

ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России

На правах рукописи

Янус Григорий Аркадьевич

**МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ
НАСЛЕДСТВЕННОГО РАКА ТОЛСТОЙ КИШКИ**

Специальность: 14.01.12 – онкология

03.02.07 – генетика

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор Е.Н. Имянитов

Санкт-Петербург

2016

ОГЛАВЛЕНИЕ

Оглавление		2
Список используемых сокращений и терминов		5
Введение		6
Глава 1. Обзор литературы		12
1.1	Эпидемиологическая характеристика и актуальность проблемы колоректального рака в России и мире.	12
1.2	Ненаследственные факторы, модифицирующие риск РТК	14
1.3	Молекулярный патогенез РТК и его молекулярная классификация.	28
1.4	Наследственный рак толстой кишки: основные разновидности и методы молекулярно-генетической диагностики	39
1.4.1	Структура наследственной предрасположенности к раку толстой кишки	39
1.4.2	Общие принципы клинической и молекулярно-генетической диагностики наследственных форм РТК	41
1.4.3	Синдром Линча (наследственный неполипозный рак толстой кишки)	42
1.4.4	Аутосомно-доминантные формы аденоматозного полипоза толстой кишки	77
1.4.4.1	Семейный аденоматозный полипоз	77
1.4.4.2	Аутосомно-доминантный полипоз толстой кишки, ассоциированный с врожденным дефектом 3'-5' экзонуклеазной активности полимераз.	87
1.4.4.3	AXIN2-ассоциированный полипоз толстой кишки	90
1.4.5	Аутосомно-рецессивные формы полипоза толстой кишки	90
1.4.5.1	MUTYH-ассоциированный полипоз	90
1.4.5.2	Синдром Тюрко	104
1.4.5.3	NTHL1-ассоциированный полипоз	109
1.4.5.4	MSH3-ассоциированный полипоз	110
1.4.6	Гамартоматозные полипозы толстой кишки	111
1.4.6.1	Ювенильный полипоз толстой кишки	113
1.4.6.2	Синдром Пейтца-Егерса	115

1.4.6.3	PTEN-ассоциированный синдром гамартомных опухолей: синдром Коуден и Баннаяна-Райли-Рувалькаба	117
1.4.6.4	Наследственный смешанный полипоз толстой кишки	119
1.5	Заключение	120
Глава 2. Материалы и методы		121
2.1	План работы и общее описание дизайна исследования	121
2.2	Материалы	122
2.2.1	Синдром Линча	122
2.2.2	Семейный аденоматозный полипоз	123
2.2.3	MUTYH-ассоциированный полипоз толстой кишки	123
2.3	Методы	124
2.3.1	Выделение ДНК	124
2.3.2	Детекция микросателлитной нестабильности	125
2.3.3	Детекция мутаций в генах MLH1, MSH2, MSH6	126
2.3.4	Детекция мутаций в гене APC	127
2.3.5	Детекция мутаций в гене MUTYH	128
2.3.6	Статистический анализ данных	128
Глава 3. Результаты		136
3.1	Синдром Линча	136
3.1.1	Поиск мутаций в генах системы MMR среди больных с клиническими и молекулярными признаками синдрома Линча	136
3.1.2	Определение частоты мутации MLH1 p.R226L, «польских», «ашкеназской» и «финской» “founder”-мутаций в выборке опухолей с молекулярными признаками синдрома Линча (MSI- H)	136
3.2	Семейный аденоматозный полипоз	138
3.3	MUTYH-ассоциированный полипоз	142
3.3.1	Выявление мутаций в гене MUTYH среди больных с клиникой полипоза толстой кишки без наследственных дефектов гена APC	142
3.3.2	Определение частоты повторяющихся европейских мутаций p.Y179C и p.G396D в гене MUTYH среди случаев РТК с соматической мутацией p.G12C в гене KRAS	143

3.3.3	Определение частоты всех выявленных мутаций в гене MUTYH среди случаев РТК с соматической мутацией p.G12C в гене KRAS	145
3.3.4	Определение частоты выявленных повторяющихся мутаций в гене MUTYH в группе «последовательных» случаев РТК.	146
3.3.5	Характеристика спектра выявленных молекулярных повреждений в РТК	146
3.3.6	Определение частоты выявленных повторяющихся мутаций в гене MUTYH в группе здоровых контролей. Сопоставление структуры мутаций в группе здоровых контролей и группах носителей мутаций в гене MUTYH	147
Глава 4. Обсуждение		148
4.1	Синдром Линча	148
4.2	Семейный аденоматозный полипоз	151
4.3	MUTYH-ассоциированный полипоз	154
Заключение		158
Список использованной литературы		159

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
- ИГХ – иммуногистохимия, иммуногистохимический
- МАП – MUTYH-ассоциированный полипоз
- МРТ – магнито-резонансная томография
- НПВС – нестероидные противовоспалительные средства
- ПЦР – полимеразная цепная реакция
- РТК – рак толстой кишки
- РТМ – рак тела матки
- РЩЖ – рак щитовидной железы
- УЗИ – ультразвуковое исследование
- ФГДС – фиброгастродуоденоскопия
- BER – base excision repair, эксцизионная репарация оснований ДНК
- CIN – chromosomal instability, хромосомная нестабильность
- CIMP – CpG island methylation phenotype, «метильторный фенотип»
- CIMP-H – «метильторный фенотип» с высоким уровнем метилирования
- CIMP-L/I - «метильторный фенотип» с низким/промежуточным уровнем метилирования
- DSBR – double strand break repair, репарация двухцепочечных разрывов ДНК
- EMAST - elevated microsatellite alterations at selected tetranucleotide repeats, «повышенная частота альтераций микросателлитов в отдельных тетрануклеотидных повторах»
- HRM – high-resolution melting (analysis), высокоточный анализ кинетики плавления продуктов амплификации
- MLPA – multiplex ligation-dependent probe amplification, мультиплексная лигазно-зависимая амплификация ДНК-зондов
- MMR – mismatch repair, репарация неспаренных оснований (ДНК)
- MSI-H – высокий уровень микросателлитной нестабильности
- MSI-L – низкий уровень микросателлитной нестабильности
- MSI – microsatellite instability, микросателлитная нестабильность
- MSS – microsatellite stable, лишенный микросателлитной нестабильности
- NER – nucleotide excision repair, эксцизионная репарация нуклеотидов

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Рак толстой кишки (РТК) находится на третьем месте среди наиболее распространенных онкологических заболеваний как в России, так и в мире [Каприн et al., 2016; Ferlay et al., 2013]. В 2015 году в Российской Федерации было впервые выявлено более 59000 случаев РТК [Каприн и др., 2016a,b]. В структуре заболеваемости колоректальным раком до 5% случаев приходится на моногенные наследственные опухолевые синдромы. Во всех исследованных популяциях к числу наиболее частых форм наследственного рака относятся два доминантных наследственных заболевания - синдром Линча (наследственный неполипозный рак толстой кишки) и семейный аденоматозный полипоз, а также рецессивный MUTYH-ассоциированный полипоз.

Хотя данные наследственные опухолевые синдромы встречаются в меньшинстве случаев РТК, их выявление имеет большое практическое значение. Действительно, существуют отличия между оптимальной тактикой ведения некоторых пациентов с наследственным РТК и стандартным лечением спорадических опухолей толстой кишки. К примеру, у молодых больных РТК с синдромом Линча рекомендуется расширение объема оперативного вмешательства до колэктомии, так как в течение жизни очень велик риск развития метастатического рака толстой кишки (Syngal et al., 2015). Для РТК с дефектами системы репарации неспаренных оснований ДНК – наследственными в контексте синдрома Линча и приобретенными в контексте двух относительно редких разновидностей спорадических РТК - характерен феномен «микросателлитной нестабильности» (microsatellite instability, MSI). Он ассоциирован с хорошим прогнозом и резистентностью к 5-фторурацилу. Хотя вопрос этот все еще дискуссионный, сведения о наличии микросателлитной нестабильности могут повлечь изменения в тактике лечения, включая отказ от адьювантной терапии у больных РТК II стадии, отказ от монотерапии 5-фторурацилом [Webber et al., 2015; Tougeron et al., 2016; Haraldsdottir et al., 2016; Sinicrope et al., 2011; Kawakami et al., 2015]. В последнее время большое внимание уделяется иммунотерапии опухолей: в рамках синдрома Линча и MUTYH-ассоциированного полипоза возникают гипермутабельные, потенциально иммуногенные опухоли [Llosa et al., 2015; Al-Tassan et al., 2002; Rashid et al., 2016; Colebatch et al., 2006; Nielsen et al., 2009b, de Miranda et al., 2009; Nielsen et al., 2010]. Клиническое испытание пембролизумаба, ингибитора PD1 на группе опухолей с микросателлитной нестабильностью оказалось очень успешным [Le et al., 2015].

Хотя особенности лечения наследственных опухолей представляют большой интерес, на практике столь же важно предупреждение развития РТК у клинически здоровых носителей

патогенных мутаций. Выявив мутацию у больного, можно обнаружить ее среди бессимптомных на момент исследования родственников. Существуют детальные рекомендации по организации скрининга в этих группах высочайшего онкологического риска [Syngal et al., 2015]. Типичный процесс возникновения рака толстой кишки отличается медлительной прогрессией предраковых образований, легко выявляемых эндоскопически. Но в случае синдрома Линча и MUTYH-ассоциированного полипоза малигнизация полипа может быть резко ускорена [Ahadova et al., 2016; Nieuwenhuis et al., 2012]. Эти состояния требуют очень частого проведения колоноскопии, ежегодного или 1 раз в 2 года. А в случае семейного аденоматозного полипоза удаление сотен полипов, находящихся на различных этапах пути к озлокачествлению, обычно оказывается невозможным технически, и тогда больным рекомендуется колэктомия или колпроктэктомия [Syngal et al., 2015]. Менее значимо, но также очень важно при планировании скрининга не упускать тот факт, что эти наследственные формы РТК ассоциированы и с повышением риска иных злокачественных новообразований, например, рака тела матки при синдроме Линча или рака щитовидной железы при семейном аденоматозном полипозе. Очень опасен рак двенадцатиперстной кишки – риск его развития повышен при всех трех синдромах. В случае семейного аденоматозного полипоза имеются определенные корреляции генотипа и фенотипа, которые можно учитывать в ведении больных [Newton et al., 2012; Nielsen et al., 2009a]. Очевидно, что агрессивные программы скрининга не следует применять к лицам без генетически-обусловленного значительного повышения риска, поэтому предварительное выявление причинно-значимых повреждений ДНК необходимо.

Наконец, с определенной точки зрения наследственные опухолевые синдромы представляют собой естественные модели различных путей канцерогенеза при развитии спорадического РТК [Walcott et al., 2016]. Их всестороннее изучение вызывает значительный интерес с позиций фундаментальной и прикладной науки.

Так или иначе, для клинических и исследовательских задач абсолютно необходимым предварительным этапом является молекулярно-генетическая диагностика наследственного рака толстой кишки. Очень редко вне исследовательского контекста всем больным проводится универсальное молекулярно-генетическое исследование причинно-значимых генов. Правилom является скорее селекция больных по различным клиническим и морфологическим критериям, например, наличию полипоза, возрасту, семейной истории, характерной морфологии новообразований и т.д. [Win et al., 2013c]. Здесь стоит отметить, что выявление синдрома Линча и семейного аденоматозного полипоза по клинико-патологическим критериям разработано и осуществляется лучше, чем выявление недостаточно изученного MUTYH-ассоциированного полипоза. В самом деле, MUTYH-ассоциированный полипоз отличается вариабельной выраженностью клиники, обычно все же неярко, а главное – рецессивным типом

наследования. Очень часто в случае MUTYH-ассоциированного полипоза семейный онкологический анамнез отсутствует.

Для синдрома Линча отбор больных базируется не только на клинико-патологических, но и на молекулярных критериях: для скрининга используется выявление центрального для патогенеза данного заболевания явления, микросателлитной нестабильности. Часто используется также иммуногистохимическое (ИГХ) определение белковой экспрессии генов, ассоциированных с синдромом Линча (MLH1; MSH2; MSH6; PMS2). Иногда выявленные случаи тестируют на наличие мутаций в гене BRAF, не встречающихся в случаях наследственного РТК, или на предмет гиперметилирования промотора MLH1, также свойственного скорее спорадическим РТК с микросателлитной нестабильностью [Laghi et al., 2008; Poynter et al., 2011].

Оптимизации определения микросателлитной нестабильности, сравнению этой методики и ИГХ, а также иным деталям прескрининга случаев, подозрительных на наличие синдрома Линча, посвящено множество работ. Однако оценке применения аналогичных молекулярных критериев при отборе больных на диагностику MUTYH-ассоциированного полипоза посвящено всего 2-3 статьи [Aime et al., 2015; Buisine et al., 2013; Puijtenbroek et al., 2008b]. Действительно, MUTYH является геном эксцизионной репарации оснований ДНК, и опухоли, возникающие в контексте нарушения этой системы, отличаются своеобразным спектром молекулярных дефектов, как правило, включающим замены G:C>T:A. В частности, из множества возможных мутаций в 12, 13, 59, 61, 117, 146 кодонах онкогена KRAS в случае MUTYH-ассоциированного полипоза встречается лишь замена p.G12C (с.34G>T). Эта мутация наблюдается всего в 2-4% случаев спорадического РТК, однако ее частота в MUTYH-ассоциированных карциномах достигает 60%. Так как статус гена KRAS – значимый предиктивный маркер, его тестирование проводится большей части больных РТК. Подобный критерий селекции больных на MUTYH-диагностику, независимый от переменчивой клинической картины синдрома, представляется очень перспективным.

После отбора больных на молекулярно-генетическое исследование ассоциированных с предполагаемым диагнозом генов, существует возможность оптимизировать диагностический алгоритм за счет использования данных молекулярной эпидемиологии. Действительно, нередка ситуация, когда существенная доля случаев заболевания в популяции связана с одной или несколькими повторяющимися мутациями [Ponti et al., 2015; Gonzales et al., 2005; Nyström-Lahti et al., 1995; Goldberg et al., 2014; Aretz et al., 2014]. В таких случаях целесообразно использовать «ступенчатый» алгоритм действий, предусматривающий сначала проверку наличия этих повреждений, и лишь при отрицательном результате переход к анализу полной кодирующей последовательности. «Повторяемость» мутации может быть связана как с популяционно-

генетическими причинами (классический «эффект основателя» или “founder”-эффект), так и с «горячими точками мутагенеза» - повышенной склонностью конкретного участка генома к мутационной изменчивости.

Молекулярно-эпидемиологическим особенностям синдрома Линча, САП и МАП в России до настоящего исследования было посвящено лишь небольшое количество работ (Maliaka et al., 1996; Музаффарова, 2005; Поспехова и др., 2014; Коротаева et al., 2011). Очевидно, для нашей популяции молекулярная эпидемиология всех трех состояний - актуальный и недостаточно изученный научный и практический вопрос.

Цели и задачи исследования

Целью настоящего исследования являлось совершенствование алгоритма молекулярно-генетической диагностики трех основных форм наследственного рака толстой кишки: синдрома Линча, семейного аденоматозного полипоза и MUTYH-ассоциированного полипоза.

В связи с этим были поставлены следующие задачи:

- 1) провести поиск мутаций в генах MLH1, MSH2 и MSH6 в группе больных с выраженными признаками синдрома Линча;
- 2) оценить встречаемость повторяющихся мутаций в генах системы репарации неспаренных оснований ДНК в расширенной группе опухолей с выявленным феноменом микросателлитной нестабильности;
- 3) проанализировать спектр мутаций в генах MLH1, MSH2 и MSH6 среди российских больных синдромом Линча и сформировать оптимальный алгоритм молекулярно-генетического исследования для диагностики синдрома, учитывая наличие повторяющихся мутаций;
- 4) провести поиск мутаций в гене APC в когорте больных с клиническими признаками полипоза толстой кишки, проанализировать спектр мутаций среди российских больных семейным аденоматозным полипозом и сформировать оптимальный алгоритм молекулярно-генетического исследования для диагностики заболевания, учитывая наличие повторяющихся мутаций;
- 5) провести поиск мутаций в гене MUTYH в группе больных с клиническими признаками полипоза толстой кишки без мутаций в гене APC;
- 6) оценить возможность отбора больных РТК на диагностику MUTYH-ассоциированного полипоза по молекулярному критерию - наличию в РТК соматической мутации p.G12C в гене KRAS;
- 7) проанализировать спектр мутаций в гене MUTYH среди российских больных MUTYH-ассоциированным полипозом и сформировать оптимальный алгоритм молекулярно-

генетического исследования для диагностики заболевания, учитывая наличие повторяющихся мутаций;

8) оценить частоту MUTYH-ассоциированного полипоза в России, исходя из популяционной частоты повторяющихся патогенных аллелей.

Научная новизна полученных данных

Проведено детальное исследование молекулярной эпидемиологии малоизученных в нашей популяции наследственных синдромов - трех форм наследственного рака толстой кишки. Впервые установлен повторяющийся характер мутации p.R245H в гене MUTYH в российской популяции. Впервые проведена оценка частоты MUTYH-ассоциированного полипоза в России. Впервые выявлен повторяющийся характер мутации p.R226L в гене MLH1 и мутации p.R621X в гене MSH2 среди больных синдромом Линча в российской популяции.

Практическая значимость полученных результатов

С учетом молекулярно-эпидемиологических данных о наличии в российской популяции повторяющихся мутаций, сформулирована оптимальная стратегия ступенчатого тестирования причинно-значимых генов для трех наиболее частых форм наследственного рака толстой кишки.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Мутация p.R226L в гене MLH1 имеет повторяющийся характер в российской популяции и встречается в 9-13% случаев синдрома Линча.
2. На два повторяющихся повреждения в гене APC, p.Q1062fs* и p.E1309Dfs*4, приходится 30% случаев семейного аденоматозного полипоза. Анализ гена APC целесообразно начинать с тестирования этих мутаций.
3. Наличие соматической мутации p.G12C в гене KRAS при РТК может служить основанием к тестированию больного на наличие наследственных мутаций в гене MUTYH, так как в этой группе пациентов биаллельные дефекты MUTYH встречаются с частотой 7%.
4. Впервые обнаружен повторяющийся характер мутации p. R245H в гене MUTYH в российской популяции, причем вклад этой мутации в заболеваемость MUTYH-ассоциированным полипозом сопоставим с вкладом известной европейской “founder”-мутации p.Y179C. При проведении молекулярно-генетического анализа для выявления

наследственных мутаций в гене MUTYH целесообразно внедрение предварительного тестирования не только на повторяющиеся мутации p.Y179C и p.G396D, но и на p.R245H.

5. Расчетная популяционная частота MUTYH-ассоциированного полипоза, связанного с тремя повторяющимися в России мутациями, составила 1:22957, что приблизительно в 1,5-3 раза меньше, чем аналогичные показатели для европейских популяций (1:7695-1:15625).

.Апробация работы

Результаты работы были представлены на II Петербургском онкологическом форуме «Белые Ночи – 2016», 22–24 июня 2016 г., Санкт-Петербург.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 239 страницах и состоит из введения, глав обзора литературы, материалов и методов, результатов, обсуждения полученных данных и заключения. Работа иллюстрирована 7 рисунками и 16 таблицами. Библиографический указатель включает 758 источников, в том числе 7 отечественных и 751 зарубежный.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Эпидемиологическая характеристика и актуальность проблемы колоректального рака в России и мире.

Рак толстой кишки (РТК) занимает третье место в структуре онкологической заболеваемости в мире [Ferlay et al., 2013] и в России [Каприн и др., 2016a,b]. Заболеваемость раком толстой кишки в целом выше в развитых странах, приблизительно в 6 раз больше, чем в развивающихся. Наивысшая заболеваемость наблюдается в Словакии (стандартизованный показатель заболеваемости - 61,6 на 100000 населения), наиболее низкая – в Гамбии и Мозамбике (1,5 на 100000) [Arnold et al., 2016]. В России этот показатель составил в 2014 году 22,2 на 100000. В 2015 году в Российской Федерации было впервые выявлено более 59000 случаев РТК [Каприн и др., 2016a,b]. Кумулятивный риск развития РТК в течение жизни составляет в мире 1,9%, в России – 3% и в странах, наиболее экономически развитых, например, США - около 5% [Каприн и др., 2016a,b; Ferlay et al., 2013; Siegel et al., 2014]. В структуре смертности от онкологических заболеваний РТК занимает четвертое место в мире и второе в России [Ferlay et al., 2013; Каприн и др., 2016a,b]. Снижение заболеваемости и смертности от РТК, увеличение выживаемости представляются, таким образом, весьма актуальными практическими задачами.

Различные страны мира можно разделить на три группы в отношении динамики заболеваемости и смертности от рака толстой кишки. Это развивающиеся страны Азии и Южной Америки, а также страны Восточной Европы, где заболеваемость и смертность нарастает; некоторые, главным образом, европейские страны, где смертность снижается при возрастающей заболеваемости; наиболее развитые государства, где оба показателя снижаются. Россия долгое время относилась к первой группе, хотя в последние десять лет рост смертности фактически прекратился [Каприн и др., 2016a; Arnold et al., 2016; Favoriti et al., 2016].

За последние три десятилетия заболеваемость и смертность от рака толстой кишки весьма резко снизилась в наиболее развитых странах Западной Европы, США, Японии, Австралии [Ait Quakrim et al., 2015b; Arnold et al., 2016; Favoriti et al., 2016]. Различия показателя заболеваемости и его динамики в различных странах связывают прежде всего со средовыми влияниями: распространение «вестернизированной» диеты в развивающихся странах, успешная пропаганда отказа от вредных привычек в развитых, внедрение стандартов медицинской помощи, предусматривающих у значительной части населения пожизненный прием аспирина, популярность заместительной гормональной терапии и т.п. Определенную роль играют генетические особенности популяций, нередко находящиеся в сложном

взаимодействии со средовыми факторами. Во вторую очередь, следует отметить влияние как на заболеваемость, так и на смертность медицинских мероприятий, направленных на раннее выявление рака и предраковых состояний (различные варианты тестов на скрытую кровь в стуле, ректороманоскопия, колоноскопия, компьютерная томографическая колонография). В странах, где программы скрининга были внедрены недавно, может даже наблюдаться кратковременный рост заболеваемости среди целевых групп за счет увеличения количества выявляемых случаев [Rossi et al., 2015; Arnold et al., 2016]. В дальнейшем же функционирование таких программ приводит к закономерному снижению заболеваемости и смертности [Brenner et al., 2014]. Наконец, к снижению смертности от рака толстой кишки приводит лучшая выживаемость за счет прогресса в методах лечения, появления новых химиотерапевтических средств.

Установить роль каждого из этих факторов в динамике заболеваемости, смертности и выживаемости очень нелегко. Согласно одной из немногих существующих эпидемиологических моделей, удельный вес изменения средовых воздействий в снижении смертности от рака толстой кишки в США за 1975–2000 год составил 35%, скрининга – 53% и на долю совершенствования терапии пришлось 12% [Edwards et al., 2010]. С момента окончания этого анализа были внедрены новые препараты (оксалиплатин, бевацизумаб, цетуксимаб, регорафениб и т.д.), новые подходы к лечению солитарных отдаленных метастазов, значительно улучшившие выживаемость [Fakih, 2015]. И все же, вероятнее всего, наибольший вклад в снижение смертности в США и ряде стран Западной Европы вносит пока именно внедрение скрининга, особенно включающего в себя эндоскопические методы обследования [Ait Quakrim et al., 2015b; Brenner et al., 2014; Knudsen et al., 2016]. Однако около трети подлежащего скринингу населения США не проходит его даже при наличии такой возможности: в это вносит вклад отсутствие информированности и нежелание проходить эндоскопическое исследование по субъективным причинам, а также в связи с опасениями насчет сопряженного с колоноскопией (требующейся либо как инструмент первичного скрининга, либо используемой для верификации результатов первичного обследования) низкого, но объективно существующего риска тяжелых осложнений: перфорации толстой кишки (4 случая на 10000 процедур) и кровотечения (8:10000) [Lin et al., 2016b; Centers for Disease Control and Prevention, 2013]. Эти обстоятельства требуют тщательного соотнесения пользы и вреда от планируемого скринингового обследования населения и выделения групп риска, в которых применение его наиболее оправдано. Наиболее очевидным и основным фактором, требующим рассмотрения, является возраст. После 50 лет вероятность заболеть раком толстой кишки начинает резко расти. Например, в России на лиц старше 50 лет приходится 93% случаев РТК [Каприн и др., 2016]. На данный момент оптимальной возрастной

группой для внедрения скрининга считаются лица от 50 и до 75 лет [US Preventive Services Task Force et al., 2016]. Однако существуют факторы риска помимо возраста, которые также можно инкорпорировать в формирование порядка проведения скринингового обследования и снизить рекомендуемый возраст начала скрининга для лиц, на которых эти факторы воздействуют. Согласно недавнему корейскому исследованию, для распространенных факторов, приводящих к умеренному повышению риска, не было оправданным снижение возрастного порога более чем до 45 лет [Jung et al., 2015]. Тем более важным представляется своевременное вовлечение в процесс скрининга и иных профилактических мер лиц, страдающих высокопенетрантными наследственными формами РТК – ведь рак как правило развивается у данной группы до достижения 50 лет, и они не подпадают под стандартные рекомендации.

1.2 Ненаследственные факторы, модифицирующие риск РТК

К слабым, но распространенным факторам риска развития РТК относится курение. Курение ассоциировано с нерезким повышением риска, порядка 15-20% у среднего курильщика [Liang et al., 2009]. Так как повышение риска несопоставимо с наблюдаемым в случае «классических» ассоциированных с курением опухолей, возникают сомнения в каузальной связи курения с РТК. Аргументом в пользу причинно-значимого характера этого фактора служит предпочтительная ассоциация курения с определенным путем развития РТК. Курение в большей степени ассоциировано с зубчатыми аденомами, чем с аденоматозными полипами, причем чаще возникают крупные плоские "сидячие" зубчатые аденомы (зубчатые аденомы на широком основании, sessile serrated adenoma) в проксимальных отделах толстой кишки [Rustagi et al., 2013]. Вместе с тем, у курящих женщин, но не у мужчин, в основном повышается риск развития особого молекулярного подтипа РТК, локализующегося в проксимальных отделах ободочной кишки, характеризующегося метиляторным фенотипом, выраженной микросателлитной нестабильностью и наличием мутаций в гене BRAF [Limsui et al., 2010; Chen et al., 2015; Weisenberger et al., 2015]. Известно, что этот подтип РТК развивается именно из «сидячих» зубчатых аденом. Прекращение курения связано со снижением риска развития именно этого подтипа РТК [Nishihara et al., 2013].

Согласно результатам недавнего метаанализа, употребление алкоголя свыше 50 граммов в день связано с повышением риска развития РТК на 44% [Bagnardi et al., 2015]. Риск при этом выше для опухолей прямой кишки, чем ободочной [Ferrari et al., 2007]. Канцерогенный эффект алкоголя связывают прежде всего с действием метаболита этилового спирта, ацетальдегида, хотя алкогольные напитки могут содержать и другие канцерогены [Pflaum et al., 2016]. Также этанол вызывает повышение уровня эстрогенов и андрогена у женщин, обладает

иммуномодулирующим действием, снижает всасывание фолатов, обладает прямым повреждающим действием на слизистую, облегчая проникновение в ткани канцерогенных веществ [Bagnardi et al., 2015]. Интересно, что у лиц, потребляющих недостаточное количество фолатов, риск, обеспечиваемый алкоголем, нарастает [Ferrari et al., 2007].

По данным Международного агентства по изучению рака, употребление в пищу красного мяса, прежде всего говядины, а также продуктов кулинарной переработки мяса связано с повышением вероятности заболевания. Каждые 100 грамм красного мяса, потребляемые в день, повышают риск на 17% и каждые 50 грамм продуктов его переработки - на 18% [Bouvard et al., 2015; Carr et al., 2015]. Причина этого может заключаться в канцерогенных продуктах – нитрозосоединениях, гетероциклических аминах и полициклических углеводородах, образующихся при термической обработке мяса; в химическом составе необработанного красного мяса (высокое содержание жира, витаминов группы В, гема и т.п.); наконец, в стимуляции насыщенными жирами выработки желчных кислот, продукты переработки которых являются эндогенными канцерогенами [Aykan, 2015]. Тем не менее остаются не вполне объясненными различия в степени риска, связанного с различными видами красного мяса, например, низкий риск, связанный с употреблением в пищу свинины [Carr et al., 2015]. Более того, при сопоставимом с красным мясом уровне образования канцерогенов при термической обработке, рыба, возможно, обладает даже протективным эффектом в отношении РТК [Wu et al., 2012]. Эти различия дают почву для ряда гипотез, пока не подтвержденных [zur Hausen, 2012; Aykan, 2015; Samraï et al., 2015]. Интересно, что молочные продукты, по-видимому, обладают небольшим, порядка 10%, протективным эффектом [AuneDairy et al., 2012]. Любопытно также, что в недавнем исследовании был обнаружен генетический вариант, сам по себе не дающий повышения риска РТК, но модифицирующий риск, обеспечиваемый потреблением обработанного мяса [Figueiredo et al., 2014].

Недавно было показано, что нитраты, потребляемые с пищей и питьевой водой, ассоциированы с существенным повышением риска колоректального рака, порядка 49% у лиц, потребляющих более 10 мг нитратов в день, по сравнению с теми, кто потребляет менее 5 мг [Espejo-Herrera et al., 2016]. Интересно, что для рака прямой кишки наблюдалась обратная зависимость между заболеваемостью и уровнем нитратов, поступающих с овощами. Возможно, в то время как нитраты питьевой воды и красного мяса беспрепятственно претерпевают превращение в канцерогены при термической обработке и в организме, образование канцерогенных нитрозосоединений из нитратов овощей подавляется содержащимися в них же антиоксидантами, например, витамином С.

Потребление овощей и фруктов часто относят к протективным факторам, снижающим риск развития РТК [Johnson et al., 2013]. Надо отметить, что снижение риска здесь весьма скромное, и даже крупные эпидемиологические исследования нередко обнаруживают ассоциации на грани статистической значимости, скорее, с потреблением фруктов, а не овощей [Ben et al., 2015], с опухолями различных отделов толстой кишки (дистальные отделы ободочной кишки [Koushik et al., 2007], ободочная кишка [Leenders et al., 2015], колоректальный рак в целом у лиц, потребляющих избыточное количество красного мяса [Kunzmann et al., 2016]). Риск развития колоректального рака у вегетарианцев снижен. Любопытно, что наибольшее понижение риска (относительный риск (ОР) – 0,57) наблюдается не у строгих вегетарианцев, а у тех лиц, которые допускают употребление в пищу рыбы [Orlich et al., 2015]. Среди причин возможного протективного эффекта фруктов и/или овощей – высокое содержание в них витаминов, а также клетчатки. Возможно, определенную роль играют различные флавоноиды.

Нерастворимая клетчатка фруктов, овощей и злаков снижает риск РТК. Влияние нерастворимой клетчатки на риск РТК сводят к модулированию активности микрофлоры, снижению образования канцерогенных производных желчных кислот, повышению скорости пассажа кишечного содержимого, снижению эффектов резистентности к инсулину [Murphy et al., 2012; Vulcan et al., 2015].

По данным недавнего метаанализа, мультивитаминные пищевые добавки несколько снижают риск РТК (относительный риск (ОР) 0,92) [Heine-Bröring et al., 2015]. Касательно роли каждого витамина по отдельности данные противоречивы. Ряд витаминов – витамины А, Е, С – обладает антиоксидантной активностью. Роль фолатов неоднозначна, по некоторым данным, витамин В9 скорее провоцирует развитие опухолей толстой кишки, по другим – индифферентен в отношении риска развития РТК [Baggott et al., 2012; Figueiredo et al., 2011; Keum and Giovannucci, 2014; Takata et al., 2014; Vollset et al., 2013]. Интересно наличие взаимных разнонаправленных влияний между потреблением витаминов-антиоксидантов и потреблением нитратов, а также между потреблением фолатов и алкоголя.

Отдельного рассмотрения заслуживает протективная роль витамина D и кальция. Превращение витамина D в его активные метаболиты – комплексный, многофакторный процесс, который зависит далеко не только от поступления витамина D с пищей. Гипотеза о влиянии уровня витамина D на риск колоректального рака была впервые сформулирована для объяснения связи высоких широт и падения инсоляции с ростом заболеваемости РТК [Garland and Garland, 1980]. Обычно в эпидемиологических исследованиях как индикатор уровня витамина D рассматривают уровень его метаболита 25-гидроксиколекальциферола. Более высокий уровень 25(OH) D в плазме крови ассоциирован со значительным снижением риска

РТК: относительный риск составляет 0,66-0,67 [Ma et al., 2011; Lee et al., 2011]. Возможно, риск снижается у женщин в большей степени для рака прямой кишки, а у мужчин – для ободочной [Jacobs et al., 2016]. Также есть свидетельства в пользу протективного эффекта кальция в отношении РТК, а также синергизма между кальцием и витамином D [Heine-Bröring et al., 2015; Jacobs et al., 2016]. Известен ряд экспериментальных мышинных моделей, продемонстрировавших профилактический противоопухолевый эффект витамина D как самого по себе, так и в комбинации с кальцием [Bickle et al., 2014]. Существует множество механизмов, по которым осуществляется антинеопластический эффект витамина D, регулирующего экспрессию сотен генов. В частности, кальцитриол оказывает антипролиферативное действие на клетку за счет снижения экспрессии циклинов, повышения экспрессии ингибиторов циклин-зависимых киназ, повышения активности антионкогенных факторов транскрипции семейства FoxO, снижения активности онкогенных факторов транскрипции Muc, Fos, Jun, влияния в соответствующем направлении на сигнальные каскады инсулиноподобного фактора роста, эпидермального фактора роста, трансформирующего фактора роста b, wnt/b-catenin. Некоторые из этих влияний осуществляются витамином D в синергизме с ионами кальция, активирующими кальций-чувствительный рецептор [Liu et al., 2010]. Кальцитриол стимулирует экспрессию проапоптотических молекул, и провоцирует апоптоз прямо и косвенно за счет увеличения внутриклеточной концентрации кальция. Кроме того, кальцитриол стимулирует эксцизионную репарацию ДНК, несколько снижает экспрессию циклооксигеназы 2, модулирует иммунный ответ, ингибирует ангиогенез и подавляет способность опухолевых клеток к инвазии и метастазированию [Bikle et al., 2014]. Интересно, что существуют наблюдения, согласно которым в основном витамин D подавляет развитие опухолей с выраженной иммунной реакцией, что подчеркивает роль витамина D в модулировании деятельности иммунной системы [Song et al., 2015]. Вместе с тем, несмотря на все эти многочисленные эпидемиологические и экспериментальные факты, а также теоретические соображения, клинические испытания, ставившие целью добиться снижения заболеваемости РТК и/или образования аденоматозных полипов путем назначения витамина D, в большинстве своем терпели неудачи [Baron et al., 2015; Bjelacovic et al., 2014; Jacobs et al., 2016]. Наблюдение о преимущественном подавлении роста опухолей, вызывающих бурную иммунную реакцию, могло бы стать одним из объяснений неудачи клинических испытаний, направленных на подавление роста аденоматозных полипов: ведь самый частый гипериммунный подтип РТК развивается не из аденом, а на основе «сидячих» зубчатых полипов [Baron et al., 2015; Song et al., 2015]. В ограниченности применения витамина D играет свою роль и общеизвестный факт, что в отличие от многих других витаминов, витамин D имеет сравнительно узкий терапевтический коридор и тяжелые последствия при гипервитаминозе.

Наиболее важными агентами, оказывающими протективное действие и рассматриваемыми в качестве средства химиопрофилактики рака толстой кишки, являются нестероидные противовоспалительные препараты, прежде всего аспирин. Длительный (более 5-10 лет) и постоянный прием аспирина даже в малых дозах приводит к снижению риска развития РТК приблизительно на 25-30% [Nan et al., 2015; Skriver et al., 2016; Cao et al., 2016; Drew et al., 2016]. Интересно, что заболеваемость снижается в основном за счет опухолей с сохранной экспрессией циклооксигеназы 2 (не с метиляторным фенотипом) [Chan et al., 2007] и низким уровнем лимфоцитарной инфильтрации CD8+ клетками (без косвенных признаков гипермутабельности, в том числе микросателлитной нестабильности) [Cao et al., 2016]. Вместе с тем, длительный прием аспирина у больных с синдромом Линча приводит к снижению заболеваемости РТК в этой группе больных, предрасположенных исключительно к развитию РТК с микросателлитной нестабильностью [Burn et al., 2011]. Таким образом, видимо, меньше эффект аспирина становится в группе спорадических РТК с микросателлитной нестабильностью лишь на фоне метиляторного фенотипа (характерных для пожилых больных, чаще женщин). Механизмы действия аспирина различны: он оказывает прямое влияние на экспрессию циклооксигеназы в самой опухоли, снижает экспрессию провоспалительных медиаторов, оказывает прямое и косвенное влияние на сигнальный каскад Wnt/beta-catenin, оказывает антиангиогенное действие [Drew et al., 2016]. Так как постоянный и длительный прием аспирина не лишен побочных эффектов, на данный момент профилактика РТК с его помощью не может быть рекомендована здоровым людям. Однако в дальнейшем, с накоплением новых данных о механизмах действия нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) и особенностях работы этих механизмов в контексте различных групп риска, это мнение, вероятно, будет пересмотрено. Интересно, что недавнее полногеномное исследование ассоциаций показало несколько генетических вариантов, которые отличались отсутствием или повышением риска РТК при приеме аспирина у носителей редких аллелей [Nan et al., 2015].

Еще одним, менее достоверно снижающим риск, чем нестероидные противовоспалительные препараты, но практически лишенным побочных эффектов протективным средством является кофе [Schmit et al., 2016]. По данным последнего исследования потребление кофе снижало риск РТК в среднем на 26%, оно имело дозозависимый эффект, причем прием более 2,5 стандартных порций в день вызывал снижение риска колоректального рака более чем на 50% [Schmit et al., 2016]. Кофе снижает инсулинрезистентность, влияет на состав микрофлоры толстой кишки, воспаление, секрецию желчных кислот, пассаж каловых масс в просвете кишки, содержит ряд антиоксидантов и антипролиферативных веществ [Bøhn et al., 2014; Schmit et al., 2016].

Чрезвычайно сложным комплексом тесно взаимосвязанных, но не сводимых друг к другу полностью проблем предстает ассоциация колоректального рака с высоким потреблением легкоусвояемых углеводов, высококалорийным питанием, снижением физической активности, ожирением, хроническим воспалением, сахарным диабетом второго типа, гиперинсулинемией, повышением уровня инсулиноподобных факторов роста и макросомией. В целом, наличие метаболического синдрома повышает риск колоректального рака на 33% у мужчин и 41% у женщин [Esposito et al., 2013].

Существует ли независимая ассоциация потребления избыточного количества углеводов с колоректальным раком – дискуссионный вопрос [Aune et al., 2012; Sieri et al., 2015]. Диета с повышенным содержанием жиров способствует возникновению РТК посредством индукции в стволовых клетках особого транскрипционного профиля, ассоциированного с приобретением стволовыми клетками большего потенциала к трансформации при условии возникновения генетических повреждений (мутации в гене APC) [Beyaz et al., 2016]. Недавно была обнаружена связь высококалорийного питания и функциональной инактивации значимого для колоректального бластомогенеза антионкогена гуанилил-циклазы C (GUCY2C) в эпителии толстой кишки даже вне зависимости от массы тела [Lin et al., 2016a]. Эта находка ставит вопрос о независимом от метаболического синдрома влиянии избыточного питания на риск РТК.

Физическая активность обладает протективным эффектом в отношении колоректального рака за счет изменения энергетического баланса, снижения уровня циркулирующего в крови инсулина и инсулиноподобного фактора роста 1, снижения резистентности к инсулину, возможного влияния на хроническое воспаление [Hamer et al., 2012], ускорения пассажа каловых масс по толстой кишке, и, наконец, повышения инсоляции и уровня витамина D при условии, что физическая активность осуществляется на открытом пространстве [Keum et al., 2016a; Leitzmann et al., 2015]. Снижение риска, возможно, в большей степени связано с понижением заболеваемости раком ободочной кишки [Liu et al., 2016; Howard et al., 2008], хотя данные противоречивы [Boyle et al., 2012].

Уменьшение физической активности, сидячий образ жизни, напротив, способствуют развитию колоректального рака, прежде всего, у женщин [Liu et al., 2016; Howard et al., 2008; Cao et al., 2015; Keum et al., 2016b]. Любопытно, что, несмотря на сказанное выше, выбор профессии не оказывает существенного влияния на заболеваемость РТК [Pukkala et al., 2009].

Ожирение, как правило, сочетается с в той или иной степени выраженной резистентностью к глюкозе в составе метаболического синдрома, их эффекты достаточно сложно отделить друг от друга. Тем не менее, оно может и само по себе способствовать развитию аденоматозных полипов [Kitahara et al., 2013] и РТК [Johnson et al., 2013; Kitahara et

al., 2013; Renehan et al., 2015]. Согласно недавнему исследованию, при наборе каждые 5 дополнительных килограмм избыточного веса наблюдается повышение риска РТК на 3% [Karahalios et al., 2015]. Отмечено также, что с увеличением окружности талии на каждые дополнительные 2 сантиметра риск РТК растет на 4% [Moghaddam et al., 2007]. Эффекты ожирения на риск РТК больше выражены у мужчин, чем у женщин, более сильно повышается риск опухолей ободочной кишки. Считается, что на преимущественный характер ассоциации у мужчин влияют эстрогены, образующиеся за счет ароматизации в жировой ткани [Karahalios et al., 2015; Murphy et al., 2015]. Наибольший онкологический риск обеспечивает висцеральный жир [Moghaddam et al., 2007]. Терапия статинами, вероятно, снижает риск колоректального рака, хотя имеющихся эпидемиологических свидетельств на этот счет пока недостаточно [Lytras et al., 2014; Liu et al., 2014]. Влияние ожирения на онкологический риск носит комплексный характер. Так, ожирение ассоциировано с дислипидемией, формированием инсулин-резистентности, гиперинсулинемией, снижением в результате гиперинсулинемии активности белков, связывающих инсулиноподобный фактор роста 1 и повышением активности последнего; с выработкой в жировой ткани адипокинов (лептин, адипонектин, интерлейкин 6, фактор некроза опухолей α и так далее) – сигнальных молекул, разносторонне влияющих на множество мишеней, и в целом провоцирующих воспаление [Renehan et al., 2015]. Интересно, что среди больных с синдромом Линча, вошедших в клиническое испытание по химиопрофилактике РТК аспирином (CAPP2), прием аспирина устранял вызванное ожирением дополнительное повышение риска у больных синдромом Линча с избыточным весом [Movahedi et al., 2015]. Разумеется, экстраполировать эти данные на типичный спорадический рак толстой кишки следует с осторожностью, так как РТК, возникающий в контексте синдрома Линча, обладает рядом клинико-биологических особенностей. И все же можно полагать, что эти данные в ряду иных свидетельств говорят в пользу значимости, возможно, даже о ведущей роли хронического системного и местного воспаления в генезе повышения онкологического риска у лиц с избыточной массой тела. Сахарный диабет второго типа даже независимо от остальных перечисленных факторов риска (и не находясь в составе метаболического синдрома) способен повышать риск развития аденоматозных полипов и РТК [Yu et al., 2016; Tsilidis et al., 2015; Zanders et al., 2015; Deng et al., 2014; Yuhara et al., 2011]. Патогенетической основой повышения риска в случае сахарного диабета второго типа служит прежде всего гиперинсулинемия, понижение активности белков, связывающих инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF1) и последующая активация IGF1, гипергликемия, дислипидемия [Teng et al., 2016; Gallagher and LeRoith, 2015; Vigneri et al., 2016]. Инсулиноterapia диабета также вносит свой вклад в повышение онкологического риска (это справедливо и для диабета 1 типа, однако интересно, что спектр новообразований, риск которых нарастает при этой форме диабета, иной по

сравнению с сахарным диабетом 2 типа [Vigneri et al., 2016]) [Holden et al., 2015]. Возможно, терапия метформином, напротив, снижает риск колоректального рака у больных сахарным диабетом, хотя данные пока противоречивы [Sehdev et al., 2015; Kowall et al., 2015; Nie et al., 2016]. Существуют любопытные наблюдения, согласно которым рождение у женщин крупного плода (>4000 граммов) ассоциировано с некоторым повышением риска колоректального рака [Berstein, 1988; Crump et al., 2015], причем ассоциация эта остается достоверной даже независимо от массы тела матери и наличия\отсутствия сахарного диабета [Crump et al., 2015]. Связывают этот факт прежде всего с повышением IGF1 в плазме крови женщины, что оказывает влияние как на вес плода, так и на риск колоректального рака у матери в дальнейшем [Crump et al., 2015].

Интересно, что многие исследования показывают также ассоциацию между высоким ростом и увеличением риска развития РТК [Thrift et al., 2015; Boursi et al., 2014]. Связь эта, возможно, в большей степени выражена у женщин [Thrift et al., 2015]. По большому счету, феномен этот не объяснен, хотя система гормона роста и IGF1, а также модуляция работы этой системы половыми гормонами, скорее всего, имеет прямое к нему отношение. Дополнительное тому подтверждение – увеличение риска развития аденом у больных с акромегалией [Dworakowska et al., 2010] и, напротив, низкая встречаемость рака вообще и РТК в частности у лиц с наследственными дефектами рецептора гормона роста [Guevara-Aguirre et al., 2011]. Совсем недавно вышла работа, раскрывающая часть лежащих в основе этого феномена патогенетических механизмов [Chesnokova et al., 2016].

Риск развития РТК в большинстве популяций, в том числе и в России, на 30-40% выше у мужчин, чем у женщин [Murphy et al., 2011; Ferlay et al., 2013; Siegel et al., 2014; Каприн и др., 2016]. Наиболее выражено преобладание мужчин в структуре заболеваемости раком прямой кишки. Проксимальные отделы толстой кишки, напротив, чаще поражаются у женщин, причем эта тенденция становится все более и более выражена с возрастом [Murphy et al., 2011; Siegel et al., 2014]. Это, вероятно, связано с повышением у пожилых женщин частоты развития подтипа РТК, характеризующегося метилаторным фенотипом, выраженной микросателлитной нестабильностью и преимущественной локализацией в проксимальных отделах ободочной кишки. Данная тенденция имеет последствия для клинической практики, так как исследование проксимальных отделов толстой кишки в ходе эндоскопического скрининга технически сложнее, чем изучение дистальных отделов и прямой кишки. Повышенная частота РТК у мужчин объясняется обычно различным воздействием иных факторов риска у мужчин и женщин (диета, вредные привычки), а также влиянием гормонально-метаболических факторов. Влияние половых гормонов на колоректальный канцерогенез – сложная проблема с рядом нерешенных вопросов. Механизм этого влияния по существу не установлен. Известно, что

высокий уровень тестостерона у мужчин оказывает протективный эффект (поэтому привлечение половых гормонов к объяснению полового диморфизма в степени риска развития РТК проблематично), у женщин же в постменопаузальный период со снижением риска РТК ассоциировано высокое отношение эстрогенов к андрогенам [Lin et al., 2013]. Что касается собственно уровня эстрогенов как такового, имеющиеся исследования приносят разноречивые результаты [Clendenen et al., 2009; Lin et al., 2012; Murphy et al., 2015]. Заместительная гормональная терапия, согласно большинству исследований, дает существенное, порядка 20-40%, снижение риска развития РТК [Mørch et al., 2016; LinEstro et al., 2012; Newcomb et al., 2007]. В некотором противоречии с выводами из первоначальных наблюдений [Slattery et al., 2001], по ряду более новых данных, лишь «традиционный» путь развития РТК подавляется заместительной гормональной терапией, позитивный эффект в отношении рака с метилаторным фенотипом и микросателлитной нестабильностью не наблюдается [Newcomb et al., 2007; Limsui et al., 2014]. Интересно, что андрогенная депривация, по-видимому, также повышает риск развития РТК у мужчин, больных раком простаты, хотя проконтролировать независимость этого повышения от всех сопряженных с риском рака простаты и его лечением посторонних факторов тяжело [Gillesen et al., 2010].

