, 9].

Kim et al. (2013) провели иммуногистохимическую корреляцию экспрессии p16 с уровнем метилирования CDKN2A, продемонстрировав, что потеря экспрессии по ИГХ соответствует метилированию промотора в более чем 85% случаев. Это делает p16 удобным маркером для скрининга тканевых образцов [5].

Помимо онкотканей и плазмы, CDKN2A активно исследуется в образцах стула, что особенно актуально для неинвазивного скрининга КРР. Исследования, проведённые в Китае, Южной Корее и Финляндии, показали высокую чувствительность метилирования CDKN2A в каловых ДНК по сравнению с обычными иммунохимическими тестами на скрытую кровь [10, 13].

Интерес представляют и популяционные исследования. В 2019 году в рамках European EPIC study было проанализировано более 1 200 случаев КРР с целью выявления эпигенетических маркеров. CDKN2A вошёл в топ-5 наиболее надёжных прогностических генов, связанных с ранней трансформацией кишечного эпителия. Также, в рамках исследования TCGA-COAD и READ cohorts, было выявлено, что метилирование CDKN2A может наблюдаться и в нормальной слизистой у лиц с повышенным риском, что делает его потенциальным маркером первичной профилактики [4, 7].

Несмотря на очевидные успехи в понимании молекулярных основ карциногенеза, КРР продолжает развиваться незаметно в течение длительного времени, часто начинаясь с малозаметных предопухолевых изменений — таких как одиночные аденоматозные полипы или диффузный полипоз. Эти состояния могут протекать бессимптомно годами, пока не произойдёт накопление ключевых молекулярных нарушений, запускающих инвазию и метастазирование. Современная колоноскопия с гистологической верификацией остаётся золотым стандартом диагностики, однако она имеет ряд ограничений — инвазивность, высокая стоимость, дефицит кадров и оборудования в первичном звене здравоохранения, а также низкий уровень охвата целевых групп населения.

Эти обстоятельства усиливают интерес к поиску альтернативных или вспомогательных методов диагностики, обладающих высокой чувствительностью, специфичностью и возможностью применения в условиях амбулаторной практики. Эпигенетические биомаркеры, такие как метилирование промоторных участков опухолевых супрессоров, обладают всеми этими характеристиками и активно внедряются в клиническую онкологию в ведущих странах мира.

Гиперметилирование CDKN2A представляет собой одно из наиболее изученных и воспроизводимых изменений, вовлечённых в раннюю опухолевую трансформацию. Помимо того, что p16INK4a и p14ARF участвуют в критически важных антипролиферативных механизмах, исследования показали, что метилирование их промоторной области может быть обнаружено задолго до появления клинических и гистологических признаков злокачественного роста. Более того, эти изменения могут быть зафиксированы не только в тканях новообразований, но и в циркулирующей плазменной ДНК, что открывает возможность использования так называемой «жидкостной биопсии» [3, 4].

В связи с этим, в последние годы возрастает внимание к включению молекулярных методов диагностики, в том числе оценки метилирования CDKN2A, в стандартные протоколы раннего выявления КРР. Это особенно актуально для таких стран, как Узбекистан, где скрининг как на уровне популяции, так и в группах высокого риска требует адаптированных, недорогих и легко воспроизводимых решений. Учитывая отсутствие у большинства пациентов выраженных клинических симптомов и низкую доступность инвазивных методов диагностики, молекулярные тесты на основе плазменной ДНК могут стать важным компонентом региональной стратегии борьбы с КРР.

Таким образом, гиперметилирование CDKN2A — это не просто биохимическое явление, а важный компонент молекулярного профиля колоректального рака. Его определение позволяет идентифицировать пациентов в зоне риска, прогнозировать течение болезни, оценивать чувствительность к терапии и, что наиболее важно, — обеспечить раннюю, неинва-

живную диагностику предопухолевых изменений. Учитывая простоту и доступность методологии, а также высокую воспроизводимость, включение анализа метилирования CDKN2A в региональные скрининговые и диагностические стратегии, особенно в условиях ограниченных ресурсов, представляется оправданным и актуальным.

Целью настоящего исследования стало изучение частоты и характеристик гиперметилирования промоторной области гена CDKN2A у пациентов с полипами и полипозом толстой и прямой кишки

Материалы и методы. Исследование было проведено в рамках государственного грантового проекта. Работа выполнялась на базе отделения колопроктологии и лаборатории молекулярной диагностики Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра онкологии и радиологии (РСНПМЦОиР), а также в сотрудничестве с Центром высоких технологий Академии наук Республики Узбекистан. Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом, и все пациенты подписали информированное согласие.