Количество детей по разным данным влияет на риск развития РТК у матери в противоположных направлениях [Lu et al., 2014; Guan et al., 2013; Wernli et al., 2009]. Возможно, количество беременностей в целом в большей степени связано со снижением риска РТК, чем количество беременностей, завершившихся родами или количество детей [Wernli et al., 2009]. Любопытно наблюдение, что с количеством детей повышается риск рака проксимальных отделов толстой кишки, хотя в литературе можно встретить и противоположные сведения (противоречия, возможно, объяснимые влиянием посторонних факторов, прежде всего, относительно молодого возраста участниц исследуемых когорт при недостаточной длительности наблюдения) [Lu et al., 2014; Broeders et al., 1996]. Очевидно, что в ходе беременности и после родов резко сменяется гормонально-метаболический фон, что, видимо, и вносит основной вклад в возможное изменение риска.

Недостаточно изученной, но крайне важной проблемой является влияние на риск РТК микрофлоры толстой кишки. Действительно, влияние наличия микрофлоры кишки на канцерогенез показано в опытах на гнотобионтах, известен целый ряд разнообразных механизмов, посредством которых микробиом оказывает влияние на хозяина. В частности, микрофлора модулирует работу иммунной системы, оказывает морфогенетическое влияние на структуры слизистой кишки, метаболизирует различные вещества, попадающие в просвет кишки. Сложность изучения влияния микрофлоры толстой кишки заключается в разнообразии представителей кишечной микрофлоры (более 500 видов у здорового человека), в широкой

индивидуальной изменчивости композиции микрофлоры, в зависимости этой композиции от транзиторных средовых влияний, в тяжести выявления каузальности связи изменений в композиции микрофлоры и РТК, в методической сложности микробиологических процедур и биоинформатической обработки метагеномных исследований. Микробиом больных РТК и здоровых людей отличается в целом: повышается количество различных условно-патогенных микроорганизмов, снижается доля бактерий, производящих бутират, обладающий противоопухолевыми свойствами [Wang et al., 2012]. Помимо нарушения композиции микробного сообщества, наблюдаются и аномалии его организации: показана ассоциация опухолей, развивающихся в проксимальных отделах толстой кишки, с образованием микробных биопленок из различных микроорганизмов, инфильтрирующих опухоль и обильно покрывающих участки гистологически неизменной нормальной слизистой толстой кишки [Dejea et al., 2014]. На данный момент полностью достоверных данных в пользу ассоциации тех или иных отдельных микроорганизмов и РТК не получено. Тем не менее, к условно-патогенным микробным агентам, возможно имеющим отношение к заболеваемости РТК, относят: *Streptococcus bovis* - за счет формирования хронического локального воспаления при адгезии на стенках толстой кишки [Boleij et al., 2011]; *Helicobacter pylori* - за счет провоспалительного и митогенного токсина *cagA* [Papasterigiou et al., 2016]; *Fusobacterium nucleatum* - за счет бактериального белка адгезии *FadA*, взаимодействующего с сигнальным путем *Wnt/β-catenin* [Bashir et al., 2015]; некоторые штаммы *Escherichia coli* - за счет ряда генотоксичных белков [Raisch et al., 2014]; *Bacillus fragilis* - за счет провоспалительного, митогенного и генотоксичного белка *bft* [Boleij et al., 2015]; *Enterococcus faecalis* и *Clostridium septicum* - инфекции часто встречаются у больных РТК, скорее всего вследствие благоприятной для этих бактерий среды опухолевого микроокружения [Schwabe and Jobin, 2013; Louis et al., 2014; Gagnière et al., 2016; Drewes et al., 2016]. Возможно, наиболее обоснована роль микроорганизма *Fusobacterium nucleatum*, в норме колонизирующего полость рта и ассоциированного преимущественно с раком проксимальных отделов толстой кишки, протекающим с наличием микросателлитной нестабильности [Yu et al., 2016]. Очевидно, что в генезе характеристик микробиома кишки принимают участие и наследственные, и средовые факторы.

Резкий контраст с перечисленными слабыми, но крайне распространенными факторами риска и протективными факторами составляют воспалительные заболевания толстой кишки: болезнь Крона и неспецифический язвенный колит. Частота этих заболеваний различна в разных регионах мира, составляя в Европе около 0,5-10,6 случаев на 100000 человеко-лет для болезни Крона и 0,9-24,3 на 100000 человеко-лет в случае язвенного колита. Частота выше в наиболее развитых странах Западной Европы и падает в Восточной и Южной Европе. Таким

образом, воспалительными заболеваниями толстой кишки страдают около 0,3%-0,4% европейского населения [Burisch et al., 2013; Kaplan, 2015]. При отсутствии соответствующего лечения и колоноскопического скрининга вовлекающие толстую кишку болезнь Крона и особенно неспецифический язвенный колит - редкие, но сильные факторы риска развития РТК. На фоне воспалительных заболеваний кишки развивается до 2% РТК. Исторически, до внедрения современных стандартов диагностики, скрининга и лечения, при язвенном колите отмечался кумулятивный риск заболевания РТК 2% во время первой декады течения язвенного колита, 8% на второй декаде и 18% на третьей [Eaden et al., 2001]. При болезни Крона отмечалось повышение риска РТК на 90% [Jess et al., 2005]. Полученные высокие показатели риска стимулировали внедрение агрессивных программ колоноскопического скрининга: американские рекомендации подразумевают колоноскопию каждые 1-2 года, британские и европейские – стратификацию больных на группы риска, проходящие обследование с различной частотой (1-2 года, 3 года, 5 лет) [Beaugerie and Itzkowitz, 2015]. Активное внедрение скрининга, эффективный контроль воспалительного процесса консервативными методами и оперативное лечение в редких не поддающихся такой терапии случаях, увеличение выявления более мягких форм заболевания, возможно, изменение характера течения заболевания при нарастающей его частоте, а также возможное «оскудение» повторно описываемых долгие годы когорт в отношении больных высокого риска, давно заболевших РТК и выявленных в ходе ранних исследований – все эти моменты привели к серьезному снижению риска развития РТК в последних мета-анализах (как правило, включающих повторные описания ранее изученных когорт). Степень этого снижения вызывает дискуссии. На данный момент, по одним данным, риск РТК все же повышается у больных воспалительными заболеваниями кишки на 70% [Lutgens et al., 2013], по другим – типичное течение этих заболеваний при адекватном ведении больных вообще не отягощено повышенным риском развития колоректального рака [Jess et al., 2012]. Интенсивность воспаления может потребовать хирургического лечения, в том числе колэктомии (приблизительно 10% случаев язвенного колита), даже независимо от формирования предраковых изменений и рака, хотя, очевидно, онкологические заболевания также предотвращаются. Различная степень приверженности агрессивной тактике лечения вносит вклад в противоречия в сообщениях об эпидемиологии РТК, ассоциированного с колитом. Помимо адекватности терапии, степень риска зависит от длительности процесса и площади толстой кишки, охваченной воспалением. Например, у лиц, страдающих панколитом с молодого возраста, риск РТК в течение жизни превышает 15% [Lutgens et al., 2013; Beaugerie and Itzkowitz, 2015]. Особенно сильно повышение риска у людей, страдающим редким, но неблагоприятным подтипом воспалительной болезни толстой кишки (как болезни Крона, так и неспецифического язвенного колита), осложненным склерозирующим холангитом. Вариант

этот встречается в 0,5-2% случаев болезни Крона и 2-4% случаев неспецифического язвенного колита [Burisch et al., 2013] и ассоциирован с четырех - девятикратным повышением риска РТК [Jess et al., 2012; Kim and Chang, 2014], несмотря на адекватное лечение.

Рак и предраковые изменения, развивающиеся из участков кишки, затронутых воспалительным процессом, под воздействием оксидативного стресса и медиаторов воспаления, имеют свои морфологические и молекулярные особенности [Scarpa et al., 2014; Kim and Chang, 2014; Beaugerie and Itzkowitz, 2015]. В таких случаях имеется эффект «раковых полей», одновременно можно встретить множество участков предраковых состояний слизистой толстой кишки. Как правило, морфологическим предшественником РТК при колите является не обычный аденоматозный полип или даже «сидячая» зубчатая аденома, а плоская или уплощенная область диспластически измененной слизистой кишки. Молекулярные особенности развивающихся при воспалительных заболеваниях кишки раков изучены недостаточно. Тем не менее, существуют данные, что чаще всего эти РТК характеризуются выраженной хромосомной нестабильностью, анеуплоидией [Gerling et al., 2013]. В то же время, как и в случае спорадических РТК, около 10% подобных новообразований характеризуются микросателлитной нестабильностью. Она сопровождается потерей экспрессии различных генов системы репарации неспаренных оснований ДНК [Svrcek et al., 2007], в том числе MLH1 - но лишь в половине случаев за счет гиперметилирования его промотора [Fleisher et al., 2000; Svrcek et al., 2007]. Доля случаев микросателлитной нестабильности, не связанных с гиперметилированием промотора MLH1, судя по всему, значительно выше в ассоциированных с колитом новообразованиях, чем в спорадических раках с микросателлитной нестабильностью. Хотя соответствующих исследований не проводилось, можно предположить, что потеря экспрессии генов системы репарации неспаренных оснований ДНК в случаях, не связанных с гиперметилированием промотора гена MLH1, может быть обусловлена соматическими мутациями в соответствующих генах, подобно аналогичным ситуациям в спорадических раках толстой кишки [Sourrouille et al., 2013; Mesenkamp et al., 2014; Haraldsdottir et al., 2014]. Интересно, что, хотя при ассоциированных с колитом РТК как в случаях хромосомной нестабильности, так и в результате микросателлитной нестабильности встречаются мутации в тех же генах, что и в аналогичных спорадических раках (APC, KRAS, P53, TGFBR2, BRAF), порядок появления этих мутаций в ходе опухолевой прогрессии и частота их резко отличает такие новообразования от спорадических РТК. Уже ранние исследования 90х годов показали, что в отличие от типичных спорадических раков, развивающихся из последовательности аденома-карцинома, наиболее ранним событием в цепи воспаление-дисплазия-аденокарцинома обычно является мутация p53, а мутация в гене APC, напротив, встречается на более поздних стадиях и в меньшем количестве случаев, чем в спорадических РТК [Scarpa et al., 2014; Kim and

Chang, 2014]. К сожалению, эти интересные находки не послужили стимулом подтвердить их в более позднее время более новыми методами генетического анализа. Косвенно их поддерживают недавно полученные данные, показывающие, что существует особая разновидность хронического воспаления – т.н. паравоспаление, которая сильнейшим образом способствует злокачественной трансформации клеток слизистой кишки – но лишь при условии предварительной инактивации p53. Более того, паравоспаление подавляется НПВС [Aran et al., 2016; Pribluda et al., 2013].

Этиология болезни Крона и неспецифического язвенного колита по существу неизвестна. Есть ряд весьма редких моногенных форм колита, характеризующихся ранним началом и связанных с мутациями в различных генах иммунной системы (IL10, IL10RA, IL10RB, XIAP, ADAM17 и т.д.) [Moran et al., 2015]. Существуют многочисленные полиморфизмы, также относящиеся к функционированию иммунитета, обычно врожденного, минорные варианты которых модифицируют риск развития болезни Крона, неспецифического язвенного колита, или же, чаще, обоих состояний. На данный момент насчитывают 201 такой вариант. Наиболее известен ген NOD2, ряд вариантов которого ассоциирован с приблизительно трехкратным повышением риска развития болезни Крона по сравнению с популяционным. Риск, обеспечиваемый другими известными полиморфизмами, как правило, еще ниже [McGovern et al., 2015; Cleynen and Vermeire, 2015]. Недавно было обнаружено, что клинически схожий с синдромом Марфана синдром Луиса-Дитца, обусловленный наследственными мутациями в генах TGFBR1 и TGFBR2, связан с 10-кратным повышением риска развития воспалительных заболеваний кишки [Guerrero et al., 2016]. Таким образом, эти повреждения занимают промежуточное положение между редчайшими вариантами, вызывающими высокопенетрантные моногенные болезни, и частыми вариантами, слабо предрасполагающими к развитию воспалительных заболеваний толстой кишки. Большинство случаев, тем не менее, генетическими причинами не объясняются [McGovern et al., 2015; Cleynen and Vermeire, 2015]. Известно, что микробиом больных воспалительными заболеваниями толстой кишки сильно отличается от микрофлоры здоровых людей [Gevers et al., 2014]. В совокупности со сведениями о физиологической роли генов, ассоциированных с повышением риска воспалительных заболеваний кишки, эти и другие подобные данные дают основание полагать, что в основе патогенеза воспалительных заболеваний кишки лежит комплексное взаимодействие между конституциональными особенностями иммунной системы, организацией, композицией и составом микрофлоры, а также питанием и иными средовыми влияниями [Basson et al., 2016].

Риск рака толстой кишки при воспалительных заболеваниях кишки также модифицируется генетическими причинами и средовыми влияниями. Известно, например, что семейная история РТК, осложнившего течение воспалительного заболевания кишки, повышает

риск РТК у пробанда в 2,5 раз [Askling et al., 2001]. Любопытно, что у больных синдромом Линча, одновременно страдающих воспалительными заболеваниями кишки, риск РТК, по-видимому, дополнительно не повышается по сравнению с неотягощенными наследственной патологией пациентами (вероятно, в силу частого скрининга), но средний возраст начала РТК снижается у таких носителей высокопенетрантных патогенных мутаций приблизительно на 10 лет [Derikx et al., 2016]. Примером средового влияния может послужить модификация риска развития РТК уровнем витамина D: повышение уровня витамина D в плазме на 1 нг/мл было связано со снижением риска РТК на 8% [Ananthakrishnan et al., 2013].

Таким образом, можно отметить, что для рака толстой кишки существуют разнообразные факторы риска и факторы, обладающие протективным эффектом. К ним относятся сравнительно легко модифицируемые, но слабые внешние влияния: вредные привычки – курение и алкоголизм; диета с повышенным потреблением мяса и малым – овощей и фруктов, с избытком поступающих с водой и пищей нитратов, недостатком нерастворимой клетчатки, ряда витаминов, прежде всего витамина D. Протективный эффект оказывает применение нестероидных противовоспалительных препаратов, кофе, возможно – статинов, вероятно – заместительная постменопаузальная гормональная терапия. Хотя сведения о некоторых факторах риска или протекции недостаточны, как недостаточны и наши знания о взаимодействии их между собой и наследственными факторами риска развития РТК, многие из них уже можно использовать для формирования практических рекомендаций, справедливых для любого или практически любого человека: о необходимости отказаться от курения, ограничить употребление алкоголя и т.д. Вполне вероятно, что в дальнейшем будет показана эффективность, к примеру, приема низких доз аспирина для профилактики развития РТК, превышающая риск геморрагических осложнений. Зачастую, факторы риска и протекции действуют на того или иного человека в неслучайных комбинациях, обусловленных психосоциальными и культурно-историческими причинами, при этом взаимодействуя друг с другом и на биологическом уровне. Примером таких сочетаний могут служить, к примеру, распространенные в том или ином регионе пищевые привычки, взятые в комплексе: к примеру, т.н. «средиземноморская диета», оказывающая в целом протективный эффект в отношении РТК [Rosato et al., 2016], или, напротив, «диета западного типа», обладающая неблагоприятным действием. Другие примеры крайне комплексных проблем – повышение риска РТК, связанное с метаболическим синдромом, его причинами и его компонентами; влиянием на риск развития РТК уровня и соотношения половых гормонов у мужчин и женщин; а также с организацией, композицией и составом микрофлоры толстой кишки. Некоторые элементы этих комплексных проблем, например, уровень физической активности, уровень энергетической ценности потребляемой пищи, принципиально модифицируемы. Другие коррекции не поддаются, в силу

незнания механизмов их возникновения или невозможности устранения связанного с ними повышения риска. Если говорить о распространенных, но слабых факторах риска в целом, на данный момент они как правило не влияют на порядок проведения скрининга, но, вполне возможно, с накоплением наших знаний, в будущем они станут полезны и в этом отношении, хотя модифицировать порог скрининга в типичных случаях они будут, вероятно, не слишком значительно [Jung et al., 2015].

К совершенно иной группе следует отнести воспалительные заболевания толстой кишки – этот фактор обеспечивает очень сильное повышение риска и требует радикального пересмотра скрининговых мер. Стандартные рекомендации здесь совершенно неадекватны, но применение особого подхода к ведению этой группы лиц обеспечивает превосходные результаты: снижение риска РТК до среднепопуляционного или даже ниже [Jess et al., 2012]. Дополнительного снижения риска, помимо скрининга, потенциально возможно добиться путем использования знаний о факторах, обладающих протективным, профилактическим эффектом. Прежде всего, это, очевидно, патогенетическое противовоспалительное лечение. Однако, по-видимому, существуют дополнительные меры, позволяющие уменьшить риск. Наконец, при изучении механизмов причинной связи между факторами риска любой степени силы и РТК могут быть получены ценные фундаментальные и практические сведения. Очень интересны недостаточно пока изученные вопросы о взаимодействии наследственных и средовых факторов [Figueiredo et al., 2014]. Следует отметить, что даже относительно слабые факторы риска могут быть ассоциированы не с РТК вообще, а с тем или иным его подтипом (например, курение и проксимальные раки толстой кишки, развивающиеся главным образом у пожилых женщин и характеризующиеся метиляторным фенотипом и микросателлитной нестабильностью). Эти данные можно использовать как в планировании скрининговых мероприятий, так и в ходе ведения больных РТК.

1.3 Молекулярный патогенез РТК и его молекулярная классификация.

Прежде чем перейти к обзору основного вопроса, которому посвящена данная диссертационная работа, к высокорисковым генетическим факторам - наследственным вариантам рака толстой кишки и методам их молекулярно-генетической диагностики, следует вкратце осветить основные моменты молекулярного патогенеза и классификации спорадических форм этого заболевания.

Как и любое другое новообразование, РТК развивается за счет последовательного накопления соматических генных и хромосомных мутаций, а также эпигенетических повреждений. По числу генных мутаций аденокарциномы толстой кишки можно разделить на

«типичные» (около 85% РТК) и «гипермутабельные» (до 15% случаев). Общее количество несинонимичных мутаций в кодирующих областях генов составляет в среднем около 60 в типичных случаях РТК и более 700 – в гипермутабельных [Cancer Genome Atlas Network., 2012]. По современным представлениям, большая часть этих дефектов для развития опухоли незначима. В типичных новообразованиях свыше половины незначимых «пассажи́рских» повреждений возникают в клетке-предшественнике опухолевого клона еще до инициации опухолевого процесса, случайно, в ходе старения [Tomasetti et al., 2013]. Количество существенно значимых, «драйверных» мутаций в онкогенах и антионкогенах, напротив, весьма мало. Хотя традиционно называлась цифра в 6-7 повреждений, для развития РТК, возможно, достаточно всего трех мутаций [Tomasetti et al., 2015]. Наиболее распространены мутации в генах APC, KRAS и TP53, встречающиеся более чем в 40% РТК [Woods et al., 2006; Forbes et al., 2015]. Существуют около 30 генов, относительно часто мутирующих в РТК [Cancer Genome Atlas Network, 2012]. Всего насчитывают 74 опухолевых супрессора и 64 онкогена, вероятно значимых для колоректального рака [Vogelstein et al., 2013]. Помимо генных мутаций, при колоректальном раке могут возникать хромосомные аномалии: например, делеции 1p, 4q, 5q, 17p и q, 18p и 18q, 22q. Также может происходить повышение копияности 1q, 7p и q, 8p и q, 12q, 13q, 19q, 20p и 20q [Cancer Genome Atlas Network, 2012; Woods et al., 2006; Bond et al., 2012; Naan et al., 2014]. Каждая подобная хромосомная перестройка сопровождается утерей либо приобретением лишних копий многих генов. Самая частая хромосомная перестройка при РТК - делеция 18q. Изначально считалось, что основная «мишень» этой делеции – проапоптотический мембранный рецептор DCC. Позже ведущую роль стали приписывать генам SMAD2 и SMAD4, компонентам антионкогенного сигнального каскада TGF-beta, локализованным в том же участке. Нередки в РТК и фокальные участки нарушения копияности, например, амплификация гена IGF2 или HER2 [Cancer Genome Atlas Network, 2012]. Наконец, для формирования РТК важны эпигенетические нарушения: изменения экспрессии генов, гистоновых модификаций, метилирования ДНК. Некоторые из этих перемен носят очевидно вторичный, «реактивный» характер по отношению к генным и хромосомным аномалиям. Часть изменений возникает независимо от них, например, глобальное гипометилирование генома. Оно тесно коррелирует с возрастом больных, встречается и в неизменной ткани. Тем не менее, и такие изменения, возможно, вносят вклад в формирование рака [Zane et al., 2014]. Наконец, особое место в патогенезе части случаев РТК занимает массивное гиперметилирование промоторов множества генов, главным образом, опухолевых супрессоров, приводящее к потере их экспрессии. К числу затрагиваемых генов относятся MLH1, CDKN2A, CASNA1G, LOX, SLC30A10 и другие.

Если рассматривать нарушения генетического аппарата опухолевой клетки при РТК с функциональной точки зрения, можно выделить пять наиболее часто затрагиваемых сигнальных путей и каскадов. Более чем в 90% случаев наблюдается активация онкогенного каскада Wnt-бета-катенин. Обычно она происходит за счет мутаций в гене APC, реже – в генах AXIN2, CTNNB1, DKK1-4 и иных [Polakis, 2012; Cancer Genome Atlas Network, 2012]. Чуть более половины случаев РТК развиваются с дефектами центральных регуляторных звеньев системы репарации двухцепочечных разрывов ДНК и/или межнитевых сшивок ДНК: например, инактивацией белка p53 или ATM, поддерживающих целостность генома и способствующих клеточному старению или апоптозу при невозможности такую целостность поддержать [Cancer Genome Atlas Network, 2012]. В 30-60% случаев нарушается работа антионкогенного каскада TGF-beta [Skeen et al., 2012; Cancer Genome Atlas Network, 2012]. Более чем в половине случаев в опухоли затрагивается мутациями онкогенный каскад RAS-МАРК [Cancer Genome Atlas Network, 2012]. С каскадом RAS-МАРК тесно переплетен онкогенный каскад IGF-PIK3CA-PTEN-АКТ, затрагиваемый мутациями в 30-40% случаев РТК [CGA, Danielsen et al., 2015]. Вообще, необходимо отметить, что все перечисленные каскады имеют многочисленные пересечения, они не имеют совершенно объективных и четких границ [Sever and Brugge, 2015]. Практически любой белок имеет в клетке различные функции и может быть описан как компонент различных «функциональных систем». Например, помимо ключевой роли в негативном регулировании каскада Wnt-beta-catenin, APC участвует в обеспечении правильной сегрегации хромосом во время митоза. Неудивительно, в свете этих данных, что в опухолях, характеризующихся множественными хромосомными аномалиями, чаще всего обнаруживают мутации в гене APC. В то же время в опухолях без хромосомной нестабильности тот же каскад Wnt-beta-catenin чаще затронут мутациями в иных генах [Caldwell and Kaplan, 2009].

Рассматривая генетические и эпигенетические аномалии при РТК с точки зрения их генеза и развития, можно выделить три или четыре основные формы мутационного/эпимутационного процесса. Первая из них - хромосомная нестабильность (chromosomal instability, CIN), характеризующаяся множественными хромосомными перестройками в опухолевом геноме, при сравнительно небольшом количестве генных мутаций [Pino and Chung, 2010]. Хромосомная нестабильность встречается приблизительно в 70-85% случаев РТК [Pino and Chung, 2010; Simons et al., 2013; Ostwald et al., 2009]. Количественных критериев хромосомной нестабильности, оценивающих ее уровень и качественные особенности перестроек, не существует. Причины хромосомной нестабильности не вполне известны, хотя считается, что вклад в нее вносят мутации в генах, в той или иной степени отвечающих за сегрегацию хромосом и контроль за этим процессом [Ertych et al., 2014], в том числе APC [Caldwell and Kaplan, 2009]), критическое укорочение теломер, дефекты репарации

двухцепочечных разрывов ДНК [Pino and Chung, 2010; Putnam et al., 2016]. Вторая форма мутационного процесса – микросателлитная нестабильность, главная и самая частая причина гипермутабельности опухолей толстой кишки. Микросателлитная нестабильность характеризуется множеством генных мутаций, прежде всего делеций и дупликаций в микросателлитных повторах – участках последовательности ДНК, в которых многократно повторяются от 1 до 6 нуклеотидов [Vilar and Taberero, 2013]. Существует несколько распространенных панелей микросателлитных маркеров, мутации которых достаточно специфичны или практически патогномоничны для опухолей с микросателлитной нестабильностью. Большинство разновидностей сводятся к незначительным модификациям двух панелей, дающих сопоставимые результаты: предложенная несколько ранее состоит из моно- и динуклеотидных микросателлитных маркеров [Boland et al., 1998; Umar et al., 2004], более поздняя и незначительно более специфичная – лишь из мононуклеотидных [Suraweera et al., 2002]. Изначально большинство исследователей подразделяло степень микросателлитной нестабильности на высокую (high level microsatellite instability, MSI-H) и низкую (low level microsatellite instability, MSI-L), однако для низкого уровня микросателлитной нестабильности не было продемонстрировано значительных, достоверных ассоциаций ни с какими клинико-биологическими отличиями РТК от опухолей без микросателлитной нестабильности (microsatellite stable, MSS) [Vilar and Taberero, 2013]. Более того, полноэкзомный анализ микросателлитов показывает, что в MSI-L случаях нестабильность часто ограничивается изучаемыми для постановки этого молекулярного «диагноза» последовательностями [Kim et al., 2013]. Частота микросателлитной нестабильности при РТК составляет, по разным данным, полученным в разных популяциях, от 1,5% до 23% и более [Perez-Carbonell et al., 2012; Salovaara et al., 2000; Ravnik-Glavac et al., 2000; Cunningham et al., 2001; Samowitz et al., 2001; Lamberti et al., 2006; van Lier et al., 2011; Hampel et al., 2008; Chang et al., 2010; Canard et al., 2012; Kang et al., 2014; Julié et al., 2008; Urso et al., 2012; Berginc et al., 2009]. Причиной микросателлитной нестабильности может служить врожденный или приобретенный дефект генов системы репарации неспаренных оснований (mismatch repair system, MMR). Обычно, в 5% случаев наблюдается изолированная микросателлитная нестабильность, в 5-10% - сочетанная с так называемым «метилиаторным фенотипом» или CIMP (CpG island methylation phenotype) [Ostwald et al., 2009; Simons et al., 2013]. Изолированная микросателлитная нестабильность встречается при синдроме Линча, или наследственном неполипозном раке толстой кишки, вызываемом наследственными мутациями в генах системы MMR; а также в случае биаллельных соматических мутаций в этих генах [Cancer Genome Atlas Network, 2012; Donehower et al., 2013; Sourrouille et al., 2013; Mesenkamp et al., 2014; Haraldsdottir et al., 2014; Geurts-Giele et al., 2014]. В ходе формирования «метилиаторного фенотипа» приблизительно в

половине случаев метилируется промотор гена MLH1, входящего в систему репарации неспаренных оснований. Это и служит причиной нередкого сочетания двух этих форм мутационного процесса – микросателлитной нестабильности и «метильторного фенотипа». Интересно, что соотношение MSI-H/CIMP- РТК и MSI-H/CIMP+ РТК различается в странах Запада (в соотношении 2:1 преобладает подтип MSI-H/CIMP+) и Дальнего Востока (в соотношении 1:1,6-1:2,3 преобладает подтип MSI-H/CIMP- [Kang, 2011]. Помимо микросателлитной нестабильности, есть и другие возможные причины гипермутабельности в спорадических РТК, за счет редких соматических мутаций в генах POLD1 и POLE [Briggs and Tomlinson, 2013]. Метильторный фенотип – третья форма накопления повреждений генетического аппарата при РТК. Для него свойственно гиперметилирование CpG островков промоторов множества генов, главным образом, опухолевых супрессоров. Следует отметить, что в силу необходимости специальных методов для выявления хода этого процесса, он исследован хуже двух других. Методики и панели маркеров для выявления метильторного фенотипа достаточно сильно различаются. Методики, позволяющие оценить метилирование в большом количестве генов, применяются редко [Yagi et al., 2010]. По-видимому, метильторный фенотип разбивается на два биологически различных варианта: с высоким (CIMP-H) и низким/промежуточным уровнем метилирования (CIMP-L), хотя критерии их разделения не являются общепризнанными [Hughes et al., 2012; Shen et al., 2007; Ogino et al., 2006; Yagi et al., 2010; Jia et al., 2016]. Интересно, что вариант с высоким уровнем метилирования тесно ассоциирован с мутациями в компоненте каскада KRAS-МАРК, гене BRAF, а промежуточный уровень метилирования – с мутациями в гене KRAS [Ogino et al., 2006; Shen et al., 2007; Yagi et al., 2010]. Часто, впрочем, в качестве «метильторного» фенотипа признают лишь вариант с высоким уровнем метилирования, встречающийся в 10-20% РТК [Yagi et al., 2010; Gallois et al., 2016]. 80% CIMP-H случаев РТК показывают сочетанный MSI-H/CIMP+ тип, в 60% этих опухолей наблюдается мутация в гене BRAF. Причина развития метильторного фенотипа с высоким уровнем метилирования не вполне ясна. Метильторный фенотип с промежуточным уровнем метилирования, возможно, ассоциирован с первичным метилированием O-6-метилгуанин ДНК метилтрансферазы (MGMT), фермента, репарирующего повреждения, нанесенные алкилирующими агентами, прежде всего O-6-метилгуанин. Наконец, существует форма геномной нестабильности, статус которой долгое время находился под вопросом, однако в последнее время накапливаются все новые свидетельства в пользу ее патогенетической значимости для колоректального рака: «повышенная частота альтераций микросателлитов в отдельных тетра核леотидных повторах» (elevated microsatellite alterations at selected tetranucleotide repeats, EMAST). Она проявляется как микросателлитной нестабильностью, в отличие от «истинной» микросателлитной нестабильности ограниченной ди- три- и

тетрануклеотидными повторами (за счет чего случаи EМAST, вероятно, пересекаются со случаями MSI-L), так и нарушением репарации двухцепочечных разрывов ДНК, и, как следствие, хромосомной нестабильностью [Haugen et al., 2008; Carethers et al., 2015a]. Встречается EМAST в 60% случаев РТК. Она обусловлена функциональной или структурной инактивацией гена MSH3, обеспечивающего в рамках системы MMR распознавание участков одноцепочечной ДНК длиной в несколько неспаренных оснований. В последовательности гена MSH3 имеется микросателлит, очень часто претерпевающий мутационные изменения в случаях «истинной» микросателлитной нестабильности. Также ген MSH3 нередко функционально инактивирован в части опухолевых клеток, находящихся под воздействием гипоксии и медиаторов воспаления. Недавняя находка – новая форма наследственного аденоматозного полипоза толстой кишки, ассоциированного с биаллельными мутациями в гене MSH3: закономерным образом, опухоли, развивающиеся в рамках этого новооткрытого синдрома, характеризуются EМAST [Adam et al., 2016].

Для колоректального рака существуют несколько основных последовательностей морфологических преобразований, характеризующих превращение предраковых состояний в злокачественную опухоль. По распространенной схеме, основанной на классификации РТК по J.Jass [Jass, 2007], предложенной Leggett и Whitehouse и связанной с отношением к CIMP-фенотипу, выделяют три таких пути: «традиционный» путь развития, «альтернативный» и «зубчатый», и связаны они с превращением в злокачественную опухоль либо аденоматозного полипа, либо «зубчатого» повреждения [Leggett and Whitehall, 2010]. Ранее «альтернативный» путь развития колоректального рака не выделяли отдельно из «традиционного». Молекулярной основой этих путей развития служат взаимосвязанные формы мутационного процесса в целом и конкретные молекулярные нарушения в частности. Наиболее часто реализуется «традиционный» путь. Сама возможность осуществлять эффективный скрининг РТК и его поздних предшественников базируется на том факте, что в типичном случае колоректальный рак - заболевание, развивающееся весьма медленно, из хорошо заметных макроскопически доброкачественных опухолевых предшественников. Также эта особенность РТК давно отмечалась как средство обеспечить редкую возможность наблюдения и изучения процесса и закономерностей опухолевой прогрессии [Ashley, 1969; Fearon and Vogelstein., 1990]. Итак, наиболее типична для РТК последовательность «аденома-аденокарцинома». Считается, что в начале этого пути лежит фокус aberrантных крипт, транзиторная и легко обратимая морфологическая аномалия, трудно заметная при обычном колоноскопическом исследовании, и присутствующая у большой доли населения [Lopez-Ceron and Pellise, 2012]. Неудивительно, что это труднодоступное изучению и клинически малозначимое образование недостаточно полно охарактеризовано, и к существующим данным, основанным на немногочисленных работах,

следует отнестись с осторожностью. Тем не менее, морфологически выделяют гиперпластические и диспластические фокусы aberrантных крипт. В гиперпластических фокусах aberrантных крипт находят мутации в гене KRAS или BRAF, обычно считается возможным участие гиперпластических фокусов в формировании некоторых разрядов «зубчатых» новообразований, а также в «альтернативном» пути формирования аденоматозного полипа, без мутаций APC. В то же время в диспластических фокусах aberrантных крипт нередко выявляют мутации в гене APC, и именно эти повреждения считают необходимыми для следующего шага в ходе опухолевой прогрессии – превращения в аденоматозный полип. Морфологически выделяют тубулярные, тубуловиллезные и виллезные полипы. Некрупные, менее 1 сантиметра, тубулярные аденоматозные полипы встречаются чрезвычайно часто, однако высокая степень дисплазии в них редка, порядка 1% [Langner, 2015]. Увеличение размера аденомы и нарастание дисплазии ассоциировано с накоплением хромосомных аномалий (в том числе извращением работы сигнального каскада TGF-beta за счет делеции SMAD4 и SMAD2, расположенных на 18q), и/или с мутацией в гене TP53. Крупная аденома с высокой степенью дисплазии сравнительно быстро озлокачивается за счет накопления дальнейших повреждений [Leggett and Whitehall, 2010]. Таким образом, возникающие РТК характеризуются изолированной хромосомной нестабильностью, мутациями в генах APC, иногда TP53, отсутствием мутаций в генах KRAS и BRAF. «Альтернативный» путь по Leggett и Whitehall (он же «fusion pathway» по Jass [Jass et al., 2006]) предполагает конвергенцию траекторий развития части небольших тубулярных аденом и части традиционных зубчатых полипов. Небольшие тубулярные аденомы предположительно развиваются, как описано выше, из диспластических фокусов aberrантных крипт с мутацией в гене APC. Среди аденоматозных полипов частота активирующих мутаций в гене KRAS резко нарастает в образованиях с ворсинчатым компонентом [Zauber et al., 2013]. Тубуловиллезные и виллезные полипы характеризуются большей, чем у тубулярных, частотой высокой степени дисплазии, около 14% [Langner, 2015]. Помимо мутаций в гене KRAS, в этих опухолях выявляется хромосомная нестабильность и низкий/промежуточный уровень метилирования, обычно затрагивающий промотор гена MGMT. С накоплением молекулярных повреждений в дополнение к мутациям в генах APC и KRAS эти высокорисковые повреждения малигнизируются. Второй вариант «fusion pathway», связанный с эволюцией «зубчатых» повреждений, начинается с гиперпластических фокусов aberrантных крипт, в которых присутствует мутация в гене KRAS. В дальнейшем, в рамках CIMP-L фенотипа возникает метилирование промоторов ряда генов, в том числе CDKN2A и IGFBP7. С этими молекулярными повреждениями ассоциирован переход фокуса aberrантных крипт в традиционную зубчатую аденому или в смешанный полип, а затем в аденокарциному.

«Альтернативный путь» чаще осуществляется у мужчин, чем у женщин, и ассоциирован с плохим прогнозом [Yagi et al., 2010].

В случае отсутствия гиперметилирования KRAS-мутантные очаги aberrантных крипт дают начало гиперпластическим полипам, содержащим бокаловидные клетки - образованиям с низким потенциалом к малигнизации.

Третий, «зубчатый» путь развития начинается с BRAF-мутантных гиперпластических фокусов aberrантных крипт, которые преобразуются в микровезикулярный гиперпластический полип. Большая часть таких полипов далее по пути к малигнизации не продвигается, однако меньшая часть, в связи с метилированием ряда опухолевых супрессоров, таких как CDKN2A и IGFBP7, превращается в «сидячую» зубчатую аденому, или зубчатую аденому на широком основании (*sessile serrated adenoma*). Далее этот путь канцерогенеза дивергирует: в части опухолей масштабный процесс гиперметилирования промоторов приводит к эпигенетической инактивации гена системы репарации неспаренных оснований, MLH1. Это, в свою очередь, вызывает развитие микросателлитной нестабильности. В рамках микросателлитной нестабильности «транквирующими» (приводящими к «сдвигу рамки считывания» и/или преждевременной терминации трансляции) мутациями могут быть повреждены множество различных генов, в частности таких значимых антионкогенов, как TGFBR2, ACVR2A, IGFR2, CDX, BAX, CASP5, PTEN, BLM, CHK1, MLH3, RAD50, MSH3 и MSH6 [Boland and Goel, 2010]. Множество возможных драйверных мутаций обуславливает быстрое развитие рака из таких зубчатых аденом. Этот вариант развития в рамках «зубчатого» пути ассоциирован с женским полом, пожилым возрастом, курением и избыточной массой тела у женщин, с вариантом с. - 93G>A в промоторе гена MLH1 [Weisenberger et al., 2015; Miyakura et al., 2014]. Он чаще реализуется в проксимальных отделах толстой кишки, связан с муцинозным гистотипом РТК или аденокарциномами низкой степени дифференцировки, выраженной лимфоцитарной инфильтрацией, отражающей высокую иммуногенность этих новообразований, являющуюся причиной более благоприятного прогноза, своеобразным ответом на химиотерапию (резистентность к 5-фторурацилу) [Bettington et al., 2015; Devaud et al., 2013; Kloor et al., 2014]. Быстрое озлокачествление, плоская форма «сидячей» зубчатой аденомы и неудобная типичная локализация делают этот подтип РТК более многочисленным среди так называемых «интервальных раков», развившихся во временном окне между планируемыми в ходе скрининговых программ обследованиями [Stoffel et al., 2016]. За счет иммуногенности эти опухоли, как правило, отвечают на терапию ингибиторами PD1 [Llosa et al., 2015; Le et al., 2015].

Второй вариант «зубчатого пути» характеризуется отсутствием метилирования промотора MLH1 и микросателлитной нестабильности. В этих новообразованиях часто

встречаются мутации в гене TP53. Возможны фокальные хромосомные aberrации, включая некоторые, не свойственные РТК, развившимся в рамках «традиционного» пути [Bond et al., 2014]. Эти опухоли отличаются наиболее плохим прогнозом из всех разновидностей РТК [Phipps et al., 2015].

Разумеется, не все новообразования укладываются в схему Leggets и Whitehall. Уже один факт, что лишь 60% опухолей с CIMP-H фенотипом является носителями мутации V600E в гене BRAF, показывает ее условность. В качестве еще одного примера можно привести уже рассматривавшийся патогенез РТК при воспалительных заболеваниях кишки: в контексте постоянного действия разнообразных медиаторов воспаления траектория развития опухоли разительно меняется – и первым генетическим повреждением становится мутация в гене TP53. Предраковые изменения в этом случае часто имеют вид необычных плоских новообразований [Harraz et al., 2015]. Другой интересный пример, имеющий прямое отношение к теме данной диссертационной работы – патогенез РТК при синдроме Линча. Отправной точкой опухолевой прогрессии могут служить как диспластичные, так и гиперпластичные фокусы aberrантных крипт [Pedroni et al., 2001]. В этих образованиях уже выявляется микросателлитная нестабильность [Pedroni et al., 2001; Kloor et al., 2012]. Интересно, что существуют свидетельства в пользу исключительно быстрого развития некоторых случаев рака, ассоциированного с синдромом Линча, непосредственно из aberrантных крипт, минуя стадию аденомы, среди новообразований с активирующими мутациями в гене бета-катенина, CTNNB1 [Ahadova et al., 2016]. И все же обычно очаги aberrантных крипт трансформируются в аденоматозные полипы. В аденоматозных полипах микросателлитную нестабильность выявляют у 50% больных синдромом Линча, но применение лазерной микродиссекции повышает частоту выявления MSI-H более чем до 80% [Giuffrè et al., 2005; Pedroni et al., 2001; Yurgelun et al., 2012]. Данные о высокой частоте выявления MSI при условии адекватной подготовки опухолевого материала подтверждаются результатами иммуногистохимических исследований [Pino et al., 2009; Yurgelun et al., 2012]. Аденоматозные полипы при синдроме Линча быстро малигнизируются, подобно MSI-H опухолям в рамках «зубчатого» пути канцерогенеза. Таким образом, эти гипермутабельные новообразования проходят своего рода ускоренный вариант традиционного пути колоректального канцерогенеза. Сходный патогенез, вероятно, у опухолей, ассоциированных с соматическими мутациями в генах системы репарации неспаренных оснований ДНК. Впрочем, судя по высокой частоте мутаций в гене APC, отличающей эти новообразования от иных, ассоциированных с высоким уровнем микросателлитной нестабильности, соматические мутации в генах системы MMR возникают сравнительно поздно, уже после возникновения APC-мутантной тубулярной аденомы [Cancer Genome Atlas Network, 2012; Donehower et al., 2013; Sourrouille et al., 2013; Mesenkamp et al.,

2014; Haraldsdottir et al., 2014; Geurts-Giele et al., 2014]. Еще один любопытный момент, показывающий ограничения модели Leggett и Whitehall: обычно при рассмотрении путей канцерогенеза не считают возможным утерю уже произошедшего и закрепившегося на уровне ДНК молекулярного повреждения. Тем не менее, по-видимому, иногда подобное происходит. Интересно, например, что в аденомах с ворсинчатым компонентом нередко встречаются активирующие мутации в гене *GNAS*, которые в аденокарциномах, развившихся на их же основе, имеющих *GNAS*-мутантную резидуальную часть аденомы, часто утрачиваются [Zauber et al., 2016]. В то же время в муцинозных опухолях аппендикса мутации в гене *GNAS* очень часты, что дает некоторое указание на прямую причастность ворсинчатых опухолей к генезу этого весьма редкого подтипа РТК, в данном случае без утери *GNAS* [Hara et al., 2015; Zauber et al., 2016]. При всех ограничениях, у этой теоретической, несколько умозрительной и недостаточно пока разработанной модели есть, однако, и ряд преимуществ. Можно проиллюстрировать этот тезис примером канцерогенеза при семейном аденоматозном полипозе. Это заболевание ассоциировано с мутациями в гене *APC*. В полном согласии со схемой Leggett и Whitehall, новообразования в рамках этого опухолевого синдрома начинают развиваться из диспластических фокусов aberrантных крипт, образующихся во множестве, претерпевают стадию тубулярной аденомы и далее проходят либо «традиционный», либо «альтернативный» путь канцерогенеза, ассоциированный, соответственно, с низкой и высокой частотой мутаций в гене *KRAS* [Takane et al., 2016].

Очевидно, что и для клинициста, и для патолога, и для молекулярного генетика РТК не является единым заболеванием. Классификация РТК не остается исключительно достоянием фундаментальной науки: своеобразие подтипов отражается в ассоциациях с клинико-патологическими параметрами, ответом на терапию, и потенциально способно служить источником новых подходов к лечению. С точки зрения молекулярной биологии, существует несколько подходов к классификации РТК. Один из них – более новый, но недостаточно разработанный, основан на сравнении экспрессионных характеристик опухолей, объединенных в 4 транскрипционных профиля [Guinney et al., 2015]. Этот подход основан на автоматической статистической обработке значительного массива биоинформатических данных. К сожалению, на пути его практического использования лежат существенные методические препятствия [Dunne et al., 2016]. В рамках другого подхода, разновидности РТК различают главным образом по наличию тех или иных форм мутационного процесса и эпигенетических нарушений: CIN, MSI, CIMP. Этот подход основан на знании об особенностях канцерогенеза при развитии РТК. В его рамках существуют различные варианты классификаций, но по большому счету, имеющиеся варианты разработанных в его рамках классификаций имеют малосущественные различия. Можно отметить больший логический формализм одних вариантов [Kang, 2011] и

стремление подчеркнуть биологические основания классификации и морфологические особенности предраковых состояний в других [Jass, 2007; Phipps et al., 2015]. Данный подход представляется весьма ценным. Наконец, в клинической практике чаще всего имеют дело со стратификацией больных по отдельным клинически значимым биомаркерам, например, наличие/отсутствие мутаций в генах каскада RAS-МАРК для назначения ингибиторов EGFR, и другие. В последнее время особую значимость приобретает различие гипермутабельных новообразований, потенциально вызывающих иммунный ответ, и типичных РТК, для которых характерна слабая иммунная реакция [Cancer Genome Atlas Network, 2012; Müller et al., 2016]. Интересны попытки соотнести между собой классификации, основанные на разных подходах [Müller et al., 2016].

Не имея целью рассмотреть все возможные классификации, мы ограничимся наиболее, с нашей точки зрения, биологически-релевантным вариантом [Jass, 2007]. Итак, по Jass выделено 5 типов РТК: 1) MSI-H, CIMP-H, с присутствием мутации V600E в гене BRAF, происхождение из «зубчатых» повреждений (7-12%); 2) MSS, CIMP-H, с присутствием мутации V600E в гене BRAF, происхождение из «зубчатых» повреждений (4-8%); 3) CIMP-L, с присутствием мутаций в гене KRAS, метилированием MGMT, хромосомная нестабильность, MSS or MSI-L, происхождение из «зубчатых» повреждений и аденоматозных полипов (20-26%); 4) отсутствие метиляторного фенотипа, хромосомная нестабильность, MSS, происхождение из аденоматозных полипов (47-57%); 5) MSI-H, отсутствие метиляторного фенотипа, хромосомной нестабильности, происхождение из аденоматозных полипов - опухоли, ассоциированные с синдромом Линча (3-4%) [Jass, 2007; Phipps et al., 2015]. Этот вариант классификации практически полностью согласуется со схемой путей канцерогенеза при РТК, позже предложенной Leggett и Whitehall. Фактически, они различаются лишь включением в классификацию Jass опухолей с молекулярным профилем, характерным для синдрома Линча. Клинико-биологические особенности различных типов РТК, знание о путях их развития, характерных факторов риска может оптимизировать как скрининг, так и лечение развившихся злокачественных новообразований. Так, например, микросателлитную нестабильность, маркирующую первый и пятый тип РТК, используют для решения вопроса о целесообразности назначения адьювантной терапии на II стадии [Porat et al., 2005; Roth et al., 2012]. Следует отметить, что микросателлитная нестабильность вообще ассоциирована со II стадией из-за выраженного местного роста опухолей при несколько ограниченной их способности к метастазированию даже в регионарные лимфоузлы [Gryfe et al., 2000; Malesci et al., 2007].

Интересно, что в недавней работе, в которой крупная выборка опухолей была категоризирована согласно классификации Jass, 12% РТК не нашли своего места [Phipps et al., 2015]. При всей сложности и гетерогенности РТК, предстающей при попытках решения

проблемы классификации спорадических опухолей толстой кишки, нельзя не отметить, что в целом разнообразие наследственных форм РТК еще выше, и клинико-биологические отличия различных разновидностей более резко разграничивают их друг от друга.

1.4 Наследственный рак толстой кишки: основные разновидности и методы молекулярно-генетической диагностики

1.4.1 Структура наследственной предрасположенности к раку толстой кишки

Известно, что вклад наследственности в этиологию рака толстой кишки (РТК) весьма существенен. Он составляет, согласно данным различных эпидемиологических исследований, порядка 12-35% [Lichtenstein et al., 2000; Czene et al., 2002; Mucci et al., 2016]. Тем не менее, большая часть наследуемости РТК имеет неустановленную генетическую природу. Фактически, на долю известных высокопенетрантных опухолевых синдромов приходится около 3-5% РТК, и менее 1% заболеваемости объясняется известными частыми низкопенетрантными аллелями [Jiao et al., 2014; Peters et al., 2015].

Эти две категории наследственных факторов риска сильно отличаются по клинической значимости. Диагноз высокопенетрантного наследственного опухолевого синдрома говорит о высокой (20-100%) вероятности развития РТК в течение жизни. Он позволяет выявить среди родственников пробанда здоровых носителей патогенных мутаций для проведения скрининга и выполнения профилактических мероприятий. Можно сделать прогноз о вероятности развития у пациентов в дальнейшем новых первичных опухолевых очагов. Наконец, что также представляется крайне важным, в ряде случаев молекулярно-генетический диагноз существенен для оптимизации терапии РТК. Оказалось возможным создать детальные клинические рекомендации, касающиеся вопросов диагностики распространенных синдромов, профилактики и особенностей лечения ассоциированных с ними злокачественных опухолей [Syngal et al., 2016]. Поэтому основная доля исследовательских усилий в решении проблемы «недостающей наследуемости» привлечена именно к поиску высокопенетрантных генов. Эти усилия привели к обнаружению в последние годы ряда новых генов наследственного РТК: POLE, POLD1, NTHL1 и т.д. [Palles et al., 2013; Weren et al., 2015; Adam et al., 2016]. Следует отметить, что повреждения в указанных генах встречаются весьма редко. Статус ряда генов, предположительно ассоциированных с наследственным РТК – ENG, RINT1, RPS20 и других - пока сомнителен [Nieminen et al., 2015; Park et al., 2014; Li et al., 2016]. Учитывая масштаб проводимых исследований и их результаты, маловероятно, что в хорошо изученных популяциях Западной Европы и США будут выявлены новые гены наследственного РТК,

объясняющие более 1% риска РТК [Chubb et al., 2016]. По всей видимости, в дальнейшем будет выявлена существенная часть онкологического риска, обеспечиваемая в популяции множеством индивидуально очень редких, но высокопенетрантных аллелей. Сказанное, впрочем, не столь очевидно в отношении таких плохо исследованных популяций, как российская.

Непосредственная клиническая значимость выявления частых, но низкопенетрантных генетических вариантов, напротив, пока сомнительна, ведь абсолютный риск заболевания в течение жизни повышается у носителей единичных «патогенных» аллелей всего на несколько процентов или даже доли процента. Для них сложно сформулировать специфические рекомендации по скринингу РТК. Носительство подобных вариантов мало детерминирует патогенез РТК по тому или иному пути развития и на данный момент не позволяет как-либо оптимизировать тактику лечения. Даже варианты, промежуточные по степени пенетрантности, составляют известную проблему для специалиста, осуществляющего медико-генетическое консультирование, хотя существуют подходы к инкорпорированию сведений такого рода в планы скрининга [Tung et al., 2016]. Так или иначе, считается, что в целом за счет своей распространенности подобные варианты (включая пока неизвестные) могли бы объяснить порядка 7-8% риска развития РТК [Jiao et al., 2014; Peters et al., 2015]. Поиск низкопенетрантных аллелей затруднен необходимостью включать в исследования исключительно крупные когорты больных и сложностью функциональной оценки выявляемых вариантов. Фундаментальный и практический интерес представляют вопросы взаимодействия таких вариантов друг с другом (например, складываются ли обеспечиваемые ими риски у носителей сочетания многих неблагоприятных аллелей, приводя к высокому кумулятивному риску) и факторами окружающей среды [Jiao et al., 2012; Figueiredo et al., 2014]. Кроме того, часть низкопенетрантных аллелей на самом деле не связана с заболеванием этиологически, но служат лишь маркерами наличия причинно-значимых повреждений генома, располагаясь в соседних с ними областях на хромосоме и будучи с ними генетически сцеплены. В такой ситуации детальное изучение низкопенетрантных аллелей - ключ к открытию новых генов «полноценных» раковых синдромов.

Наконец, возможной ситуацией является развитие РТК как феномена, находящегося на «периферии» проявлений опухолевого синдрома, «ядерными» чертами которого являются опухоли иной локализации. Таковы, например, многие формы семейного рака молочной железы и яичников.

И все же к теме данной диссертационной работы относится прежде всего изучение методов молекулярно-генетической диагностики наиболее распространенных форм собственно наследственных РТК, развившихся в контексте высокопенетрантных опухолевых синдромов.

1.4.2 Общие принципы клинической и молекулярно-генетической диагностики наследственных форм РТК

В клинической практике выявление наследственного РТК и дифференциальный диагноз между различными его формами может оказаться непростой задачей. Так как эти заболевания относительно редки, необходим отбор пациентов на молекулярно-генетическое тестирование по критериям, позволяющим указать на вероятную наследственную природу болезни. Прежде всего, это общие признаки наследственного рака: ранний возраст начала заболевания, первично-множественный характер новообразований, семейная история (обычно – аутосомно-доминантный тип наследования). Практически все наследственные разновидности РТК, кроме синдрома Линча, развиваются на фоне полипоза. Выраженность этих признаков неодинакова для различных наследственных РТК. Существуют гистологические отличия между формами полипоза, помогающие в дифференциальном диагнозе. Более распространены наследственные формы аденоматозного полипоза, доминантные (семейный аденоматозный полипоз, POLE и POLD1-ассоциированный полипоз) и рецессивные (MUTYH-ассоциированный полипоз, NTHL1-ассоциированный полипоз, MSH3-ассоциированный полипоз, полипоз в рамках рецессивного синдрома Тюрко). Редко наблюдается гамартоматозный полипоз (синдром Пейтца-Егерса, ювенильный полипоз толстой кишки, синдром Банаян-Райли-Рувалькаба). Исключительно редок в большинстве популяций, кроме евреев-ашкенази, смешанный полипоз толстой кишки. Таким образом, сведения о наличии, характере и количестве полипов могут оказаться весьма ценными в ходе дифференциальной диагностики.

К молекулярно-генетическим аспектам, облегчающим диагностику наследственного РТК, можно отнести эксплуатацию в диагностических целях специфических «молекулярных подписей» [Alexandrov et al., 2013]. Действительно, ряд наследственных синдромов, возникающих за счет нарушения систем репарации ДНК (синдром Линча, MUTYH и NTHL1-ассоциированный полипоз, POLE и POLD1-ассоциированный полипоз), отличается накоплением в геноме ассоциированных опухолей большого количества однотипных мутаций. Некоторые из этих мутаций специфичны или даже патогномоничны для нарушений соответствующих репарационных систем и могут служить молекулярными симптомами соответствующих синдромов. Общеизвестным примером использования подобного подхода является применение анализа опухолевого генома на микросателлитную нестабильность для выявления случаев синдрома Линча. Менее распространено, но все же применяется использование особой мутационной подписи для диагностики MUTYH-ассоциированного полипоза.

После того, как по клиническим данным и/или при помощи сведений о характерном паттерне мутаций был очерчен круг вероятных синдромов и получено представление, какие гены следует исследовать, есть возможность оптимизировать диагностический алгоритм за счет использования молекулярно-эпидемиологических данных. Проведение анализа на наличие наследственных мутаций в причинно-значимых генах может носить ступенчатый характер и использовать имеющиеся сведения о наличии в этих генах повторяющихся мутаций. Действительно, нередка ситуация, когда существенная доля случаев заболевания в популяции связана с одной или несколькими повторяющимися мутациями. В таких случаях целесообразно предварительно проверить наличие этих повреждений, и лишь при отрицательном результате перейти к анализу полной кодирующей последовательности. «Повторяемость» мутации может быть связана как с популяционно-генетическими причинами (классический «эффект основателя»), так и с «горячими точками мутагенеза» - повышенной склонностью конкретного участка генома к мутационной изменчивости.

Следует отметить, что в настоящее время интенсивно развиваются методики высокопроизводительного секвенирования, позволяющие одновременно оценивать статус множества генов. Появляются работы, оценивающие целесообразность применения секвенирования нового поколения, различных мультигенных диагностических панелей для диагностики наследственных форм гастроинтестинального рака [Cragun et al., 2014; Yurgelun et al., 2015a]. Применение таких панелей и/или удешевление полногеномного секвенирования, возможно, сделает в будущем ненужными существующие алгоритмы молекулярно-генетической диагностики. Тем не менее, пока использование их в рутинной клинической практике невозможно: анализы слишком дороги, трудоемки, и, к тому же, слишком часто приносят сомнительные результаты: многочисленные варианты неясной клинической значимости [Yurgelun et al., 2015a].

1.4.3 Синдром Линча (наследственный неполипозный рак толстой кишки)

Наиболее распространенной и хорошо изученной формой наследственного РТК является синдром Линча или наследственный неполипозный рак толстой кишки (hereditary nonpolyposis colorectal cancer, HNPCC). Он вызывается наследственными мутациями в генах MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 и TACSTD1/EPCAM, развитие ассоциированных с ним гипермутабельных новообразований теснейшим образом связано с феноменом микросателлитной нестабильности. К «ядерным» проявлениям синдрома относится семейный рак толстой кишки и рак эндометрия, кумулятивный риск которых в течение жизни больных нарастает весьма значительно, до 15-80% [Aarnio et al., 1995; Bonadona et al., 2011; Win et al., 2012b; ten Broeke et al., 2015]. Точная

оценка риска в развитых странах на данный момент становится затрудненной, так как успешное внедрение алгоритмов скрининга снижает частоту рака, и проконтролировать эту переменную сложно. Популяционная частота синдрома, как правило, оценивалась по косвенным данным - путем экстраполяции результатов, полученных при изучении частоты заболевания среди неселектированных, «последовательных» когорт больных РТК и раком тела матки (РТМ). В разных популяциях синдром Линча выявляют среди неселектированных случаев РТК с частотой в 0,7-3,7% [Salovaara et al., 2000; Ravnik-Glavac M et al., 2000; Berginc et al., 2009; Lamberti et al., 2006; van Lier et al., 2012; Urso et al., 2012; Julié et al., 2008; Canard et al., 2012; Pérez-Carbonell et al., 2012; Furukawa et al., 2002; Chang et al., 2010; Kang et al., 2014; Cunningham et al., 2001; Samowitz et al., 2001; Hampel et al., 2008]. Таким образом, в хорошо изученных европейских популяциях, а также США, частота синдрома Линча составляет 1:370-1:2000 [de la Chapelle, 2005; Hampel and de la Chapelle, 2013]. К «периферии» спектра опухолей, ассоциированных с синдромом Линча, относят рак яичников [Chui et al., 2014; Helder-Woolderink et al., 2016; Vierkoetter et al., 2014], рак желудка [Park et al., 2000; Barrow et al., 2009; Capelle et al., 2009; da Silva et al., 2010], рак тонкой кишки [Engel et al., 2012], опухоли из уротелия (рак почечной лоханки, мочеточников, мочевого пузыря) [Skeldon et al., 2013; Joost et al., 2015], рак желчевыводящих путей, опухоли кожи и центральной нервной системы. Абсолютный риск этих новообразований составляет порядка 1-20%, причем самыми частыми новообразованиями «второго ряда» являются опухоли яичников [Win et al., 2012b; Watson et al., 2008; Engel et al., 2012]. Ряд крайне редких опухолей, таких как различные саркомы и аденокортикальный рак, также, по-видимому, ассоциирован с этим синдромом [Nilbert et al., 2009; Raymond et al., 2013]. Частота случаев синдрома Линча среди больных аденокортикальным раком практически та же, что и среди больных РТК, однако среди больных синдромом Линча аденокортикальный рак остается большой редкостью (<1%) [Raymond et al., 2013]. Несколько дискуссионным остается вопрос о степени причастности синдрома Линча к развитию рака поджелудочной железы [Kastrinos et al., 2009b], рака молочной железы [Buerki et al., 2012; Harkness et al., 2015], рака простаты [Rosty et al., 2014; Ryan et al., 2014] и, возможно, рака шейки матки [Anthill et al., 2015]. Тем не менее, риск этих новообразований, по всей вероятности, все же повышается у носителей патогенных мутаций и развитие их в таком случае часто идет в русле специфического для синдрома Линча пути канцерогенеза. Вариант синдрома Линча, характеризующийся наличием аденокарцином сальных желез, множественными кератоакантомами и другими поражениями кожи, называется синдромом Мюир-Торре. Этот вариант наблюдается приблизительно в 10-30% случаев синдрома Линча, и имеет более сильную ассоциацию с мутациями в гене MSH2, причем и внутри этого гена существуют мутации более и менее сцепленные с этим генотипом [Ponti et al.,

2016]. Например, частота случаев синдрома Мюир-Торре достигает 75% у носителей мутации с.942+3A>T в гене MSH2 [South et al., 2008].

Знание о наличии патогенной мутации может быть использовано двумя способами и может быть полезно двум категориям лиц. Прежде всего, по причине высокого риска РТК и РТМ здоровым носителям мутаций показан скрининг, заключающийся в проведении частых и регулярных колоноскопических исследований с полипэктомией, а также трансвагинальных УЗИ-исследований с биопсией эндометрия. Существуют дискуссии, касающиеся частоты колоноскопии. Как уже упоминалось выше, опухоли с микросателлитной нестабильностью – будь то спорадическая «зубчатая» опухоль пожилого человека, связанная с гиперметилированием промотора гена MLH1; новообразование, в котором возникла соматическая мутация в генах системы MMR; или же аденоматозный полип у больного синдромом Линча – крайне быстро развиваются [Edelstein et al., 2011]. В Финляндии – стране с двумя распространенными и давно выявленными высокопенетрантными повторяющимися мутациями в гене MLH1 – практиковалось проведение колоноскопии раз в 2-3 года. Проведение колоноскопии раз в 2-3 года более чем вдвое снижает частоту и втрое - смертность от РТК [Järvinen et al., 2000; Järvinen et al., 2009]. В данное время в этой стране ведущие причины смерти среди пациентов с синдромом Линча – внекишечные и внematочные онкологические заболевания [Pylväniäinen et al., 2012]. И все же колоноскопия раз в 1-2 года дает статистически значимое дополнительное снижение риска РТК приблизительно до 6% в течение жизни (причем лишь 10% «интервальных» опухолей имеют распространенный характер) [de Vos tot Nederveen Cappel et al., 2002; Vasen et al., 2010; Vasen et al., 2013]. Существуют аргументы в пользу ежегодного колоноскопического скрининга – дальнейшее небольшое снижение риска и еще более благоприятное распределение стадий выявляемых опухолей [Engel et al., 2012]. Согласно американским рекомендациям, следует проводить колоноскопию раз в 1-2 года, начиная с 20-25 лет; ежегодный гинекологический скрининг и фиброгастроэзофагодуоденоскопию раз в 3-5 лет, начиная с 30 лет; а также предложить пациенткам овариогистерэктомию, начиная с 40 лет [Syngal et al., 2015; Giardiello et al., 2014]. Рассматривают внедрение урологического скрининга (особенно для больных – носителей мутаций в гене MSH2, отличающихся более высоким риском уротелиальных раков).

Для научно обоснованной организации скрининговых исследований у клинически здоровых носителей патогенных мутаций крайне важна достоверная оценка ассоциированного с мутациями риска. Следует отметить, что «эпидемиологический ландшафт» онкологического риска различается у носителей мутаций в разных генах и в различных исследованиях. Действительно, к сожалению, разные работы дают различные оценки. Так, говоря о наиболее частых новообразованиях, носительство мутаций в гене MLH1 связано с 18-79% кумулятивным

риском заболевания РТК и 18-66% - раком эндометрия; в гене MSH2 – с 25-77% и 21-51%; в гене MSH6 – с 10-69% и 16-71%; в гене PMS2 – с 11-20% и 12-15% и в гене EPCAM – с 75% и 12% риском соответственно (см Табл 1) [Bonadona et al., 2011; Hendriks et al., 2004; Dowty et al., 2013; Quehenberger et al., 2005; Baglietto et al., 2010; Senter et al., 2008; ten Broeke et al., 2015; Kempers et al., 2011; Choi et al., 2009].

Таблица 1 Риск развития РТК и РТМ у больных синдромом Линча

Исследование	Кумулятивный риск развития РТК (до 70 лет)					Кумулятивный риск развития РТМ (до 70 лет)				
	MLH1	MSH2	MSH6	PMS2	EPCAM	MLH1	MSH2	MSH6	PMS2	EPCAM
Bonadona et al., 2011	41%	48%	12%	N/A	N/A	54%	21%	16%	N/A	N/A
Hendriks et al., 2004	N/A	N/A	69% (мужчины) 30% (женщины)	N/A	N/A	N/A	N/A	71%	N/A	N/A
Dowty et al., 2013	34% (мужчины) 36% (женщины)	47% (мужчины) 37% (женщины)	N/A	N/A	N/A	18%	30%	N/A	N/A	N/A
Quehenberger et al., 2005	22% (мужчины) 18% (женщины)	30% (мужчины) 25% (женщины)	N/A	N/A	N/A	66%	22%	N/A	N/A	N/A
Baglietto et al., 2010	N/A	N/A	20% (мужчины) 10% (женщины)	N/A	N/A	N/A	N/A	26%	N/A	N/A
Senter et al., 2008	N/A	N/A	N/A	15-20%	N/A	N/A	N/A	N/A	15%	N/A
ten Broeke et al., 2015	N/A	N/A	N/A	19% (мужчины) 11% (женщины)	N/A	N/A	N/A	N/A	12%	N/A

)						
Kempers et al., 2011	79%	77%	50%	N/A	75%	33%	51%	34%	N/A	12%
Choi et al., 2009	67% (мужчины) 35% (женщины)	54%	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

Наиболее крупным и достоверным исследованием для MLH1 и MSH2 на данный момент является работа Dowty et al, 2013, для MSH6 - Baglietto et al, 2010, для PMS2 - ten Broeke et al, 2015, для EPCAM - Kempers et al, 2011. В целом можно сказать, что носительство мутаций в генах MLH1, MSH2, а также EPCAM предрасполагает к большему риску, нежели в генах MSH6 и PMS2 [Sjursen et al., 2010]. На основании этих данных существуют предложения сдвинуть начало скрининга у носителей мутаций в генах MSH6 и PMS2 на более поздний возраст – 30-35 лет [Syngal et al., 2015].

Вместе с тем, даже между носителями мутаций в одном и том же гене существует сильная гетерогенность в степени риска: к примеру, у 17% мужчин, больных синдромом Линча, риск развития РТК в течение жизни составляет менее 10%, а у 18% - более 90% [Dowty et al., 2013]. Стратификация больных синдромом по степени риска – важная, но не решенная проблема. Риск может отличаться у носителей разных мутаций в одном и том же гене. К сожалению, многие мутации либо уникальны для отдельных семей, либо в любом случае слишком редки, чтобы провести обладающее доказательной силой эпидемиологическое исследование. Ситуация меняется, если речь идет о частых мутациях, повторяющихся в силу «эффекта основателя» и/или нахождения в «горячей точке мутагенеза» – оценить корреляцию между генотипом и фенотипом становится возможным [Ponti et al., 2014]. Например, известно, что мутация c.2252_2253delAA в гене MLH1, повторяющаяся в Пьемонте, регионе Северной Италии, обладает необычно высокой пенетрантностью в целом и в частности в отношении рака поджелудочной железы – заболевания, далеко не относящегося к «ядерным» проявлениям синдрома Линча [Borelli et al., 2014]. Высокопенетрантная мутация 2269-2270insT в гене MLH1, характерная для другого региона Северной Италии, ассоциирована с неожиданно высокой частотой первично множественных опухолей [de Leon et al., 2007] Уже упоминалась ассоциация мутации c.942+3A>T в гене MSH2, повторяющейся в различных регионах мира (Ньюфаундленд, Шотландия, Польша), с опухолями кожи в рамках синдрома Мюир-Торре. Испанские рекуррентные мутации c.306+5G>A и c.1865T>A в гене MLH1, напротив, характеризуются сниженной пенетрантностью [Borrás et al., 2010]. Безусловно, эти примеры не

представляют собой закрытый список, и с накоплением данных о новых повторяющихся мутациях, тщательной характеристикой фенотипа больных с известными мутациями подобных феноменов станет известно, несомненно, еще больше. Тем не менее, обычно вклад гетерогенности мутаций в вариативность риска у больных синдромом Линча невелик [Pérez-Cabornero et al., 2013; Dowty et al., 2013]. Еще одно вероятное объяснение гетерогенности – модификация риска РТК полиморфными аллелями в других локусах. Существует серия исследований, посвященных данному вопросу, однако их результаты противоречат друг другу. Недавняя работа показала, что частые полиморфизмы, связанные с повышением риска спорадического колоректального рака, не модифицируют риск РТК у больных синдромом Линча [Win et al., 2013a]. Другая исследовательская группа, напротив, обнаружила модификацию риска РТК двумя вариантами на 8 и 11 хромосоме, общую для синдрома Линча и семейного аденоматозного полипоза (развивающегося в рамках типичного пути развития РТК) [Wijnen et al., 2009; Ghorbanoghli et al., 2016]. Следует отметить, что достоверное установление роли низкопенетрантного варианта – трудная задача, особенно если он ассоциирован лишь с небольшим повышением риска определенного подтипа РТК. В редких случаях одновременного носительства мутаций, ассоциированных с синдромом Линча, и патогенных дефектов гена MUTYH, наблюдалась статистически незначимая тенденция к увеличению риска [Win et al., 2015]. Любопытно, что одновременное носительство повторяющейся (в том числе и в России) мутации 1100delC в гене SNEK2 достоверно повышает риск РТК у больных с синдромом Линча приблизительно в 4 раза [Wasielewski et al., 2008]. Дальнейший поиск аллелей-модификаторов риска – безусловно важная научная и практическая задача. Наконец, третье объяснение гетерогенности – взаимодействие между синдромом Линча и негенетическими факторами риска. К примеру, известно, что в целом риск РТК при синдроме Линча выше у мужчин. Курение повышает риск развития аденом и РТК у больных синдромом Линча [Watson et al., 2004; Pande et al., 2010; Winkels et al., 2012]. Диета также, по всей видимости, модифицирует риск РТК: согласно недавнему исследованию, потребление большого количества легкоусвояемых углеводов и насыщенных жиров приводит к приблизительно двухкратному повышению риска развития аденом толстой кишки [Botma et al., 2012]. Избыточная масса тела (особенно в юности) провоцирует развитие аденом и рака толстой кишки. Повышение индекса массы тела на каждые дополнительные 5 единиц повышает риск РТК примерно на 30% [Botma et al., 2010; Win et al., 2011b]. Согласно последним данным, регулярный, на протяжении не менее трех лет, прием мультивитаминов и кальция приводит к существенному, более чем двухкратному снижению риска [Chau et al., 2012]. Большая часть негенетических факторов риска и протекции – модифицируемы и нуждаются в изучении. Действительно, протективные факторы, ассоциированные со снижением риска, способны послужить в качестве средств

(химио-) профилактики РТК в контексте синдрома. Например, уже достаточно давно в качестве химиопрофилактических агентов при синдроме Линча пытались применять НПВС, в частности, аспирин. По итогам проспективного клинического испытания CAPP2, двухлетний регулярный прием аспирина привел к отсроченному снижению риска более чем в 2 раза [Burn et al., 2011]. В ретроспективных исследованиях также наблюдается значительное снижение риска РТК [Ait Ouakrim et al., 2015a]. Протективный эффект аспирина, по последним данным, особенно выражен у больных синдромом Линча, страдающих ожирением [Movahedi et al., 2015]. В целом, надо заметить, что с некоторой точки зрения наследственные опухолевые синдромы представляют собой естественные модели экстремальных вариантов развития различных видов человеческой патологии, и весьма удобны для проведения клинических испытаний рационально подобранных химиопрофилактических средств - на малых группах высочайшего риска, с единообразным патогенезом возникающих новообразований [Walcott et al., 2016].

Прежде чем рассмотреть особенности тактики ведения больных РТК с синдромом Линча, следует более детально остановиться на патогенезе подобных опухолей. Он связан с врожденными дефектами системы репарации неспаренных оснований ДНК, опосредованными наследственными мутациями в пяти генах: MLH1 [Bronner et al., 1994], MSH2 [Fishel et al., 1993], MSH6 [Miyaki et al., 1997], PMS2 [Nicolaidis et al., 1994], а также TACSTD1/EPCAM [Ligtenberg et al., 2009]. Система репарации неспаренных оснований ДНК функционирует в основном во время S-фазы клеточного цикла, она призвана устранять ошибки полимеразы, встраивающей в растущие цепи ДНК некомплементарные нуклеотиды. Ошибки полимеразы неравномерно распределены по геному, так как преимущественно страдают участки, образующие мешающие точному воспроизведению последовательности вторичные структуры. К таким участкам относятся прежде всего микросателлитные повторы, в которых на дочерней нити возникают делеции и инсерции элементов повтора. Так или иначе, ошибки полимеразы приводят к образованию участков одноцепочечной ДНК. Белковые комплексы MutS α (в его составе белки MSH2 и MSH6), а также MutS β (MSH2 и MSH3) являются сенсорами подобных повреждений - скользя по нити ДНК, они наталкиваются на поврежденные участки и могут привлечь три других белковых комплекса: MutL α (MLH1 и PMS2), MutL β (MLH1 и PMS1) и MutL γ (MLH1 и MLH3).

Далее комплекс MutL обыкновенно «никирует» дочернюю нить в 5' направлении от участка неспаренной ДНК и привлекает экзонуклеазу EXO1, удаляющую новосинтезированную последовательность в 3' от нанесенного MutL разрыва. Далее полимеразы POLD достраивают резецированную последовательность нуклеотидов, а лигаза I сшивает однонуклеотидный разрыв после ресинтеза последовательности [Reyes et al., 2015; Kolodner, 2016]. Надо сказать, что комплекс MutS α как правило получает десятикратное стехиометрическое преимущество над

комплексом MutS β , поэтому именно MutS α в норме имеет большее физиологическое значение. Кроме того, у этих комплексов имеется относительная субстратная специфичность: MutS α опознает преимущественно однонуклеотидные «неправильные» пары («мисмэтчи») и инсерции/делеции, MutS β – петли, образующиеся в случае по меньшей мере динуклеотидных и более крупных (2-12 нуклеотидов) инсерций/делеций. MutS β имеет дополнительные функции в клетке, выходящие за рамки репарации неспаренных оснований ДНК, в частности, этот комплекс участвует в распознавании двухцепочечных разрывов ДНК белком ATR [Burdova et al., 2015]. Так как MutS β может частично компенсировать дефицит MutS α , то неудивительно, что у носителей мутаций в гене MSH6 более мягкий фенотип, нежели у больных с наследственными мутациями в гене MSH2. Мутации MSH3, судя по всему, с классическим синдромом Линча не связаны. Вместе с тем, изолированные приобретенные дефекты MSH3 часть исследователей связывала с особой формой геномной нестабильности, затрагивающей преимущественно тетра-нуклеотидные повторы и нередко сочетающейся с хромосомными aberrациями - E-MAST [Carethers et al., 2015b]. Совсем недавно был описан фенотип носителей биаллельных наследственных мутаций в гене MSH3, включающий выраженный аденоматозный полипоз толстой кишки, РТК и нестабильность тетра-нуклеотидных микросателлитов в опухолевой ткани [Adam et al., 2016]. Любопытно, что биаллельные мутации в «классических» генах, ассоциированных с синдромом Линча, также приводят к аденоматозному полипозу у детей в рамках синдрома Тюрко (см. раздел 1.4.5.2). Если говорить о комплексах MutL, то здесь ведущую роль играет обладающий эндонуклеазной активностью комплекс MutL α . In vitro его присутствие не обязательно, если в 5' направлении от MutS α , связавшегося с мисмэтчем, уже есть одноцепочечный разрыв ДНК в дочерней цепи. Однако in vivo, судя по всему, «никирование» с помощью MutL необходимо. Для правильного функционирования комплексов MutS и MutL необходимы также белки RFC и PCNA, наследственные дефекты которых летальны. Как комплекс MutL распознает именно «дочернюю» нить, а не матричную, не вполне ясно. Во-первых, тут могут играть роль предсуществующие в дочерней нити разрывы, во-вторых, возможно, в гистонах существуют какие-либо метки, указывающие на происхождение нитей. MutL β , возможно, в небольшой степени способствует правильному функционированию системы MMR, однако неясно, каким образом – эндонуклеазной активности ген PMS1 лишен. Хотя первоначальное сообщение предполагало причинно-значимую роль PMS1 в фенотипе синдрома Линча у одной из «раковых семей», вошедших в исследование [Nicolaidis et al., 1994], впоследствии оказалось, что с фенотипом в этой семье сегрегировался вариант в гене MSH2, и с тех пор убедительных свидетельств в пользу причастности дефектов PMS1 к синдрому Линча не появилось [Liu et al., 2001]. Комплекс MutL γ обладает эндонуклеазной активностью, но в основном функционирует во время мейоза в качестве резольвазы, привлекаемой MutS γ и

разрезающей двойные структуры Холлидея во время кроссинговера. Возможно, он также может в небольшой мере участвовать и в системе MMR, будучи направляем к содержащей петлю одноцепочечной ДНК дочерней нити комплексом MutS β [Kadyrova and Kadyrov, 2016]. После «никирования» дочерней нити в 5' направлении от неправильно спаренных нуклеотидов, обычно происходит резекция в 5'>3' направлении при помощи экзонуклеазы EXO1, после чего утраченная последовательность замещается полимеразой POLD. Возможен, однако, и более медленный EXO1-независимый путь, когда POLD1 приступает к синтезу последовательности непосредственно в «никированном» участке, сдвигая по пути участок ранее синтезированной последовательности, содержащей неправильно встроенный нуклеотид или нуклеотиды [Kadyrova and Kadyrov, 2016].

Таким образом, к развитию синдрома Линча причастны высокопенетрантные дефекты генов MSH2, MLH1, универсальные для белковых комплексов MutS и MutL, соответственно. Также причинно-значимы менее пенетрантные варианты в генах MSH6 и PMS2, специфичных для MutSa и MutLa. Пятый ген, ассоциированный с синдромом Линча, EPCAM/TACSTD, расположен рядом с 5' границей MSH2. Делеции, затрагивающие 3' конец EPCAM, устраняют сигнал прекращения транскрипции, и РНК-полимераза транскрибирует часть промотора MSH2. В результате действия цепочки отрицательной обратной связи промотор MSH2 подвергается гиперметилированию и транскрипция MSH2 прекращается. По современным представлениям, при синдроме Линча часто, приблизительно в половине случаев (в MSH2 – реже других генов), происходит соматическая инактивация второго аллеля гена, затронутого наследственным дефектом [Tuupanen et al., 2007; Ollikainen et al., 2007; van Puijenbroek et al., 2008a; Bujalkova et al., 2008]. «Потеря гетерозиготности» обычно развивается за счет конверсии гена, а не за счет физической утери локуса аллеля «дикого типа» в результате хромосомной перестройки. Так или иначе, служит ли началом пути к возникновению РТК потеря гетерозиготности или гаплонедостаточность, в опухоли, ассоциированной с синдромом Линча, происходит выявляемая иммуногистохимически утеря белковой экспрессии генов, затронутых наследственной мутацией. При этом мутации в генах MLH1 и MSH2 обычно сопряжены с потерей экспрессии не только собственного белкового продукта, но и белков PMS2 и MSH6 соответственно.

Характерной чертой опухолей, развивающихся в контексте синдрома Линча, является выраженная гипермутабельность, проявляющаяся в форме микросателлитной нестабильности. Как говорилось выше, большинство РТК с микросателлитной нестабильностью относится к ненаследственным, спорадическим опухолям. Наиболее многочисленна среди спорадических MSI-H РТК группа раков, характеризующихся «метилиаторным фенотипом», развивающихся из зубчатых аденом на широком основании, возникающих у пожилых людей, чаще у женщин.

Менее многочисленная категория – опухоли с соматическими мутациями в генах MMR, обычно биаллельными. Молекулярные различия наследственных MSI-H РТК, а также двух этих категорий подобных спорадических новообразований изучены плохо. Известно, что среди наследственных MSI-H РТК практически не встречаются мутации в гене BRAF [Parsons et al., 2012]. Хотя этот факт эксплуатируется в молекулярно-генетической диагностике HNPCC, биологический смысл частых мутаций в гене BRAF среди спорадических MSI-H+ РТК не вполне ясен. Хотя мутация в гене BRAF может возникать на самых ранних этапах канцерогенеза, сама по себе она не способствует возникновению «метилиаторного фенотипа» (Hinoue et al., 2009; Leggett and Whitehall, 2010). Предложена модель, по которой, напротив, метилирование необходимо для «выключения» молекулы IGFBP7, активирующейся при неадекватной активации BRAF (Hinoue et al., 2009; Suzuki et al., 2010). Сравнение спорадических MSI-H+ опухолей с «метилиаторным фенотипом» и опухолей с соматическими мутациями в генах MMR показало отличия в спектре мутаций (Cancer Genome Atlas Network, 2012; Donehower et al., 2013). Так, среди случаев с «метилиаторным фенотипом» было выявлено 3/22 (14%) мутаций в гене APC, а в MMR-мутантных - 5/6 (83%). APC - важнейший негативный регулятор сигнального каскада фактора роста Wnt. После проведения исследования при помощи экспрессионного микрочипа в опухолях с «метилиаторным фенотипом» экспрессия финальных мишеней этого каскада оказалась резко снижена по сравнению с обычными РТК и РТК с соматическими мутациями генов MMR (Donehower et al., 2013). Интересно, что, хотя мутации в гене APC редко (около 20-30% случаев) встречаются и в наследственных MSI-H РТК, в них часто выявляют активирующие мутации в гене CTNNB1, бета-катенина, фактора транскрипции, служащего основным эффектором сигнального каскада Wnt (Johnson et al., 2005). Ядерная локализация бета-катенина, свидетельствующая о его активации, чаще встречается в случаях MSI-H РТК, не связанных с «метилиаторным фенотипом» (Kawasaki et al., 2007). Это говорит о значительно более частом задействовании каскада Wnt в HNPCC-ассоциированных раках и в опухолях с соматическими мутациями в генах системы MMR. Интересно, что в опухолях с соматическими мутациями MMR генов очень часто, намного чаще, чем в двух других категориях MSI-H РТК, встречаются мутации в гене PIK3CA [Cohen et al., 2016].

Мутациями почти всегда затронуты гены сигнального каскада трансформирующего фактора роста β и его семейства (ACVR2A, TGFBR2, BMPR2), нередко повреждаются гены репарации (MSH3, MSH6, MRE11) и апоптоза (BAX, CASP5) [Pinheiro et al., 2015; Kim et al., 2013]. Высокую частоту мутаций некоторых генов, например, SLC22A9 и TMEM22 - транспортных белков с неясной функцией, пока сложно объяснить с точки зрения закономерностей канцерогенеза [Kim et al., 2013]. Любопытно, что дефекты многих

микросателлитных последовательностей отличаются органной/тканевой специфичностью. Так, мутации в A10 треке гена TGFBR2 – одни из наиболее частых в MSI-H РТК, но очень редко встречаются в ткани эндометрия [Kim et al., 2013]. Этот факт заставляет с определенной осторожностью относиться к исследованиям, направленным на определение частоты микросателлитной нестабильности в новообразованиях, относящихся к «периферии» спектра опухолевых проявлений синдрома Линча – фактически современными методами полноэкзомного/полногеномного анализа исследован лишь MSI-H геном РТК и РТМ, микросателлитная нестабильность других локализаций может иметь совершенно иные черты. Впрочем, существуют микросателлиты, показывающие конкордантность в статусе между РТК и РТМ, например, в гене ASTE1 [Kim et al., 2013]. Крайне мало изучены возможные различия между спектром затронутых микросателлитов в опухолях, ассоциированных с синдромом Линча, и спорадическими MSI-H новообразованиями. Любопытно наблюдение, согласно которому частота повреждений TGFBR2 одинакова в опухолях проксимальных и дистальных отделов толстой кишки, ассоциированных с синдромом Линча, но не в спорадических новообразованиях: там частота повреждения значительно выше в проксимальных отделах. Ген MSH3 чаще поврежден в дистальных РТК при синдроме Линча - и в проксимальных в случае спорадических новообразований [Pinheiro et al., 2015].

Опухоли, связанные с синдромом Линча, зачастую имеют не только молекулярные, но и клиничко-морфологические особенности. Так, опухоли яичников, возникшие в контексте этого синдрома, почти всегда имеют не частый серозный, а относительно редкие среди спорадического рака яичников эндометриоидный и светлоклеточный гистотипы [Chui et al., 2014; Helder-Woolderink et al., 2016; Vierkoetter et al., 2014]. Существуют свои морфологические особенности и у рака эндометрия: частая локализация в нижнем сегменте матки, более часто, чем обычно, встречается муцинозный гистотип, выраженная лимфоцитарная инфильтрация и низкая степень дифференцировки [Garg et al., 2009]. Впрочем, в отличие от рака яичников, ассоциированный с синдромом Линча рак эндометрия в значительно меньшей степени ограничен рамками характерных признаков – поэтому для выявления случаев синдрома среди больных РТМ все чаще предлагают применение универсального скрининга [Mills et al., 2014]. Наиболее изучены особенности ассоциированного с синдромом Линча РТК. Средний возраст выявления таких РТК – 48 лет в целом и 27-46 лет в случае мутаций в генах MLH1 и MSH2, 54-63 в случае мутаций в гене MSH6, и 47-66 – в PMS2 [Giardiello et al., 2014; Moreira et al., 2012]. Как и для спорадических опухолей с микросателлитной нестабильностью, для этих опухолей характерна правосторонняя локализация, низкая степень дифференцировки, лимфоцитарная инфильтрация CD8+ клетками, часто встречается муцинозный гистотип. Они редко отдаленно метастазируют, отличаются хорошим прогнозом и низкой чувствительностью к фторурацилу

[Haraldsdottir et al., 2016]. Различить морфологически наследственный и спорадический рак с микросателлитной нестабильностью невозможно. И все же статистически есть несильные, но достоверные отличия: в случае синдрома Линча опухоли чаще возникают у мужчин, ассоциированы с III стадией (а не со II), левосторонние раки все же встречаются в большой доле случаев (30-50%), а также сильнее выражена инфильтрация Т-лимфоцитами [Hartman et al., 2013; Mas-Moya et al., 2015]. Наиболее важным критерием для разграничения MSI-H РТК, связанного с синдромом Линча и с метиляторным фенотипом, служит возраст больных: средний возраст больного РТК с метиляторным фенотипом превышает 70 лет [Haraldsdottir et al., 2016]. Опухоли с соматическими мутациями в генах системы MMR охарактеризованы очень плохо, однако, подобно остальным MSI-H РТК, обычно правосторонние (приблизительно 80%), с тенденцией к очень высокой частоте муцинозного гистотипа (примерно 40%), с равной представленностью мужчин и женщин, промежуточным между двумя другими MSI-H группами возрастом выявления заболевания (54 года) [Haraldsdottir et al., 2014; Mas-Moya et al., 2015].

Переходя ко второй группе лиц, для которой генетический диагноз может иметь практическое значение – самим больным ассоциированным с синдромом Линча РТК, следует отметить, что несмотря на несомненные, явно недооцененные и недоизученные биологические различия между тремя описанными выше категориями, многие клинические характеристики меж ними сходны. Поэтому некоторые рекомендации по лечению этих новообразований, отличаясь от аналогичных в случае спорадических MSS раков, идентичны для всех MSI-H опухолей в целом. Новообразования с микросателлитной нестабильностью отличаются резистентностью к фторпиримидинам и хорошим прогнозом. Хотя недавний метаанализ (касавшийся лечения РТК независимо от стадии) несколько поколебал представления об отсутствии эффекта от терапии фторурацилом [Webber et al., 2015], предполагают, что назначение адъювантной терапии больным РТК II стадии не приносит существенной пользы [Kawakami et al., 2015]. Интересно, что существуют сведения о предиктивной роли статуса шаперона HSP110 для ответа на фторурацил: наличие крупных делеций в микросателлите, содержащемся в HSP110 (25% MSI-H РТК), коррелировало с хорошим ответом на терапию [Collura et al., 2014]. Существует относительно недавняя работа, в которой клиническая польза от терапии фторурацилом наблюдалась у больных РТК III стадии с синдромом Линча, но не у больных спорадическим MSI-H РТК [Sinicrope et al., 2011]. С другой стороны, в более новой работе на ту же тему подтвердить это различие не удалось [Haraldsdottir et al., 2016]. Так или иначе, сильных изменений в ведении больных III стадии в зависимости от их MMR статуса не делается, однако есть свидетельства в пользу большей эффективности оксалиплатин-содержащих схем лечения у этих больных по сравнению с монотерапией фторурацилом [Tougeron et al., 2016]. Хотя дефекты системы MMR обеспечивают резистентность к

цисплатину и карбоплатину, подобного эффекта в отношении оксалиплатина нет в силу фармакодинамических особенностей последнего. *In vitro* иринотекан обладает хорошим эффектом в отношении опухолевых клеток с дефектами системы MMR [Devaud et al., 2013]. Интересно, что в эксперименте этот эффект многократно усиливается в присутствии тимидина, а также при наличии в опухолевых клетках дефектов микросателлитов, локализованных в таких генах, как MRE11, RAD50 [Bolderson et al., 2004; Vilar et al., 2008; Devaud et al., 2013]. С экспериментальными данными о чувствительности к иринотекану согласуются некоторые клинические наблюдения, хотя сведений накоплено недостаточно [Devaud et al., 2013]. Из-за благоприятного в целом прогноза, метастатические MSI-H РТК встречаются редко [Koornan et al., 2009], терапии они поддаются плохо, вне зависимости от того, содержит ли схема лечения фторурацил, иринотекан или оксалиплатин. Среди таких больных соматические мутации в гене BRAF встречаются всего в 30% случаев, что косвенно говорит о возможном преобладании среди таких пациентов наследственного MSI-H РТК, либо опухолей с соматическими дефектами генов системы MMR. Присутствие мутаций в гене BRAF заметно ухудшает прогноз у этой категории больных [Goldstein et al., 2014].

Данные *in vitro* свидетельствуют о повышении чувствительности опухолей с мутациями в генах MLH1 и MSH2 к цитарабину и другим препаратам – производным цитозина [Hewish et al., 2013]; а также опухолей с мутациями в гене MSH2 к метотрексату [Martin et al., 2009]. Результаты этих доклинических исследований еще не были подтверждены и проверены на модельных организмах и в клинических испытаниях. Любопытно, что инактивация гена PINK1 обладает свойством «синтетической летальности» в клетках с дефектами системы MMR [Martin et al., 2011]. Говоря о спорадических MSI-H раках, следует отметить недавнее сообщение о значительном эффекте винорелбина в отношении РТК с экспрессионными характеристиками, свойственными для опухолей с соматическими мутациями в гене BRAF, вне зависимости от статуса MSI [Vecchione et al., 2016].

Для всех гипермутабельных MSI-H новообразований характерна высокая иммуногенность. Недавно проведенное клиническое испытание II фазы показало, что такие опухоли чрезвычайно хорошо отвечают на терапию ингибиторами PD1. Следует, однако, заметить, что опухоли, ассоциированные с синдромом Линча, отвечали на терапию хуже (3/11 (27%)), чем спорадические MSI-H новообразования (6/6 (100%)) [Le et al., 2015]. Особенности сдерживания потенциально разрушительного для опухоли иммунного ответа в случае синдрома Линча нуждаются в изучении. Возможно, часть новообразований, связанных с синдромом Линча, имеет иные, не базирующиеся на PD1-PDL1 механизмы ухода от иммунного надзора. Надо сказать, что система MMR несет не связанную с репарацией функциональную нагрузку в рамках иммунной системы, отвечая за переключение изотипов антител.

Еще один момент, который приходится учитывать, планируя лечение именно больных с синдромом Линча – это высокий риск метакронных опухолей после излечения от первого новообразования [Win et al., 2012a; Win et al., 2013b]. Поэтому существующие рекомендации предполагают расширение объема хирургического вмешательства при лечении РТК, ассоциированного с синдромом Линча [Syngal et al., 2015]. Впрочем, у пациентов старше 60 лет соотношение отрицательных моментов, наступающих вследствие субтотальной колэктомии, и пользы от гипотетического снижения риска повторного РТК говорит не в пользу дополнительного расширения объемов операции, если можно обойтись гемиколэктомией [Syngal et al., 2015]. Интересный, но неизученный вопрос – влияет ли адъювантное лечение на риск повторных опухолей и какова степень повышения риска [Win et al., 2012a; Win et al., 2013b].

Таким образом, даже само по себе выявление микросателлитной нестабильности в опухолевой ткани, а тем более установление диагноза синдрома Линча уже сейчас вносит множество корректив в тактику лечения и планирование профилактических мероприятий. Существуют перспективы появления новых стандартов терапии ассоциированных с синдромом новообразований. Проводятся клинические испытания, причем участие в некоторых из них может быть всецело рекомендовано больным в силу очень высокой обоснованности надежд на хороший эффект новых методов лечения. Вместе с тем, остается целый ряд практических и фундаментальных научных вопросов, касающихся клинко-биологического своеобразия синдрома Линча. Очевидной, но от того не менее критической предпосылкой ко всем этим многочисленным аспектам взаимодействия медицинской науки и клинической практики с синдромом Линча является безошибочное выявление больных. Вспомогательной, технической, однако чрезвычайно важной научной и практической задачей остается оптимизация алгоритма диагностики случаев синдрома. Рассмотрим стандартные подходы к решению этой задачи.