В исследование были включены 31 пациент ($n = 31$) с установленным диагнозом полипов или полипоза толстой и/или прямой кишки, без признаков инвазивного рака на момент включения. Критерии включения в исследование: возраст от 18 до 75 лет, наличие эндоскопически подтверждённых новообразований кишечника (единичные или множественные полипы), отсутствие в анамнезе злокачественных опухолей, письменное согласие на участие. Критерии исключения: воспалительные заболевания кишечника, ранее проведённая лучевая или химиотерапия, сопутствующие тяжёлые соматические заболевания. Средний возраст составил $49,2 \pm 3,3$ года. В выборке было 18 мужчин (58%) и 13 женщин (42%). У 20 пациентов был диагностирован одиночный или множественный полип (64,5%), у 11 — полипоз (35,5%). Всем пациентам была выполнена колоноскопия с биопсией.

Для молекулярного анализа использовались два типа биоматериала: образцы биоптатов слизистой оболочки кишечника (массой не менее 50 мг), полученные эндоскопически, и венозная кровь (5 мл), собранная в пробирки с ЭДТА. Образцы ткани помещались в стерильные пробирки с изотоническим раствором NaCl и транспортировались при температуре $+4^\circ\text{C}$. Кровь центрифугировалась (10 минут), плазма отделялась и повторно центрифугировалась (10 минут) для очистки от клеток.

ДНК из ткани и плазмы крови выделяли с использованием набора QIAamp DNA Mini Kit по стандартному протоколу. Концентрация и чистота ДНК оценивались спектрофотометрически (Thermo Fisher Scientific) при длине волны 260-280 нм.

Выделенная ДНК подвергалась бисульфитной конверсии с помощью набора EpiTest Bisulfite Kit, позволяющего различать метилированные и неметилированные цитозины. Для выявления метилирования промоторной области гена CDKN2A применяли метил-специфическую полимеразную цепную реакцию (MSP-PCR). Использовались две пары праймеров: одна — для амплификации метилированной последовательности, другая — для неметилированной. Условия амплификации: 95°C — 5 мин, далее 40 циклов (95°C — 30 сек, 58°C — 30 сек, 72°C — 30 сек), финальная стадия — 72°C — 7 мин. Ампликоны анализировали электрофорезом в 2% агарозном геле, окрашенном бромидом этидия, с визуализацией при УФ-освещении. Результаты документировались и сохранялись в цифровом виде.

Все образцы биопсий прошли стандартное морфологическое исследование и окраску гематоксилином эозином. Оценка степени дисплазии (отсутствует, лёгкая, умеренная, тяжёлая) проводилась двумя независимыми патоморфологами в соответствии с классификацией ВОЗ.

Категориальные переменные анализировались с использованием критерия χ^2 или точного критерия Фишера. Различия считались статистически значимыми при уровне $p < 0,05$. Корреляционный анализ между наличием метилирования и клиничко-морфологическими характеристиками проводился с применением коэффициента ϕ .

Результаты. В исследование были включены 31 пациент с предопухолевыми изменениями толстой и прямой кишки, у которых в ходе эндоскопического обследования были выявлены полипы ($n = 20$) или полипоз ($n = 11$). Средний возраст обследованных составил $49,2 \pm 3,3$ года, из них 58% были мужчины ($n = 18$), 42% — женщины ($n = 13$). Все пациенты прошли колоноскопию с забором биопсийного материала, который впоследствии использо-

Таблица 1.

Распределение больных по заболеванию и частоте встречаемости мутации гена CDKN2A.

Заболевание	Кол-во пациентов (n)	CDKN2A (+)	Частота (%)	p
Полипы	20	13	65	p < 0,05
Полипоз	11	4	36,4	
Всего	31	17	54,8	

вался для молекулярного анализа гиперметилирования гена CDKN2A методом MSP-ПЦР.

Гиперметилирование промоторной области гена CDKN2A было выявлено у 17 из 31 пациента, что составило 54,8% всей выборки. При стратификации по морфологическому типу поражения выявлены значимые различия в частоте метилирования: у пациентов с полипами метилирование наблюдалось в 13 случаях (65%), тогда как при полипозе — только у 4 пациентов (36,4%), табл.1. Статистический анализ показал достоверность различий между группами ($\chi^2 = 4,09$; $p = 0,043$), что может свидетельствовать о различиях в молекулярной патогенезе ограниченных и диффузных форм предопухолевых процессов кишечника.