Первым этапом обычно служит отбор пациентов на молекулярно-генетическую диагностику исходя из соответствия клиническим критериям (см Табл 2).

Таблица 2. Наиболее распространенные диагностические критерии синдрома Линча

Название критериев	Содержание критериев
Амстердамские критерии I [Vasen et al., 1991]	<p><i>(Критерии должны выполняться одновременно)</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Три или более родственников, один из которых приходится двум другим родственником первой линии родства, с подтвержденным гистологически диагнозом РТК 2) Затронуты должны быть по крайней мере два последовательных поколения

	<p>3) Один или более из РТК должен быть диагностирован до 50 лет</p> <p>4) Должен быть исключен семейный аденоматозный полипоз</p>
Амстердамские критерии II [Vasen et al., 1999]	<p><i>(Критерии должны выполняться одновременно)</i></p> <p>1) Три или более родственников, один из которых приходится двум другим родственником первой степени родства, с диагнозом рака, ассоциированного с синдромом Линча (РТК, РТМ, рак желудка, рак тонкой кишки, гепатобилиарный рак, рак почечной лоханки или рак мочеточников)</p> <p>2) Затронуты должны быть по крайней мере два последовательных поколения</p> <p>3) Один или более из раков, ассоциированных с синдромом Линча, должен быть диагностирован до 50 лет</p> <p>4) Должен быть исключен семейный аденоматозный полипоз</p>
Критерии Bethesda [Rodriguez-Bigas et al., 1997]	<p><i>(Должен выполняться по крайней мере один критерий)</i></p> <p>1) Пациенты, подпадающие под Амстердамские критерии</p> <p>2) Пациенты с двумя ассоциированными с синдромом Линча новообразованиями, включая синхронные и метакронные РТК или ассоциированные внекишечные раки (РТМ, рак яичников, рак желудка, гепатобилиарный рак или рак тонкой кишки, переходноклеточный рак почечной лоханки или мочеточников)</p> <p>3) Пациенты, страдающие РТК, имеющие родственника первой линии родства, перенесшего РТК и/или ассоциированный с синдромом Линча внекишечный рак и/или колоректальную аденому. Один из раков должен быть диагностирован до возраста в 45 лет, а аденома – до 40 лет.</p> <p>4) Пациенты, с РТК или РТМ, диагностированным до 45 лет</p> <p>5) Пациенты с недифференцированным (солидный/трабекулярный) правосторонним РТК, диагностированным до 45 лет</p> <p>6) Пациенты с перстневидноклеточным РТК, диагностированным до 45 лет</p> <p>7) Пациенты с аденомами толстой кишки, диагностированными до 40 лет</p>
Пересмотренные	<p><i>(Должен выполняться по крайней мере один критерий)</i></p>

критерии Bethesda [Umar et al., 2004]	<ol style="list-style-type: none"> 1) Пациенты, у которых РТК был диагностирован до 50 лет, 2) Синхронные или метасинхронные первично-множественные РТК или другие ассоциированные с синдромом Линча опухоли (рак желудка, рак мочевого пузыря, мочеточников, почечной лоханки, желчевыводящих путей, опухоли ЦНС (глиобластома), аденомы слюнных желез, кератоакантомы и рак тонкой кишки) вне зависимости от возраста 3) РТК с характерной для MSI-H морфологией (присутствие инфильтрирующих опухоль лимфоцитов, лимфоцитарная реакция по типу болезни Крона, муцинозный или перстневидноклеточный гистотип, медуллярный характер роста), диагностированный до 60 лет 4) РТК и наличие одного и более родственника первой степени родства с РТК или иными ассоциированными с синдромом Линча опухолями. Один из раков должен быть диагностирован до 50 лет. 5) РТК и наличие двух и более родственников первой или второй степени родства, страдающих РТК или иными опухолями, ассоциированными с синдромом Линча, вне зависимости от возраста
---------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Исторически первыми были введены клинические Амстердамские критерии [Vasen et al., 1991]. Они были сформулированы до открытия явления микросателлитной нестабильности и причинно-значимых генов. Эти критерии были чрезвычайно жесткими и служили в основном не клинико-практическим, а фундаментально-научным целям. Задача их состояла в том, чтобы максимально упростить идентификацию генов предрасположенности к неполипозному РТК, ограничив поиск «раковыми семьями» с выраженной онкологической предрасположенностью. В дальнейшем, во второй версии Амстердамских критериев был расширен спектр опухолей, указывающих на наличие синдрома [Vasen et al., 1999]. Тем не менее, и этот чуть менее жесткий вариант критериев в силу малой чувствительности не подходит для клинических нужд. В деле же дальнейшего научного поиска эти критерии до сих пор не утратили своего значения. В настоящее время случаи опухолей без микросателлитной нестабильности, подпадающие под Амстердамские критерии, называют «семейный колоректальный раковый синдром типа Х». Новообразования с микросателлитной нестабильностью, не обнаруживающие патогенных наследственных мутаций в генах системы репарации неспаренных оснований, получили

вызывающие исторические ассоциации название «синдром, схожий с синдромом Линча» (Lynch-like syndrome, LLS) [Giardiello et al., 2014]. Более приближенными к практике стали клиникопатологические критерии, содержащиеся в диагностическом руководстве, принятом международной рабочей группой в городе Bethesda [Rodriguez-Bigas et al., 1997], а также их несколько упрощенный пересмотренный вариант [Umar et al., 2004]. Помимо рассмотренных 4 критериев, существует или существовало еще порядка 8 сколько-нибудь популярных варианта диагностических критериев (Mount-Sinai, корейские, японские, китайские критерии и т.д.) [Win et al., 2013c]. Пересмотренные критерии Bethesda до последнего времени оставались наиболее популярными, однако невозможно не заметить, что со всеми требуемыми деталями пять пунктов критериев довольно трудны для запоминания и уверенного применения в рутинной практике врачами, не являющимися специалистами в области наследственной онкопатологии. Кроме того, они требуют высокой квалификации от описывающего микропрепарат морфолога. Ряд критериев был направлен на устранение этих недостатков, к примеру, сравнительно популярные «упрощенные» критерии, принимающие в расчет возраст, а также личный и семейный онкологический анамнез [Kastrinos et al., 2009a; Bonnet et al., 2012]. Другой пример – критерии, основанные лишь на возрасте. Таковы Иерусалимские критерии, предлагающие отбирать на молекулярную диагностику больных РТК младше 70 лет [Boland and Shike, 2010]. Действительно, пороговый возраст в 50 лет представляется заниженным, учитывая, что средний возраст больного РТК при синдроме Линча – 48 лет, а у носителей мутаций в генах MSH6 и PMS2 – более 50. Вместе с тем, дополнительные пункты, относящиеся в критериях Bethesda к анамнезу и морфологическим особенностям опухоли, на самом деле делают пересмотренные критерии Bethesda столь же или даже более эффективными, чем Иерусалимские критерии [Moreira et al., 2012]. Помимо диагностических критериев, существуют также предиктивные биоинформатические программы, позволяющие оценить риск синдрома Линча: MMRpredict, MMRpro, PREMM_{1,2,6}. Фактически, они представляют собой еще более сложные системы критериев, чем критерии Bethesda, включающие в себя больше переменных (таких как локализация опухоли, ее морфология, детали родословной), обрабатываемые компьютером автоматически и представляющие результат не в виде бинарной характеристики, а в виде вероятности наличия у пациента синдрома Линча в процентах [Win et al., 2013c]. Подобные программы часто превосходят существующие клинические и клиникопатологические критерии [Giardiello et al., 2014; Syngal et al., 2015]. Очевидно, впрочем, что все случаи синдрома Линча сможет выявить лишь универсальный скрининг. Так, включение в исследование пациентов старше 70 лет позволяет выявить дополнительно около 15% случаев синдрома Линча [Moreira et al., 2012]. Удешевление и нарастающая доступность методов молекулярно-генетического анализа, а также осознание преимуществ выявления статуса микросателлитов в опухоли

независимо от спорадической или наследственной ее природы стимулирует внедрение универсального скрининга. В данное время универсальный скрининг при помощи выявления микросателлитной нестабильности или иммуногистохимического исследования (ИГХ) на экспрессию генов системы MMR представляется оптимальной диагностической стратегией [Vasen et al., 2013; Giardiello et al., 2014; Syngal et al., 2015].

ИГХ на экспрессию генов системы MMR или молекулярно-генетический тест на микросателлитную нестабильность служит следующим после отбора больных этапом в многоступенчатой диагностике синдрома Линча. И тот и другой подход имеет свои преимущества и недостатки. Молекулярно-генетическое исследование статуса микросателлитов может быть проведено с использованием различных диагностических панелей. В качестве маркеров MSI в состав этих панелей входят участки ДНК, содержащие различные микросателлитные повторы. Проводится амплификация этих участков и выявление изменений размера микросателлитов в опухоли по сравнению с контролем и/или неизменной тканью при помощи гель-электрофореза или капиллярного электрофореза. Если в популяции вариабельность микросателлита минимальна или отсутствует, маркер называют квазимономорфным или мономорфным. Применение (квази)мономорфных маркеров позволяет не использовать неизменную ткань в виде контроля к каждому образцу, удешевляя и упрощая процедуру [Buhard et al., 2004]. Однако главные требования к маркерам - максимальная специфичность и чувствительность в отношении феномена микросателлитной нестабильности как молекулярного синдрома. Действительно, повреждения некоторых микросателлитов практически патогномоничны для феномена микросателлитной нестабильности – зачастую это труднообъяснимо, так как часто изменения размера таких микросателлитов не кажутся функционально значимыми. Исторически существуют две наиболее распространенные мультимаркерные панели, распространены также их многочисленные вариации. Первая из них - панель, рекомендованная National Cancer Institute (NCI), состоящая из 5 маркеров, включающих 2 мононуклеотидных маркера: BAT25 и BAT26, а также 3 динуклеотидных повтора D2S123, D5S346 и D17S250 [Boland et al., 1998]. Панель NCI позволяет дискриминировать высокий уровень микросателлитной нестабильности (≥ 2 маркеров) и низкий уровень MSI (1 маркер). MSI-L опухоли, как правило, несут мутации в динуклеотидных маркерах. Эти образования могут быть исследованы с помощью ряда вспомогательных маркеров, таких как BAT40, TGFBR2 и иные [Boland et al., 1998]. Статус MSI-L, начиная с самого возникновения этой концепции, был весьма дискуссионным [Dietmaier et al., 1997; Boland et al., 1998; Perucho, 1999; Laghi et al., 2008]. Как уже говорилось выше, клинико-морфологические отличия MSS опухолей от MSI-L минимальны. Существуют наблюдения, из которых следует, что если взять достаточное количество маркеров, почти любую опухоль можно будет считать MSI-L [Laiho et

al., 2002]. Сильный удар концепции MSI-L нанесло исследование, охарактеризовавшее частоту повреждения микросателлитов по данным экзомного секвенирования [Kim et al., 2013]. И все же недавние находки, вероятно, свидетельствуют в пользу наличия некоторых биологических оснований для разграничения MSI-L и MSS. Видимо, определенная часть MSI-L РТК приобретает повреждения динуклеотидных маркеров в ходе EMAST, особой формы мутационного процесса, связанной с функциональной или мутационной инактивацией гена MSH3 [Carethers et al., 2015b; Adam et al., 2016]. Так или иначе, к «классической» микросателлитной нестабильности этот феномен отношения не имеет. Следует отметить, что степень ожесточения дискуссии о существовании MSI-L как биологического феномена, возможно, была связана с внеучеными аспектами организации научной работы: вопиющим, расколовшим научное сообщество нарушением этики со стороны одного из наиболее талантливых исследователей в области молекулярной онкологии в погоне за приоритетом в открытии феномена MSI [Maddox, 1993].

Вторая распространенная диагностическая панель также состоит из пяти маркеров: BAT25, BAT26, NR21, NR22, NR24 [Suraweera et al., 2002]. Это мононуклеотидные (квази)мономорфные маркеры, отличающиеся высокой чувствительностью и специфичностью. В отличие от панели NCI пентаплексная мононуклеотидная панель, как правило, не дискриминирует MSI-L от MSS РТК, но в выявлении случаев MSI-H РТК по меньшей мере не уступает NCI панели [Murphy et al., 2006]. Можно заметить, что маркеры BAT25 и BAT 26 входят в обе распространенные панели. Оба этих маркера очень эффективно разграничивают MSI и MSS опухоли. Чувствительность и специфичность BAT26 составляет порядка 85-100% и 97-100% соответственно [Xicola et al., 2007; Deschoolmeester et al., 2008; Goel et al., 2010; Pagin et al., 2013; Morandi et al., 2012]. Аналогичные показатели BAT25 лишь немногим ниже. В целях упрощения диагностики ряд специалистов предлагает использовать не панель маркеров, а отдельные, наиболее подходящие (квази)мономорфные мононуклеотидные микросателлиты, например, BAT26 [Hoang et al., 1997; Loukola et al., 2001] или CAT25 [Bianchi et al., 2009]. В целом такой технически простой и экономически доступный подход представляется весьма разумным, однако следует заметить, что использование одного маркера может иметь свои недостатки. Так, известны случаи, когда с помощью маркера BAT26, расположенного в 5 интроне гена MSH2, не удавалось выявить MSI в опухолях, развившихся у носителей протяженных делеций в гене MSH2, захватывающих и локус BAT26 [Hoang et al., 1997; Pastrello et al., 2006]. Действительно, в результате потери гетерозиготности опухоль утрачивала этот локус полностью, и амплифицировались лишь аллели BAT26, принадлежащие контаминирующей образец нормальной ткани. Следует отметить, что в США приблизительно 7% случаев синдрома Линча ассоциировано с крупной делецией экзонов 1-6 гена MSH2

[Wagner et al., 2003; Clendenning et al., 2008]. Согласно одному американскому сообщению, стабильность BAT26 в группе опухолей с утратой экспрессии MLH1 и PMS2 встречалась с частотой в 2,7%, а в группе с утратой экспрессии MSH2 и MSH6 – 10% [Cicek et al., 2011]. Другое ограничение – возможность наличия значительной популяционной изменчивости обычно квазимономорфного маркера в некоторых этнических группах [Suraweera et al., 2002; Ryatt et al., 1999]. Согласно крупному испанскому исследованию, пентаплексная панель может без потери эффективности быть заменена двумя маркерами BAT26 и NR24, хотя применение отдельных маркеров все же снижает точность анализа [Xicola et al., 2005]. Небольшой опыт автора данной работы и других авторов говорит о возможности применения изолированного маркера BAT26: в обычной российской популяции Северо-Западного региона варибельность BAT26 отсутствует, а крупные делеции MSH2, затрагивающие интрон 5, не являются частой находкой [Поспехова и др., 2014]. Вместе с тем, чувствительность и специфичность данного маркера очень велики. Более 90% новообразований, ассоциированных с синдромом Линча, отличаются микросателлитной нестабильностью. Так, в одной из наиболее масштабных работ, лишь у 12 из 301 больных в опухоли была не выявлена MSI-H или персистировала экспрессия всех генов MMR. В качестве исключения можно привести мутацию p. L607H в гене MLH1, которая изолированно нарушает взаимодействие MLH1 с белком FANCI, оставляя незатронутой или почти незатронутой активность MLH1 в рамках MMR. Эта мутация, вероятно, ассоциирована с повышением вероятности развития MSS РТК, своего рода вариантом семейного колоректального ракового синдрома типа X [Xie et al., 2010].

ИГХ исследование белковой экспрессии генов MMR системы – еще один метод скрининга, сопоставимый по своим параметрам с молекулярно-генетическим тестом на микросателлитную нестабильность. Если в образце обнаружена утрата экспрессии генов системы MMR, говорят о MMR-дефиците опухоли (MMR-deficiency, MMRd). Давно было замечено, что ИГХ ненамного, но все же уступает тестированию на MSI в чувствительности, оставляя невыявленными около 2% случаев [Lindor et al., 2002; Cicek et al., 2011; Moreira et al., 2012]. Тем не менее, некоторые случаи, пропущенные панелями для детекции MSI, могут быть найдены ИГХ. Так, в крупном исследовании 2012 года, из 5591 опухолей кишки с дефектами системы MMR 94 (1,7%) отличались MSI-H в отсутствие аномалий белковой экспрессии генов MMR, однако в 49 (0,8%) наблюдалась обратная ситуация [Moreira et al., 2012]. Отдельные исследования демонстрируют преимущество ИГХ над MSI-тестированием, особенно в тех случаях, когда микродиссекция опухолевого материала не проводилась или проводилась недостаточно тщательно [Hampel et al., 2005; Hampel et al., 2008; Canard et al., 2012]. Одна из возможных причин превосходства MSI-тестирования над ИГХ в случае адекватного процессирования материала – существование ряда инактивирующих миссенс-мутаций в генах

MMR, не влекущих за собой снижение экспрессии или конформационные изменения соответствующих молекул, которые бы мешали связыванию антител с мутантными белками [Bartley et al., 2012]. С другой стороны, описан эффект видимого снижения экспрессии MSH6 при неизменной функции системы MMR под воздействием химиотерапии [Bao et al., 2010]. Неопытным патологом подобное снижение может быть ложно расценено как положительный результат. ИГХ представляется более субъективной методикой, нежели MSI-тестирование, и в силу критической зависимости успеха от специализации и профессионального уровня морфолога, межлабораторная дискордантность результатов в случае ИГХ выше [Nardon et al., 2010; Overbeek et al., 2008]. Вместе с тем, у ИГХ есть и весьма ценное преимущество перед MSI-тестированием: возможность указать на причинно-значимый ген. Действительно, как уже упоминалось выше, мутации в гене MLH1 обычно связаны с сочетанной утратой экспрессии MLH1 и PMS2 в опухолевой ткани, мутации в MSH2 – соответственно с утратой экспрессии MSH2 и MSH6. В то же время о мутациях в MSH6 и PMS2 свидетельствует изолированная потеря экспрессии соответствующих белков. К сожалению, из этой закономерности тоже бывают исключения, что подчеркивает недавнее описание редкой мутации в гене MSH2, ассоциированной с изолированной потерей экспрессии MSH6 [Loconte et al., 2014]. Нередко обе методики предварительного скрининга на наличие синдрома используются вместе, что улучшает точность диагностики и ориентирует на дальнейшее исследование причинно-значимых генов [Canard et al., 2012]. Интересно, что потеря выявляемой ИГХ экспрессии в неизменной ткани помогает выявить редкий синдром Тюрко.

Существуют различные подходы, чтобы перед трудоемкой и дорогостоящей диагностикой причинно-значимых герминальных повреждений системы MMR отобрать предположительно наследственные РТК и максимально эффективно исключить случаи спорадических MSI-H/MMRd РТК. Во-первых, если предварительного отбора пациентов на MSI/MMRd скрининг не проводилось, данные исследования были выполнены в рамках универсального скрининга - на этом этапе также можно воспользоваться критериями или предсказывающими риск программами. Во-вторых, есть два молекулярно-генетических маркера спорадических РТК: мутация p.V600E в гене BRAF и гиперметилирование промотора гена MLH1. Соматическое гиперметилирование 3` участка промотора MLH1 встречается приблизительно в 55-90% MSI-H РТК [Kane et al., 1997; Poynter et al., 2008; Parsons et al., 2012; Kim and Kang, 2014]. Это явление происходит обыкновенно в рамках CIMP-H метиляторного фенотипа толстой кишки и часто сочетается с наличием BRAF V600E мутаций. Интересно, что в европейских популяциях доля случаев гиперметилирования промотора MLH1 среди MSI-H РТК выше, чем в азиатских. Надо сказать, это гиперметилирование не является специфичным для спорадического рака, встречаясь в малой доле случаев синдрома Линча [Rahner et al., 2008].

Определение статуса метилирования промотора MLH1 имеет свои технические сложности, часть случаев гиперметилирования в контексте синдрома Линча, очевидно, связано с артефактами методики [Lehmann, 2008]. И все же, около 6-15% опухолей от больных с синдромом Линча демонстрируют гиперметилирование MLH1, играющее роль «второго удара» [Parsons et al., 2012; Moreira et al., 2015]. Среди молодых пациентов, отобранных по наличию признаков наследственного колоректального рака, встречаемость гиперметилирования MLH1 низка, порядка 0-13% [Parsons]. Таким образом, в этих группах дискриминирующая способность метилирования промотора MLH1 сомнительна. Тем не менее, в контексте универсального скрининга, а также применения расширенных, нежестких диагностических критериев, этот маркер используется нередко [Hampel et al., 2005; Hampel et al., 2008; Canard et al., 2012]. Помимо прочего, этот тест может выявить метилирование промотора в неизменной ткани. Действительно, существуют редчайшие случаи конституционального наследуемого эпигенетического блокирования экспрессии MLH1 за счет гиперметилирования промотора гена, эпимутации MLH1 [Gazzoli et al., 2002; Suter et al., 2004]. Метилирование MSH2, напротив, вероятно, встречается строго при наличии наследственных повреждений ДНК: как «второй удар» в случае типичных мутаций в гене MSH2 и обязательно *in cis* в случае делеций в гене EPCAM [Nagasaka et al., 2010]. Исключение больных с наличием мутации V600E в гене BRAF в опухолевой ткани представляется более оправданным, чем использование для этой цели метилирования промотора MLH1 – ведь, как упоминалось выше, эти генетические аномалии по не вполне ясным причинам среди случаев синдрома Линча (почти) не встречаются. Согласно недавнему мета-анализу, мутация встретилась лишь у 4 из 550 (0,7%) больных синдромом Линча (причем 2 из 4 случаев – у носителей гипоморфных мутаций в низкопенетрантном гене PMS2). В MSS РТК ее частота составила 5%, а в спорадических MSI-H РТК с потерей экспрессии MLH1 и/или гиперметилированием промотора этого гена – 63,5% [Parsons et al., 2012]. Следует отметить, что роль мутаций в гене BRAF как маркера спорадического характера новообразования, и, следовательно, в снижении числа ненужных анализов на наследственные мутации в генах системы MMR, заведомо приводящих к отрицательному результату, меняется в зависимости от популяции. Доля BRAF-мутантных опухолей среди MSI-H РТК отражает особенности демографии, распределения в популяции взаимодействия с факторами риска (например, курение у женщин, избыток массы тела и т.п.), этнический состав и т.д. Так, в испанской популяции, где процент больных РТК с недостаточностью системы MMR низок, доля опухолей с соматической мутацией в гене BRAF среди MSI-H/MMRd опухолей составила 18,5% [Bessa et al., 2005]. Сходные результаты – 6,2-11,9% обнаруживаются в Корее, где так же низок процент MSI-H образований [Kim and Kang, 2014]. В японской популяции этот показатель составил

среди MSI-H опухолей 28-46%, в израильской – также 28%-46%, в австралийской – 32-64%, в США в целом – 38-70%, но среди темнокожего населения – 23% [Rozek et al., 2010; Ward et al., 2013b; Kim and Kang, 2014]. В целом, доля BRAF-мутантных опухолей обычно велика в популяциях развитых стран, и растет она параллельно с частотой MSI-H РТК в целом [Kim and Kang, 2014]. Действительно, межпопуляционная вариабельность в частоте MSI-H, по-видимому, связана в основном с различной представленностью того зависящего от средовых влияний, «эпидемиологически лабильного» CIMP-H подтипа спорадического MSI-H РТК, маркером которого и являются мутации в гене BRAF. Частота двух других форм MSI-H РТК, видимо, характеризуется относительной «эпидемиологической константностью». Любопытным исключением, по данным нашего небольшого пилотного исследования, вероятно, является Россия: при необычайно низкой общей частоте MSI-H РТК (3/195, 1,5%) в этих редких опухолях наблюдается весьма высокая доля BRAF мутаций (67%). Разумеется, эта необычная находка нуждается в перепроверке, так как выборка больных РТК слишком мала. С практической точки зрения представляется очевидным, что чем больше доля BRAF-мутантных опухолей, тем более целесообразно определять статус этого гена перед направлением больного на анализ, служащий цели непосредственной диагностики синдрома Линча.

На заключительном этапе диагностики синдрома Линча следует отметить несколько технически сложных аспектов генотипирования причинно-значимых генов. Существенная доля мутаций, ассоциированных с синдромом Линча, представляет собой внутригенные перестройки, детекция которых требует специальных методов. Наиболее распространенным и надежным методом является мультиплексная лигазно-зависимая амплификация ДНК-зондов (multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA), впервые апробированная именно для поиска перестроек в генах MLH1 и MSH2 [Gille et al., 2002; Schouten et al., 2002]. Представленность таких aberrаций в структуре причинно-значимых повреждений генома может меняться в силу наличия специфических для той или иной популяции повторяющихся мутаций. Так, например, в Финляндии на одну крупную, 3,5 килобаз, делецию 16 экзона гена MLH1 [Nyström-Lahti et al., 1995], приходится 50-58% семей с синдромом Линча [Aaltonen et al., 1998; Salovaara et al., 2000; Holmberg et al., 1998; Gylling et al., 2009]. Уже упоминалась американская «founder»-мутация – делеция экзонов 1-6 гена MSH2, выявляемая у порядка 7% семей с синдромом Линча на всей территории США, а в некоторых штатах - и основная причина синдрома [Wagner et al., 2003; Clendenning et al., 2008]. Если исключить вклад значимых founder-мутаций, на перестройки обычно приходится 10-30%, причем наиболее часто ими инактивируется ген MSH2 [Baudhuin et al., 2005; Grabowski et al., 2005; Gylling et al., 2009; Pérez-Cabornero et al., 2011; Romero et al., 2013]. Сложности, связанные с существованием необычных мутаций, иллюстрирует недавнее сообщение о выявлении повторяющейся в

небольшом регионе США инверсии экзонов 1-7 в гене MSH2 [Rhees et al., 2014]. Инверсии не приводят к изменению копийности гена или его участков и не могут быть выявлены *de novo* ни обычными методами, ни MLPA; для их обнаружения приходится прибегать к таким методам, как «длинная» ПЦР или Саузерн-блот, но и эти методики успешного результата не гарантируют. Авторы упомянутой работы остроумно воспользовались выявляемым в продукте «длинной» ПЦР, включающем границу инверсии (амплифицируется только с аллеля дикого типа), выпадением альтернативных аллелей, обнаруженных в обычных ПЦР продуктах (амплифицируются и с аллеля дикого типа, и с мутантного аллеля). Но если бы фрагмент «длинной» ПЦР не проходил бы через границу инверсии, выявить повреждение оказалось бы невозможно. Генотипирование PMS2 крайне затруднено присутствием в геноме человека псевдогена, последовательность которого в исключительно высокой степени гомологична 3` экзонам PMS2. Во избежание амплификации псевдогена современные стандарты диагностики предполагают постановку «длинной» ПЦР с амплифицируемым фрагментом размера более 18 килобаз, что предъявляет очень высокие требования к качеству материала [Vaughn et al., 2010]. Небольшая доля случаев синдрома, порядка 5%, связана с тяжелыми для интерпретации вариантами промотора гена MLH1 и конституциональными эпимутациями в этом гене [Ward et al., 2013a]. Наконец, даже если наследуемые варианты с легкостью были обнаружены обычными методами генетического анализа, часто они имеют неясное значение (variant of unknown significance, VUS). Недавно проведенная стратификация 2360 наследственных вариантов в генах системы MMR, включенных в международную онлайн-базу данных InSiGHT (The International Society for Gastrointestinal Hereditary Tumours), привела к разделению их на 5 классов. Отнесенные к классу 5a 990 мутаций были сочтены *a priori* патогенными (крупные перестройки, нонсенс-мутации, инсерции и делеции, сдвигающие рамку считывания). Для 167 мутаций класса 5b были получены исключительно убедительные доказательства патогенности (функциональные тесты, эпидемиологические/клинико-генеалогические наблюдения). 183 варианта были отнесены к 4 классу вероятно патогенных повреждений. К классам 1 и 2 отнесли 255 нейтральных или вероятно нейтральных вариантов. Тем не менее, несмотря на классификаторские усилия и активное изучение синдрома Линча, 765 вариантов остались в 3 классе, в ранге VUS [Thompson et al., 2014].

Помимо рационального отбора пациентов на диагностику при помощи MSI-H/MMRd, исключения случаев с мутациями в гене BRAF, возможного использования клинических/клиникопатологических критериев, для оптимизации диагностики синдрома можно использовать молекулярно-эпидемиологические сведения о спектре мутаций, выдающему относительную специфичность для различных популяций. Особенно значимы

повторяющиеся мутации, связанные с «эффектом основателя», “founder”-мутации. Примеры молекулярно-эпидемиологических исследований синдрома Линча см в Таблице 3.

Таблица 3. Исследования молекулярной эпидемиологии синдрома Линча

Страна, исследование	Критерии, прескрининг, исследованные гены	Частота синдрома Линча	Соотношение мутаций в генах MMR	Доля случаев, пришедших на “founder” мутации,
Финляндия [Aaltonen et al., 1998]	Универсальный скрининг (MSI); генотипирование MLH1 и MSH2	10/509 (2%)	9/10 (90%): MLH1 1/10 (10%): MSH2	5/10 (50%): делеция 16 экзона MLH1 1/10 (10%): с. 454-1G>A MLH1
Финляндия [Salovaara et al., 2000]	Универсальный скрининг (MSI); генотипирование MLH1 и MSH2	18/535 (3,4%)	17/18 (94%): MLH1 1/18 (6%): MSH2	9/18 (50%): делеция 16 экзона MLH1 4/18 (22%): с. 454-1G>A MLH1 3/18 (17%): p. I107R MLH1
Польша, страны Балтии [Kurzawski et al., 2002]	1) Амстердамские критерии I/II 2) больные РТК и РТК у родственника 1 степени родства, одна из опухолей < 50 лет. Прямое секвенирование: MSH2, MLH1	34/101 (33,7%)	18/34 (52,9%): MLH1 16/34 (47,1%): MSH2	7/34 (20,6%): с.942+3A>T MSH2 6/34 (17,6%): p.A681T MLH1
Польша [Kurzawski et al., 2006]	1) Амстердамские критерии I/II 2) РТК у пробанда и его родственника 1 степени родства, один из них младше 50 лет на момент диагноза. Прямое секвенирование: MSH2, MLH1	78/226 (34,5%)	41/78 (52,6%): MLH1 37/78 (47,4%): MSH2	10/78 (12,8%): с.942+3A>T MSH2 8/78 (10,2%): p.A681T MLH1
Словения [Ravnik-Glavac et al., 2000]	Универсальный скрининг (MSI); генотипирование MLH1 и MSH2	4/300 (1,3%)	3/4 (75%): MLH1 1/4 (25%): MSH2	n/a
Словения [Bartosova et al., 2003]	6 – критерии Bethesda 4 – Амстердамские критерии; MSI-тест; генотипирование MLH1 и MSH2	3/6 (30%) – критерии Bethesda, 3/4 (75%) – Амстердамские	4/6 (67%): MLH1 2/6 (33%): MSH2	n/a

		критерии		
Словения [Berginc et al., 2009]	Универсальный скрининг на MSI, детекция в MLH1, MSH2, MSH6, PMS2	7/593 (1,1%)	2/7 (28,6%): MLH1 4/7 (57,1%): MSH2 1/7 (14%): PMS2	n/a
Германия [Lamberti et al., 2006]	Универсальный скрининг (MSI и MMRd); генотипирование MLH1, MSH2, MSH6	3/351 (0,9%) (генотипирована половина MSI-H случаев)	1/3(33%): MLH1 2/3 (67%): MSH2	n/a
Германия [Steinke et al., 2014]	Критерии Bethesda, выборка обогащена случаями, подпадающими под Амстердамские критерии; MSI и MMRd тестирование; генотипирование MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM	680/3671 (18,5%)	273/680 (40,1%): MLH1 328/680 (48,2%): MSH2 57/680 (8,3%): MSH6 16/680 (2,3%): PMS2 9/680 (1,3%): EPCAM	Нет данных (по другой работе немецкого HNPCC консорциума известно 2 немецкие повторяющиеся мутации: 15/252 (6%): c.942+3A>T MSH2 21/252 (8,3%): c.1489_1490insC MLH1 [Mangold et al., 2005])
Дания [Katballe et al., 2002]	РТК у пробанда и его родственника первой степени родства, оба младше 45 лет на момент диагноза; MSI-тест; генотипирование MLH1, MSH2	10/41 (24%); (без учета селекции - 10/1200 (0,8%))	4/10 (40%): MLH1 6/10 (60%): MSH2	4/10 (40%): c.1786_1788delAAT MSH2 (региональная "founder" мутация – Ютланд)
Дания [Nilbert et al., 2009]	Нет данных (описание регистра). Данные по PMS2 не вошли в анализ.	164 семьи	58/164 (35%) MLH1 79/164 (48%): MSH2 27 (16%): MSH6	9/164 (5%): p.Thr117Met MLH1 14/164 (9%) c.1667+2_1667+8 TAAATCAdelinsATTT MLH1 15/164 (9%) c.942+3A>T MSH2 11/164 (7%) c.1786_1788delAAT MSH2
Нидерланды [van Lier et al., 2012]	Универсальный скрининг (MSI, MMRd, BRAF тестирование, тест на метилирование промотора MLH1);	27/1117 (2,4 %) (генотипировано 37/50 подходящих MSI-H случаев)	5/27 (18,5%): MSH2 5/27 (18,5%): MLH1, 11/27 (40,7%): MSH6 5/27 (18,5%): PMS2 1/27 (3,7%): EPCAM	Нет значимого эффекта

	генотипирование MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM			
Нидерланды [Mesenkamp et al., 2014)	РТК/PTM диагностирован младше 50 лет или первично- множественные образования до 70 лет; генотипирование MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM	120/232 (51,7%)	35/120 (29,2%): MLH1 37/120 (30,8%): MSH2 28/120 (23,3%): MSH6 15/120 (12,5%): PMS2 5/120 (4,2%): EPCAM	5/120 (4,2%): 3` протяженная делеция в гене EPCAM [Ligtenberg]
Италия [Percesepe et al., 2001]	Универсальный скрининг (MSI); генотипирование MLH1, MSH2	1/336 (0,3%) (генотипировано 12/28 подходящих MSI-H случаев)	1:MSH2	
Италия [Ponz de Leon et al., 2004]	Амстердамские критерии; прямое секвенирование MLH1, MSH2, MSH6	6/15 (40%) семей; (без учета селекции - 12/2262 (0,5%))	3/6 (50%): MSH2 2/6 (33%): MLH1 1/6 (16,7%): MSH6	2/6 (33%): с.2269_2270insT MLH1 (founder-мутация региона на севере Италии [Caluseriu et al., 2004])
Италия [Urso et al., 2012]	Универсальный скрининг (MSI, MMRd, BRAF тестирование, тест на метилирование промотора MLH1); генотипирование MLH1, MSH2, MSH6, PMS2	3/393 (0,8%) (+2/393 (0,51%) случая MUTYH- ассоциированного полипоза)	1/3 (33%) MLH1 2/3 (67%) MSH2	n/a
Франция [Julié et al., 2008]	Универсальный скрининг (MSI, MMRd, BRAF тестирование, тест на метилирование промотора MLH1); генотипирование MLH1, MSH2, MSH6	8/214 (3,7%)	2/8 (25%): MLH1 5/8 (62,5%): MSH2 1/8 (12,5%): MSH6	n/a
Франция [Bonnet et al., 2012]	«Упрощенные критерии»; MSI, MMRd, BRAF тестирование; генотипирование MLH1, MSH2, MSH6	20/307 (6,5%)	12/20 (60%): MLH1 7/20 (35%): MSH2 1/20 (5%): MSH6	n/a

Франция [Canard et al., 2012]	Универсальный скрининг (MSI, MMRd); генотипирование MLH1, MSH2, MSH6, EPCAM	25/1044 (2,4%) (генотипировано 38/62 подходящих MSI-H/MMRd случаев)	including mutations,– 4/25 (16%): MLH1, 18/25 (72%): MSH2 2/25 (8%): MSH6 1/25 (4%): EPCAM	5/25 (20%): c.942+3A>T MSH2
Испания [Pérez-Carbonell et al., 2012]	Универсальный скрининг (MSI и MMRd); генотипирование MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM	14/2093 (0,7%)	4/14 (29%): MLH1, 7/14 (50%): MSH2 3/14 (21,4%): MSH6	n/a
Япония [Furukawa et al., 2002]	Универсальный скрининг (MSI, MMRd); генотипирование MLH1, MSH2	6/452 (1,3%)	3/6 (50%): MLH1 3/6 (50%): MLH1	2/6 (33%): p.R687W MLH1
Тайвань [Chang et al., 2010]	Универсальный скрининг (MSI, MMRd, BRAF тестирование, тест на метилирование промотора MLH1); генотипирование MLH1, MSH2, MSH6	13/561 (2,3%)	10/13 (77%): MLH1 2/13 (15,4%): MSH2 1/13 (7,7%): MSH6	n/a
Южная Корея [Shin et al., 2004]	Амстердамские критерии и Корейские критерии [Park et al., 2002]; генотипирование MLH1, MSH2, MSH6 (описание регистра)	44/164 (26,8%)	31/44 (70,4%): MLH1 10/44 (22,7%): MSH2 3/44 (6,8%): MSH6	11/44 (25%): c.1757_1758insC MLH1
Уругвай [Sarroca et al., 2005]	Амстердамские критерии; генотипирование MLH1, MSH2, MSH6	3/461 (0,7%)	2/3(67%): MLH1 1/3 (33%): MSH2	n/a
Израиль [Goldberg et al., 2014]	Амстердамские критерии, критерии Bethesda, сложные собственные критерии; MMRd, иногда MSI тестирование; генотипирование MLH1, MSH2, MSH6, PMS2	51/75 (68%)	4/51 (7,8%): MLH1 38/51 (74,5%): MSH2 9/51 (17,6%): MSH6 1/51 (2%): EPCAM+MSH2 deletion	28/51 (55%) p. A636P MSH2 (впервые описана [Foulkes]) 3/51 (5,9%): c.3959_3962delCAAG MSH6 (впервые описана [Raskin]) 6/51 (11,8%): c.3984_3987dupGTCA MSH6 – [описана Raskin, Goldberg et al., 2010]

				Всего 37/51 (72,5%) случаев пришлось на три мутации
Соединенное Королевство (Шотландия) [Barnetson et al., 2006]	1) Больные младше 55 лет 2) Больные младше 45 лет; MSI, MMRd тестирование; генотипирование MLH1, MSH2, MSH6	1) 38/870 (4,4%) 2) 35/155 (22,6%)	1) 15/38 (39,5%): MLH1 16/38 (42,1%): MSH2 7/38 (18,4%): MSH6 2) 19/35 (54,3%): MLH1, 13/35 (37,1%): MSH2 3/35 (8,8%): MSH6	Нет значимого эффекта
Австралия [Southey et al., 2005]	Больные младше 45 лет; MSI, MMRd тестирование; генотипирование MLH1, MSH2, MSH6, PMS2	18/105 (17,1%)	9/18 (50%): MLH1 4/18 (22,2%): MSH2 4/18 (22%): MSH6 1/18 (5,6%): PMS2	n/a
Австралия [Schofield et al., 2009]	Больные младше 60 лет; MSI, MMRd, BRAF тестирование; генотипирование MLH1, MSH2, MSH6, PMS2	36/1344 (2,7%) (генотипировано 64/98 подходящих MSI-H/MMRd случаев)	13/36 (36,1%): MLH1 19/36 (52,8%): MSH2 2/36 (5,6%): MSH6 2/36 (5,6%): PMS2	n/a
США (Миннесота) [Cunningham et al., 2001]	Универсальный скрининг (MSI, MMRd, метилирование промотора MLH1, MSH2); генотипирование MLH1, MSH2, экзона 5 гена MSH6	7/247 (2,8%)	4/7 (57,1%): MLH1 3/7 (42,9%): MSH2	n/a
США (Северная Калифорния, Юта) [Samowitz] 2001	Универсальный скрининг (MSI) – много больных не вошли в исследование по организационно-техническим причинам; генотипирование MLH1, MSH2	7/1066 (0,7%)	5/7 (71%): MLH1 2/7 (29%): MSH2	n/a
США (Огайо) [Hampel et al., 2005]	Универсальный скрининг (MSI, MMRd, тест на метилирование промотора MLH1);	26/1066 (2,4%)	5/26 (19,2%): MLH1 13/26 (50%): MSH2 3/26 (11,5%): MSH6, 5/26 (19,2%): PMS2	5/26 (19,2%): с.942+3A>T MSH2

	генотипирование MLH1, MSH2, MSH6, PMS2			
США (Огайо) [Hampel et al., 2008]	Универсальный скрининг (MSI, MMRd, тест на метилирование промотора MLH1); генотипирование MLH1, MSH2, MSH6, PMS2	18/500 (3,6%)	4/18 (22%): MLH1 10/18 (55,6%): MSH2 3/18 (16,7%): MSH6, 1/18 (5,6%): PMS2	5/18 (28%): с.942+3A>T MSH2 3/18 (17%) – американская founder делеция экзонов 1-6 гена MSH2
Канада (Ньюфаундленд) [Woods et al., 2010]	Больные младше 75 лет; MSI, MMRd, BRAF тестирование, тест на метилирование промотора MLH1; генотипирование MLH1, MSH2, MSH6, PMS2	20/750 (2,7%) , 3/750 (0,4%) случаев семейного аденоматозного полипоза, 4/750 (0,5%) биаллельных мутаций в гене MUTYH	2/20 (10%): MLH1 14/20 (70%): MSH2 2/20 (10%): MSH6 2/20 (10%): PMS2	9/20 (45%): с.942+3A>T MSH2 5/20 (25%): крупная делеция в гене MSH2

Очевидно, что наличие частой повторяющейся “founder”-мутации, а также сведения о сравнительной частоте причинно-значимых мутаций в различных генах MMR можно использовать для определения порядка выполнения молекулярно-генетических тестов в ходе диагностики синдрома. Например, в финской популяции простой и дешевый тест на две мутации - делецию 16 экзона в гене MLH1 и мутацию в сайте сплайсинга 6 экзона того же гена – способен будет выявить 60-70% случаев заболевания [Aaltonen et al., 1998; Salovaara et al., 2000]. Аналогичные результаты принесет генотипирование трех “founder”-мутаций в генах MSH2 и MSH6 у евреев-ашкенази [Goldberg et al., 2014]. Разумеется, выполнение генотипирования в этих сайтах должно предшествовать исследованию всей кодирующей последовательности. Сила “founder” эффекта, безусловно, неодинакова в разных популяциях, однако ценность обнаружения даже не слишком часто повторяющейся мутации несомненна. Примером не столь сильного, но значимого “founder” эффекта являются две повторяющиеся польские мутации, ответственные за развитие 20-40% случаев синдрома Линча в этой стране [Kurzawski et al., 2002; Kurzawski et al., 2006]. Другой пример – еще менее частые (~8% случаев в совокупности), и все же встречающиеся на всей территории страны две американские “founder” мутации в генах MSH2 [Wagner et al., 2003; Clendenning et al., 2008] и MLH1 [Tomsic et al., 2012]. Иногда, когда население страны гетерогенно, разделено на этнические группы и популяции, изолированные культурно, социально, географически – “founder”-эффект общенационального значения может отсутствовать или быть исчезающе слабым. Вместе с тем

могут присутствовать региональные повторяющиеся “founder”-мутации, особенно значимые в какой-то области страны или среди какой-то относительно изолированной группы населения. Примерами могут служить ряд итальянских мутаций, каждая из которых характерна лишь для своего региона: для Модены [Caluseriu et al., 2004], Пьемонта [Borelli et al., 2014], Сардинии [Borelli et al., 2013], Апулии [Lastella et al., 2011]. Частота подобных региональных мутаций внутри своей – иногда довольно обширной - области распространения может быть очень велика – в качестве примера можно привести две повторяющиеся мутации в гене MSH2, характерные для Ньюфаундленда [Wood et al., 2012]. Понятно, что категории как региональных “founder”-повреждений, так и редких, но повторяющихся на всей территории мутаций без какой-либо четкой границы переходят в мутации, характерные для очень крупных семей. В качестве примера можно привести «раковую семью G», описанную A.S. Warthin в 1913 году – первое описание синдрома Линча в научной литературе. Предполагается, что мутация появилась на Американском континенте в 1831 году с немецким иммигрантом - носителем патогенной мутации в гене MSH2, и вот по состоянию на 2005 год семья его потомков уже насчитывает 665 членов, некоторая часть из которых – также носители патогенной мутации, проживающие в разных населенных пунктах США [Douglas et al., 2005]. Большая доля случаев синдрома Линча приходится на «приватные» мутации, свойственные отдельным семьям [Thompson et al., 2014]. Наконец, весьма небольшая доля случаев синдрома Линча, порядка 2%, связана с мутациями, возникшими de novo [Win et al., 2011c]. Интересно, что популяционно-генетические факторы разыгрываются на «неровном поле» варьирующей мутабельности различных участков генов MMR. Например, следует отметить мутацию с.942+3A>T в гене MSH2, частую и среди польских больных, и среди населения Ньюфаундленда, а также во Франции и Германии [Kurzawski et al., 2002; Kurzawski et al., 2006; Wood et al., 2012; Mangold et al., 2005; Canard et al., 2012]. Повторяющийся характер данная мутация приобрела в различных популяциях независимо, являясь ярким примером «горячей точки мутагенеза» [Desai et al., 2000].

Таким образом, в настоящее время оптимальный алгоритм молекулярно-генетической диагностики синдрома Линча может заключаться в следующем. Предварительный скрининг осуществляется в идеале для всех больных РТК при помощи MSI-теста на основе панели, нескольких или одного высокоточного квазимономорфного мононуклеотидного маркера; проводится исключение случаев с соматической мутацией V600E в гене BRAF, а также ИГХ исследование на экспрессию MMR генов. По клиническим данным проводится отбор случаев на дальнейшее молекулярно-генетическое тестирование. Далее, учитываются сведения о наличии в популяции пробанда “founder”-мутаций. Если наличие такой мутации может быть совместимо с результатами ИГХ, то проводится ступенчатый генетический анализ с предварительной проверкой статуса локуса “founder” мутации. При условии отрицательного

результата следует провести анализ всей кодирующей последовательности гена, на который указывают результаты ИГХ, а затем следует учесть возможность нестандартного паттерна экспрессии и расширить объем исследования до всех ассоциированных с синдромом генов. Фактически, на данном уровне развития техники детекции мутаций наиболее значимый этап алгоритма, который можно оптимизировать – учет молекулярно-эпидемиологических сведений. Следует заметить, что данные о спектре и структуре патогенных мутаций у российских больных с синдромом Линча исключительно скудные. В 1996 году вышла работа московских исследователей, в которой были охарактеризованы 3 российские семьи, с мутациями p.G322D, p.L376fs и p.R621X в гене MSH2 [Maliaka et al., 1996]. Некоторым больным и в дальнейшем проводилась молекулярная диагностика, однако эти данные долгое время оставались неопубликованными [Корчагина и др., 2008]. Далее, в 2012 году, коллективом авторов из НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова (Санкт-Петербург), были описаны еще 5 случаев синдрома Линча, были выявлены носители мутаций p.R226L и p. R659X в гене MLH1 и p.N139fs*, p.A636P и p.E878fs*3 – в гене MSH2. В 2014 появилось несколько работ, обобщающих опыт молекулярно-генетической диагностики ГНЦ колопроктологии (Москва) [Поспехова и др., 2014]. В них было описано еще 10 носителей мутаций: p.R100X, p.R100P, p.Lys618del, p.Lys618del, c.546–2A>G, p.C680R, p.691delAT, c.1896+1G>C в гене MLH1, c.942+3A>T – в гене MSH2, и p.I745N – в гене MSH6. У носителя мутации c.942+3A>T наблюдался синдром Мюир-Торре. Интересно, что лишь мутация p.Lys618del в гене MLH1 повторилась дважды, составив 2/18 (11%) из всех выявленных и опубликованных случаев наследственных молекулярных повреждений в генах системы MMR в России. Надо заметить, что при ряде наследственных заболеваний для нашей страны сильно выражен «эффект основателя», и полученные при изучении синдрома Линча результаты не являются типичными. Так или иначе, накопление эпидемиологических сведений позволит более точно установить долю повторяющихся повреждений в структуре случаев синдрома. Нами были дополнительно проанализированы несколько случаев РТК с признаками синдрома Линча и проверен повторяющийся характер нескольких мутаций.