Гистологическая оценка степени дисплазии показала, что умеренная дисплазия имела у 13 пациентов (32,3%), лёгкая — у 12 (38,7%), а в 6 случаях (29,0%) дисплазия отсутствовала. При сопоставлении данных метилирования с морфологической картиной установлено, что среди пациентов с положительным статусом по CDKN2A преобладала умеренная дисплазия — 12 из 17 случаев (70,6%), $p < 0,05$ (табл.2). Напротив, у пациентов без признаков метилирования чаще фиксировалась лёгкая дисплазия либо её отсутствие. Таким образом, была выявлена прямая корреляция между уровнем эпигенетических изменений и выраженностью пролиферативных нарушений эпителия, что может свидетельствовать о прогрессии на молекулярном уровне до морфологически выраженного рака.

Таблица 2.

Морфологическая оценка дисплазии у больных.

Уровень дисплазии	CDKN2A (+)	CDKN2A (–)	p
Умеренная	12	1	0,032
Лёгкая	4	8	0,046
Отсутствует	1	5	0,041

Средний возраст пациентов с гиперметилированием составил $50,6 \pm 2,8$ года, в то время как среди пациентов без метилирования он был несколько ниже: $47,3 \pm 3,5$ года. Хотя статистически значимая разница между этими показателями не была достигнута ($p = 0,18$), наблюдается тенденция к росту частоты метилирования с возрастом, что соответствует литературным данным.

Обсуждение. В настоящем исследовании установлено, что гиперметилирование гена CDKN2A является чаще встречается у пациентов с предопухолевыми образованиями толстой и прямой кишки. Его частота составила 54,8%, что соответствует данным международных исследований, в которых аналогичный показатель варьирует от 40 до 70% среди пациентов с полипами. Эти данные подтверждают, что CDKN2A участвует в самых ранних этапах канцерогенеза при КРР.

Особенно значимым является то, что частота гиперметилирования была достоверно выше у пациентов с ограниченными полипами (65%) по сравнению с пациентами с полипозом (36,4%). $p < 0,05$. Это различие может быть связано с различной природой патологий: при спорадических полипах ведущую роль играют приобретённые эпигенетические нарушения, тогда как при полипозе (в том числе наследственном) часто доминируют мутационные механизмы, затрагивающие гены APC, MUTYH, SMAD4. Наблюдаемая закономерность может указывать на то, что гиперметилирование CDKN2A является типичным маркером именно спорадического пути опухолевой трансформации, а не наследственного.

Важнейший клинико-морфологический вывод касается связи между гиперметилированием CDKN2A и степенью дисплазии. Среди пациентов с гиперметилированием в 70,6% случаев выявлена умеренная дисплазия — что значительно выше, чем в группе без метилирования. Эти данные соответствуют результатам работ Esteller et al. (2001) и Kim et al. (2013), в которых было продемонстрировано, что гиперметилирование гена CDKN2A пред-

шествует и сопровождает прогрессирование дисплазии. Это позволяет рассматривать метилирование не просто как маркер наличия предопухолевого процесса, но и как индикатор его молекулярной агрессивности.

Полученные результаты также согласуются с эпигенетической моделью канцерогенеза, согласно которой метилирование опухолевых супрессоров, в том числе CDKN2A, является первым «эпигенетическим ударом» в многоступенчатом процессе злокачественной трансформации [1].

Результаты данного исследования также подтверждают, что гиперметилирование CDKN2A можно использовать не только для диагностики, но и для стратификации пациентов по риску. Например, пациент с умеренной дисплазией и метилированием CDKN2A потенциально требует более частого наблюдения, чем пациент с тем же морфологическим диагнозом, но без метилирования. Это соответствует современным принципам персонифицированной медицины и биомаркерного контроля.

С технической точки зрения, применённый нами метод MSP-ПЦР доказал свою высокую чувствительность и воспроизводимость, что делает его особенно привлекательным для стран с ограниченными ресурсами. Его применение возможно не только в крупных референс-центрах, но и в региональных лабораториях, при условии базовой молекулярно-биологической оснащённости.

Тем не менее, исследование имеет и ограничения: небольшая выборка, отсутствие контрольной группы с установленным KPP, а также отсутствие динамического наблюдения, которое позволило бы оценить прогностическую ценность гиперметилирования. Планируется также исследование расширенной когорты, оценка чувствительности и специфичности метилирования CDKN2A в cfDNA, а также наблюдение за клиническими исходами.

Выводы. Исходя из вышеизложенного, гиперметилирование гена CDKN2A является частым эпигенетическим событием у пациентов с предопухолевыми образованиями толстой и прямой кишки: оно было выявлено у 54,8% обследованных, что подтверждает его участие в ранних этапах канцерогенеза при колоректальном раке. Частота метилирования существенно выше у пациентов с полипами (65%), чем при полипозе (36,4%), что может свидетельствовать о различной природе эпигенетических нарушений при спорадических и диффузных формах предопухолевых процессов кишечника ($p < 0,05$). Наличие гиперметилирования CDKN2A достоверно ассоциировано с умеренной дисплазией, что подчёркивает его значимость как маркера ранней злокачественной трансформации и возможного прогрессирования доброкачественных новообразований в рак. CDKN2A является клинически значимым биомаркером, который может использоваться для стратификации риска у пациентов с предопухолевыми изменениями кишечника, выбора тактики наблюдения и принятия решений о необходимости вмешательства.

Использованная литература:

1. Состояние онкологической помощи населению Республики Узбекистан в 2024 году / под ред М.Н. Тилляшайхов, Ш.Н. Ибрагимов, С.М. Джанклич. – Ташкент: ИПТД «Халк», 2025. – 192 с.
2. Bray F, Ferlay J, Laversanne M, Brewster DH, Gombe Mbalawa C, Kohler B, Piñeros M, Steliarova-Foucher E, Swaminathan R, Antoni S, Soerjomataram I, Forman D. Cancer Incidence in Five Continents: Inclusion criteria, highlights from Volume X and the global status of cancer registration. *Int J Cancer*. 2015 Nov 1;137(9). – 2060 p. doi: 10.1002/ijc.29670. PMID: 26135522.
3. Esteller M, Sparks A, Toyota M, Sanchez-Cespedes M, Capella G, Peinado MA, et al. Analysis of adenomatous polyposis coli promoter hypermethylation in human cancer. *Cancer Res*. 2000;60(16):4366–4371.
4. Herman JG, Baylin SB. Gene silencing in cancer in association with promoter hypermethylation. *N Engl J Med*. 2003;349(21):2042–2054.
5. Kim YJ, Lee TH, Lee SH, Kim JH. p16 methylation is associated with advanced stage and poor prognosis in colorectal cancer. *Oncology*. 2013;85(5):310–318.
6. Lanschot MCJ, Bosch LJW, de Wit M, Meijer GA, Lentjes MHFM, van Engeland M, et al. Early detection of colorectal cancer based on epigenetic alterations in histologically normal colon mucosa: A systematic review. *Onco-target*. 2021;12(7):660–674.
7. Luo Y, Gao Y, Peng X, Hong S, Wang P, Li S, et al. Promoter methylation of tumor suppressor genes: a review on

- its occurrence, function, and clinical applications in colorectal cancer. *Front Oncol.* 2021;11:788112.
8. Nishida N, Nagasaka T, Nishimura T, Ikeda S. Extensive analysis of CpG island methylation and its relation to microsatellite instability and clinicopathologic features in colorectal cancer. *Oncogene.* 2020;39(6):1139–1153.
 9. Shen N, Fu Y, Hu W, Xu Y, Wang Y. Diagnostic performance of CDKN2A promoter methylation in blood for colorectal cancer: a meta-analysis. *BMC Cancer.* 2021;21(1):1106.
 10. Song L, Li Y. The diagnostic utility of methylated SEPT9 for colorectal cancer: a meta-analysis. *Clin Lab.* 2015;61(9):1103–1112. (для сравнения с другими эпигенетическими биомаркерами)
 11. Toyota M, Ahuja N, Ohe-Toyota M, Herman JG, Baylin SB, Issa JP. CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96(15):8681–8686.
 12. WHO Classification of Tumours Editorial Board. Digestive System Tumours. 5th ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2019
 13. Zhang L, Song X, Yan X, Zhou Y, Qi J, Wang H, et al. Diagnostic value of circulating methylated DNA for colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis. *Clin Epigenetics.* 2023;15(1):1–12.