Прежде чем перейти к рассмотрению полипозных форм наследственного РТК, следует кратко охарактеризовать современное состояние проблемы «синдрома, схожего с синдромом Линча», а также «семейного колоректального ракового синдрома типа X». В 55-100% случаев отсутствия наследственных повреждений MMR генов и диагноза «синдрома, схожего с синдромом Линча» в опухоли обнаруживают соматические мутации генов системы MMR, обычно биаллельные [Sourrouille et al., 2013; Mesenkamp et al., 2014; Haraldsdottir et al., 2014; Geurts-Giele et al., 2014]. Очень редко, самое большее в 5% таких случаев, встречается соматический мозаицизм по мутациям в генах системы MMR. В одной из работ все необъясненные случаи MSI-H/MMRd РТК оказались плодами методических артефактов

[Haraldsdottir et al., 2014]. Интересным представляется и вопрос, что способствует возникновению таких биаллельных соматических повреждений MMR. Известно, например, что порядка 20% случаев «синдрома, схожего с синдромом Линча» образований несут в своем геноме еще и соматические мутации в гене POLE, что делает эти опухоли ультрагипермутабельными (> 200 мутаций на мегабазу) [Haraldsdottir et al., 2014; Palles et al., 2013]. Какое событие в данном случае первично, повреждение ли генов системы MMR, или же полимеразы, согласно авторам работы, пока неизвестно [Haraldsdottir et al., 2014]. Интересно, но при внимательном рассмотрении приведенных авторами мутаций в генах MMR можно заметить, что в группе опухолей с дополнительной мутацией в гене POLE (n=5) в структуре биаллельных (иногда больше) повреждений генов MMR системы 13 замен, 1 инсерция и 1 LOH. В то же время, в других опухолях, без мутаций в гене POLE (n=21), в структуре биаллельных мутаций 10 замен, 15 инсерций и делеций, 16 LOH (13/15 (87%) против 10/41 (24%), $p < 0,0001$). Известно, что мутации в гене POLE приводят к повышению частоты именно замен, чего никак нельзя сказать о дефектах системы MMR. По нашему мнению, наблюдаемая структура соматических мутаций говорит в пользу вторичного характера биаллельных повреждений генов системы MMR в небольшой фракции гипермутабельных РТК с предсуществующей POLE мутацией. К сходным выводам, сравнивая мутационные сигнатуры в собственных данных, недавно пришли и другие авторы, выявившие мутации в экзонуклеазном домене POLE/POLD1 в (9/62) 15% случаев «синдрома, схожего с синдромом Линча» [Jansen et al., 2016]. Интересно, что два случая возникли на фоне наследственной мутации в POLD1 и POLE соответственно. Наследственные мутации в гене POLE и POLD1 ассоциированы с микросателлитной нестабильностью в меньшинстве случаев [Jansen et al., 2016; Elsayed et al., 2015]. Любопытно также, что соматические мутации в гене POLD1, которые еще на заре изучения феномена микросателлитной нестабильности были замечены в MSI-H опухолях [da Costa et al., 1995], почти всегда ассоциированы с CIMP-H MSI-H РТК, с высокой частотой BRAF мутаций [Palles et al., 2013]. Приблизительно в 2-3% случаев «синдрома, схожего с синдромом Линча» выявляют биаллельные наследственные мутации в гене MUTYH, ассоциированном с другим наследственным РТК. MUTYH является геном эксцизионной репарации оснований ДНК и опухоли, возникающие в контексте MUTYH-ассоциированного полипоза, гипермутабельны. Вероятно, иногда возникающие и неустраняемые соматические повреждения затрагивают и гены MMR, приводя к картине «синдрома, схожего с синдромом Линча» [Morak et al., 2014; Castillejo et al., 2014].

Существует ряд генов, которые предлагались отдельными исследовательскими группами на роль причинно-значимых для синдрома Линча, однако на данный момент их причастность к наследственному РТК никак нельзя считать доказанной. Первым и «классическим» таким

примером является уже упоминавшийся ранее ген PMS1 [Nikolaides et al., 1994; Liu et al., 2001]. Эпидемиологические и биологические данные говорят не в пользу причастности наследственных аномалий другого такого гена, MLH3, к канцерогенезу при РТК. Считается, что MLH3 фактически функционально значим лишь в процессе мейоза [Charbonneau et al., 2009]. Мутации в гене MLH3 плохо сегрегировались с фенотипом, встречались вместе с повреждениями других MMR генов, не ассоциировались с микросателлитной нестабильностью в опухолях [Liu et al., 2003; Hienonen et al., 2003]. Тем не менее, вопрос о значении повреждений в гене MLH3 до сих пор не закрыт, особенно сложно исключить патогенную роль биаллельных мутаций, возможно, предрасполагающих больных к фенотипу, напоминающему синдром Тюрко [Duraturo et al., 2016; Kansal et al., 2016]. Еще одним кандидатом являлся ген EXO1, экзонуклеазы, устранивающей участки ДНК, содержащие неспаренные основания, распознанные MMR белками. Несмотря на отдельные данные, говорящие в пользу возможной причастности мутаций EXO1 к колоректальному канцерогенезу, крайне маловероятным таковую причастность делает детальное описание двух британских семей с предрасположенностью к множественным кожным и маточным лейомиомам. У больных была выявлена протяженная делеция на длинном плече 1 хромосомы, затронувшая не только ген FH, ассоциированный с их основным заболеванием, но также и ген EXO1. Невзирая на произошедшую в опухолевой ткани потерю гетерозиготности, лейомиомы кожи с полной утратой EXO1 не отличались микросателлитной нестабильностью. Кроме того, ни один из девяти носителей делеции не страдал РТК и другими гастроинтестинальными опухолями спектра синдрома Линча [Alam et al., 2003]. Роль гена MSH3 в генезе наследственного колоректального рака будет рассмотрена ниже.

Говоря о «семейном колоректальном раковом синдроме типа X», семейном РТК, протекающем без выраженного полипоза и отличающемся стабильностью микросателлитов, следует прежде всего упомянуть о роли наследственных мутаций в системе репарации двухцепочечных разрывов ДНК (double strand break repair, DSBR). РТК в этом случае фактически является «периферийным», неклассическим проявлением другого ракового синдрома, семейного рака молочной железы и яичников. Например, мутации в генах BRCA1 и BRCA2, вызывающие семейный рак молочной железы и яичников, обычно не связывают с предрасположенностью к РТК. Тем не менее, в исследованиях последнего времени среди опухолей с клиническими признаками синдрома Линча неожиданно обнаруживается большой процент этих генетических повреждений, порядка 8-9% от всех выявляемых патогенных мутаций [Yurgelun et al., 2015a; Susswein et al., 2016]. Известно, что среди очень молодых больных РТК можно встретить атипичные случаи редкого синдрома Ли-Фраумени, ассоциированного с мутациями в гене TP53 [Yurgelun et al., 2015b]. Уже упоминалось влияние

патогенных аллелей в гене CHEK2 на риск РТК. Также можно привести пример мутаций в гене NBN, ассоциированных с раком молочной железы, дающих умеренное, приблизительно двухкратное, повышение риска РТК [Xiang et al., 2011]. Гетерозиготные мутации в генах репарации BRCA2/FANCD1, BRIP1/FANCF, FANCC, FANCE и REV3L/POL32, устраняющих межнитевые сшивки ДНК, ассоциированные с опухолями молочной железы и, в гомозиготном состоянии - с синдромом Фанкони, видимо, также способствуют развитию РТК [Esteban-Jurado et al., 2016]. В другой недавней работе до 3% случаев «семейного колоректального ракового синдрома типа Х» удалось связать с наследственными повреждениями гена FANF [Seguí et al., 2015]. Эпидемиологические наблюдения на больших когортах пациентов, подвергнутых полноэкзомному секвенированию, указывают на возможность причинно-значимой роли мутаций в генах POT1 и MRE11A, участвующих в числе прочего в DSBR и поддержании стабильности теломер [Chubb et al., 2016]. Существуют новые свидетельства в пользу причастности патогенных мутаций в гене BLM к развитию колоректального рака у молодых пациентов [de Voer et al., 2015]. Надо заметить, что этот спорный вопрос давно служил поводом для дискуссий, но ранее изучалась причастность к генезу колоректального рака лишь одной мутации, распространенной среди евреев-ашкенази. Возможно, небольшая часть случаев семейного колоректального ракового синдрома типа Х связана с наследственными мутациями другой RecQL хеликазы, WRN. Свидетельство этого, возможно, не очень убедительное, однако получено оно в исследовании, заслуживающем внимания в силу весьма интересного подхода и свидетельствующем о роли системы репарации двухцепочечных разрывов ДНК. Был проведен функциональный анализ ответа Т-лимфоцитов, взятых у больных «семейным колоректальным раковым синдромом типа Х», на повреждающие ДНК агенты, и действительно, было выявлено увеличение числа двухцепочечных разрывов по сравнению с лимфоцитами здоровых контролей. Кроме того, на каждого больного с семейным колоректальным раком типа Х приходилось в среднем 1,4 патогенных мутаций в генах системы репарации двухцепочечных разрывов [Arora et al., 2015]. Некоторые исследователи обнаруживают меньшую долю мутаций в системе DSBR среди случаев «семейного колоректального ракового синдрома типа Х» и отмечают отсутствие научных обоснованных клинических последствий в случае выявления мутаций в этих генах [Dobbins et al., 2016]. В геномах больных необъясненного РТК молодого возраста описаны также инактивирующие мутации в генах системы эксцизионной репарации нуклеотидов (nucleotide excision repair, NER): ERCC3 и ERCC6 [Arora et al., 2015; Dobbins et al., 2016], но доказательств их причинной значимости практически нет. Из других генов, не связанных с DSBR и NER, можно упомянуть недавнюю находку финских исследователей, мутации в гене RPS20, принадлежащем семейству рибосомальных белков, ассоциированных с анемией Даймонда-Блэкфана и сегрегировавшиеся с РТК в 4 поколениях [Nieminen et al., 2014].

Редкой причиной синдрома могут быть мутации в гене *POLD1* (см ниже). *POLD1*-ассоциированные наследственные опухоли нередко развиваются на фоне полипоза, но так бывает не всегда [Valle et al., 2015; Bellido et al., 2016]. В одном из исследований на большой когорте молодых больных РТК было выявлено несколько случаев мутаций в гене *FLCN*, участнике сигнального каскада, ведущего к белку *mTOR*, связанном лишь с очень редким синдромом Бёрта-Хога-Дьюба [Dobbins et al., 2016]. На заре изучения этого синдрома были сообщения о связи его с РТК и/или полипозом толстой кишки, что впоследствии снова и снова служило предметом исследований, так и не давших однозначный ответ. Несомненно, многие из предлагаемых кандидатов в гены предрасположенности к колоректальному раку позже, с накоплением данных, удастся отвергнуть (что становится не менее актуальной научной задачей, чем открытие новых кандидатов) – как, например, это уже произошло с такими генами, как *UNC5C* [Mur et al., 2016] или *SEMA4A* [Schulz et al., 2014; Kinnersley et al., 2016], или почти произошло, как в случае *RINT1* [Li et al., 2016] и *GALNT12* [Segui et al., 2014]. О многих же подобных кандидатах, таких как *UACA*, *SFXN4*, *TWSG1*, *PSPH*, *NUDT7*, *ZNF490*; *PRSS37*, *CCDC18*, *PRADC1*, *MRPL3*, *AKR1C4*, *EIF2AK4*, *PTPN12*, *LRP6* в контексте колоректального рака пока мало что известно [Gylfe et al., 2013; Zhang et al., 2015; Chubb et al., 2016].

1.4.4 Аутосомно-доминантные формы аденоматозного полипоза толстой кишки

1.4.4.1 Семейный аденоматозный полипоз

Семейный аденоматозный полипоз толстой кишки (САПТК, диффузный семейный полипоз, *familial adenomatous polyposis*, *FAP*) – одна из трех наиболее частых наследственных форм рака толстой кишки. Он является причиной развития приблизительно 0,12% случаев РТК. Как и в случае синдрома Линча или воспалительных заболеваний толстой кишки, выявление больных и проведение профилактических мероприятий резко снижает вклад синдрома в развитие РТК [Barrow et al., 2013]: так, по датским данным, уже через 30 лет функционирования национального регистра полипоза на семейный аденоматозный полипоз приходилось всего 0,07% РТК [Bülow, 2003]. Без современных методов диагностики, профилактики и лечения заболевание протекает очень тяжело. Поэтому неудивительно отсутствие в большинстве регионов мира значимого «эффекта основателя» в отношении семейного аденоматозного полипоза. Встречаемость заболевания в популяции также, вероятно, больше зависит от эффективности ведения больных, чем от этнического состава популяции, и составляет 1:13500-1:31000 [Bisgaard et al., 1994; Bülow, 2003; Evans et al., 2010]. В типичных случаях это заболевание, ассоциированное с зародышевыми мутациями в гене *APC*, характеризуется

появлением ко второй-третьей декаде жизни десятков, сотен, а иногда и тысяч аденоматозных полипов толстой кишки, в которых обычно происходит инактивация интактного аллеля APC [Grodin et al., 1991]. Интересно, что полная инактивация APC не является оптимальной для развития полипа, причем оптимум остаточной функциональной активности APC варьирует в зависимости от тканевого происхождения клетки: это биологическое обстоятельство лежит в основе выраженных корреляций генотипа и фенотипа при этом синдроме [Albuquerque et al., 2002; Gaspar and Fodde et al., 2004; White et al., 2012]. Семейный аденоматозный полипоз подразделяют на классическую форму, при которой к началу взрослого возраста полипов более сотни, и аттенуированную, которая характеризуется наличием 10-99 полипов [Syngal et al., 2015]. «Зубчатые» повреждения встречаются, но крайне редко [Matsumoto et al., 2002]. Опухолевая прогрессия полипов идет в рамках, обычных для цепи морфологических и молекулярных превращений предшественников типичного РТК. Риск малигнизации каждого отдельного полипа, таким образом, невелик, порядка 0,25% в год; прогрессия до РТК занимает обычно не менее 7-11 лет [Risio, 2010]. С молекулярно-генетической точки зрения, возникающий РТК почти ничем не отличается от наиболее распространенных подтипов спорадического РТК: задействуется обычно «традиционный» или «альтернативный» (с промежуточным уровнем метилирования, повышенной частотой мутаций в гене KRAS и ворсинчатым компонентом в полипах) путь канцерогенеза [Takane et al., 2016]. Интересно, что помимо множества полипов, кажущаяся макроскопически неизменной слизистая кишки содержит еще большее количество отдельных aberrантных крипт, или даже участков атипии в пределах одной крипты («микroadеномы»). В силу множественности постоянно возникающих и параллельно, но независимо развивающихся пренеопластических процессов, без лечения классическая форма семейного аденоматозного полипоза характеризуется неизбежным развитием РТК. Средний возраст развития РТК составляет 39 лет, к 50 годам риск возрастает более чем до 90% [Syngal et al., 2015]. В случае аттенуированного варианта полипоза риск меньше: средний возраст развития рака – 52-58 лет, к 80 годам риск повышается до 69% [Syngal et al., 2015].

Высочайший онкологический риск диктует необходимость интенсивных профилактических мероприятий. Носителям мутаций рекомендуется проведение сигмоидоскопии или колоноскопии раз в 1-2 года начиная с 10-12 лет. При появлении крупных, высокодиспластичных полипов, при резком нарастании числа полипов рекомендуется профилактическая колэктомия или колпроктэктомия. Выбор вмешательства определяется количеством полипов. Даже малое количество полипов в прямой кишке говорит в пользу необходимости ее удаления [Syngal et al., 2015]. Наличие аттенуированной формы обыкновенно позволяет отложить начало столь частого скрининга к третьей декаде жизни, отсрочить время

профилактической операции и выбрать для операции вмешательство с меньшим объемом. Атенуированная форма синдрома развивается обычно при локализации патогенной «транскирующей» мутации 5' от 157 - 175 кодона, в области подвергающегося альтернативному сплайсингу 9 экзону – 312-412 кодон, и в 3' направлении от 1596 кодона. Также аттенуированной форме могут соответствовать внутригенные перестройки. Если же мутация лежит в регионе 1250–1464 кодона – развивается тяжелая форма, с профузным полипозом, тысячами полипов, возникающих иногда еще у детей в возрасте младше 10 лет. Остальные области могут нести мутации, влекущие за собой развитие классической формы синдром с промежуточной степенью риска. К сожалению, встречаются исключения, не укладывающиеся в рамки этой схемы: локализация мутации - важный, но не абсолютно специфичный прогностический маркер [Giardiello et al., 1994]. В оценке объема необходимых лечебно-профилактических мероприятий ведущая роль, несомненно, должна принадлежать все же клиническим данным, например, оценке результатов колоноскопии. И тем не менее, отнесение мутации к одной из перечисленных групп довольно хорошо коррелирует с необходимостью проктэктомии у больных с первоначально проведенной колэктомией с илиоректальным анастомозом, с прогнозом развития ректального рака; учет молекулярно-генетических данных в сомнительных случаях вполне оправдан [Nieuwenhuis et al., 2009; Newton et al., 2012]. Существуют полиморфные аллели, модифицирующие риск РТК [Ghorbanoghli et al., 2016].

Помимо толстой кишки могут поражаться и другие органы. У значительной доли больных (около 30% в случае аттенуированного и 60% в случае классического полипоза) наблюдаются полипы тонкой кишки и желудка [Bülow et al., 2004; Groves et al., 2002; Tulchinski et al., 2005; Rivera et al., 2011; Kennedy et al., 2014; Lepistö et al., 2009]. Особенно высокая частота полипов желудка и тонкой кишки ассоциирована с мутациями в 1400 и 1580 кодонах гена APC. Они обычно кластеризуются в двенадцатиперстной кишке, а там группируются преимущественно вокруг фатерова сосочка. После возникновения первых полипов (обычно на второй декаде жизни) они постепенно нарастают в числе и увеличиваются в размере, постепенно могут приобретать ворсинчатую морфологию и в целом проходят схожую с полипами толстой кишки последовательность аденома-карцинома [Groves et al., 2002]. Рак тонкой кишки встречается при семейном аденоматозном полипозе с частотой приблизительно 1-6% [Groves et al., 2002; Bülow, 2003; Rivera et al., 2011; van Heumen et al., 2012; Latchford et al., 2014; Syngal et al., 2015; Yamaguchi et al., 2016]. Рак двенадцатиперстной кишки- вторая из ведущих причин смерти больных, после РТК. Поэтому больным рекомендован скрининг при помощи ФГДС с 25-30 лет, рекомендуемая частота скрининга зависит от выраженности полипоза, от 2 раз в год до 1 – в 4 года. Выраженный неустраняемый эндоскопически полипоз становится поводом к дуоденэктомии. Малигнизация доброкачественных новообразований

желудка при семейном аденоматозном полипозе – редкость, хотя имеются сообщения, что в азиатских популяциях риск повышается сильнее, чем в европейских (любопытно, что подобные сведения имеются и в отношении синдрома Линча) [Ngamruenphong et al., 2014]. Любопытна недавняя находка – оказывается, мутации в альтернативном промоторе гена APC 1B, единственно функциональном в клетках желудка, но не в клетках кишки (где транскрипты APC могут синтезироваться еще и под контролем промотора 1A), в большей степени предрасполагают носителей не к полипозу толстой кишки и РТК, а к полипозу и раку желудка и двенадцатиперстной кишки [Rohlin et al., 2011; Snow et al., 2015; Li et al., 2016]. Часто, по меньшей мере в 10-15% случаев, наблюдаются десмоидные опухоли: не метастазирующие, но местно агрессивные образования миофибробластического происхождения. Десмоидные опухоли обычно возникают в брюшной стенке, мягких тканях конечностей и шеи на второй-третьей декаде жизни. Часто в контексте синдрома возникают своеобразные фибромы, которые рядом авторов рассматриваются как морфологические предшественники десмоидных опухолей. Риск десмоидных опухолей выше у женщин, и растет сильнее у пациентов с мутациями в 543-713 кодоне, а также в 3` направлении от кодона 1310 [Escobar et al., 2012; Kasper et al., 2011; Sinha et al., 2011; Slowik et al., 2015]. Помимо влияния эстрогенов, риск ассоциирован с пролиферативной реакцией соединительной ткани на травму. Интересно, что чрезмерно ранняя профилактическая операция (колэктомия, колпроктэктомия) провоцирует возникновение у больных абдоминальных десмоидных опухолей, особенно у женщин [Durno et al., 2007]. Кроме того, предпочтительно осуществлять оперативное вмешательство лапароскопически - открытый доступ также многократно увеличивает риск [Vitellaro et al., 2014]. Крупные десмоиды – третья по значению причина смерти больных семейным аденоматозным полипозом. Лечение десмоидных опухолей может быть оперативным, хотя радикальное иссечение опухоли в границах здоровых тканей возможно не всегда и, к тому же, в некоторой степени провоцирует генез новых фиброидных поражений. Лучевая терапия иногда применяется для лечения неоперабельных образований. Также эти образования часто отвечают на терапию НПВС, тамоксифеном, иматинибом или на химиотерапию (прежде всего антрациклины) [Waddell and Gerner, 1980; Escobar et al., 2012; Kasper et al., 2011; Park et al., 2016]. У ряда больных, особенно у носителей мутаций в 3` направлении от 1444 кодона, наблюдают аномалии количества зубов (гиперодонтия, ретинированные зубы), остеомы челюстей, одонтомы [Wijn et al., 2007]. У половины больных наблюдаются характерные поражения кожи: липомы, фибромы, эпидермоидные кисты, десмоидные опухоли кожи. Реже – лейомиомы, нейрофибромы, трихилемомы и пиломатрикомы [Burger et al., 2011]. Сочетание полипоза толстой кишки, остеом челюсти и других костей черепа, а также опухолей мягких тканей: десмоидных опухолей, фибром, эпидермоидных кист кожи получило название синдрома Гарднера.

Классический синдром Гарднера чаще развивается у носителей мутаций в области 1403-1578 кодона [Juhn and Khachemoune, 2010]. У больных повышен риск развития папиллярного рака щитовидной железы (РЩЖ) он составляет порядка 1-2% в большинстве сообщений, но отдельные авторы отмечают частоту порядка 10%. Эта разница отражает реальную гетерогенность риска. В контексте семейного аденоматозного полипоза женщины заболевают РЩЖ в 10 раз чаще мужчин, существуют и ассоциации определенных генотипов с РЩЖ, например, мутаций, расположенных 5' от кодона 512, частой «транскирующей» мутации в 1062 кодоне, и в регионе 1249-1330 кодона [Septer et al., 2013; Uchino et al., 2016]. Часто встречается особый редкий морфологический вариант папиллярного рака: крибриформно-морулярный подтип – он отличается индолентным клиническим течением [Ito et al., 2011]. У носителей мутаций в 311-1444 кодоне более чем в половине случаев встречается врожденная гипертрофия пигментного эпителия сетчатки (congenital hypertrophy of the retinal pigmented epithelium, CHRPE) – микроаномалия развития, сама по себе клинически не значимая, но способная послужить диагностическим целям [Chen et al., 2006]. К нередким проявлениям синдрома следует отнести аденокортикальные нефункциональные аденомы, встречающиеся в 7% случаев. Патогенез этих опухолей отличается от их спорадических фенокопий [Gaujoux et al., 2010]. Клиническое течение этих образований, как правило, благоприятное (чаще всего это «инциденталомы») и оправдывает выжидательную тактику лечения [Will et al., 2009]. Тем не менее, в некоторых редких случаях аденокортикальные опухоли не столь индолентны, поэтому тщательный мониторинг и обследования на предмет эндокринных нарушений необходимы [Rekik et al., 2010]. У 0,5-2,5% больных развивается гепатобластома, достаточно агрессивная злокачественная опухоль детского возраста. Среди гепатобластом порядка 20% приходится на семейный аденоматозный полипоз. Развивается гепатобластома у носителей мутаций в 141-1751 кодоне [Aretz et al., 2006; Kennedy et al., 2014]. Существуют единичные сообщения о связи различных редких опухолей гонад с семейным аденоматозным полипозом: в них наблюдается потеря второго аллеля APC и ядерная локализация бета-катенина [Hu et al., 2012; Xiao et al., 2012]. С семейным аденоматозным полипозом ассоциирован ряд опухолей ЦНС: медуллобластома, астроцитомы, реже - эпендимомы, пинеалобластома и ганглиogliома [Attard et al., 2007]. Риск составляет приблизительно 1%, он выше у женщин (в контрасте со спорадическими случаями), у носителей мутаций в регионе 697–1224 кодона, особенно частой мутации в 1062 кодоне. Сочетание опухолей ЦНС и полипоза называется синдромом Тюрко, по имени канадского хирурга, описавшего в 1959 году случай такого сочетания у двух сибсов. Надо, однако, сказать, что в настоящее время синдромом Тюрко чаще называют одну из форм полипоза толстой кишки, связанную с рецессивным повреждением генов системы MMR и сопряженную с крайне высоким риском развития опухолей ЦНС. Помимо формальных

соображений (в одном случае мы имеем дело с фиксацией названием маргинально редкой случайной констелляции основного и периферического проявления синдрома, а в другом – оба феномена являются «ядерными» проявлениями заболевания) в различении этих состояний есть прямой клинический смысл. Например, если в случае APC-ассоциированного «синдрома Тюрко» можно рекомендовать в качестве метода скрининга у детей сигмоидоскопию, для «классического» синдрома Тюрко необходимо и обследование проксимальных отделов кишки. Кроме того, хотя соответствующих клинических испытаний не проводилось, исходя из патогенетических соображений, MMRd опухоли мозга должны быть относительно резистентны к алкилирующим агентам (темозоломид).

Помимо скрининга и профилактических операций в арсенал средств, предотвращающих и замедляющих опухолевую прогрессию полипов и сдерживающих рост десмоидных опухолей, входят НПВС в сочетании с различными другими агентами [Giardiello et al., 1993; Lynch, 2016; Samadder et al., 2016]. Эффект НПВС, индометацина и сулиндака, в отношении полипов был обнаружен случайно, в ходе на тот момент экспериментального лечения десмоидных опухолей [Waddell and Loughry, 1983]. В начале систематического изучения химиопрофилактики развития полипов с помощью НПВС основное внимание было уделено задаче сдерживания роста пренеопластических образований толстой кишки: прежде всего, имели дело с пациентами, у которых после колэктомии оставался выраженный рост полипов прямой кишки [Waddell and Loughry, 1983; Giardiello et al., 1993; Lynch, 2016]. В современном контексте, когда решение об объеме операции ставится в зависимость от количества полипов в прямой кишке, причем при наличии даже 20 полипов рекомендуется проводить расширенную операцию, с такой ситуацией сталкиваются редко [Syngal et al., 2015; Lynch, 2016]. Конечно, в качестве целей остаются задачи отсрочить оптимальный срок профилактической операции, безопасно для пациента уменьшить объем вмешательства или же в идеальном, пока недостижимом, случае вообще устранить необходимость в нем – хотя проверить достижение этих целей в условиях наличия функционирующего алгоритма хирургического лечения не так просто [Lynch, 2016]. Если говорить об оптимизации уже существующей практики, все более важной текущей задачей становится адекватный контроль роста полипов двенадцатиперстной кишки. Эта цель оказалась недостижимой при помощи монотерапии НПВС [Nugent et al., 1993], но в недавнем исследовании выяснилось, что комбинация ингибитора EGFR эрлотиниба и сулиндака достоверно снижает число и размер дуоденальных полипов через 6 месяцев после начала терапии [Samadder et al., 2016]. Следует сказать, что у данной комбинации имелись существенные побочные эффекты, приведшие к преждевременному прекращению исследования. Кроме того, неясно, какова длительность ответа на терапию, и, что совершенно не исключено, не приведет ли долгое лечение к селекции редких вариантов резистентных к

лечению полипов. Наконец, экономическая сторона такого лечения также служит определенным препятствием. Существуют и другие потенциально эффективные комбинации с НПВС [Burke et al., 2016; Williamson et al., 2016].

Клинически семейный аденоматозный полипоз чаще всего впервые проявляется у пробанда симптомами выраженного полипоза или злокачественной опухоли: диареей, прямокишечным кровотечением, неспецифическими симптомами, такими как боли в животе, анемия, вздутие живота и т.п. В отсутствие скрининга у большинства больных этими симптомами впервые проявляется уже развившийся РТК. У существенной части больных заболевание впервые проявляется внекишечными симптомами, прежде всего десмоидными опухолями [Croner et al., 2005]. На этапе первичного выявления больных становится очевидным преимущество существования в стране выделенной организации, ответственной за поиск и ведение больных с подобными наследственными патологиями толстой кишки. В результате эффективной работы регистра полипоза становится возможным выявить большинство случаев полипоза до развития РТК, причем большая часть из них идентифицируется по семейной истории семейного аденоматозного полипоза [Barrow et al., 2013; Bülow, 2003; Koskenvuo et al., 2016]. Однако оставляя в стороне организационный вопрос, наличие или отсутствие подобных регистров, очевидно, что критически важным моментом в выявлении больных на современном этапе служит возможность постановки молекулярно-генетического диагноза. Именно она позволяет ограничить скрининг среди родственников выявленного по клиническим признакам больного носителями патогенных мутаций, у многих из которых развитие полипоза происходит пока бессимптомно. Кроме того, за счет наличия корреляций между генотипом и фенотипом, знание точной локализации и характера патогенной мутации может иногда помочь в более точном определении ассоциированных с ней рисков различных новообразований, приоритизировать скрининговые мероприятия. Прогностически важна дифференциальная диагностика семейного аденоматозного полипоза с формами полипоза, имеющими иной спектр внекишечных проявлений. В недалеком будущем дифференциальная диагностика, возможно, приобретет еще большее значение из-за необходимости разграничивать иммуногенные формы полипоза, ассоциированные с нарушением работы систем репарации, с неиммуногенными.

Итак, выявление полипоза, т.е., одновременное обнаружение более 10 полипов толстой кишки, а также выявление характерных внекишечных опухолей (например, десмоид, гепатобластома) служат показанием к молекулярно-генетическому тестированию. Согласно одному из наиболее крупных исследований, у пациентов с тяжелым полипозом (более 1000 полипов), мутации в гене APC обнаруживаются в 80% случаев, у больных с классическим фенотипом (100-999 полипов) – в 56%, у больных с фенотипом аттенуированного полипоза (20-99 полипов) – 10%, и у пациентов с невыраженным олигополипозом (10-19 полипов) – 5%

[Grover et al., 2012]. По сравнению с синдромом Линча при семейном аденоматозном полипозе не так остро стоит проблема VUS, так как миссенс-мутации, вызывающие сомнения в функциональной значимости, встречаются относительно редко, подавляющее большинство выявляемых редких вариантов “транквирующие” [Leoz et al., 2015; Kerr et al., 2013; Lagarde et al., 2010; Grandval et al., 2014]. Среди миссенс-замен в гене APC любопытна мутация p.I1307K, распространенная среди евреев-ашкенази (до 6% населения) и обеспечивающая умеренное повышение риска РТК, не более 10-20% в течение жизни. Эта замена Т на А превращает последовательность A_3TA_4 в $A_{(8)}$ полиадениновый микросателлитный трек, склонный претерпевать соматические инсерции, влекущие сдвиг рамки считывания [Gryfe et al., 1998]. Полипоз толстой кишки эта мутация не вызывает и фактически предрасполагает своего носителя к низкопенетрантной форме семейного колоректального ракового синдрома типа Х. Из трудных для интерпретации повреждений можно отметить мутации, нарушающие сплайсинг (порядка 8-13%), особенно если эти мутации расположены вдали от сайта сплайсинга [Kerr et al., 2013; Spier et al., 2012]. Описана миссенс-замена p.R640G, располагающаяся в экзонном энхансере сплайсинга и ведущая к исключению последовательности 14 экзона из мРНК [Gonçalves et al., 2009]. Часть нарушающих сплайсинг мутаций, напротив, располагаются в глубине интронов, где их обычно и не пытаются обнаружить [Spier et al., 2012]. Действительно, имеет место значительное увеличение технической сложности теста, при этом выявление значимых мутаций представляет большую редкость, а патогенность этих находок, к тому же, крайне трудно доказать. Внутригенные перестройки в гене APC, требующие применения таких методик как MLPA, встречаются приблизительно в 6% случаев [Kerr et al., 2013; Spier et al., 2012]. Как и в случае синдрома Линча, описаны генетические повреждения, которые могут быть выявлены традиционными методами генетического анализа лишь случайно или с весьма значительными сложностями. Описана подобная инверсия в 10 экзоне, выявленная при помощи секвенирования нового поколения с очень высоким покрытием и захватом интронной области гена [Shirts et al., 2014]. Интересно, что данная мутация была ассоциирована с тяжелейшим фенотипом. Порядка 2% случаев синдрома связано с соматическим мозаицизмом [Hes et al., 2007]. При этом еще большую долю необъясненного семейного аденоматозного полипоза можно связать с низкоуровневым мозаицизмом, требующим нестандартных методов детекции [Spier et al., 2016].

Как и в случае синдрома Линча, для семейного аденоматозного полипоза характерны повторяющиеся мутации. Но если для первого свойственны мутации, обязанные своему распространению главным образом популяционно-генетическим причинам, за редкими исключениями (с.942+3A>T в гене MSH2), то в случае САПТК за редкими же исключениями ведущую роль играют «горячие точки мутагенеза». На две мутации, с.3183_3187delACAAA или

p.Q1062fs* (~5%) и c.3927_3931delAAAGA или p.E1309Dfs*4 (~10%), приходится порядка 10-20% всех причинно-значимых повреждений, причем эта оценка весьма слабо варьирует в зависимости от исследуемой популяции, например: США (19%) [Kerr et al., 2013], Франция (17%) [Lagarde et al., 2010], Испания (17%), Тайвань (17%) [Chiang et al., 2010], Германия (16%) [Friedl and Aretz, 2005], Южная Корея (15%) [Kim et al., 2005], Венгрия (15%) [Papp et al., 2016], Польша (15%) [Pilawski et al., 2008]. Очень редко в отдельных популяциях все же выявляют иную частоту двух этих повреждений, например, интересно исследование, в котором было выявлено различие по этому параметру между семьями из Галисии (1/19 (5%)) и Каталонии (5/13 (38%)) [Gómez-Fernández et al., 2009]. Существуют сообщения о низкой частоте мутации p.E1309Dfs*4 в Австралии, может быть, в силу «негативного эффекта основателя» [Scott et al., 2001]. Вообще, в силу тяжести состояния большая доля случаев синдрома связана с мутациями de novo: по различным оценкам от 7 до 40% случаев [Bisgaard et al., 1994; Aretz et al., 2004; Lagarde et al., 2010]. Любопытно, что среди верифицированных мутаций de novo частота мутации p.E1309Dfs*4 составила 45% [Aretz et al., 2004]. Эта мутация ассоциирована с тяжелой формой синдрома и не может или не могла до достижения медициной современного уровня развития окончательно закрепиться в популяции: случаи p.E1309Dfs*4, выявляемые в ходе популяционных исследований у неродственных пациентов, несут разный гаплотип [Rivera et al., 2011]. Однако постоянно возникая вновь, она удерживается на «лидирующих» по частоте позициях. Любопытно также, что небольшие делеции и инсерции, такие как p.E1309Dfs*4 и p.Q1062fs*, возникали в гаметах обоих родителей с равной частотой, а точковые замены – заметно чаще возникали на отцовских аллелях. Считается, что частота точковых мутаций в отцовских гаметах выше, и нарастает в зависимости от возраста, хотя в данном случае ассоциация с возрастом выявлена не была (скорее всего, за счет небольшого размера выборки) [Aretz et al., 2004]. Таким образом, возможно, на структуру выявляемых мутаций – а значит и на «среднюю» клиническую картину - влияют демографические и даже социокультурные особенности популяции.

Хотя в целом «очищающий» отбор слишком сильно препятствует возникновению “founder”-эффекта при тяжелой и классической форме синдрома, существует один пример маленькой популяции, в которой закрепились мутация p.Q1062fs*. Действительно, гаплотипирование показало, что на Балеарских островах повторяющийся характер мутации p.Q1062fs* (6/10, 60% от всех семей) связан именно с популяционно-генетическими причинами, хотя даже там у 1 из 6 охарактеризованных местным регистром полипоза семей мутация возникла независимо [Gonzales et al., 2005]. Кроме того, известна делеция в альтернативном промоторе гена APC, также имеющая повторяющийся характер среди населения США и, подобно другим поражениям в этом регионе гена, ассоциированная с необычным фенотипом

[Rohlin et al., 2011; Snow et al., 2015; Li et al., 2016]. Для аттенуированной формы синдрома описано еще два подобных примера. Это точковая замена в акцепторном сайте сплайсинга в 4 экзоне, распространенная среди населения Ньюфаундленда, наследование которой было прослежено исследователями до начала XIX века [Spirio et al., 1999]. Описаны также две исключительно обширные семьи в США из штата Массачусетс и штата Юта, восходящие к общему предку, прибывшему в США в начале 17 столетия – носителю мутации c.426_427delAT или p.L143Afs* в 4 экзоне APC [Neklason et al., 2008]. В силу стертости клинических проявлений, можно предположить, что распространение аттенуированной формы семейного аденоматозного полипоза недооценено, и, возможно, в недоизученных популяциях удастся обнаружить новые “founder”-повреждения.

Таким образом, в ходе молекулярно-генетической диагностики синдрома следует проанализировать традиционными методами генетического анализа кодирующую последовательность гена, а также провести тест на наличие внутригенных перестроек. Желательно применять такие методы, которые позволили бы заподозрить наличие мозаичных мутаций, требующих углубленного исследования. Например, в качестве такого метода можно использовать высокоточный анализ кинетики плавления продуктов амплификации (high-resolution melting analysis, HRM) - как скрининг перед секвенированием ДНК (HRM – более чувствительная методика, чем секвенирование) [Out et al., 2012]. В структуру диагностического алгоритма имеет смысл инкорпорировать сведения о структуре мутаций в данной популяции: практически повсеместно можно рекомендовать прежде проведения полного тестирования определение статуса двух «горячих точек мутагенеза». Кроме того, существуют единичные описания популяций с выраженным “founder”-эффектом, для которых оправдано включение “founder”-мутаций в первый этап тестирования.

Эпидемиология молекулярных повреждений в гене APC очень плохо изучена в России. Согласно диссертационной работе, выполненной в 2005 году, спектр мутаций в гене APC разнообразен, однако около трети выявляемых повреждений приходится на мутации c.p.Q1062fs* (~5%) и p.E1309Dfs*4 [Музаффарова, 2005]. Последние сведения о спектре патогенных мутаций ограничиваются публикацией результатов работы московских исследователей из ГНЦ колопроктологии. Среди больных с тяжелой и классической формой синдрома мутации были обнаружены у 13 из 22 (59 %) человек: p.S1344X, p.Q260X, p.R1114X, p.Y1183X, c.1863del4, p.289del4, p.1061del5, p.589del11, p.Q667X, c.646–1G>A, p.1309del5, p.R213X, p.934del4. Среди 24 больных с фенотипом аттенуированной формы в гене APC был выявлен лишь вариант P1307K, встретившийся дважды [Поспехова и др., 2014]. Этих, безусловно, важных работ все же никак не может быть достаточно, чтобы установить наличие или отсутствие каких-либо особенностей молекулярной эпидемиологии семейного

аденоматозного полипоза в России. Одной из целей данного диссертационного исследования являлось расширение спектра известных причинно-значимых повреждений гена APC среди российских больных.

1.4.4.2 Аутосомно-доминантный полипоз толстой кишки, ассоциированный с врожденным дефектом 3'-5' экзонуклеазной активности полимераз.

В 2013 году были описаны мутации в двух генах, POLE и POLD1, ассоциированные с наличием полипоза толстой кишки у молодых больных без выявленных мутаций в известных причинно-значимых генах [Palles et al., 2013]. POLE отвечает за синтез ведущей нити в S-фазу клеточного цикла, в то время как POLD1 синтезирует отстающую нить и участвует в финальных этапах репарации системами MMR и BER. В ходе анализа данных полноэкзомного секвенирования 15 больных с личной и семейной историей полипоза толстой кишки (>10 полипов), в гене полимеразы POLE был выявлен вариант p.L424V, располагающийся в 3'-5' экзонуклеазном домене. При валидации находки мутация была выявлена среди 12/3805 (0,3%) случаев РТК с признаками наследственного рака и отсутствовала у 17476 контролей. Гаплотипирование не обнаружило общего происхождения мутантных аллелей. У всех носителей мутации наблюдался аденоматозный полипоз различной выраженности (скорее – аттенуированный) и без ярких морфологических особенностей, часто встречался РТК. Аналогичная процедура привела к обнаружению двух семей с мутацией p.S478N в гене полимеразы POLD1 в первичном наборе случаев, и еще одной среди валидационной когорты. В этих случаях мутация также сегрегировалась с аденоматозным полипозом и/или РТК. Полипозный фенотип носителей мутации p.S478N также не отличался своеобразием, однако у ряда носителей мутации был выявлен рак эндометрия и опухоли ЦНС. Мутации p.L424V и p.S478N чрезвычайно сильно снижают 3'-5' экзонуклеазную корректирующую активность соответствующих полимераз и приводят к формированию мутаторного фенотипа. Поиск дополнительных зародышевых мутаций этого домена привел к выявлению варианта неясного значения в гене POLD1, p. P327L у пожилого больного с аттенуированным фенотипом полипоза [Palles et al., 2013]. Впоследствии стало известно, что полипоз у носителей мутаций в гене POLD1 вообще может отсутствовать, как, например, в случае мутации p.L474P, обнаруженной испанской исследовательской группой среди 858 РТК с признаками наследственного рака (1/858 (0,1%)) [Valle et al., 2014]. В той же когорте больных у больного с полипозом толстой кишки была обнаружена мутация p.L424V в гене POLE. Дальнейшие исследования привели к пониманию, что частота мутаций в POLD1, возможно, даже выше у больных с семейным неполипозным раком: среди таких пациентов было выявлено 4/441 (0,9%) носителей мутаций

p.D316H, p.D316G, p.R409W и p.L474P [Bellido et al., 2016]. Среди голландских больных с полипозом или РТК с признаками наследственного синдрома было выявлено 3/1188 (0,25%) носителей мутации p.L424V в гене POLE [Elsayed et al., 2015]. В недавнем немецком исследовании среди 266 больных РТК, подпадавших под Амстердамские критерии II, либо страдавших полипозом (>20 полипов) было выявлено 4/266 (1,5%) мутаций p.L424V [Spier et al., 2015]. Наконец, в английской серии семейного РТК, диагностированного в молодом возрасте, было выявлено 2/626 (0,3%) мутации p.L424V в гене POLE и 1/626 (0,2%) мутация p.S478N в POLD1 [Chubb et al., 2015].

Спектр ассоциированных с мутациями в обоих генах опухолей пока неясен. Мутации в POLD1 оказались ассоциированы с РТК, иногда – олигополипозом, РТМ, с раком молочной железы [Palles et al., 2013; Valle et al., 2014; Bellido et al., 2016]. Исходя из первого сообщения об открытии синдрома, казалось, что дефекты POLE ассоциированы лишь с риском развития РТК. Однако в связи с появлением новых данных расширяется и спектр POLE-ассоциированных новообразований. К таковым относятся раки эндометрия, глиомы, рак яичников (мутация p.N363L) [Elsayed et al., 2015; Rohlin et al., 2014; Hansen et al., 2015], возможно, меланома [Aoude et al., 2016]; возможно – рак желудка и рак поджелудочной железы, плоскоклеточные раки головы и шеи, рак пищевода, рак почки, рак мочевого пузыря, лейкозы. У носителей мутаций в гене POLE часто встречаются полипы и иногда рак двенадцатиперстной кишки [Hansen et al., 2015; Spier et al., 2015]. Надо отметить, что фенотип носителей мутации сильно зависит от локализации мутации: известно, что зародышевые мутации, нарушающие не экзонуклеазную, а полимеразную активность POLD1, влекут за собой развитие своеобразной разновидности прогероидного синдрома с аномалиями развития и липодистрофией, иногда несколько сходного с синдромом Вернера [Weedon et al., 2013].

В опухолях, развивающихся у носителей наследственных мутаций в генах POLE и POLD1, выявляют потерю оставшегося аллеля. Ассоциированные РТК обычно демонстрируют хромосомную нестабильность, хотя изредка встречаются случаи опухолей с микросателлитной нестабильностью за счет биаллельной инактивации MMR генов [Elsayed et al., 2015; Jansen et al., 2016]. Затрагивается ряд генов, ассоциированных с развитием колоректального рака по «традиционному» или «альтернативному» пути канцерогенеза: APC, KRAS, PIK3CA, FBXW7. Соматические мутации представлены, в основном, однонуклеотидными заменами. Локализация мутаций в этих генах отличается некоторыми особенностями, например, в случае POLE - несколько повышенной частотой мутаций в 146 кодоне гена KRAS, в кодонах 1114 и 1338 гена APC. В опухолях у носителей мутации в гене POLD1 оказался сходный паттерн соматических повреждений, однако преимущественно встречаются замены C>T и наблюдался другой спектр мутаций в генах KRAS (в 13 и 61 кодоне) и BRAF. При детальном рассмотрении

паттерна соматических повреждений, ассоциированных с обусловленным инактивацией POLE мутаторным фенотипом, можно обнаружить специфическую сигнатуру. В частности, выявляются признаки того, что POLE синтезирует ведущую нить в ходе репликации и именно там возникают мутации при ее дисфункции [Shinbrot et al., 2014].

Как говорилось выше, соматические мутации в генах POLE и POLD1 можно обнаружить в спорадическом РТК и РТМ, отличающемся гипермутабельностью, иногда выраженной в исключительно высокой степени (ультрамутабельные опухоли) [Church et al., 2013; Palles et al., 2013]. Мутации в гене POLE выявляют также в опухолях яичников [Hoang et al., 2015]. Различные мутации POLE/POLD1, в частности, в экзонуклеазном домене и вне его, варьируют по своей «мутаторной способности» [Palles et al., 2013; Kane et al., 2014]. При этом опухоли с мутациями в гене POLD1 всегда отличаются микросателлитной нестабильностью, метиляторным фенотипом (CIMP-H) и частым наличием мутаций в гене BRAF. Опухоли с соматическими мутациями в гене POLE более гетерогенны, хотя, как правило, не отличаются микросателлитной нестабильностью. Следует отметить, что MSI-H опухоли с POLE мутациями могут быть ассоциированы как с CIMP-H фенотипом, так и с биаллельными мутациями в генах системы MMR. РТК с соматическими мутациями в POLE/POLD1 не отличаются резко от других РТК по прогнозу, относительно РТМ данные противоречивы, хотя, скорее, прогноз у таких больных все же улучшается (что кажется очень логичным в свете их патогенеза) [Steinzinger et al., 2014; Meng et al., 2014; Billingsley et al., 2014]. Известно, что РТМ, ассоциированные с соматическими мутациями в POLE, отличаются низкой степенью дифференцировки, выраженной лимфоцитарной инфильтрацией и сомнительной морфологической принадлежностью [Hussein et al., 2015]. Эти РТМ гипермутабельны и высоко иммуногенны [van Gool et al., 2015; Bellone et al., 2015], существует сообщение о хорошем ответе подобной опухоли на ниволюмаб в контексте резистентности к химиотерапии [Santin et al., 2016]

Итак, можно сказать, что аутосомно-доминантный полипоз толстой кишки, ассоциированный с врожденным дефектом 3'-5' экзонуклеазной активности полимераз – редкое заболевание, встречающееся с частотой менее 1% даже среди тщательно селективированных групп больных. Охарактеризовано это заболевание плохо и, возможно, в будущем удастся найти какие-либо особенности таких больных, позволяющие легче выявлять их. Это редчайшее состояние сильно нуждается в фундаментальном изучении и рутинном выявлении. Скрининговая диагностика ассоциированных опухолей и профилактические мероприятия по типу тех, что применяются при ведении больных с аттенуированным вариантом FAP, способны резко снизить смертность среди носителей. Вместе с тем, мутации в POLE/POLD1, будучи ассоциированы с гипермутабельностью и иммуногенностью ассоциированных новообразований

– потенциальные предиктивные маркеры ответа на иммунотерапию. Это справедливо и для соматических мутаций в тех же генах – недооцененном и недоизученном источнике гипермутабельных и гипериммуногенных новообразований, внимание на которые было обращено лишь после открытия соответствующих раковых синдромов.

1.4.4.3 AXIN2-ассоциированный полипоз толстой кишки

В 2004 году впервые был описан синдром, заключающийся в сочетании тяжелой агенезии зубов (олигодонтии) с полипозом толстой кишки и/или РТК. Заболевание было выявлено у 11 членов «раковой семьи» из Финляндии. Поражения толстой кишки затронули 8 из 11 больных с олигодонтией. Белок AXIN2 совместно с AXIN1, APC, СК и GSK3B разрушает бета-катенин, подавляя пролиферативный сигнал. Поэтому с патогенетической точки зрения сходство последствий инактивации AXIN2 и APC неудивительно. Среди 82 случаев несиндромального семейного РТК патогенные мутации в AXIN2 не встречались [Peterlongo et al., 2005], среди серии из 31 случая аттенуированного полипоза встретились только варианты сомнительной значимости [Lejeune et al., 2006]. Далее была описана семья, в которой «транскирующая» мутация сегрегировалась с фенотипом синдрома, причем повышена была частота не только колоректальных новообразований, но и рака молочной железы [Marvin et al., 2011]. Достоверно патогенных повреждений в этом гене более не выявлено. Существует эпидемиологическое исследование, не показавшее ассоциации РТК и агенезии зубов. Вероятно, дефекты гена AXIN2 исключительно редки, хотя необычное сочетание тяжелой олигодонтии и полипоза должно послужить поводом к генетическому тестированию.

1.4.5 Аутосомно-рецессивные формы полипоза толстой кишки

1.4.5.1 MUTYH-ассоциированный полипоз

MUTYH-ассоциированный полипоз (МАП, MUTYH-associated polyposis, МАП) – одна из трех наиболее частых форм наследственного РТК. С ним ассоциированы приблизительно 0,1-1% [Küry et al., 2007; Croitoru et al., 2004] неселектированных случаев РТК, до 2% случаев «молодого» рака толстой кишки [Landon et al., 2015], 8% случаев полипоза толстой кишки и около 16 (10-30%) случаев полипоза толстой кишки после исключения мутаций в гене APC (см Таблицу 4).

Таблица 4. Примеры молекулярно-эпидемиологических исследований MUTYH-ассоциированного полипоза

Исследование, страна	Критерии отбора больных	Количество носителей биаллельных мутаций	Наличие повторяющихся мутаций и их доля в общем числе патогенных аллелей
Abdelmaksoud-Dammak et al, 2012 (Тунис)	Аттенуированный полипоз толстой кишки, рецессивное наследование	8/10 (80%)	15/16 (94%) p.E410Gfs*43
Aceto et al., 2005 (Италия)	Полипоз толстой кишки	5/60 (8,3%) (после исключения мутаций APC: 5/28 (18%))	Нет выраженного преобладания определенных мутаций
Aimé et al., 2015 (Франция)	РТК с соматической мутацией p.G12C в гене KRAS (49/832 (2,1%); доступно для анализа 28 образцов)	7/28 (25%)	Нет данных
Alhorojo et al., 2005 (Финляндия)	Семейные случаи полипоза толстой кишки, исключены мутации в гене APC (72%) AXIN2	2/22 (9,1%)	2/4 (50%) p.A459D 2/4 (50%) p.Y179C
Aretz et al., 2006 (Германия)	Полипоз толстой кишки	55/660 (8,3%) (после исключения мутаций APC: 55/329 (17%))	40/110 (36%) p.Y179C 31/110 (28%) p.G396D 8/110 (7%) p.480delE 7/110 (6%) p.A385Pfs*25 3/110 (3%) R245H 2/110 (2%) R182H
Ashton et al., 2005 (Австралия)	Наследственный неполипозный рак толстой кишки (без мутаций в MLH1/MSH2, n=233; носители мутаций, n=209)	0/442	N/A
Avezzu et al., 2008 (Италия)	Последовательные случаи РТК	2/439 (0,5%)	3/4 (75%) p.G396D
Balaguer et al., 2007	Последовательные случаи РТК	8/1116 (0,7%)	6/16 (38%) p.Y179C 5/16 (31%) p.G396D 4/16 (20%) p.E410Gfs*43
Bouguen et al., 2007 (Франция)	Полипоз толстой кишки, исключены мутации в гене APC (n=32, 30 – аденоматозный полипоз); больные младше 50 лет (n=8); больные старше 50 лет с семейной историей РТК (n=16)	10/56 (18%) (после исключения мутаций APC: 10/32 (31%))	7/20 (35%) p.Y179C 6/20 (24%) p.G396D
Casper et al., 2012 (Германия)	Пациенты, проходящие	1/352 (0,3%)	N/A

	колоноскопию (треть – без выявленной патологии)		
Castillejo et al., 2014 (Испания)	«Синдром, схожий с синдромом Линча»	7/225 (3,1%)	6/14 (43%) p.Y179C 6/14 (43%) p.G396D
Cattaneo et al., 2007 (Италия, Греция)	Полипоз толстой кишки, исключены мутации в гене APC	4/25 (16%)	3/8 (38%) p.G396D
Chubb et al., 2015 (Великобритания)	РТК, диагностированный в возрасте младше 56 лет и наличие РТК у родственника первой степени родства	7/626 (1,2%)	Нет данных
Cleary et al., 2009 (Канада)	Последовательные случаи РТК	27/3811 (0,7%)	
Croitoru et al., 2004 (Канада)	Последовательные случаи РТК, исключены известные случаи семейного аденоматозного полипоза	12/1228 (1%)	9/24 (38%) p.Y179C 13/24 (54%) p.G396D
Croitoru et al., 2007 (Канада)	Аттенуированный полипоз толстой кишки, исключены мутации в гене APC	6/20 (30%)	4/12 (33%) p.Y179C 2/12 (17%) p.G396D Впервые выявлена мутация p.P295L у больного итальянского происхождения
Dalosso et al., 2008 (Новая Зеландия, Великобритания)	Аттенуированный полипоз толстой кишки, исключены мутации в гене APC	33/167 (20%)	Нет данных (p.Y179C и p.G396D доминируют)
Eliason et al., 2005 (США)	1) Полипоз толстой кишки, исключены мутации в гене APC 2) Образцы с не подтвердившимся подозрением на наличие синдрома Линча	1) 24/219 (11%) 2) 4/356 (1,1%)	20/56 (36%) p.Y179C 15/56 (28%) p.G396D 4/56 (7%) p.480delE
Enholm et al., 2003 (Финляндия)	Последовательные случаи РТК	4/1042 (0,4%)	3/8 (37%) p.Y179C 5/8 (63%) p.G396D
Filipe et al., 2009 (Португалия)	Полипоз толстой кишки	21/107 (20%) (после исключения мутаций APC: 21/62 (34%))	17/42 (40%) p.Y179C 15/42 (36%) p.G396D
Fleischmann et al., 2004 (Великобритания)	РТК, диагностированный в возрасте младше 56 лет	2/358 (0,6%)	3/4 (75%) p.G396D
Gismondi et al., 2004 (Италия)	1) Полипоз толстой кишки, классическая форма (n=38); 2) Аттенуированный полипоз толстой кишки (n=31, 1 FAP/AFAP); 3) Менее 10 аденом толстой кишки (n=114)	1) 5/38 (13%) 2) 9/32 (28%) 3) 0/114 (0%)	15/28 (54%) p.Y179C 6/28 (21%) p.G396D 7/28 (25%) p.480delE
Gómez-Fernández et al., 2009	Полипоз толстой кишки, исключены мутации в гене APC	14/59 (24%)	8/28 (29%) p.Y179C 12/28 (43%) p.G396D

			7/28 (25%) p.E410Gfs*43
Grover et al., 2012 (США)	<p>Полипоз толстой кишки:</p> <p>1) Тяжелое течение, n=119</p> <p>2) Классический фенотип, n=1338</p> <p>3) Аттенуированный фенотип, n=3253</p> <p>4) Невыраженный олигополипоз (10-19 полипов), n=970</p>	<p>1) 2/119 (2%) после исключения мутаций APC: 2/24 (8,3%)</p> <p>2) 94/1338 (7%) после исключения мутаций APC: 94/586 (16%)</p> <p>3) 233/3253 (7%) после исключения мутаций APC: 233/2927(8%)</p> <p>4) 37/970 (4%) после исключения мутаций APC: 37/920 (4%)</p>	Нет данных
Guarinos et al., 2014 (Испания)	Полипоз (разные гистотипы) толстой кишки, частично исключены FAP, HNPCC, воспалительные заболевания кишки	27/405 (6,7%)	20/54 (37%) p.Y179C 22/54 (41%) p.G396D
Halford et al., 2003 (Великобритания)	Последовательные РТК	1/75 (1,3%)	n/a
Inra et al., 2015 (1) Европеоиды (западно- и северноевропейское происхождение, центрально- и восточноевропейское, еврей-ашкенази) (5041/6169, 81,7%) (2) монголоиды (азиатское происхождение) 151/6169 (2,5%) (3) афроамериканцы 382/6169 (6,2%) (4) другие (латиноамериканское и карибское происхождение, ближневосточное и среднеазиатское происхождение, индейское происхождение, другое) 595/6169 (9,6%)	Пациенты, направленные на диагностику семейного аденоматозного полипоза и MUTYH-ассоциированного полипоза в Mugiad Genetics Laboratory. Превалировали больные с аттенуированным полипозом толстой кишки.	298/6169 (4,8%) (1) 250/5041 (5%) (2) 4/151 (2,7%) (3) 1/382 (0,3%) (4) 43/595 (7,2%)	Мутация p.E480X встречалась лишь среди монголоидной группы. Мутации p.Y179C и p.G396D были частыми лишь в группе лиц европеоидной расы
Isidro et al., 2004	Полипоз толстой кишки,	21/53 (40%)	17/42 (40%) p.Y179C

(Португалия)	исключены мутации в гене APC		10/42 (24%) p.G396D 8/42 (19%) p.E410Gfs*43
Jo et al., 2005 (США)	1) Полипоз толстой кишки (>15 полипов) – у 71% исключены мутации в гене APC 2) Признаки наследственного рака: (олиго)полипоз (<15), семейная история, молодой возраст;	1) 7/45 (16%) 2) 2/122 (1,6%)	17/18 (40%) p.Y179C 10/18 (24%) p.G396D
Kairupan et al., 2005 (Австралия)	1) полипоз толстой кишки, исключены мутации в гене APC 2) Полипоз толстой кишки, выявлены мутации в гене APC	1) 14/120 (12%) 2) 0/62 (0%)	15/28 (54%) p.Y179C 7/28 (25%) p.G396D
Kim et al., 2007 (Южная Корея)	Полипоз толстой кишки: 1) Аттенуированный полипоз толстой кишки (n=46) 2) Классический фенотип полипоза толстой кишки, исключены мутации в гене APC (n=16)	1) 2/46 (4,3%) 2) 0/16 (0%)	Нет выраженного преобладания определенных мутаций
Knoppers et al., 2013 (Голландия)	1) РТК, диагностированный в возрасте младше 40 лет, исключены больные с количеством полипов более 20 (n=47) 2) Случаи РТК, подпадающие под Амстердамские критерии/критерии Bethesda, без MMRd, исключены больные с количеством полипов более 20 (n=42) 3) Пациенты с 1-13 полипами, без личной и семейной истории РТК, исключены больные с количеством полипов более 20 (n=693) Анализировали мутации p.Y179C; p.G396D и p.P405L	1) 0/47 (0%) 2) 0/42 (0%) 3) 0/693 (0%)	n/a
Küry et al., 2007 (Франция)	Последовательные РТК	1/1024 (0,1%)	n/a
Laarabi et al., 2012 (Марокко)	РТК, полипоз	3/62 (4,8%)	Нет выраженного преобладания определенных мутаций
Landon et al., 2015 (США)	1) Пациенты, направленные на диагностику семейного аденоматозного полипоза и MUTYH-ассоциированного полипоза в Myriad Genetics Laboratory. Исключены мутации в	1) 85/1522 (5,6%) 2) 17/921 (2,1%)	21/85 (25%) случаев пришлось на биаллельные повреждения без участия мутаций p.Y179C и p.G396D

	гене APC (n=1522) 2) РТК, диагностированный в возрасте младше 50 лет, исключены больные с количеством полипов более 10 (n=921)		
Lefevre et al., 2006			
Lubbe et al., 2009 (Великобритания)	Последовательные РТК, пациенты младше 80 лет Определялись лишь мутации p.Y179C и p.G396D	27/9268 (0,3%)	N/A
Farrington et al., 2005 (Великобритания)	Последовательные РТК	12/2217 (0,46%)	p.Y179C и p.G396D преобладают
Sieber et al., 2003 (Великобритания, различные страны Европы)	1) Аттенуированный полипоз толстой кишки (Великобритания) 2) Классический и тяжелый фенотип полипоза толстой кишки, исключены мутации в гене APC (различные страны Европы)	1) 6/152 (4%) 2) 8/107 (7,4%)	p.Y179C и p.G396D преобладают
Sampson et al., 2003 (Великобритания – различные этнические группы)	Полипоз толстой кишки без признаков вертикального наследования, исключены мутации в гене APC	25/111 (23%) (1) 20 – европейское происхождение (2) 4 – индийское происхождение (3) 1 – пакистанское происхождение	(1) 24/40 (60%) p.Y179C 11/40 (28%) p.G396D (2) 8/8 (100%) p.E480X (3) 2/2 (100%) p.Y104X
Nielsen et al., 2005 (Нидерланды)	Полипоз толстой кишки, исключены мутации в гене APC	40/170 (24%)	41/80 (51%) p.Y179C 16/80 (20%) p.G396D 11/80 (14%) p.P405L
Puijtenbroek et al., 2008b (Нидерланды)	РТК с соматической мутацией p.G12C в гене KRAS (10/210 (5%);	1/10 (10%)	N/A
Papp et al., 2016	Полипоз толстой кишки, исключены мутации в гене APC	5/22 (23%)	5/10 (50%) p.R245H 3/10 (30%) p.T152_M153insIW
Skrzypczak et al., 2006 (Польша)	Полипоз толстой кишки, исключены мутации в гене APC	1/96 (1%)	N/A
Поспехова и др., 2014 (Россия)	1) Полипоз толстой кишки (n=22) 2) Аттенуированный полипоз толстой кишки (n=24)	1) 0/22 (0%) 2) 1/24 (4,2%)	N/A

Согласно недавнему крупному исследованию, у пациентов с тяжелым полипозом (более 1000 полипов) биаллельные мутации в гене MUTYH обнаруживаются в 2% случаев; у больных

с классическим фенотипом (100-999 полипов) – в 7%; у больных с фенотипом аттенуированного полипоза (20-99 полипов) – 7%; и у пациентов с невыраженным олигополипозом (10-19 полипов) – 4% [Grover et al., 2012]. Однако если исключить случаи мутаций в гене APC, то доля эта в упомянутых группах изменится: 8%, 16%, 8%, 4%. Частота MUTYH-ассоциированного полипоза в европейских популяциях составляет 1:7712- 1:16625 [Aretz et al., 2014]. Риск развития рака толстой кишки при МАП, по-видимому, приблизительно такой же, что и при аттенуированном семейном полипозе. В ранних работах полагали неизбежным развитие РТК, например, к 60 годам [Farrington et al., 2005]. Однако более поздняя оценка говорит о 43% риске РТК у шестидесятилетних [Lubbe et al., 2009]. Средний возраст пациентов – 46-58 лет в зависимости от генотипа [Nielsen et al., 2009a].

Помимо полипоза толстой кишки, у трети пациентов развивается полипоз двенадцатиперстной кишки. В большинстве случаев полипы прогрессируют медленно, однако в целом риск рака тонкой кишки у больных МАП повышен [Walton et al., 2016]. Описан интересный случай МАП, при котором у больного наблюдался первично-множественный рак тонкой кишки и интраабдоминальная десмоидная опухоль, как при синдроме Гарднера [de Ferro et al., 2009]. Интересно, что у некоторых больных выявляли врожденную гипертрофию пигментного эпителия сетчатки [Jo et al., 2005], но надо сказать, что диагностика этого состояния иногда сложна: есть несколько морфологически сходных феноменов, и с небольшой частотой схожие состояния встречается и среди здоровых людей [Chen et al., 2006]. Иногда встречается фенотип, подобный синдрому Мюир-Торре, с поражением сальных желез [Castillejo et al., 2014]. Описано наличие у больных множественных пилломатриксом [Baglioni et al., 2005]. Так как MUTYH-ассоциированный полипоз – редкое, недодиагностированное заболевание, сложно установить со статистической достоверностью умеренное повышение риска в случае «периферийных» для синдрома опухолевых проявлений. Тем не менее известно, что МАП достоверно ассоциирован с повышением риска развития рака мочевого пузыря (риск составил 25% для мужчин и 8% для женщин) и рака яичников (риск составил 14%) [Win et al., 2016]. Дискуссионным остается вопрос повышения риска развития рака эндометрия, рака молочной железы, рака желудка [Jo et al., 2005; Barnetson et al., 2007; Leoz et al., 2015]. Наличие повышенного онкологического риска у носителей моноаллельных мутаций в MUTYH – также дискуссионный вопрос. Ряд работ говорит в пользу приблизительно двухкратного увеличения вероятности развития РТК и, возможно, 3-9 кратного повышения риска рака желудка, 3-4,5 кратного - рака печени и желчевыводящих путей, двухкратного – РТМ, 40% увеличения риска развития рака молочной железы [Jones et al., 2009; Win et al., 2011a; Win et al., 2014; Win et al., 2016; Rennert et al., 2012]. По сравнению со спорадическими случаями РТК, средний возраст на момент диагноза у носителей моноаллельных мутаций снижается на несколько лет [Croitoru et

al., 2004]. На степень риска влияет характер мутации: так, частая в европейских популяциях мутация p.Y179C более высоко пенетрантна, чем еще более распространенная гипоморфная p.G396D [Nielsen et al., 2009a; Win et al., 2014]. Популяционным исследованиям, даже не столь уж малым, часто недостает мощности [Küry et al., 2007]. Поэтому в целом ряде исследований, оценивающих риск, отбирали случаи гетерозиготности среди родителей и иных родственников выявленных больных с биаллельными повреждениями – а среди выявленных случаев спектр проявлений синдрома сдвинут в сторону большей тяжести, что, в свою очередь, может быть проявлением действия посторонних генетических и негенетических факторов, модифицирующих риск. Интересно, что моноаллельные мутации у близких родственников тех молодых больных РТК, которые сами носителями мутаций в гене MUTYH не являлись, дают более высокое повышение риска по сравнению с носителями моноаллельных мутаций без семейного анамнеза РТК – что подтверждает изложенные выше суждения о возможности модификации риска [Win et al., 2014].

Необычной чертой синдрома является его рецессивный тип наследования, нередко препятствующий распознаванию семейного характера заболевания: в некрупных семьях случаи заболевания будут ограничены лишь самим пробандом. Другое препятствие рутинной клинической диагностике – обычно неярко выраженный фенотип, варьирующий в широких пределах: большая часть случаев демонстрирует аттенуированный вариант полипоза [Aretz et al., 2006]. Согласно ряду исследований, почти у трети больных полипоза вообще не наблюдают [Farrington et al., 2005; Landon et al., 2015]. Кроме того, не облегчает положение и разнообразие морфологических характеристик ассоциированных с заболеванием полипов. Хотя в структуре гистологических проявлений наследственных дефектов MUTYH доминирует аденоматозный полип, у 40-47% больных наблюдают зубчатые повреждения [Voparai et al., 2008; Guarinos et al., 2014]. Любопытной иллюстрацией морфологического разнообразия служит наблюдение, в котором носители одних и тех же биаллельных мутаций в пределах одной и той же семьи демонстрировали резко различные гистологические картины поражений. У старшего брата наблюдался изолированный, неполипозный РТК, у младшего – множественные зубчатые полипы и резко диспластичная, высокого риска аденома, у среднего – лишь гиперпластические полипы с малым онкогенным потенциалом [Zorkolo et al., 2011]. Неудивительно, что ведущую роль в открытии синдрома сыграло наличие ярко выраженных молекулярно-генетических особенностей ассоциированных с ним опухолей [Al-Tassan et al., 2002].

Патогенетической основой синдрома служит нарушение системы эксцизионной репарации оснований ДНК. MUTYH – одна из гликозилаз, устраняющих из генома повреждения, связанные с образованием 8-гидроксигуанина (8-оксо-7,8-дигидро-2'-дезоксигуанозин), одного из наиболее стабильных и распространенных продуктов

окислительного повреждения ДНК. Подсчитано, что на клеточный геном в день возникает около 180 8-оксогуаниновых оснований. Этот химически модифицированный нуклеотид – мощный мутаген: он комплементарен в несколько большей степени аденину, нежели цитозину, и при репликации ДНК дает начало заменам по типу G:C>8-оксогуанин:A>T:A. MUTYH действует на промежуточный этап в этой цепочке замен, 8-оксогуанин:A, устранив адениновое основание из неправильной пары. Затем происходит ресинтез ДНК и образуется пара 8-оксогуанин:цитозин, из которой 8-оксогуанин устраняется другой гликозилазой - OGG1. К важным ферментам, противостоящим повреждениям, ассоциированным с окислением гуанина, относят также молекулу MTH1, гидролазу, переводящую 8-гидроксигуанозинтрифосфат в 8-гидроксигуанозинмонофосфат, не способный инкорпорироваться в растущую цепь нуклеотидов. Из этих трех молекул, доказанная связь с канцерогенезом человека имеется лишь у MUTYH [Iyama and Wilson, 2013; Mazzei et al., 2013]. Опухоли, развивающиеся в рамках MUTYH-ассоциированного полипоза, несут в своем геноме множество замен G:C> T:A [Al-Tassan et al et al., 2002; Rashid et al., 2016]. Интересно, что, подобно тому, как для POLE-ассоциированных новообразований характерны лишь мутации в кодонах 1114 и 1338 гена APC, здесь также есть определенная не всегда объяснимая контекстная специфичность мутаций. Так, еще в пионерской работе Al-Tassan et al., 2002; было замечено, что инактивация APC всегда происходит за счет нонсенс-мутаций вида GAA>TAA в разных участках этого гена. По сторонам от различных «GAA-сайтов» также выявляют сходные меж сайтами последовательности: (T/A)GAA(A/G/редкоT)(A/T/редкоC)(A/T/редкоC/редкоG) [Al-Tassan et al et al., 2002]. Еще более необычно то обстоятельство, что в гене KRAS при MUTYH-ассоциированном полипозе встречается лишь одна из множества потенциально возможных мутаций, включая замены G>T: GGT>TGT замена с.34G>T или p.G12C [Jones et al., 2004]. В согласии со схемой Leggett и Whitehall, в типичных аденоматозных образованиях выявляют мутации в гене APC и, редко (22%) KRAS, в аденомах с ворсинчатым компонентом частота KRAS мутаций растет [Jones et al., 2004]; а в зубчатых образованиях (гиперпластические полипы, традиционные «сидячие» полипы) – напротив, не бывает мутаций в гене APC, а мутации в гене KRAS очень часты (81%) [Voparai et al., 2008]. Мутации в гене BRAF в РТК и предраковых поражениях толстой кишки в рамках MUTYH по неясной причине никогда не встречаются. Интересно, что соматических генных мутаций в MUTYH при РТК не наблюдается, хотя, будучи локализован на коротком плече первой хромосомы, MUTYH может иногда утрачиваться в ходе приобретения опухолью хромосомной нестабильности [Halford et al., 2003; Mazzei et al., 2013]. В ранней работе было показано, что делеции 1p чаще встречаются в РТК у носителей моноаллельных мутаций в гене MUTYH, что в этих опухолях чаще

встречаются замены в гене KRAS G:C> T:A, чем в обычных спорадических РТК, хотя не обязательно эти мутации p.G12C [Kambara et al., 2004].

Американские и европейские рекомендации по скринингу больных MUTYH-ассоциированным полипозом несколько различаются. Согласно европейским, больные должны проходить колоноскопию начиная с 18-20 лет, раз в два года. После обнаружения полипов – раз в год, по возможности пытаться удалять полипы эндоскопически. При невозможности эндоскопического контроля проводят колэктомию. Полипы прямой кишки, как правило, контролировать эндоскопически удается. ФГДС рекомендуется проходить с 25-30 лет, раз в 5 лет до обнаружения полипов, далее – чаще. Согласно американским рекомендациям, следует проводить ежегодную колоноскопию приблизительно с 25 лет, пока возможно эндоскопическое удаление полипов. ФГДС проводят с 25-30 лет с частотой, зависящей от выраженности полипоза. Рекомендуют также ежегодное УЗИ щитовидной железы [Leoz et al., 2015; Syngal et al., 2015].

Существует изолированное сообщение о снижении количества полипов в результате приема НПВС при МАП. Эта работа свидетельствует об успешном контроле заболевания при помощи ежегодной полипэктомии, а потом даже раз в два года у двух больных, брата и сестры [Fornasarig et al., 2006]. Невозможно сказать, не станет ли в будущем ясно, что в отличие от семейного аденоматозного полипоза, онкологические риски MUTYH-ассоциированного полипоза достаточно будет контролировать профилактическим приемом НПВС и колоноскопией. Надо, однако, заметить, что по некоторым данным, выраженность полипоза при МАП не коррелирует с вероятностью возникновения РТК, поэтому проследить эффективность профилактики сложно [Nieuwenhuis et al., 2012].

Интересно, что РТК при этом синдроме схож с MSI/MMRd опухолями: наблюдается преобладание правосторонних опухолей, характерные гистологические черты, высокий уровень инфильтрации CD8+ лимфоцитами, относительно хороший прогноз [Colebatch et al., 2006; Nielsen et al., 2009b, de Miranda et al., 2009; Nielsen et al., 2010]. Есть данные, говорящие, однако, и о негативной черте, роднящей синдром Линча и MUTYH-ассоциированный полипоз: о существенном ускорении прогрессирования аденом в карциномы при МАП, а также о большом числе интервальных раков, выявляемых при скрининге – при этом значительная часть этих опухолей – распространенная [Nieuwenhuis et al., 2012]. Остается пока не проверенным, разделяют ли MUTYH-ассоциированные опухоли с MMRd образованиями чувствительность к иммунотерапии.

Вопрос селекции больных на молекулярно-генетическое тестирование МАП непросто. Ведущий подход – отбор случаев полипоза, особенно после проведения скрининга на мутации в гене APC. Однако будучи довольно специфичен, этот метод не является в должной мере

чувствительным, так как у большей части больных хоть сколько-нибудь выраженного полипоза не наблюдается [Nieuwenhuis et al., 2012; Farrington et al., 2005; Landon et al., 2015]. Надо отметить, что хотя бы один аденоматозный полип можно обнаружить примерно у трети клинически здоровых людей [Shussman and Wexner, 2014]. Отбор больных по возрасту слишком малоспецифичен, если не отбирать слишком молодых больных – а надо учитывать сравнительно позднее для наследственного рака начало развития РТК: среди очень молодых больных случаи МАП встречаются редко [Knoppertz et al., 2013; Landon et al., 2015].

Поэтому представляется важным, что селекция больных на тестирование мутаций в гене *MUTYH* может осуществляться с учетом молекулярных особенностей ассоциированных опухолей: при МАП из всего спектра возможных мутаций в гене *KRAS* встречается лишь относительно редкая (до 4%) в спорадических РТК замена с.34G>Т или p.G12C. Частота мутаций в гене *KRAS* в *MUTYH*-ассоциированных РТК достигает 60%, что выше, чем в типичных РТК (около 40% [Cancer Genome Atlas Network, 2012]). Таким образом, если отбирать на анализ статуса гена *MUTYH* образцы РТК с p.G12C мутацией, можно ожидать порядка пятнадцатикратного обогащения выборки случаями за счет того, что 40% случаев МАП без мутаций в гене *KRAS* окажется не выявлено. Преимущество такого критерия отбора в том, что мутации в гене *KRAS* – важный предиктивный маркер резистентности к ингибиторам EGFR при метастатическом РТК, тестирование на них – рутинная процедура. Поэтому сведения о наличии p.G12C мутации получить легко. Представляется, что в клинической практике возможно использовать наличие p.G12C мутации как одно из показаний к направлению на генодиагностику дефектов *MUTYH*. Существуют несколько работ об опыте применения такого подхода, продемонстрировавших частоту МАП среди p.G12C-мутантных РТК от 10% до 25% [Aime et al., 2015; Buisine et al., 2013; Puijtenbroek et al., 2008b]. Для отбора случаев МАП в исследовательских целях этот критерий также представляется вполне разумным, тем более что, в отличие от клинической диагностики, для решения такой задачи специфичность обычно важнее чувствительности. Здесь, впрочем, имеются и определенные ограничения. Во-первых, нельзя исключить гипотетическую возможность существования значимых биологических различий между МАП-ассоциированными опухолями с мутацией в гене *KRAS* и без неё. А во-вторых, из-за того, что предиктивные свойства *KRAS* релевантны лишь на IV стадии РТК, все выявленные опухоли будут метастатическими. При том, что обычно прогноз при раке в контексте *MUTYH*-ассоциированного полипоза лучше, чем при спорадическом РТК, метастатические *MUTYH*-ассоциированные раки также могут оказаться нетипичны для своей подгруппы (здесь, впрочем, можно было бы возразить, что даже в таком случае именно эти более агрессивные образования и представляли бы наибольший клинический интерес).

В попытках ограничить генетическое тестирование лишь узкой группой больных, некоторые исследователи применяли ИГХ исследование белковой экспрессии MUTYH. Результаты таких попыток противоречивы. В случае, если патогенные аллели представляют собой миссенс-замены (большинство случаев), белковая экспрессия в опухолевых клетках обыкновенно присутствует. Однако по некоторым сообщениям, для лиц с биаллельными дефектами MUTYH характерно исчезновение ядерного окрашивания – как в опухолевых, так и в нормальных клетках [Di Gregorio et al., 2006]. Впрочем, последующие наблюдения не смогли подтвердить эту находку [O'Shea et al., 2008].

Следует упомянуть, что в случае MUTYH-ассоциированного полипоза существует некоторая путаница в номенклатуре. Изначально ген MUTYH был назван MYH: MutY homologue [McGoldrick et al., 1995]. Затем, из-за того, что старое название вызывало ненужные ассоциации с генами субъединиц тяжелой цепи миозина, ген был переименован, и получил свое настоящее название, MUTYH. Также для гена MUTYH известно несколько функционально-значимых транскриптов и первоначально, на протяжении приблизительно 5 лет, в качестве референсной использовали не самую длинную последовательность. Затем HGVS рекомендовало использовать длинейший транскрипт для наименования вариаций в гене. Таким образом, в первоначальных работах нумерация в названиях мутаций, локализующихся 3' от подвергающегося альтернативному сплайсингу экзона 3, сдвинута на 42 нуклеотида по сравнению с принятой в настоящее время. Например, мутации с.536A>G (p.Y179C) и с.1187 G>A (p.G396D) ранее назывались соответственно с.494A>G (p.Y165C) и с.1145G>A (p.G382D) [Nielsen et al., 2011].

Подобно синдрому Линча и семейному аденоматозному полипозу, для MUTYH-ассоциированного полипоза существуют базы данных, в которых известные мутации каталогизируются и ранжируются по уровню доказательности их патогенности – что в данном случае весьма актуально, большинство причинно-значимых повреждений – миссенс-замены [Out et al., 2010; Grandval et al., 2015]. Известно более 200 миссенс-мутаций. Помимо эпидемиологических наблюдений, предпринимаются многочисленные попытки адекватно охарактеризовать эти повреждения функционально [Ali et al., 2008; Komine et al., 2015]. Известно, например, что нарушаемые распространенными в Европе мутациями участки Y179 и G396 важны для распознавания пар 8-оксогуанин:А, а также придания стабильности комплексу белок-ДНК и облегчения изменения конформации MUTYH соответственно; при этом p.Y179C нарушает функцию MUTYH более значительно, чем p.G396D [Ali et al., 2008; Komine et al., 2015]. Изредка попадаются крупные внутригенные перестройки, выявляемые MLPA. Разумеется, «транскирующие» мутации также встречаются, например, индийская founder-

мутация p.E480X [Sampson et al., 2003] или североафриканская p.Glu410Glyfs*43 [Abdelmaksoud-Dammak et al., 2012].

MUTYH-ассоциированный полипоз – рецессивная патология, и неудивительно, что «эффект основателя» в отношении причинно-значимых мутаций может быть выражен очень сильно. В самом деле, “founder”-мутации играют очень большую роль как в эпидемиологии, так и в диагностике MUTYH-ассоциированного полипоза. Согласно ряду крупных исследований, популяционная частота «европейских» “founder”-мутаций p.Y179C и p.G396D составляет в странах, населенных народами европейского происхождения, порядка 0,8-1,114% [Küry et al., 2007, Beiner et al., 2009; Lubbe et al., 2009; Balaguer et al., 2007; Moreno et al., 2006; Farrington et al., 2005; Tenesa et al., 2007; Cleary et al., 2009]. В некоторых странах этот “founder”-эффект ослабевает, например, в Австралии. Так как в типичных европейских популяциях на p.Y179C и p.G396D приходится порядка 60-90% патогенных аллелей [Sampson et al., 2003; Nielsen et al., 2005; Kairupan et al., 2005; Jo et al., 2005; Isidro et al., 2004; Guarinos et al., 2014; Gómez-Fernández et al., 2009; Fleischmann et al., 2004; Gismondi et al., 2004; Filipe et al., 2009; Eliason et al., 2005; Croitoru et al., 2004; Castillejo et al., 2014; Bouguen et al., 2007; Balaguer et al., 2007; Avezzu et al., 2008; Aretz et al., 2006], случаи полипоза обычно либо гомозиготны по “founder”-мутациям, либо компаундные гетерозиготы, в которых одно из повреждений – founder, а другое – редкая мутация. Поэтому оправданным является применение ступенчатого алгоритма тестирования: сначала определяют статус повторяющихся “founder”-повреждений. Затем проводят поиск мутаций в остальной кодирующей последовательности гена MUTYH у гетерозигот. Однако если ограничиться таким подходом, то в мультиэтнических популяциях, пусть даже в основном населенных людьми европейского происхождения - например, США, возможно пропустить около 25% случаев [Inra et al., 2015; Landon et al., 2015].

В популяциях не европейского происхождения мутации p.Y179C и p.G396D практически не встречаются [Abdelmaksoud-Dammak et al., 2012; Kim et al., 2007; Sampson et al., 2003; Zhang et al., 2006]. Любопытное исключение – евреи-сефарды Северной Африки, у которых (в отличие от восточно-европейских евреев-ашкенази) встречаемость «европейских» “founder”-мутаций представляется очень большой: 4,4 - 4,7% гетерозигот в популяции [Lejbkovicz et al., 2012; Rennert et al., 2012]. Это значит, что популяционная частота заболевания составляет порядка 1:2000. Вероятно, этот факт связан с длительным проживанием этой этнико-культурной группы на территории Испании и Португалии, где популяционная частота «европейских» мутаций выше среднего европейского уровня; и, затем, эффектом «бутылочного горлышка» при спешном переселении немногочисленных «основателей» популяции в Африку, например, Марокко. На данный момент в Марокко «европейские» мутации встречаются чаще, чем p.Glu410Glyfs*43 [Laarabi et al., 2011], распространенная в странах Северной Африки и

Иберийского полуострова. На долю p.Glu410Glyfs*43 приходится более 90% патогенных аллелей в Тунисе [Abdelmaksoud-Dammak et al., 2012], порядка 19-25% патогенных аллелей в Испании и Португалии [Isidro et al., 2005; Balaguer et al., 2007; Gómez-Fernández et al., 2009]. Интересен пример Венгрии, страны, располагающейся в Центральной Европе, чье население в силу исторических причин может отличаться от соседних народов этнически: в недавнем исследовании выяснилось, что 50% патогенных аллелей у венгерских больных приходится на мутацию p.R245H, а 30% - на p.T152_M153insIW [Papp et al., 2016]. Надо отметить, что в отличие от лингвистических данных, несомненно помещающих венгерский язык в финно-угорскую ветвь уральской языковой семьи, однозначности по поводу этнического состава современных венгров нет, генетически потомки или преемники мадьяр все-таки во многом схожи с окружающими их ныне европейскими народами [Bíró et al., 2015; Csösz et al., 2016]. Данные по встречаемости необычных для Европы повреждений, ассоциированных с МАП, видимо, вносят дополнительную сложность в запутанную картину этногенеза венгров. Но даже если обсуждать типичные европейские популяции, нередко встречаются минорные “founder” повреждения, ответственные за развитие меньшей, но значительной доли случаев МАП в популяции. Один из примеров региональных европейских “founder”-повреждений уже упоминался – это испанская и португальская p.Glu410Glyfs*43 (возможно, это повреждение арабского происхождения). Другой пример – итальянская мутация p.480delE [Aretz et al., 2006; Eliason et al., 2005; Gismondi et al., 2004]. В Италии на ее долю также приходится до четверти патогенных аллелей. Еще один пример – голландская мутация p.P405L, составляющая около 15% причинно-значимых повреждений в Нидерландах [Nielsen et al., 2005]. Практическое значение региональных “founder”-повреждений очевидно – они должны быть включены в предварительный скрининг, направленный на детекцию повторяющихся повреждений в гене MUTYH в соответствующих регионах.

В России молекулярная эпидемиология MUTYH-ассоциированного полипоза изучена плохо, в трех московских исследованиях описано всего 4 больных, два - гомозиготны по мутации p.Y179C; два – по мутации p.G396D [Музаффарова, 2005; Короткова et al., 2011; Поспехова и др., 2014]. Интересно, что в гетерозиготном виде обнаружен аллель p.G169D, ранее выявленный в Польше у больного полипозом толстой кишки в компаундном состоянии с мутацией p.Y179C [Поспехова и др., 2014]. Также выявлялся «голландский» патогенный аллель p.P405L [Короткова et al., 2011]. Очевидно, назвать эти сведения исчерпывающими невозможно. Настоятельно требуются новые молекулярно-эпидемиологические исследования: именно этому планировалось посвятить соответствующий раздел настоящей диссертационной работы. Кроме того, заслуживает апробации новый молекулярный критерий отбора больных на диагностику МАП: наличие соматической мутации p.G12C в гене KRAS.

1.4.5.2 Синдром Тюрко

Аутосомно-рецессивный синдром Тюрко или конститутивная недостаточность системы репарации неспаренных оснований ДНК (biallelic constitutive mismatch repair deficiency, bCMMR-D) – очень тяжелое, но, к счастью, крайне редкое педиатрическое заболевание. История изучения синдрома Тюрко запутанна, но любопытна. Выше упоминалось, что начало ее восходит к работе Тюрко 1959 года, где описывалось двое sibсов с сочетанием полипоза и опухолей ЦНС. Еще в 1979 году было сделано предположение о том, что случай, описанный Тюрко, отличался по своей генетической природе от семейного аденоматозного полипоза и был ассоциирован с доселе неизвестным рецессивным наследственным заболеванием [Itoh et al., 1979]. С тех пор это предположение периодически возникало в научной печати и (в части отличия от семейного аденоматозного полипоза) было даже подтверждено анализом сцепления в начале 90х годов [Cohen, 1982; Radik et al., 1984; Tops et al., 1992]. В дальнейшем оказалось, что опухоли, возникшие у одного из описанных Тюрко больных, демонстрировали микросателлитную нестабильность, а ряд других больных оказались носителями патогенных мутаций в генах системы MMR [Hamilton et al., 1995]. Однако ценное предположение о рецессивном характере наследования болезни оказалось проигнорировано: по ряду причин, в том числе технических, у больных были выявлены лишь гетерозиготные повреждения. Более того, исследовательской группой, установившей связь синдрома Тюрко с мутациями в генах системы MMR, было описано явление микросателлитной нестабильности в нормальных тканях части больных, характерное, как оказалось позднее, лишь для лиц с биаллельным повреждением генов MMR [Parsons et al., 1995]. В 1999 году был описан первый случай гомозиготной «транквирующей» мутации в гене MLH1 у больных с лейкозами и пятнами на коже цвета «кофе с молоком» - симптомы, характерные для нейрофиброматоза I (и наблюдавшимися в когорте больных у [Hamilton et al., 1995]) [Ricciardone et al., 1999]. Вскоре было описано еще несколько случаев, в которых у больных наблюдались черты нейрофиброматоза, включая образование нейрофибром, гематобластозы и опухоли мозга, причем в нормальных тканях был продемонстрирован феномен микросателлитной нестабильности [Wang et al., 1999; Vilkki et al., 2001]. Детальный анализ имеющейся информации привел к выделению варианта синдрома Линча, ассоциированного с гомозиготными мутациями в генах системы MMR, для которого характерен олигополипоз, глиомы, гемобластозы и кожные пятна цвета «кофе с молоком» у детей [Trimboth et al., 2001]. Наконец, в 2004 году у пациента, у которого в работе [Hamilton et al., 1995] была найдена мутация в гене PMS2, удалось выявить «вторую» наследственную мутацию в том же гене [De

Vos et al., 2004]. Любопытно, что, вероятно, моноаллельные повреждения в системе MMR все же могут очень редко вызывать типичные проявления синдрома у детей: РТК [Durno et al., 2005] и глиомы [Amayiri et al., 2016].

Сложно сказать, какова частота синдрома. На момент 2014 года было известно о 146 пациентах из 91 семьи. Онкологический риск, связанный с биаллельным носительством мутаций в генах системы MMR, исключительно высок: у 139/146 (93%) больных в общей сложности развилось 223 злокачественные опухоли. Средний возраст больных – 7,5-10 лет. Спектр новообразований, ассоциированных с синдромом Тюрко, широк, и, в целом, проявления синдрома отличаются большой вариабельностью. В распределение рисков той или иной онкопатологии вносит вклад генотип больных. Например, у носителей мутаций в гене PMS2 и, возможно, MSH6 чаще встречаются глиомы. У носителей мутаций в генах MLH1 и MSH2 достоверно чаще выявляют гемобластозы.

У 36% больных выявляют аденоматозный полипоз толстой кишки. Он носит обычно характер аттенуированного – выявляют чаще всего 5-50 полипов [Durno et al., 2015]. У больных часто выявляют неполипоидные уплощенные образования с аденоматозной гистологической картиной [Lavoine et al., 2015]. Описаны случаи выявления гамартоматозных полипов, похожих на образования, характерные для ювенильного полипоза [Levi et al., 2015]. Встречаются полипы тонкой кишки и желудка. Рак толстой кишки выявляют у 40-60% больных, причем средний возраст пациентов на момент диагноза - 16-17 лет [Durno et al., 2015; Aronson et al., 2016; Wimmer et al., 2014]. Недавнее проспективное исследование показывает, что у таких пациентов колоректальный рак способен развиваться исключительно быстро, за 6-11 месяцев с момента эндоскопического обследования. Левосторонние раки распространены больше, чем при синдроме Линча. Рак тонкой кишки - также нередкое явление и встречается у порядка 13-17% больных [Aronson et al., 2016; Wimmer et al., 2014]. Он также способен развиться из макроскопически неразличимого предшественника за период менее года [Aronson et al., 2016]. Опухоли ЦНС – самые частые проявления синдрома Тюрко и встречаются приблизительно у 60% пациентов. Среди опухолей ЦНС преобладают низкодифференцированные глиомы, за ними – супратенториальные примитивные нейроэктодермальные опухоли и, наконец, медуллобластомы. Опухолевая прогрессия, рост таких новообразований еще более стремительный: за 4-6 месяцев опухоль может развиться из невизуализируемого при помощи МРТ предшественника [Shlien et al., 2015]. Гематологические проявления развиваются примерно у трети больных [Wimmer et al., 2014]. В большинстве случаев это Т-клеточные лимфомы, реже Т-клеточный острый лимфобластный лейкоз, изредка встречаются разнообразные гемобластозы. И глиомы, и гемобластозы чаще проявляются на первой декаде жизни. Повышена частота разнообразных опухолей, ассоциированных с синдромом Линча,

кроме того есть описания различных редких опухолей у одного-двух больных синдромом Тюрко, когда формально доказать связь синдрома с «периферийными» опухолевыми проявлениями невозможно.

Так как система MMR участвует в переключении изотипа антител, конститутивная инактивация этой системы нередко приводит к относительному избыточному накоплению антител класса IgM и относительному дефициту IgG2, IgG4 и IgA. Тяжелыми инфекциями этот субклинический врожденный иммунодефицит обычно не проявляется.

Что касается пятен цвета «кофе с молоком», наблюдаемых по меньшей мере у 60% больных [Wimmer et al., 2014], отмечают большую неравномерность цвета и неровность границ этих кожных проявлений по сравнению с аналогичными пятнами в случае нейрофиброматоза [Durno et al., 2015]. Пятна обыкновенно множественные, но все же меньше в числе, чем при нейрофиброматозе. Реже выявляют иные признаки нейрофиброматоза, в том числе нейрофибромы. Наличие у больных признаков нейрофиброматоза связывают с приобретением соматических мутаций в гене NF1, иногда на ранних этапах эмбриогенеза, что приводит к мозаицизму. Предполагают, что возникновение мутаций в этом гене, крайне крупном по своему размеру и содержащем микросателлитные повторы в кодирующей последовательности, происходит в рамках и благодаря конститутивной недостаточности системы MMR как таковой [Wang et al., 2003]. С гипермутабельностью неизмененных клеток связывают повышенную частоту пороков развития у больных – описано 4 случая агенеза мозолистого тела и гетеротопии серого вещества, еще один случай множественных пороков развития [Wimmer et al., 2014]

Быстрейшая опухолевая прогрессия из пренеопластических предшественников в злокачественное новообразование – характерная черта синдрома, связанная с необыкновенной гипермутабельностью возникающих новообразований. Интересно, что во всех злокачественных опухолях ЦНС, возникающих у больных синдромом Тюрко, возникают мутации в генах POLE или POLD1, и все эти образования ультрагипермутабельны: максимальное количество несинонимичных мутаций в экзоне опухоли стремится к 20000. Утверждается, что, как это ни странно, исследованные опухоли не демонстрируют микросателлитной нестабильности [Shlien et al., 2015]. Тут следует отметить возможность технических сложностей при попытке детекции небольших изменений размера исследованных микросателлитов. На заре изучения микросателлитной нестабильности одним из авторов-первооткрывателей явления было проведено разделение на незначительные и крупные изменения в размере микросателлитов [Thibodeau et al., 1993]. Позднее, в силу ряда причин это различие подавляющим большинством исследователей было, вероятно, сочтено искусственным и проигнорировано. И вот недавно подобный феномен - незначительные по размеру изменения длины

микросателлитных повторов, был показан как характерный для опухолей ЦНС, ассоциированных с синдромом Тюрко [Giunti et al., 2009]. Нужно отметить, что динуклеотидные маркеры показывают более заметные различия [Nguyen et al., 2016].

Больным с выявленными биаллельными мутациями предлагается скрининговая диагностика ассоциированных с синдромом опухолей. Существуют две стратегии скрининга, предложенные европейскими и канадскими специалистами. В рамках европейских рекомендаций 1-2 раза в год предполагается МРТ головного мозга, начиная с двухлетнего возраста; колоноскопия, начиная с 8 лет; ФГДС и капсульная энтероскопия, начиная с 10 лет. Кроме того, два раза в год рекомендуется делать клинический анализ крови, ультразвуковое исследование брюшной полости и, конечно, физикальное исследование при осмотре пациента [Vasen et al., 2014]. Канадские рекомендации очень похожи, но в некоторых моментах отличаются, например, при рождении ребенка рекомендуется проводить ультразвуковое исследование головного мозга, а затем каждые 6 месяцев – МРТ [Durno et al., 2012]. К сожалению, несмотря на все скрининговые меры, прогноз все равно остается чрезвычайно серьезным [Vasen et al., 2014; Lavoine et al., 2015]

Родители больных синдромом Тюрко, по определению, страдают синдромом Линча. В связи с этим, им также должно быть предложено адекватное наблюдение. Интересно наблюдение, согласно которому среди родителей детей, больных синдромом Тюрко, снижена частота опухолей, связанных с синдромом Линча [Durno et al., 2015]. Возможно, это объясняется преобладанием среди больных синдромом Тюрко носителей мутаций в низкопенетрантном гене PMS2. Из опубликованных данных неясно, характерна ли такая особенность и для носителей биаллельных повреждений в генах MLH1 и MSH2. Известно, что распределение рисков у носителей мутаций в генах MLH1 и MSH2 гетерогенно [Dowty et al., 2013] – возможно, что «высокорисковые» больные в силу каких-либо (помимо очевидных) причин реже дают потомков. Делом будущего остается прояснение вопроса о снижении пенетрантности в семьях больных синдромом Тюрко, а также каких-либо модификаций скрининговых протоколов у носителей ассоциированных моноаллельных повреждений.

Давно известно, что алкилирующие агенты, в том числе темозоломид - стандартный препарат для лечения опухолей ЦНС, не действует на клетки с дефектами системы репарации неспаренных оснований ДНК [Liu et al., 1996]. Тиопурин и различные алкилирующие агенты, применяемые для лечения гемобластозов, также нуждаются в функционировании системы MMR – и действительно, ответ ассоциированных с синдромом Т-клеточных лимфом на стандартную терапию существенно хуже обычного [Lavoine et al., 2015]. С другой стороны, в экспериментах на клеточных линиях показана высокая чувствительность MMRd клеток к некоторым химиотерапевтическим агентам, например, метотрексату. Возникает закономерный

вопрос, не будут ли подобные лекарственные средства чрезвычайно токсичны для больных с синдромом Тюрко. Таким образом, спектр химиотерапевтических средств, оптимальных для лечения опухолей, возникающих в контексте синдрома Тюрко, сужается по сравнению со спорадическими опухолями. Некоторый оптимизм, впрочем, вызывает недавнее сообщение о выраженном ответе ультрагипермутабельных глиобластом на терапию ингибитором PD1, ниволумабом, у двоих больных [Bouffet et al., 2015].

Выявление случаев синдрома опирается, прежде всего, на ярчайшую клинику. Разработаны критерии диагностики, учитывающие необычный спектр ассоциированных опухолей [Wimmer et al., 2014]. Отобранным больным должно проводиться как ИГХ-исследование, так и тест на микросателлитную нестабильность, так как оба метода имеют преимущества и недостатки: ИГХ-тест способен пропустить значимые миссенс-мутации, MSI-тестирование ассоциированных с синдромом глиом имеет упомянутые выше особенности, препятствующие получению легко интерпретируемого результата [Giunti et al., 2009; Vasen et al., 2014]. Очень перспективной представляется способность ИГХ выявлять потерю экспрессии причинно-значимых генов в нормальной ткани, что сразу указывает на конститутивную недостаточность MMR. Микросателлитная нестабильность также присутствует в нормальных клетках, однако за счет того, что в неклональных клеточных популяциях вариабельность размера микросателлитов носит характер «шума», выявить ее непросто. Из ряда неудобных в рутинной практике методик выделяется метод подсчета площади так называемых «stutter» пиков при фрагментном анализе результатов капиллярного электрофореза ПЦР-фрагментов, содержащих маркерные микросателлиты [Ingham et al., 2013]. В силу увеличения вариабельности размера микросателлитов в нормальной ткани, при сохраняющемся преобладании гомозиготного герминального аллеля маркера, площадь пиков по сторонам от него, по данным Ingham et al., 2013; достоверно и воспроизводимо увеличивается.

Большой проблемой в диагностике синдрома являются VUS и случаи, когда клиника и молекулярные критерии указывают на синдром Тюрко, а причинно-значимых мутаций выявить не удается. Интересно недавнее сообщение о разработке функциональных экспресс-методов определения конститутивной недостаточности MMR [Bodo et al., 2015].

Частота синдрома Тюрко выше в популяциях, где распространены “founder”-повреждения в генах системы MMR, а также среди народностей, практикующих близкородственные браки. Вообще, на семьи с близким родством между родителями приходится более половины случаев синдрома Тюрко [Wimmer et al., 2014]. Высокая доля случаев, связанных с близкородственными браками, еще раз подчеркивает редкость причинно-значимых аллелей в популяции (подобно тому, как высокая доля de novo повреждений и скудные “founder”-мутации в структуре доминантного заболевания, например, семейного

аденоматозного полипоза, подчеркивают его высокую пенетрантность и тяжелый характер клиники). Редкость причинно-значимых аллелей, в свою очередь, объясняется их патогенностью. Так или иначе, если говорить о повторяющихся мутациях, интересно недавнее сообщение, в котором описана мутация с.2002A>G, приводящая к, на первый взгляд, незначимой замене р.І668V в гене PMS2, на деле нарушающая сплайсинг. Это повреждение отличается сниженной пенетрантностью и весьма распространено среди инуитов – народности, относящейся к группе эскимосов и проживающей на севере Канады. Описано 13 гомозиготных носителей мутации, средний возраст на момент диагноза первого новообразования у них составил 22 года, а частота глиом составляет «всего» 15% [Li et al., 2015]. Из расчета авторов исследования встречаемость патогенного аллеля среди одной географически изолированной группы инуитов численностью приблизительно в 10000 человек составляет около 1:16. Более типичные ситуации иллюстрирует недавнее сообщение, в котором представлено описание 7 случаев синдрома Тюрко, выявленных в Израиле. В двух случаях причинно-значимыми являлись ашкеназские “founder”-мутации (родители не были родственниками), четыре случая приходились на близкородственные браки среди арабов и евреев (из этнокультурных групп с распространением близкородственных браков), в последнем случае (близкородственный брак) причинно-значимое повреждение не выявлено [Baris et al., 2016].

В России опубликован ряд сообщений о случаях с выраженными клиническими признаками синдрома Тюрко. В одной из первых работ сообщается о подтверждении диагноза при помощи выявленной ИГХ потери белковой экспрессии гена MSH6 [Талалаев и др., 2006]. Случаев, подтвержденных молекулярно-генетически, не описано.

1.4.5.3 NTHL1-ассоциированный полипоз

После установления роли MUTYH в колоректальном канцерогенезе несколькими исследовательскими группами проводился поиск наследственных мутаций в других генах системы BER. Длительное время поиск был безрезультатным. Важным событием 2015 года стало сообщение о выявлении очередного гена, ассоциированного с рецессивным аденоматозным полипозом. Гомозиготная нонсенс-мутация р.Q90X в гене NTHL1 была обнаружена у 7 человек, принадлежащих к 3 из 48 (6,2%) семей голландских больных аденоматозным полипозом с исключенными мутациями в гене APC и MUTYH. У всех семи наблюдался невыраженный аденоматозный полипоз (8-50 полипов), у четырех – первично-множественный рак толстой кишки. У всех трех женщин-носительниц мутаций наблюдались неопластические и пренеопластические процессы в эндометрии, у двух больных – соответственно, полипоз и рак двенадцатиперстной кишки. В голландской популяции

патогенный аллель встретился с частотой в 0,36%, что приблизительно соответствует частоте заболевания в 1:75000 [Weren et al., 2015]. Случай NTHL1-ассоциированного полипоза был также обнаружен в Канаде. У молодой пациентки немецкого происхождения был выявлен РТК, <30 аденоматозных полипов (фокально несущих ворсинчатый и зубчатый компоненты), кисты яичников, рак молочной железы, рак мочевого пузыря, плоскоклеточный рак головы и шеи, базальноклеточный рак, а также внутридермальные невусы и множественный себорейный кератоз. Больная оказалась компаундной гетерозиготой: [p.Q90X];[c.709+1G→A]. Интересно, что с момента первоначального диагноза больная прожила 18 лет, а умерла от не связанной с онкологическими заболеваниями причины [Rivera et al., 2015]. Еще двое больных было выявлено в Испании, в группе больных полипозом толстой кишки с исключенными мутациями в гене APC и MUTYH (2/88 (2.3%)). У обоих больных было выявлено несколько десятков полипов (у одной из них, помимо аденоматозных, выявлены гиперпластические полипы), РТК. У одной пациентки выявлен рак мочевого пузыря и билатеральный рак молочной железы [Belhadj et al., 2016]. Таким образом, предварительно можно сказать, что биаллельные мутации в гене NTHL1 встречаются реже, чем в гене MUTYH. Синдром этот высокопенетрантный, полипоз встречается у всех 10 выявленных больных, а РТК – в 70% случаев. Помимо РТК, к спектру ассоциированных опухолей относится, вероятно, еще также рак молочной железы и рак мочевого пузыря.

NTHL1, как и MUTYH, является геном системы эксцизионной репарации оснований ДНК. Опухоли, возникающие в контексте нового синдрома, вероятно, гипермутабельны. В отличие от MUTYH, NTHL1 устраняет широкий круг продуктов окисления нуклеотидов, главным образом, пиримидинов. В спектре мутаций в опухолевой ткани доминируют замены типа C:G>T:A [Weren et al., 2015].

Пока информации о синдроме слишком мало, чтобы очертить спектр ассоциированных с ним опухолей, оценить связанный с носительством патогенных аллелей онкологический риск, установить эпидемиологические характеристики заболевания. Вероятно, с накоплением новых данных удастся понять, отличаются ли новообразования, возникающие в рамках синдрома, иммуногенностью и благоприятным прогнозом, каков оптимальный алгоритм скрининга у бессимптомных носителей патогенных мутаций, какие особенности ответа опухолей на терапию для него характерны.

1.4.5.4. MSH3-ассоциированный полипоз

Последней на сегодняшний день выявленной формой рецессивного аденоматозного полипоза стал MSH3-ассоциированный полипоз. В группе из 102 больных полипозом толстой

кишки (>20 аденом) центральноевропейского происхождения, с исключением мутаций в генах APC, MUTYH, POLD1, POLE, NTHL1, был выявлен один больной с синдромом Тюрко, 14 пациентов с разными потенциально значимыми мутациями в различных кандидатных генах, и, наконец, 2/102 (2%) случая компаундной гетерозиготности по инактивирующим мутациям в гене MSH3. У этих двух больных в возрасте около 35 лет было выявлено немногим более 30 тубулярных или тубуловиллезных полипов толстой кишки, с воспалительной инфильтрацией, несколько гиперпластических полипов. У одной из пациенток выявлены также полипы двенадцатиперстной кишки, аденома щитовидной железы, полип и лейомиомы матки и протоковые папилломы молочных желез. Один из братьев пациентки также оказался носителем биаллельных повреждений MSH3: у него выявлены полипы толстой и двенадцатиперстной кишки, рак толстой кишки и рак желудка в возрасте 55 и 59 лет, соответственно. У другой больной также были выявлены полипы толстой и двенадцатиперстной кишки, аденома щитовидной железы, лейомиома матки и протоковые папилломы молочных желез. Кроме того, в возрасте 26 лет у нее была обнаружена астроцитома, кисты яичников (включая дермоидную кисту). Брат этой больной также являлся носителем биаллельных мутаций MSH3 и в 33 года у него был диагностирован полипоз толстой кишки.

ИГХ исследование показало отсутствие экспрессии MSH3 в нормальной и опухолевой ткани больных. Опухолевый материал от трех больных, взятый из полипов, был доступен для анализа микросателлитной нестабильности. Оказалось, что у всех пациентов наблюдалась нестабильность тетрануклеотидных микросателлитных маркеров, у двух – динуклеотидных микросателлитов, а моонуклеотидные маркеры во всех случаях остались интактны. Наконец, в 4 полипах, взятых у одного из больных, обнаружено 7 небольших (2-8 нуклеотидов) делеций в гене APC. Именно такие повреждения призван устранять комплекс MutS β , состоящий из MSH2 и MSH3.

Хотя данные, полученные в работе Adam et al., 2016; не были пока подтверждены другими исследовательскими коллективами, представляется убедительным, что наследственные мутации в гене, давно связываемом с особой формой микросателлитной нестабильности, EMAST, способны быть причастны к развитию РТК и опухолей иных локализаций.

1.4.6 Гамартоматозные полипозы толстой кишки

Гамартома – термин, обозначающий образование, в котором тканевой состав нормален для соответствующей локализации, однако в силу неправильно идущих процессов развития тканевая архитектура оказалась радикально нарушена. Описаны различные формы

множественных гамартомных поражений толстой кишки, гамартоматозного полипоза. Гамартоматозный полипоз толстой кишки встречается с частотой, приблизительно в 10 раз меньшей, чем аденоматозные формы полипоза [Schreibman et al., 2005]. Существует спорадическая форма гамартоматозного полипоза с неустановленной этиологией, синдром Кронкайт-Канада (Cronkhite-Canada syndrome). Никаких свидетельств в пользу наследуемости данной редкой патологии нет. Вероятнее всего, развивается синдром вследствие аутоиммунного процесса. Основные данные в поддержку этой гипотезы получены *ex juvantibus* – проявления болезни стихают при назначении иммуносупрессивной терапии. Полипы при этом выявляют на фоне отечной, воспаленной слизистой, что отличает синдром от ювенильного полипоза толстой кишки. Данные о связи синдрома Кронкайт-Канада с РТК противоречивы, хотя крайне вероятно, что таковая связь с накоплением данных будет установлена достоверно [Sweetser et al., 2012]. Существуют также четыре редкие аутосомно-доминантные наследственные разновидности гамартоматозного полипоза, генетическая природа которых установлена достаточно надежно. Это синдром Пейтца-Егерса (Peutz-Jeghers syndrome, PJS), ювенильный полипоз толстой кишки (juvenile polyposis syndrome, JPS), синдром Коуден (Cowden syndrome, CS) и его вариант синдром Баннаян-Райли-Рувалькаба (Bannayan-Riley-Ruvalcaba syndrome, BRRS), а также наследственный смешанный полипоз толстой кишки (hereditary mixed polyposis syndrome, HMPS). Полипы при этих состояниях обычно несколько различаются между собой, что иногда дает возможность клинико-морфологического дифференциального диагноза. Так, при синдроме Пейтца-Егерса полипы чаще небольшие, с гладкой поверхностью, экзофитные, в строме полипов наблюдается характерное ветвление сети гладкомышечных волокон, выраженное воспаление, заполненные муцином кисты. Характерен феномен «псевдоинвазии»: островки эпителиальных клеток бывают захвачены пролиферирующей соединительной тканью и создают поверхностное впечатление инфильтрирующего эпителия [Latchford et al., 2011]. Эти полипы в своей «классической» форме исключительно редко, а возможно и никогда не являются спорадическими [Burkart et al., 2007]. Ювенильные полипы имеют ряд сходных характеристик, однако они обычно крупные, свойственны эрозии поверхности полипа (иногда даже возникает «самоампутация» полипа с фиброзно-сосудистой ножки), выраженный отек и фиброз собственной пластинки слизистой оболочки. Они легко повреждаются, причем возникает кровотечение. Единичные ювенильные полипы толстой кишки не столь редки у детей, встречаясь с частотой до 2% [Latchford et al., 2012]. Ассоциированные наследственные мутации редко выявляют у больных с единичными полипами [Jelsig et al., 2016a]. Для синдрома Коуден и его разновидностей характерны маленькие полипы на широком основании, поверхность полипа лишена эрозий, воспаление и отек собственной пластинки слизистой невыражены, нет кист, заполненных муцином, в строме

часто встречаются лимфоидные фолликулы, а иногда – нервные волокна и ганглии. Если говорить о смешанном полипозе – для него характерно сочетание различных полипов, включая гамартоматозные, аденоматозные, зубчатые и воспалительные псевдополипы [Shaco-Levi et al., 2016]. Иногда к гамартоматозным полипозам относят множественные невромы алиментарного тракта, гастроинтестинальный ганглионевроматоз при нейрофиброматозе 1 типа, синдроме множественных эндокринных неоплазий типа 2В, и некоторых иных состояниях. Есть давнее сообщение, 1978 года, о наблюдении полипоза при синдроме Горлина. В ранних работах по клинике синдрома Бёрта-Хога-Дьюба упоминается полипоз толстой кишки [Jelsig et al., 2014].

1.4.6.1 Ювенильный полипоз толстой кишки

Наиболее распространенным является ювенильный полипоз толстой кишки. Он ассоциирован с мутациями в двух генах, участвующих в сигнальном каскаде семейства TGF β , BMPR1A и SMAD4. Частоту этого заболевания оценивают в 1:100000-1:160000 [Jelsig et al., 2014]. Оценка эта, впрочем, восходит ко времени до возможности проведения молекулярно-генетической диагностики. Мутации в генах BMPR1A и SMAD4 распределены приблизительно поровну среди случаев синдрома. Для подавляющего большинства носителей мутаций в гене SMAD4 (но не BMPR1A), помимо полипоза, характерен симптомокомплекс наследственной геморрагической телеангиэктазии. Это заболевание проявляется возникновением множества сосудистых аномалий, главным образом артериовенозных аневризм, легко разрывающихся с возникновением кровотечения. У больных возникают носовые кровотечения, возможны внутренние кровотечения, возможно возникновение артериовенозных шунтов легких с соответствующими гемодинамическими аномалиями. В последнем случае у таких больных часто возникает астма [O`Malley et al., 2012]. У части больных описаны черты соединительнотканых дисплазий, в частности, аневризмы крупных сосудов, недостаточность митрального и аортального клапана [Wain et al., 2014].

Выраженность полипоза очень переменчива, наблюдается от 1 до >1000 полипов, время манифестации полипоза варьирует от младенчества до взрослого возраста, однако в большинстве случаев он проявляется в ранний подростковый период. Так как полипы крупны, обильно васкуляризированы и легко травмируются, ведущий симптом полипоза при этом заболевании – ректальное кровотечение и анемия. Кроме того, секреция муцинозного экссудата из множества полипов способна привести к гипопротеинемии, гипоальбуминемии и гипокалиемии. Большинство полипов располагается в толстой кишке, особенно ее правых отделах [Latchford et al., 2012]. Риск развития рака толстой кишки составляет по меньшей мере 38-67% [Howe et al., 1998; Brosens et al., 2007]. У носителей мутаций в гене SMAD4 особенно

часто наблюдается выраженный полипоз желудка и рак этой локализации [Aretz et al., 2006]. Встречается рак тонкой кишки. Интересно, что в одном из недавних исследований в небольшой когорте больных с мутацией в гене SMAD4 наблюдался повторный случаи фолликулярных опухолей щитовидной железы из клеток Гюртле, случай билатеральной тератомы яичников [Wain et al., 2014]. У больных нередко наблюдалась макроцефалия.

В эпителиальной выстилке ювенильных полипов часто выявляют аденоматозные компоненты, в том числе диспластические [Aretz et al., 2006]. Считается, что в малоизученном патогенезе синдрома важную роль играет взаимодействие между стромальным компонентом полипа и эпителием. Большое значение может иметь хроническое воспаление [van Hattem et al., 2009]. Молекулярный патогенез синдрома почти неизучен, данные по молекулярной патологии полипов и ассоциированных раков крайне противоречивы [Blatter et al., 2014]. Очевидно, что мутации в генах BMPR1A и SMAD4 на разном уровне нарушают работу сигнального каскада от белков BMP семейства TGF β . Есть экспериментальные работы на трансгенных животных, когда одно внесение инактивирующих мутаций в ген SMAD4 изолированно в Т-лимфоцитах и BMPR1A изолированно в миофибробластах вызывало у мыши развитие полипоза [Kim et al., 2006; Allaire et al., 2016]. Кажется странным, что необычные результаты первой работы, процитированные две с половиной сотни раз, практически не вызвали отклика у специалистов, занимающихся непосредственно проблемой ювенильного полипоза.

Больным предлагается проведение колоноскопии и ФГДС, начиная с 12 лет или возраста манифестации симптоматики, раз в 1-3 года в зависимости от количества полипов. Выраженный полипоз невозможно контролировать эндоскопически и он служит показанием к колэктомии. Больным с мутациями в гене SMAD4 и клиникой геморрагической телеангиэктазии рекомендуется соответствующий скрининг [Latchford et al., 2012; Syngal et al., 2015]

Клиническими критериями синдрома является наличие более 5 характерных полипов, любое количество ювенильных полипов в желудочно-кишечном тракте за пределами толстой кишки, либо любое количество ювенильных полипов при условии семейной истории, согласующейся с диагнозом [Jass et al., 1988; Syngal et al., 2015]. Эти критерии не слишком специфичны, либо существуют пока невыявленные гены, ответственные за развитие ювенильного полипоза – мутации в генах SMAD4 и BMPR1A выявляют примерно в половине случаев [Aretz et al., 2007; Calva-Cerqueira et al., 2009]. На роль третьего гена ювенильного полипоза исследовательской группой под руководством Charis Eng предлагался ген ENG. Однако при том, что ENG несомненно связан с изолированной формой наследственной геморрагической телеангиэктазии, ассоциация его с ювенильным полипозом вызывает сомнения [Howe et al., 2007]. О существовании значимых “founder”-мутаций неизвестно.

Мутации в гене SMAD4 кластеризуются в областях, соответствующих определенным белковым доменам. Описана повторяющаяся мутация p.D415EfsX20 в гене SMAD4 (6/46, 13% всех причинно-значимых повреждений) [Calva-Cerqueira et al., 2009]. Около 10-30% мутаций приходится на внутригенные перестройки [Aretz et al., 2007; Calva-Cerqueira et al., 2009]. Описаны случаи протяженной делеции на 10 хромосоме, затрагивающей BMPR1A и PTEN.

1.4.6.2 Синдром Пейтца-Егерса

На втором месте по частоте – синдром Пейтца-Егерса. Так как причинно-значимый ген установили практически одновременно две исследовательские группы, он получил два названия: STK11 и LKB1 (в настоящее время общепринятым считается название STK11). Встречается заболевание с частотой 1:50000-1:200000, по более современным данным - скорее реже [Beggs et al., 2010; Jelsig et al., 2016b]. Клиническая картина болезни яркая, своеобразная и рано обратила на себя внимание медицинского сообщества.

Около трети случаев манифестирует в первую декаду жизни в связи с выраженным полипозом. Количество полипов при этом синдроме варьирует от 1 до сотен, расположены они в большинстве своем в тонкой кишке, но распространяются по всему желудочно-кишечному тракту и даже за его пределами (желчный и мочевого пузырь, бронхи, мочеточники) [Beggs et al., 2010]. В отличие от полипов при ювенильном полипозе, здесь полипы часто дают клинику непроходимости на уровне тонкой кишки. Инвагинация тонкой кишки встречается в течение жизни почти в 70% случаев, а медианный возраст этого состояния – 16 лет [van Lier et al., 2011].

Онкологический риск при синдроме достигает 31% к 50 годам и затем резко и быстро увеличивается, достигая 75-85% к 70-летнему возрасту [van Lier et al., 2010; Hearle et al., 2006]. Средний возраст на момент онкологического диагноза составляет 45 лет. Наибольший вклад в структуру онкологической заболеваемости вносят гастроинтестинальные опухоли – РТК, рак тонкой кишки, рак желудка и пищевода, рак поджелудочной железы, реже – гепатобилиарные опухоли. К 60 годам риск опухолей этих локализаций достигает 33%. В течение жизни риск РТК составляет 39-57% [Campos et al., 2015]. У женщин повышен риск рака молочной железы, до 31% к 60 годам. Несколько повышен риск рака тела и шейки матки, рака яичников. Возможно, повышен риск развития рака легкого и тестикулярного рака [Hearle et al., 2006]. У женщин часто встречаются опухоли из стромы полового тяжа с аннулярными трубочками – редкий вид опухолей яичников. Они часто билатеральны. Образования могут быть гормонально активны, что, в свою очередь, может провоцировать гиперпластические процессы в эндометрии. Около 20% этих образований озлокачивается. У мужчин встречается

гистогенетически гомологичное образование яичка – особый вариант крупноклеточных опухолей из клеток Сертоли. За счет гормональной активности они могут приводить к феминизации пациентов, также они могут приобретать способность к инвазии [Uhlbright et al., 2007].

У 95% больных наблюдают специфическое проявление – мелкие пигментные пятна вокруг губ, в полости рта, на кончиках пальцев, в перианальной области. Они возникают в раннем детстве, с возрастом пятна на коже бледнеют, а на слизистых – персистируют. Этот симптом имеет большое диагностическое значение.

Патогенез синдрома сложен, необычен и оставляет множество невыясненных вопросов. Целый ряд наблюдений свидетельствует о том, что количество полипов не связано с онкологическим риском [Burkart et al., 2007; Jelsig et al., 2014]. Области дисплазии в эпителии, выстилающем полипы, встречаются редко [Korsse et al., 2013]. Показано, что эпителиальная часть полипов поликлональна [de Leng et al., 2007]. Все это служит аргументами в пользу мнения, согласно которому аденокарциномы при синдроме Пейтца-Егерса вообще обычно развиваются не из гамартоматозных полипов [Jansen et al., 2011]. Возникновение этих образований независимо связано с мутациями в гене STK11, и они клинически значимы лишь самостоятельно, в силу способности вызывать обструкцию желудочно-кишечного тракта, боли, кровотечения и прочие симптомы [Latchford et al., 2011]. Молекулярный патогенез также изучен недостаточно. Известно, что STK11 подавляет работу сигнального каскада, активирующего mTOR. Любопытно, что описаны случаи гамартоматозного полипоза у больных с клиникой туберозного склероза. В недавней работе присутствие гамартомных полипов было зафиксировано у пациента с молекулярно-подтвержденным диагнозом [Santos et al., 2015]. Комплекс TSC1/TSC2 – основной негативный регулятор mTOR. В случае синдрома Пейтца-Егерса для возникновения рака необязательна потеря второго аллеля гена STK11, хотя до половины случаев демонстрируют LOH. Возможно, в патогенезе большую роль играет хроническое воспаление. Очень часто в опухолях выявляют мутации в гене p53, редко затрагивается каскад Wnt-beta-catenin (чаще за счет мутаций в гене бета-катенина), редко наблюдаются мутации в каскаде RAS-MAPK, редко затронут каскад трансформирующего фактора роста-β. Интересно, что даже при раке поджелудочной железы мутации в гене KRAS редки. LOH STK11 и делеции гена SMAD4 скорее характерны для диспластических областей эпителия полипов, чем для аденокарцином. [Korsse et al., 2013].

В силу высокой онкологической предрасположенности больным рекомендован достаточно интенсивный скрининг [Syngal et al., 2015; van Lier et al., 2010]. В частности, согласно американским рекомендациям, с 8 лет рекомендовано проходить колоноскопию, ФГДС и капсульную энтероскопию раз в 3 года. Если полипы не обнаруживаются при первом

обследовании, начало скрининга переносится на 18 лет. С 25 лет предлагается ежегодное гинекологическое обследование при помощи УЗИ, ежегодная МРТ молочных желез, а начиная с 30 летнего возраста раз в 1-2 года рекомендуется проходить МРТ или эндоскопическое ультразвуковое исследование, направленное на диагностику опухолей поджелудочной железы [Syngal et al., 2015]

По данным пилотного исследования с применением целекоксиба, прием НПВС способен уменьшить рост полипов у части больных [Udd et al., 2004]. Целекоксиб с тех пор оказался весьма кардиотоксичным средством и применение именно этого препарата с целью регулярной профилактики малооправданно. Есть доклинические данные, весьма логичные с точки зрения патогенеза, об эффективности ингибиторов mTOR [Wei et al., 2008]. Описан случай ответа рака поджелудочной железы на терапию эверолимусом у больного с синдромом Пейтца-Егерса [Klumpen et al., 2011].

При отборе больных на молекулярно-генетическую диагностику принимают во внимание наличие характерной пигментации, семейный анамнез и наличие полипов, также очень специфических [Burkart et al., 2007; Syngal et al., 2015; Beggs et al., 2010]. У 80-90% больных выявляют причинно значимые мутации. Характерных молекулярных особенностей патогенеза и “founder”-мутаций, способных помочь в молекулярной диагностике синдрома, не существует. Почти у половины больных нет семейной истории заболевания, и до 40% случаев приходится на de novo мутации [Launonen, 2005; Jelsig et al., 2016b]. Вероятно, это связано с тяжелыми клиническими проявлениями синдрома: кишечная непроходимость, развивающаяся до 20 лет в половине случаев, не могла быть излечена во времена до полостной хирургии. Описаны повторяющиеся инсерции и делеции в С6 мононуклеотидном повторе, с.837–с.842, горячей точке мутагенеза – на их долю приходится порядка 7% случаев синдрома [Launonen, 2005]. Стоит упомянуть также, что большое число случаев синдрома ассоциировано с внутригенными перестройками и делецией всего гена [Aretz et al., 2005; Volikos et al., 2006]. Здесь также есть повторяющаяся делеция 2, 3 экзона гена STK11 – видимо, за счет частой негомологичной рекомбинации между Alu-повторами на границах утрачиваемого участка [Borun et al., 2015]. Описаны случаи мозаицизма [McCaу et al., 2016].

1.4.6.3 PTEN-ассоциированный синдром гамартомных опухолей: синдром Коуден и Баннаяна-Райли-Рувалькаба

Клиника расстройств, ассоциированных с наследственными мутациями в гене PTEN, столь разнообразна, что исторически было описано несколько характерных констелляций симптомов, на самом деле принадлежащих к единому континууму клинических состояний,

PTEN-ассоциированному синдрому гамартомных опухолей. Частота этих редких состояний составляет в совокупности порядка 1:200000 [Jelsig et al., 2014]. Вариант синдрома, называемый синдромом Коуден, характеризуется сочетанием болезни Лермитта-Дюкло (Lhermitte-Duclos disease) - симптомокомплекса, связанного с возникновением медленно растущей доброкачественной гамартумы - диспластической церебеллярной ганглиоцитомы; а также характерных поражений кожи и слизистых: множественных трихилеммом, папилломатозных поражений полости рта, кожных невром и своеобразно проявляющегося кератоза конечностей. Для синдрома почти всегда характерно наличие макроцефалии. Синдром Баннаяна-Райли-Рувалькаба характеризуется макроцефалией, множественными липомами, пигментацией головки полового члена, макросомией при рождении, умственной отсталостью и гамартоматозным полипозом. Черты, не вошедшие в «ядро» описания этих синдромов – различные сосудистые аномалии ЦНС, расстройства аутистического спектра, фиброаденоматоз и внутрипротоковые папилломы молочных желез, характерная форма акантоза пищевода и ряд иных проявлений. Наиболее характерные из этих разнообразнейших проявлений оказались сведены в клинические критерии [Pilarski et al., 2013].

Полипоз при этом синдроме на самом деле смешанный, помимо описанных выше гамартоматозных полипов, возникают также аденоматозные, воспалительные полипы, а также липомы, лейомиомы, ганглионевромы слизистой кишки. Риск РТК при этом синдроме, видимо, повышен, но сравнительно невелик, порядка 9%-16% [Tan et al., 2012; Riegert-Johnson et al., 2010; Pilarski et al., 2013]. Высокий риск рака молочной железы – 77%-85%, рака щитовидной железы – 35-38%, эндометрия – 28%, почки - 33% [Bubien et al., 2013; Tan et al., 2012]. Подобно РТК, к «периферии» неопластических проявлений синдрома относится меланома – 6% риск в течение жизни [Tan et al., 2012].

Как результат ряда недавних публикаций, к немалому количеству известных проявлений плейотропного синдрома, помимо пороков развития, опухолей и психических отклонений, вероятно, могут добавиться аутоиммунные состояния и (обычно субклинический) врожденный иммунодефицит [Browning et al., 2015]

О патогенезе PTEN-ассоциированного синдрома гамартомных опухолей известно немного. PTEN входит в сигнальный каскад PTEN-PIK3CA-AKT. Интересно, что мозаичные активирующие мутации в PIK3CA и AKT являются причиной различных синдромов диспропорционального разрастания разных структур или участков организма, в частности, синдрома Протея [Martinez-Lopez et al., 2016; Lindhurst et al., 2011]. Экспериментально, на трансгенных мышцах показано, что мутации в гене PTEN именно в эпителии ассоциированы с развитием ювенильного полипоза и РТК [Marsh Durban et al., 2013]. Видимо, по крайней мере в

случае PTEN-ассоциированного полипоза эпителий ювенильного полипа – действительно источник развития РТК.

Колоноскопия и ФГДС, согласно недавним рекомендациям, может проводиться с 15 лет с интервалом в 2 и 2-3 года. В зависимости от количества полипов, интервалы модифицируются. Начиная с подросткового возраста, ежегодно проводится УЗИ щитовидной железы. С 18 лет ежегодно необходимо проведение общего анализа мочи и, возможно, УЗИ почек, а также осмотр дерматологом на предмет наличия меланомы. С 30-35 лет проводят ежегодную МРТ и маммографию, а также УЗИ исследование органов малого таза и гинекологическое обследование [Syngal et al., 2015]. В настоящее время существуют различные ингибиторы молекул сигнального каскада PIK3CA-AKT-mTOR, подавляемого в норме PTEN. Возможно, применение каких-либо из них окажется оправданным для лечения ассоциированных с мутациями в гене PTEN новообразований [Squarize et al., 2008]

Интересно, что удивительная гетерогенность и вариабельность проявлений синдрома не находит сильной корреляции с генотипом пациентов. Среди широкого спектра мутаций имеются повторяющиеся повреждения, p.R130X, p.R233X и p.R335X [Tan et al., 2012].

1.4.6.4 Наследственный смешанный полипоз толстой кишки

В 1997 году было сделано первое описание семьи евреев-ашкенази с необычным типом полипоза и возникающим на его фоне колоректальным раком. Наблюдались аденоматозные, ворсинчатые, плоские, гиперпластические, а также атипичные полипы, которые одновременно содержали области, морфологически сходные с аденоматозными, гиперпластическими и ювенильными полипами [Whitelaw et al., 1997]. Заболевание получило название наследственный смешанный полипоз толстой кишки. Позднее были выявлены другие такие семьи, подавляющее большинство или все из них относились к той же этнической группе. В 2010 году была описана ирландская семья со сходным фенотипом, у больных была выявлена мутация в гене BMPR1A. Хотя у больных наблюдались разнообразные по морфологии полипы, указаний на наличие атипичных ювенильных повреждений не было [O'Riordan et al., 2010]. Вопрос о том, правомерно ли считать эту семью и ей подобные случаями «истинного» смешанного полипоза, и что разграничивает типичный ювенильный полип с дисплазией эпителиальной выстилки от атипичного – дискуссионный. Недавно, в 2012 году, в нескольких ашкеназских семьях с «классической» картиной смешанного полипоза было выявлено необычное генетическое повреждение: дупликация крупного участка ДНК неподалеку от промотора гена GREM1. Оказалось, что этот участок содержит энхансерные элементы, и его дупликация приводит к эктопической гиперэкспрессии GREM1 в эпителии толстой кишки.

Функция GREM1 неочевидна, возможно, этот ген участвует в неканоническом пути сигнала в рамках сигнального каскада фактора роста BMP семейства TGF β и снижает экспрессию гена PTEN [Jaeger et al., 2012]. В дальнейшем был выявлен еще один такой пациент с выраженной семейной историей РТК, подпадающий под Амстердамские критерии, но без каких-либо указаний на наличие полипов у него или его родственников [Laitman et al., 2015].

Так как известны лишь единичные случаи заболевания, то важнейшие вопросы величины онкологического риска, спектра ассоциированных заболеваний, молекулярного патогенеза и многие другие остаются пока нерешенными. Судя по всему, однако, заболевание встречается лишь у носителей необычного “founder”-повреждения, в основном или исключительно – евреев-ашкенази.

1.5 Заключение

Рак толстой кишки – актуальная проблема современной онкологии. Для борьбы с заболеванием необходимо устранение факторов, способствующих его развитию, проведение профилактического скрининга в группах риска и, наконец, патогенетически обоснованная эффективная терапия. Наследственный рак толстой кишки – гетерогенная группа болезней, составляющая в совокупности малую долю РТК, однако разнообразные наследственные формы рака требуют особого подхода к скринингу и лечению. Выявление наследственного рака – сложная задача, для решения которой имеется ряд распространенных подходов, направленных на каждую форму в отдельности. Главным образом, можно разделить такие подходы на те, которые используют особенности молекулярного патогенеза синдрома, и те, что инкорпорируют в алгоритм молекулярно-генетической диагностики сведения о спектре и структуре причинно-значимых мутаций в популяции пробанда. В настоящей работе мы избрали в качестве предмета изучения три наиболее частых формы наследственного рака толстой кишки: синдром Линча, семейный аденоматозный полипоз и MUTYH-ассоциированный полипоз. Эпидемиология всех трех заболеваний плохо изучена в России. При этом MUTYH-ассоциированный полипоз оказался во многом за рамками внимания и западных исследователей: потенциально весьма ценный молекулярный критерий отбора больных на диагностику (наличие соматических мутаций p.G12C в гене KRAS) был апробирован всего в 2 работах на сериях больных.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 План работы и общее описание дизайна исследования

Данное диссертационное исследование направлено на оптимизацию алгоритма молекулярно-генетической диагностики трех наиболее значимых форм наследственного РТК в российской популяции за счет выявления повторяющихся наследственных повреждений, характерных для нашей страны. Исследование выполнялось на базе лаборатории молекулярной онкологии НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова.

I. В рамках исследования синдрома Линча планировалось:

- 1) осуществить поиск мутаций в кодирующей последовательности генов MLH1, MSH2, MSH6 в группе пациентов с клиническими (семейный анамнез, раннее начало заболевания, первично-множественные опухоли) и молекулярными (микросателлитная нестабильность) признаками синдрома Линча;
- 2) при выявлении новых характерных для российской популяции повторяющихся мутаций определить их частоту в независимой выборке MSI-H опухолей;
- 3) установить на выборке MSI-H опухолей частоту мутаций, характерных для евреев-ашкенази (р.А636Р в гене MSH2), для польской (р.А681Т в гене MLH1, с.942+3А>Т) и финской (делеция 16 экзона гена MLH1) популяций.

II. В рамках исследования семейного аденоматозного полипоза планировалось:

- 1) осуществить поиск мутаций в кодирующей последовательности гена APC в группе больных, страдающих полипозом толстой кишки;
- 2) определить частоту перестроек, затрагивающих ген APC, с помощью метода MLPA.

III. В рамках исследования MUTYH-ассоциированного полипоза толстой кишки планировалось:

- 1) осуществить поиск мутаций во всей кодирующей последовательности гена MUTYH в группе больных полипозом толстой кишки, у которых не было выявлено патогенных мутаций в гене APC;
- 2) осуществить поиск европейских повторяющихся мутаций (р.Y179C и р.G396D) в группе больных РТК с соматической мутацией р.G12C в гене KRAS;
- 3) провести анализ кодирующей последовательности гена MUTYH в образцах, полученных от гетерозиготных носителей повторяющихся мутаций;
- 4) осуществить поиск всех выявленных нами мутаций в гене MUTYH, помимо р.Y179C и р.G396D, в группе больных РТК с соматической мутацией р.G12C в гене KRAS;
- 5) определить частоту всех выявленных нами повторяющихся мутаций на выборке «последовательных» случаев рака толстой кишки;

б) определить частоту всех выявленных нами повторяющихся мутаций на крупной выборке здоровых контролей.

2.2 Материалы

2.2.1 Синдром Линча

В первую часть исследования молекулярной эпидемиологии синдрома Линча вошли 4 больных, проходивших лечение в ФГБУ НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова в 2012-2016 годах, с выраженными клиническими признаками наследственного рака: ранний возраст на момент диагноза, семейная история ассоциированных с синдромом опухолей, первично-множественные опухоли. В ходе рутинного исследования в опухолях этих больных была выявлена микросателлитная нестабильность. Клинические характеристики больных сведены в таблицу 5. ДНК была выделена из крови пациентов.

Таблица 5. Клинические характеристики больных с подозрением на синдром Линча

№	Возраст	Пол	Диагноз	Семейный анамнез
Fu 4279	47	М	Рак слепой кишки	Сестра – РТК (28 лет), Отец – РТК (51 лет), Дед (о) – РТК (60 лет) <i>Подпадает под Амстердамские критерии</i>
Fu 3818	14	М	Рак толстой кишки, мультиформная глиобластома	Неизвестен.
Fu 4554	53	Ж	Рак толстой кишки	Сестра – рак яичников (45 лет), отец – РТК (50 лет), Дядя (о) – РТК (40 лет), Племянник (о, д) – РТК (40 лет), Тетя (о) – РТК (30 лет), Племянник (о, т) – РТК (51 год), бабушка (о) – РТК, рак молочной железы, рак яичников (умерла в 50 лет) <i>Подпадает под Амстердамские критерии</i>
Fu 7460	29	М	Рак печеночного изгиба ободочной кишки	Отец – РТК (65 лет), дядя (м) – рак гортани, дед (м) – рак желудка

Во вторую фазу исследования молекулярной эпидемиологии синдрома Линча вошли 42 образца MSI-H новообразований, направленных в лабораторию молекулярной онкологии НИИ онкологии им Н.Н. Петрова с целью рутинной диагностики феномена микросателлитной нестабильности за период 2006-2014 гг. Из этой когорты 36 новообразований являлись РТК, 1 – раком тонкой кишки, 5 – РТМ. Средний возраст больных составил 47 (19-73) лет. Среди больных РТК мужчины составляли 23/37 (62%) когорты, женщины – 14/37 (38%). ДНК для молекулярно-генетического исследования была выделена из фиксированных формалином и залитых в парафин блоков опухолевого материала. Также, в дополнение к опухолевому

материалу, от нескольких больных на исследование поступила венозная кровь – как вне связи с данной работой, так и по нашему запросу в связи с выявлением мутаций в опухолевом материале. В исследование вошло 2 таких образца ДНК.

2.2.2 Семейный аденоматозный полипоз.

В исследование вошло 30 пациентов, страдающих полипозом толстой кишки и проходивших лечение в НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова с 2013 по 2016 год. Средний возраст больных составил 38,3 (18-64) года. У 15/30 (50%) наблюдался рак толстой кишки. Первично-множественные образования были выявлены при этом у 3/14 (21%) больных РТК. У одной пациентки в детстве (12 лет) была проведена колопроктэктомия в связи с необычайно выраженным полипозом, а у ее дочери была выявлена десмоидная опухоль брюшной стенки (12 лет). Семейная история полипоза, РТК или ассоциированных новообразований наблюдалась у 9/30 (30%) пациентов. ДНК для исследования была выделена из крови пациентов.

2.2.3 MUTYH-ассоциированный полипоз толстой кишки

В исследование молекулярной эпидемиологии и алгоритмов молекулярно-генетической диагностики МАП входили 3 группы больных. Группа 1 – больные, протестированные в рамках нашего исследования на мутации в гене APC, у которых мутаций в этом гене выявлено не было. В этой группе насчитывалось 10 больных. Средний возраст больных составил 39,3 (23-61) года. РТК наблюдался у 4/10 (40%) больных. Семейная история – у 1 из 10 (10%) пациентов.

В группу 2 вошли больные РТК, чей опухолевый материал был направлен на исследование статуса онкогена KRAS, и у кого была выявлена мутация p.G12C. Несмотря на неполный характер клинической информации о пациентах, можно сказать, что большинство присланных на исследование опухолей – метастатические карциномы, так как предиктивная значимость мутаций в гене KRAS актуальна лишь для IV стадии РТК. Этим больным в рамках рутинной диагностики автором (2008-2015) и его коллегами (2015-2016) проводилось генетическое тестирование на наличие соматических мутаций в данном гене по методикам, опубликованным нами ранее. Общее число образцов с любыми мутациями в гене KRAS составило 1517/3335 (45,4%). Образцы с мутацией p.G12C составили 116/3335 (3,5%) образцов. Из них доступных для анализа было 91/116 (78,1%). Средний возраст больных составил 58,4 года (30-80 лет).

В исследование также вошла группа «последовательных» случаев РТК. В данную группу были включены образцы ДНК от 167 больных РТК, проходивших лечение в НИИ онкологии

им. Н.Н. Петрова в период 2005-2006 года. Характеристики этой когорты больных были опубликованы нами ранее, однако часть образцов с того времени стала недоступна для молекулярно-генетического исследования в силу малого количества ДНК и была исключена из исследования (28/195, 14%). Средний возраст больных в оставшейся части когорты составил 63,4 года. Женщины составили 91/167 (54%) этой группы. В когорте насчитывалось 18/167 (10,8%) случаев правосторонних раков.

Кроме того, в исследование вошли 1120 образцов ДНК здоровых доноров, имевшихся в распоряжении лаборатории молекулярной онкологии НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова.

2.3. Методы

2.3.1. Выделение ДНК

Выделение ДНК из парафиновых срезов и лимфоцитов периферической крови проводилось по протоколам, рутинно используемым в лаборатории молекулярной онкологии НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова.

Выделение геномной ДНК из парафиновых срезов проводилось с использованием протеиназы К (FERMENTAS). Срезы опухолевой ткани депарафинизировались в ксилоле на протяжении 5 минут. Затем образцы промывались последовательно 96% и 70% этанолом по 2 минуты. После удаления этанола к тканям добавлялся лизирующий буфер (10 ммоль Tris-HCl (pH=8.0), 0.1 ммоль ЭДТА; pH=8.0, 2% натрия додецилсульфат) и протеиназа К (20мг/мл). Инкубация образцов проводилась при $t=60^{\circ}\text{C}$ в течение 16-24 часов до полного лизиса тканей. Далее проводилась фенол-хлороформная экстракция. К лизату добавлялся однократный объем нейтрального фенола и 0,3 объема смеси хлороформ-изоамиловый спирт (24:1). После интенсивного встряхивания пробирки в течение 10 минут пробы центрифугировались при 15000g в течение 20 минут. Затем надосадочная жидкость (супернатант) отбиралась в чистые пробирки, в которые добавляли 0,1 объема 3М ацетата Na (pH=4.0), 0,3 объема хлороформа. После интенсивного встряхивания образцы центрифугировались при 15000g в течение 20 минут. Супернатант отбирался в чистые эппендорфы. К пробам добавлялся раствор гликогена (20 мг/мл) и 1 объем холодного изопропанола. Пробы оставались не менее чем на 3 часа при -20°C . Затем пробирки центрифугировались при 15000g в течение 30 минут. Изопропанол удалялся, а полученный осадок однократно промывался в 70% этаноле в течение 10 минут. После удаления этанола осадок подсушивался в термостате при 40°C , а затем растворялся в 30 мкл стерильной воды при 65°C в течение 10 минут. Раствор ДНК хранился при -20°C до использования в ПЦР.

Выделение ДНК из лейкоцитов периферической крови проводили посредством модифицированного соль-хлороформного метода (Mullenbach et al., 1989). Кровь собирали в пробирки, содержащие 0,5 М раствор ЭДТА. Гипоосмотический лизис эритроцитов достигался посредством 3-кратного разведения 5 мл крови дистиллированной водой, охлажденной до 44° С. Затем лейкоциты осаждали центрифугированием. Полученный осадок ресуспендировали в 1 мл раствора Трис-НС1 (рН = 8,3), 1 мМ ЭДТА. Для разрушения цитоплазматических мембран клеток добавляли Тритон X - 100 до конечной концентрации 1%. Ядра осаждали центрифугированием. Осадок вновь ресуспендировали в 1 мл Трис - НС1 (рН = 8,3) и лизировали посредством добавления лаурилсульфата натрия до конечной концентрации 1%. Протеолиз белков и деградация комплексов «белок-ДНК» осуществлялись посредством инкубации пробы в присутствии протеиназы К (200 мкг/мл) при 60° С в течение 12 часов. Затем к лизату добавляли раствор хлорида натрия до конечной концентрации 1,5 М и равный объем хлороформа. Экстракцию проводили в течение 30 минут при медленном покачивании с целью удаления из раствора ДНК нерастворимых компонентов клеточного лизата: белков и липидов. При необходимости процедура повторялась дважды. Последующее центрифугирование приводило к образованию в пробирке трех фаз. Верхняя водная фаза содержала растворенную ДНК и неорганические соли, промежуточная - белки и нижняя, хлороформная, - гидрофобные компоненты. Для осаждения ДНК к осторожно отобранному супернатанту добавляли два объема абсолютного этанола и оставляли на 20 минут при температуре - 20 °С. Осадок затем собирали центрифугированием в течение 5 минут при 12000 g. Отмывание осадка от солей производили в 1 мл 70% этанола и затем, после центрифугирования, растворяли в 0,5 мл 200 мМ раствора ТрисЭДТА (рН = 7,6). Раствор ДНК хранился при -20°С до использования в ПЦР и/или MLPA.

2.3.2. Детекция микросателлитной нестабильности

Феномен MSI детектировался с использованием квазимономорфного мононуклеотидного маркера BAT26. Последовательность праймеров, использованных для амплификации фрагмента гена MSH2, содержащего данный микросателлитный повтор:

BAT26-F-5'-TGACTACTTTTGACTTCAGCC-3';

BAT26-R-AACCATTCAACATTTTAAACCC-3'.

ПЦР проводилась в конечном объеме 20 мкл. Каждая реакция содержала 1 мкл раствора ДНК, 0,5 ед. ДНК-полимеразы, 1X ПЦР-буфер (рН 8.3), 2,5 мМ MgCl₂, 200 мкМ каждого из

четырёх нуклеотидтрифосфатов, 0,3 мкМ прямого и обратного праймеров. Использовались следующие условия реакции: стартовая активация Taq-полимеразы при 95⁰С – 10 минут; 45 циклов амплификации (денатурация: 15 сек при 95⁰С; отжиг: 30 сек при 60⁰С; элонгация 30 сек при 72⁰С). Размер полученного продукта – 226 пар нуклеотидов. Полученный продукт разделяли методом электрофореза в 10% полиакриламидном геле. В качестве буфера для электрофоретического разделения использовался 1xТрис-боратный ЭДТА буфер (ТВЕ). Чтобы предотвратить всплывание проб при нанесении на гель, в них добавляли по 3-5 мкл наслаивающего буфера. Разделение фрагментов осуществлялось в электрофоретических камерах размером 20x15 см, при силе тока 120 мА. Гели окрашивали раствором бромистого этидия (0,5 мкг/мл) в течение 7-10 минут, а затем промывали гели в 1x ТВЕ буфере в течение 15-20 минут. В результате этой процедуры фрагменты ДНК в геле становились видимыми в ультрафиолетовом свете ($\lambda = 300$ нм). Для просмотра в ультрафиолетовом свете и фотографирования использовался трансиллюминатор (Vilber Lourmat, France). Позитивным считался образец, демонстрирующий изменение длины микросателлитной последовательности.

2.3.3 Детекция мутаций в генах MLH1, MSH2, MSH6

Детекция мутаций в генах MLH1, MSH2, MSH6 проводилась при помощи высокоточного анализа кинетики плавления продуктов амплификации. ПЦР проводилась в конечном объеме 20 мкл. Каждая реакция содержала 1 мкл раствора ДНК, 0,5 ед. ДНК-полимеразы, 1X ПЦР-буфер (pH 8,3), 2,5 mM MgCl₂, 200 мкМ каждого из четырех нуклеотидтрифосфатов, 0,3 мкМ прямого и обратного праймеров, 1X краситель Eva Green. Использовались следующие условия реакции: стартовая 10-минутная активация Taq-полимеразы при 95⁰С; 45 циклов амплификации (денатурация: 15 сек при 95⁰С; отжиг: 30 сек при 60⁰С; элонгация 30 сек при 72⁰С). Продукт ПЦР подвергался высокоточному анализу кинетики плавления. Оценка формы кривой плавления проводилась при помощи программного обеспечения (Precision Melting Analysis) прибора CFX96 (Bio-Rad, USA).. Используемые праймеры приведены в таблице 6. Продукты, показавшие аномальный характер плавления, подвергались секвенированию.

Секвенирование проводилось с помощью набора GenomeLab DTCS Quick Start Kit (Beckman Coulter, USA) согласно рекомендациям производителя. Продукт реакции секвенирования после преципитации этанолом разбавлялся в 40 мл SLS (Sample Loading Solution, Beckman Coulter, USA) и подвергался капиллярному электрофорезу в системе генетического анализа CEQ 8000 (Beckman Coulter, USA).

Детекция внутригенных хромосомных перестроек в генах MLH1 и MSH2 проводилась при помощи MLPA. Использовался коммерческий набор P003 лот C1-0114 (MRC-Holland, Нидерланды), направленный на детекцию подобных aberrаций. Проведение MLPA осуществлялось по протоколам производителя.

Детекция мутации p.R226L в гене MSH2 осуществлялась при помощи аллель-дискриминирующего теста, основанного на применении зонда TaqMan. Последовательности праймеров и зондов:

MLH1ex8_2F AACCGTGGACTATATTCGCT

MLH1ex8_2R ATGTGATGGAATGATAAACCAA

MLH1R226R FAM-ATCGACATACCGACTAACAGCATTT-BHQ

MLH1R226L HEX-ATCGACATACCGAATAACAGCATTT-BHQ

ПЦР проводилась в конечном объеме 20 мкл. Каждая реакция содержала 1 мкл раствора ДНК, 0,5 ед. ДНК-полимеразы, 1X ПЦР-буфер (pH 8,3), 2,5 mM MgCl₂, 200 мкМ каждого из четырех нуклеотидтрифосфатов, 0,3 мкМ прямого и обратного праймеров, гибридизационного зонда к аллелю дикого типа и мутантному аллелю. ПЦР проводилась с помощью прибора CFX96 (Bio-Rad, USA). Выявление мутаций осуществлялось путем сравнения уровня нарастания флюоресценции при проведении амплификации в реальном времени, отраженного в кривых флюоресценции, соответствующих амплификации аллеля дикого типа и мутантного аллеля.

Детекция «финской» мутации - делеции 16 экзона гена MLH1 проводилась методом аллель-специфической ПЦР. Праймеры и условия реакции взяты из финской работы [Nystrom-Lahti et al., 1995].

Выявление мутации p.A681T в гене MLH1, с.942+3A>T и p.A636P в гене MSH2 проводилось путем высокоточного анализа кинетики плавления продуктов амплификации соответствующих участков 18 экзона гена MLH1, сплайс-сайта 5 интрона и 12 экзона гена MSH2 с использованием праймеров, указанных выше. Образцы, показавшие отклонения в кривых плавления, подвергались секвенированию.

2.3.4 Детекция мутаций в гене APC

Детекция мутаций в гене APC проводилась при помощи высокоточного анализа кинетики плавления продуктов амплификации. Условия ПЦР не отличались от указанных для амплификации фрагментов генов MLH1, MSH2, MSH6. Используемые праймеры приведены в таблице 7. Продукты, показавшие аномальный характер плавления, подвергались секвенированию.

Детекция хромосомных перестроек, затрагивающих ген APC проводилась при помощи MLPA. Использовался коммерческий набор P043 лот D1-0513 (MRC-Holland, Нидерланды), направленный на детекцию подобных aberrаций. Проведение MLPA осуществлялось по протоколам производителя.

2.3.5 Детекция мутаций в гене MUTYH

Детекция мутаций в гене MUTYH проводилась при помощи высокоточного анализа кинетики плавления продуктов амплификации. Условия ПЦР не отличались от указанных для амплификации фрагментов генов MLH1, MSH2, MSH6. Используемые праймеры приведены в таблице 8. Продукты, показавшие аномальный характер плавления, подвергались секвенированию. Экзоны 3, 4, 7, 10, 13 подверглись прямому секвенированию. Амплификация проводилась с использованием красителя SYBR Green.

Детекция мутаций p.L111P, p.Y179C, p.P295L и p.Q416X осуществлялась путем аллель-специфической ПЦР. Последовательности праймеров указаны в таблице 9. ПЦР проводилась в конечном объеме 20 мкл. Каждая реакция содержала 1 мкл раствора ДНК, 0,5 ед. ДНК-полимеразы, 1X ПЦР-буфер (pH 8,3), 1,5 mM MgCl₂, 200 мкМ каждого из четырех нуклеотидтрифосфатов, 0,3 мкМ прямого и обратного праймеров, 0,2X краситель SYBR Green. Использовались следующие условия реакции: стартовая 10-минутная активация Taq-полимеразы при 95⁰C; 45 циклов амплификации (денатурация: 15 сек при 95⁰C; отжиг: 30 сек при 60⁰C; элонгация 30 сек при 72⁰C). Аллель-специфическая ПЦР проводилась с помощью прибора CFX96 (Bio-Rad, USA). Выявление мутаций осуществлялось путем сравнения пороговых циклов нарастания флюоресценции при проведении амплификации в реальном времени аллеля дикого типа и мутантных аллелей.

Мутация Q293X детектировалась путем проведения высокоточного анализа кинетики плавления продуктов амплификации экзона 10 и секвенирования аномальных по плавлению продуктов.

Детекция мутаций p.R245H и p.G396D осуществлялась при помощи аллель-дискриминирующего теста, основанного на применении зонда TaqMan, аналогичного описанному выше – для детекции мутации p.R226L в гене MLH1. Последовательности праймеров и зондов приведены в таблице 10.

2.3.6 Статистический анализ данных

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программного обеспечения SPSS. Различия считались значимыми при $p < 0.05$. Двухсторонний непараметрический тест Манна-Уитни (Mann-Whitney U test) использовался для сравнения возраста в разных группах. Сравнение частот различных аллелей, гендерного состава в разных группах проводилось при помощи критерия Фишера.

Таблица 6. Праймеры для детекции мутаций в генах MLH1, MSH2, MSH6

MLH1ex1-F	CTTCCGTTGAGCATCTAGAC
MLH1ex1-R	CCCGGCTCGACTCCCTC
MLH1ex2-F	CATTAGAGTAGTTGCAGACTG
MLH1ex2-R	CCATGAAGCGCACAAACATC
MLH1ex3-F	CTCATCTTTTTGGTATCTAACAG
MLH1ex3-R	TTTACACATTTCTTGAATCTTTAG
MLH1ex4-F	GGTGAGGTGACAGTGGGTG
MLH1ex4-R	TATGAGTAAAAGAAGTCAGCAC
MLH1ex5-F	TCTCTCTACTGGATATTAATTTG
MLH1ex5-R	TCTCCCATGTACCATTCTTAC
MLH1ex6-F	GCTTTTGCCAGGACATCTTG
MLH1ex6-R	CAAACTCTCAGAGACCCACTC
MLH1ex7-F	GCTCTGACATCTAGTGTGTG
MLH1ex7-R	CCCATAAACCAAGAACTTAC
MLH1ex8-1-F	CAGCCATGAGACAATAAATCC
MLH1ex8-1-R	CATACCGACTAACAGCATTTC
MLH1ex8-2-F	CAATGCCTCAACCGTGGAC
MLH1ex8-2-R	ACACATAATATCTTGAAAGGTTT
MLHex9-F	CTGATTCTTTTGTAATGTTTGAG
MLH1ex9-R	TTCCCATGTGGTTCTTTTTAAC
MLH1ex10-F	CCCCTCAGGACAGTTTTGAA
MLH1ex10-R	AGGAGTTTGGTGCTACATTAC
MLH1ex11-F	CACTATCTAAGGTAATTTGTTCTC
MLH1ex11-R	CAAAGGCCCCAGAGAAGTAG
MLH1ex12-2-F	GACTTGCTGGCCCTCTG
MLH1ex12-2-R	GAAATGCATCAAGCTTCTGTTC
MLH1ex12-3-F	CCAGATGGTTCGTACAGATTTC
MLH1ex12-3-R	AGTTCAAGCATCTCCTCATCT
MLH1ex12-4-F	CTAGGCAGCAAGATGAGGAG
MLH1ex12-4-R	CTGGGGTTGCTGGAAGTAG
MLH1ex12-5-F	TGGAGGGGGATACAACAAG
MLH1ex12-5-R	AGTCAGGCAGAGAGAAGATG
MLH1ex13-F	GATCTGCACTTCTTTTCTTC
MLH1ex13-R	GCAGGCCACAGCGTTTAC
MLH1ex14-F	GTAGGATTTCTATTACTTACCTG
MLH1ex14-R	GTAGCTCTGCTTGTTACAC
MLH1ex15-F	CCCAACTGGTTGTATCTCAAG
MLH1ex15-R	CAAATAAGATATTAGTGGAGAGC
MLH1ex16-2-F	AGAGGAAGATGGTCCCAAAG
MLH1ex16-2-R	GTATAAGAATGGCTGTCACAC
MLH1ex17-F	CATTATTTCTTGTCCCTTGTC
MLH1ex17-R	ACCGAAATGCTTAGTATCTGC
MLH1ex18-F	GAGGTATTGAATTTCTTTGGAC
MLH1ex18-R	TGCATCACCCTGTACCTG
MLH1ex19-F	CAAACAGGGAGGCTTATGAC
MLH1ex19-R	CCCACAGTGCATAAATAACCA
MSH2ex1-1-F	GCGCATTTTCTTCAACCAGGA
MSH2ex1-1-R	GTCGAAAAGGCGCACTGTG
MSH2ex1-2-F	GCTTCGTGCGCTTCTTTTACAG
MSH2ex1-2-R	TCCCCAGCACGCGCCGT
MSH2ex2-1-F	GTAATATCTCAAATCTGTAATG
MSH2ex2-1-R	GCTCTATTCTTATAAACTTCAAC
MSH2ex2-2-F	GATCTTCTTCTGGTTTCGTC
MSH2ex2-2-R	GGGGGTAAATTAATAAGGAAGA

MSH2ex3-1-F	GGGGGAGTATGTTCAAGAGT
MSH2ex3-1-R	GACATTTTAACACCCACAACAC
MSH2ex3-2-F	AACAATGATATGTCAGCTTCCA
MSH2ex3-2R	TATCAGGGAATTCACACAGTC
MSH2ex3-3-F	GTTGGAGTTGGGTATGTGGA
MSH2ex3-3-R	CAATTTGCTTACCTGTCTCAG
MSH2ex4-F	TCTTATTCCTTTTCTCATAGTAG
MSH2ex4-R	TGTAATTCACATTTATAATCCATG
MSH2ex5-1-F	ATCCAGTGGTATAGAAATCTTC
MSH2ex5-1-R	GACTGCTGCAATATCCAATTC
MSH2ex6-F	TTTGTTTACTAGGGTCTGTGG
MSH2ex6-R	CATAAACTAACGAAAGTATAAAC
MSH2ex7-1-F	GGGGCAAGTTAATTTATTTTCAG
MSH2ex7-1-R	AGTCGGTAACAATCTTGTAAGT
MSH2ex7-2-F	CCCAGATCTTAACCGACTTG
MSH2ex7-2-R	AGTATATATTGTATGAGTTGAAG
MSH2ex8-F	GGGGGAGATCTTTTATTTGT
MSH2ex8-R	TATTGCATACCTGATCCATATC
MSH2ex9-F	TTGTCACTTTGTCTGTTTGC
MSH2ex9-R	TATCCAACCTCCAATGACC
MSH2ex10-1-F	AATGGTAGTAGGTATTTATGGAA
MSH2ex10-1-R	CCTTACAGGTTACACGAAAGT
MSH2ex10-2-F	GCACAGTTTGGATATFACTTTC
MSH2ex10-2-R	ATCATGTTAGAGCATTTAGGGA
MSH2ex11-F	GTACACATTGCTTCTAGTACA
MSH2ex11-R	CAGGTGACATTCAGAACATTA
MSH2ex12-1-F	GTATTCCTGTGTACATTTTCTG
MSH2ex12-1-R	TTCTTCCTTGTCCTTTCTCCA
MSH2ex12-2-F	ACGTGTCAAATGGAGCACCT
MSH2ex12-2-R	CCCACAAAGCCCAAAAACCA
MSH2ex13-1-F	CATCAGTGTACAGTTTAGGAC
MSH2ex13-1-R	CAGTCCACAATGGACACTTC
MSH2ex13-2-F	GTGCCATGTGAGTCAGCAG
MSH2ex13-2-R	CTCACAGGACAGAGACATAC
MSH2ex14-1-F	TATGTGATGGGAAATTTTCATGTA
MSH2ex14-1R	TGTTGCAATGTATTCTGATATAG
MSH2ex14-2-F	TTTGGGTTAGCATGGGCTATA
MSH2ex14-2-R	GTGCTGTGACATGTAGATTATTA
MSH2ex14-3-F	TGCCTTGGCCAATCAGATAC
MSH2ex14-3-R	CCAAGTTCTGAATTTAGAGTAC
MSH2ex15-1-F	GCTGTCTCTTCTCATGCTGT
MSH2ex15-1-R	TCTCTTTCCAGATAGCACTTC
MSH2ex15-2-F	CCCTAAGCATGTAATAGAGTG
MSH2ex15-2-R	AACCTTCATCTTAGTGTCTCTG
MSH2ex16-1-F	GGGACATTCACATGTGTTTCA
MSH2ex16-1-R	CATTCCATTACTGGGATTTTTC
MSH2ex16-2-F	CCTTTACTGAAATGTCAGAAGAA
MSH2ex16-2-R	ACTGACAGTTAACACTATGGAA
MSH6ex1_1F	ACAGAACGGTTGGGCCTTG
MSH6ex1_1R	GCCCTCCGTTGAGGTTCTT
MSH6ex1_2F	GCGCTGAGTGATGCCAACAA
MSH6ex1_2R	TATGCCCCCGCCTTCGAC
MSH6ex2_1F	CTGCCTTTAAGGAAACTTGAC
MSH6ex2_1R	TCCCTTTCTCGCGGATGAAT
MSH6ex2_2F	GGCCAAGATGGAGGGTTAC
MSH6ex2_2R	CACACACATGGCAGTAGT
MSH6ex3_1F	TCTGCACCCGGCCCTTAT
MSH6ex3_1R	CTGAGGGCTCATCACAACT
MSH6ex3_2F	GCAATGCAACGTGCAGATGAA
MSH6ex3_2R	CAACTGAATGCTTGCCGTGT
MSH6ex4_1F	AAACAGTGGCTGCACGGGTA
MSH6ex4_1R	GATCCTTGTGTCTTAGGCTGTA
MSH6ex4_2F	TGAAATTGAGAGTGAAGAGGAA
MSH6ex4_2R	CTTTGACAGGGCTGTTCAGG
MSH6ex4_3F	GTGATGAAATAAGCAGTGGAGT
MSH6ex4_3R	GGGCAGAGAAAGCTCTCAA

MSH6ex4_4F	GCCCTCAGCCACCAAACAA
MSH6ex4_4R	TCCTCCTGTGCTCATCTCTT
MSH6ex4_4Ralter	CCTCAGGCACATAGAGTGTA
MSH6ex4_5F	AACITTTAGAATGGCTTAAGGAG
MSH6ex4_5R	ACCTTGTAACAGATGACAAGAT
MSH6ex4-6F	GGAAGTGGTGGCAGATTAAGT
MSH6ex4_6R	CACCAGGGAATCTGAATAACG
MSH6ex4_7F	GCTTTCCCTGAAATTGCATTTGG
MSH6ex4-7R	CTGTAAGTCTGTGTACCCTTG
MSH6ex4_8F	GGTGAGGAGGGAGATCTGTA
MSH6ex4_8R	GAGTCCTAAATCTCGAACAATG
MSH6ex4_9F	CATAGGTCAGTTTTTCAGATGAT
MSH6ex4_9R	ATATTCTTCCCTCAAGGAGAGTT
MSH6ex4_10F	GGCTCCCAGTTTTGGGATG
MSH6ex4_10R	GTAGAAGACACAACCACCTAGA
MSH6ex4-11F	CAGGAGAGAAAAGTGAATTGG
MSH6ex4_11R	AGTTGTTTTAATGTCACTGCATC
MSH6ex4-12F	ATTCCCTTGGATTCTGACACA
MSH6ex4-12R	ACAGAGTGGGGCACAAAGC
MSH6ex4_13F	GTAAGCGGCTCCTAAAGCAAT
MSH6ex4_13R	CTGTCTGGGTGGTTCTGACT
MS6ex4_14F	CCAGATCTTGAGAGGCTACT
MSH6ex4_14R	CAGCAACTTCTTCCATGATCC
MSH6ex4_15F	TCTGGAAGGATTCAAAGTAATG
MSH6ex4_15R	GAGTAATAAGTCCAGTCTTTTCG
MSH6ex4_16F	GATGGGATACAGCCTTTGAC
MSH6ex4_16R	CTGGTAACGGTTCCTACCAAT
MSH6ex4_17F	CGCAACAGAATTGGCTGTAG
MSH6ex4_17R	GATACATCCCTCCGTTCTTCA
MSH6ex4_18F	GGGCTGTAAACGATACTGGA
MSH6ex4-18R	CAGCACTACTTATCAAAGCCT
MSH6ex5_1F	GAAGCCTCACTTTTACCCTCT
MSH6ex5_1R	CCTCTTCCCTCACAGCCTATTA
MSH6ex5_2F	CGCCATCCTTGCATTACGAA
MSH6ex5_2R	CTCATAAGCGTAGACTTGCC
MSH6ex5_3F	GCTTGTTACTGGACCAAATATG
MSH6ex5_3R	GGAGTAATTTCCCTTTGCTTC
MSH6ex6_1F	CTGTTACTACCAGTCATAAAAG
MSH6ex6_1R	ATTCTGTCTGAGGCACCAAG
MSH6ex6_2F	CTGGCTTATTAGCTGTAATGG
MSH6ex6_2R	GAATGAGAACTTAAGTGGGAAA
MSH6ex7_1F	CCAATATGTGTAGCTCATGATAG
MSH6ex7_1R	CATCCACAAGCACCAGAGAAT
MSH6ex7_2F	TGAAACTGCCAGCATACTCAT
MSH6ex7_2R	CCAACTATCGGTCTGTGCCA
MSH6ex8_1F	TGGATGTACTAACCGATGTTG
MSH6ex8_1R	CTTCTACTAATGAATGGTAGTGA
MSH6ex8_2shortF	GACGGCAATAGCAAATGCAG
MSH6ex8_2shortR	GCGATACATGTGCTAGCAAGA
MSH2ex9_1shortF	TCTCTTGCTAGCACATGTATC
MSH6ex8_2/9uniR	CCCTTAATGAATTTATAGAGGAAC
MSH6ex9_2F	GGTAGAAAATGAATGTGAAGAC
MSH6ex9_2R	CCCTTTTGAATAACTTCTCTG
MSH6ex9_3F	GCTATGGCTTTAATGCAGCAA
MSH6ex9_3R	GAAATAATCGTAGTGACTGATTC
MSH6ex9_4/ex10F	AAGGGACATAGAAAAGCAAGAG
MSH6ex9_4/ex10uniR-m13	AGCGGATAACAATTTACACAGGGCTTCAGCATCTACAGTTGAC
MSH6ex9_4F	CAAGGCTTGCTAATCTCCCA
MSH6ex9_4R	CATAGTGCATCATCCCTTCC
MSH6ex10_1F	GGGAAGGGATGATGCACTAT
MSH6ex10_2F	GTTTGCCTGGCTAGTGAAAG
MSH6ex10_2R	ATGTTGTCTGAATTTACCACCT

Таблица 7 Праймеры для детекции мутаций в гене APC

APCex2F	CCTTATAGGTCCAAGGGTAG
---------	----------------------

APCex2R	GTGCTTACCTCAAGTTTACAA
APCex3F	GTCAAGAAATACAGAATCATGTC
APCex3R	CTTGGATCTACACACCTAAAG
APCex4_1F	CCCTGACCCAAGTGGACTTT
APCex4_1R	GACCGCAGTTTTACTCCAGG
APCex4_2F	GAGCTTAACTTAGATAGCAGTA
APCex4_2R	CTAAATATCCAGTACTTTCTCTG
APCex4_3F	TGGGTTTCATTTCCAAGAAGAG
APCex4_3R	GCTATCACCTACTATAAAATTCAC
APCex5F	CTGATGTAAGTATTGCTCTTCT
APCex5R	TCAAATAAGTTGTACTGCCAAG
APCex6_1F	TTCATGCACCATGACTGAC
APCex6_1R	GTACCTAGTTGTTCTTCCATC
APCex6_2F	CAAACAGATATGACCAGAAGG
APCex6_2R	CTTCGCTGTTTTATCACTTAGA
APCex7_1F	GAGAATGATTTGACATAACCCT
APCex7_1R	CCTCTGCTTCTGTTGCTTG
APCex7_2F	GAAGAATAGCCAGAATTCAGCA
APCex7_2R	ACATCTATATTTCAATGGTGTCA
APCex8F	TGGGCTAAGAAAGCCTACAC
APCex8R	CTTAGAACCATCTTGCTTCATA
APCex9_1F	TACAGACACTTCATTTGGAGTA
APCex9_1R	GTCATGGCATTAGTGACCAG
APCex10_1F	GAGTTATAGTAAATATCCCATTCA
APCex10_1R	CTGTCTTGGGAGCTAGACATA
APCex10_2F	GCCACAGGTGGAAATGGT
APCex10_2R	GCTGGATGAGGAGAGGAAGA
APCex10_3F	GCGAACTTTGCTAGCTATGTC
APCex10_3R	GCCTGCCTCTCTTGTCATC
APCex10_4F	CCACAACATCATTCACTCACA
APCex10_4R	GCTTTGAAACATGCACTACGA
APCex11F	CCGTGAATTAGGGTTATATTAGT
APCex11R	CCACCAGTAATTGTCTATGTC
APCex12F	GATGATTGTCTTTTTCTCTTG
APCex12R	CCTGAGCTATCTTAAGAAATAC
APCex13_1F	GGCTCAAGTTGTCTTTTTAATG
APCex13_1R	CTGCTGTAAGTCTTCACTTTC
APCex13_2F	CTACGCTATGCTCTATGAAAG
APCex13_2R	AACCCTGCCTCAAAGAAAAAG
APCex14_1F	CACGGCTAGCCAGAATTTCTT
APCex14_1R	CACACTCCAACCTCTCGCAA
APCex14_2F	GCGAGTGTTTTGAGGAATTTG
APCex14_2R	GAAATCTCATGGCTAAAAGAAG
APCex15_1F	GGGACGGGCAATAGGATAG
APCex15_1R	TGCAAGTGCACCATCTACAG
APCex15_2F	CCCTCAAAGCGTATTGAGTG
APCex15_2R	GTCCCTCATTTGTAGCTATCAAG
APCex15_3F	GAGGTGGGATATTACGGAATG
APCex15_3R	CCTATGGGCTACACCTCTC
APCex16_1F	GTGACCTTAATTTGTGATCTC
APCex16_1R	CATAATGCTTCCTGGTCTTTAG
APCex16_2F	GGAACCTTGTGGAATCTCTCA
APCex16_2R	GGCATCCTTGTACTTCGCAG
APCex16_3F	CTGCAGCTTTAAGGAATCTCAT
APCex16_3R	ACCATAGAGACTTTGCTTGTGT
APCex16_4F	GGCATCTCATCGTAGTAAGCA
APCex16_4R	CGTCTCTCTCCAAACTTCTAT
APCex16_5F	GAAGCTTAGATAGTTCTCGTTC
APCex16_5R	CTGTCTTCTGAGAGGTATGA
APCex16_6F	CAAAGTCATGGAAGAAGTGC
APCex16_6R	GGCATAGAACATGTCCTATTTG
APCex16_6R	GTATTCTAATTTGGCATAAGGC
APCex16_7F	CACTTACAAATTTCACTAAGTCG
APCex16_7R	GGCTGGGTATTGACCATAAC
APCex16_8F	GTGTCAGTAGTAGTGATGGTTA
APCex16_8R	TGAAGGACTTTGCCTTCCAG

APCex16_9F	GGATGATAATGATGGAGAACTA
APCex16_9R	CAGTGCTCTCAGTATAAACAG
APCex16_10F	AACAAAGTGAGCAAAGACAATC
APCex16_10R	CATCTTCTTGACACAAAGACTG
APCex16_11F	GCCAATGGTTCAGAAACAAATC
APCex16_11R	CAATAGGCTGATCCACATGAC
APCex16_12F	CATGAAGAAGAAGAGAGACCAA
APCex16_12R	TAGATGAAGGTGTGGACGTATT
APCex16_13F	CAAAGAGTTCATCTGGACAAAG
APCex16_13R	TCGTCTGATTACATCCTATTTT
APCex16_14F	CATTATCATCTTTGTCATCAGC
APCex16_14R	GATTCTGAAGATAAACTAGAACC
APCex16_15F	CCCTAGAACCAAATCCAGCA
APCex16_15R	GCTGGCAATCGAACGACTC
APCex16_16F	CCACTCATGTTTAGCAGATGTA
APCex16_16R	CGCTTGGTTTGAGCTGTTTG
APCex16_17F	GCAGAAGTAAAACACCTCCAC
APCex16_17R	TCGAGGCTCAGAGCACTCA
APCex16_18F	CACGGAAAGTACTCCAGATG
APCex16_18R	GATTCTTTAGGCTGCTCTGAT
APCex16_19F	AGAATAATGCCTCCAGTTCAG
APCex16_19R	GGAGGTAATTTTGAAGCAGTCT
APCex16_20F	GCCATGCCAACAAAGTCATCA
APCex16_20R	GTTAGATCACTTAGAGATGTAG
APC ex16_21F	CCACGGGTGTATTGTGTTGAA
APCex16_21R	CTTCCTCTGCTTTATTGTCATC
APCex16_22F	ACCTCATCTGTAACCATACCT
APCex16-22R	CACGTGTCCTATATTCAGTATT
APCex16_23F	TTCACCAGTAAAACCTATACCA
APCex16_23R	GCGTGTAATGATGAGGTGAAT
APCex16_24F	CCAAGGTCTCAATGATAAGC
APCex16-24R	GCTGATTGTTGGTTGGAGGTT
APCex16_25F	GGAATCAGAGGCTAAAAGTTAC
APCex16_25R	GAGAACTCAGAGAGGAATTATG
APCex16_26F	GGCAGCAACTGATGAAAAGTTA
APCex16_26R	CAAAGTGGGGTATCTTCAACA
APCex16_27F	GGGAGAACCAAGTAAACCTCA
APCex16_27R	GTCAGATCTTACCTAATATGC
APCex16_28F	CTTCAAGACTCAAGGGTGATA
APCex16_28R	CAGCAGCAGCTTGATGTAAC
APCex16_29F	CAGGAAGGTGCAAATTCATA
APCex16_29R	CCCCTGGTTTTAGAAATTCGTG
APCex16_30F	GGGATCACCATTTTCATCTTAC
APCex16_30R	GAGAGATTGAAGGCATGTTTG
APCex16_31F	TTTCAGGCCAAATGAAACAGC
APCex16_31R	CCCACCTATTTGGGATGTCT
APCex16_32F	CTAGAGGAGCCAAGCCATC
APCex16_32R	GGACTTATTCCATTTCTACCAG
APCex16_33F	CCCAGCAACCATTAAGTAGAC
APCex16_33R	GATAAACCTGTTTGTGGTAAG
APCex16_34F	TCATATACATCTCCAGGTAGAC
APCex16_34R	GACTGGCGTACTAATACAGGT
APCex16_35F	CTAAATCAAGTGAAGTGAATCT
APCex16_35R	CATCCACCAGCCTGAACAG
APCex16_36F	TTCCCTTCTGATATGTCTCTA
APCex16_36R	GGGATGATGAATGTTTGCTGT
APCex16_37F	TCCAATCAATAGGTCAGGAAC
APCex16_37R	GGTCTGAGAAGTACTATTTGTG
APCex16_38F	CAAGTATCCGCAAAGGAACA
APCex16_38R	TGGGACAGTCCCTCAATTCTCA
APCex16_39F	CAAATGGTGCTGAATCAAAGAC
APCex16_39R	GCATGGGAACACTGCCATTA
APCex16_40F	CCGGTGATTGACAGTGTTTC
APCex16_40R	GAACTTTCATTAGTCTCTGATAC
APCex16_41F	GGAAGTGAATAAAACCAGGA
APCex16_41R	TGGAGTTGGGATCTGAGATG

APCex16_42F	GAGTGACTCCTTTAATTACAAC
APCex16_42R	TAAACAGATGTCACAAGGTAAG
APCex16_43F	AAGTCCTAAGCGCCATTCTG
APCex16_43R	GTGCCCTCCCAAATAAGACCA

Таблица 8 Праймеры для детекции мутаций в гене MUTYH

MUTYHex1F	GAAGGCTACCTCTGGGAAG
MUTYHex1R	CATCCCCGACTGCCTGAA
MUTYHex2_1F	GAAGGCTACCTCTGGGAAG
MUTYHex2_1R	CATCCCCGACTGCCTGAA
MUTYHex2_2F	GGAAGTGGTCACAGGAAGCA
MUTYHex2_2R	CCCTTCCCAGCCTGAATCT
MUTYHex3_1F	CAGGGATGATTGCTGAGTGT
MUTYHex3_1R	GGTAGGTCCCCTTTCTCTTG
MUTYHex3_2+4F	GGAGCCTGCTAAGCTGGTA
MUTYHex3_2+4R	CCCTGCTCTCAGGAGATGTA
MUTYHex5F	CAGGTCAGCAGTGTCCCTCAT
MUTYHex5R	CCCAAAGTAGAGGCTCTCAT
MUTYHex6F	CCTTGACCTTGTCTCTTTCTG
MUTYHex6R	CCCTCTATTGTTCTATTTC
MUTYHex8F [López-Villar et al., 2010]	GATGGCAGGAGGGTAGGAA
MUTYHex8R [López-Villar et al., 2010]	GCTGGGCACGCACAAAGT
MUTYHex9F	TCCTCCCAGCCCAGGCTA
MUTYHex9R	CCCCTGAAGCACCCCTTGTTA
MUTYHex10F	CTTCACAGCAGTGTCCCTT
MUTYHex10R	GGGCAGAGTCACTCCTTAG
MUTYHex11F	GGGCAGTGAGAAGTCCTAAG
MUTYHex11R	GTTAGAGGAAGAAGTGAATG
MUTYHex12_1F	TGGCTTGAGTAGGGTTCGG
MUTYHex12_1R	CCCAGGCTCTTCCAGAACA
MUTYHex12_2F	CAGTGCCACCTGTGCCTG
MUTYHex12_2R	GCCGATTTCGCTCCATTCTC
MUTYHex13F	GGGAATCGGCAGGTGAGG
MUTYHex13R	GGCTATTCCGCTGCTCACT
MUTYHex14_1F	GGCCTATTTGAACCCCTTGA
MUTYHex14_1R	AGCTGCGGTGTGAAATTCCT
MUTYHex14_2F	AGTGACCACCGTACCACCA
MUTYHex14_2R	GGAAACACAAGGAAGTACAACA
MUTYHex14longR	CATGTAGGAAACACAAGGAAGTA
MUTYHex15F	TCACCTCCCTGTCTTCTTGT
MUTYHex15R	TGAAGCCTGGAGTGGAGAAT
MUTYHex16F [López-Villar et al., 2010]	AGGACAAGGAGAGGATTCTCTG
MUTYHex16R [López-Villar et al., 2010]	AGACCCCATCTCAAAAA

Таблица 9 Праймеры для детекции мутаций p.L111P, p.Y179C, p.P295L и p.Q416X в гене MUTYH

MUTYH_Y179Y модифицировано по [Lubbe et al., 2009]	CGCCGGCCACGAGAATAGT
MUTYH_Y179C модифицировано по [Lubbe et al., 2009]	CGCCGGCCACGAGAATAGC
MUTYH_Y179_R модифицировано по [Lubbe et al., 2009]	TACCCACAGGAGGTGAATCAA
MUTYH_L111LF	ACCAAGAGAAACGGGACCT
MUTYH_L111PF	ACCAAGAGAAACGGGACCC
MUTYH_L111_R	CCCTGCTCTCAGGAGATGTA
MUTYH_P295_F	CTTCACAGCAGTGTCCCTT
MUTYH_P295P	GGGCACTGGCTGCACAGT
MUTYH_P295L	GGCACTGGCTGCACAGTA
MUTYH_Q416Q	GAGCCCTCAGAGCAGCTTC
MUTYH_Q416X	GAGCCCTCAGAGCAGCTTT
MUTYH_Q416_R	GGCTATTCCGCTGCTCACT

Таблица 10 Последовательности праймеров и зондов для детекции мутаций p.R245H и p.G396D

MUTYH_R245_F	TCCTCCCAGCCCAGGCTA
MUTYH_R245_R	CCCCTGAAGCACCCCTTGTTA
MUTYH_R245R	FAM-TGCTGTGCCGTGTCCGAGCCAT-BHQ1
MUTYH_R245H	R6G-TGCTGTGCCATGTCCGAGCCAT-BHQ2
MUTYH_G396_F	GGGAATCGGCAGGTGAGG
MUTYH_G396_R	GGCTATTCGCTGCTCACT
MUTYH_G396G	FAM-CTCCCTCTCAGGTCTGCTGGCA-BHQ1
MUTYH_G396D	R6G-CTCCCTCTCAGATCTGCTGGCA-BHQ2

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1 Синдром Линча

3.1.1 Поиск мутаций в генах системы MMR среди больных с клиническими и молекулярными признаками синдрома Линча

Нами были прогенотипированы 4 случая MSI-H РТК с признаками синдрома Линча. Проанализировав всю кодирующую последовательность генов системы репарации неспаренных оснований MLH1, MSH2, MSH6 при помощи HRM и секвенирования, мы выявили герминальные мутации в гене MLH1 у трех пациентов: p.R226L, p.I637Lfs*6 и p.A681T. Применение MLPA не обнаружило крупных перестроек MLH1 и MSH2 в случае, негативном по результатам HRM-анализа, а также в случае с подозрением на наличие синдрома Тюрко. Клинико-генетические данные по этим пациентам сведены в таблицу 11. Характеристики двух из трех носителей мутаций укладывались в Амстердамские критерии. Третий случай, № Fu3818, отличался исключительно ранним началом заболевания (14 лет), а также сочетанием РТК и мультиформной глиобластомы, свойственным синдрому Тюрко. Тем не менее, других мутаций в гене MLH1 у данного больного выявлено не было. Случай, в котором мутации в генах системы MMR обнаружены не были, также отличался крайне молодым возрастом на момент диагноза (29 лет), но персональный и семейный онкологический анамнез этого пациента не был столь ярким, как у других больных.

Одна из обнаруженных мутаций, MLH1 p.R226L, уже была описана в российской популяции, что послужило поводом для изучения ее частоты в расширенной выборке MSI-H опухолей.

3.1.2 Определение частоты мутации MLH1 p.R226L, «польских», «ашкеназской» и «финской» “founder”-мутаций в выборке опухолей с молекулярными признаками синдрома Линча (MSI-H)

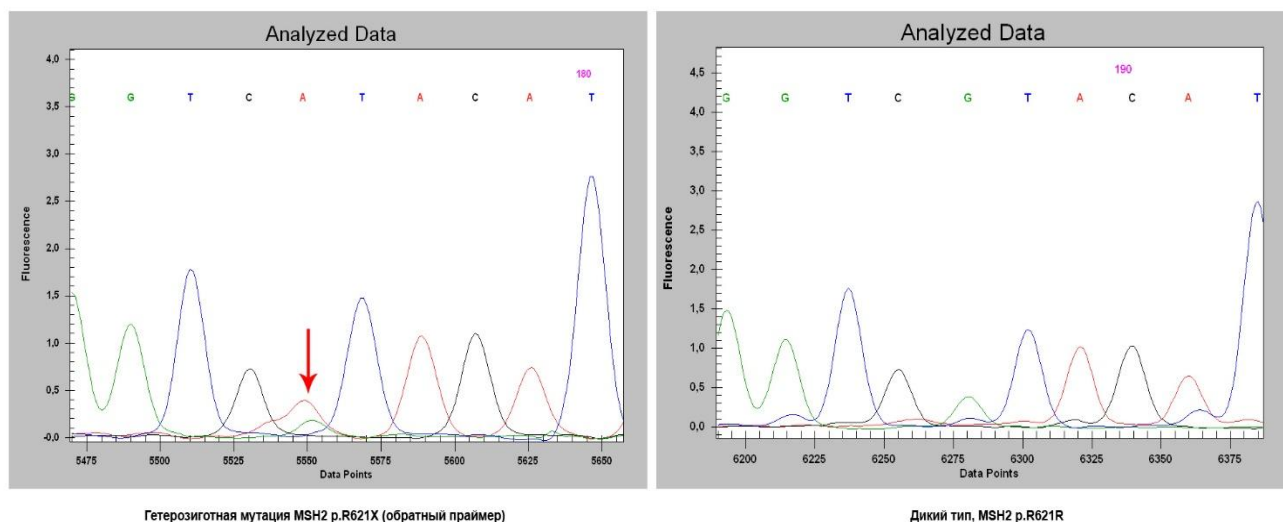
Генотипирование выборки из 42 MSI-H опухолей толстой кишки и эндометрия на наличие мутации p.R226L привело к выявлению еще одного случая носительства данного аллеля у больного РТК. Связаться с больным для установления наследственного характера мутации не удалось, однако соматический характер выявленного нами повреждения маловероятен. Эта замена не встречается в базе данных соматических мутаций при раке

COSMIC (COSMIC v78, released 05.09.2016 URL: <http://cancer.sanger.ac.uk>) [Forbes et al., 2014]. Вместе с тем, наследственная мутация p.R226L не только ранее выявлялась нами, но и упоминается в ряде работ иных авторов [Wagner et al., 2003; Kurzawski et al., 2002; Kurzawski et al., 2006]. Молодой возраст больного и, что важнее, первично-множественный характер новообразования также говорят в пользу наследственного характера повреждения гена MLH1.

Таким образом, повторяющийся характер мутации p.R226L в российской популяции можно считать установленным, хотя доля этого повреждения в структуре ассоциированных с синдромом Линча мутаций, очевидно, невелика.

К сожалению, часть MSI-H образцов не были протестированы по всем избранным позициям в силу малого количества и низкого качества ДНК, выделенной из архивного опухолевого материала. Тем не менее, в исследованной выборке нами не было выявлено ни одного нового случая «финской» делеции 16 экзона гена MLH1 (0/39), «польских» замен p.A681T в гене MLH1 (0/41) и c.942+3A>T в гене MSH2 (0/34) и «ашкеназской» замены p.A636P в гене MSH2 (0/35). В ходе тестирования выборки на наличие «ашкеназской» мутации у тридцатилетнего больного раком тонкой кишки была выявлена мутация p.R621X в гене MSH2 (Рис. 1). С больным удалось связаться и подтвердить зародышевый характер мутации, обнаружив повреждение в образце ДНК, выделенной из крови.

Рисунок 1. Выявление мутации p.R621X в гене MSH2 при помощи секвенирования



Кроме того, в ходе поиска «польской» замены A681T в гене MLH1 мы выявили соматическую мутацию у семидесятилетней больной MSI-H РТК. Установить соматический характер данной мутации удалось благодаря наличию в нашем распоряжении образца ДНК, выделенного из крови больной. Обнаруженная мутация, p.L697Sfs*86_ext26, располагалась в том же 18 экзоне гена MLH1, что и p.A681T. Она вызывает потерю сигнала прекращения

трансляции. Функциональное значение этого "stoploss" повреждения неизвестно, хотя описаны другие патогенные мутации в этом регионе гена MLH1.

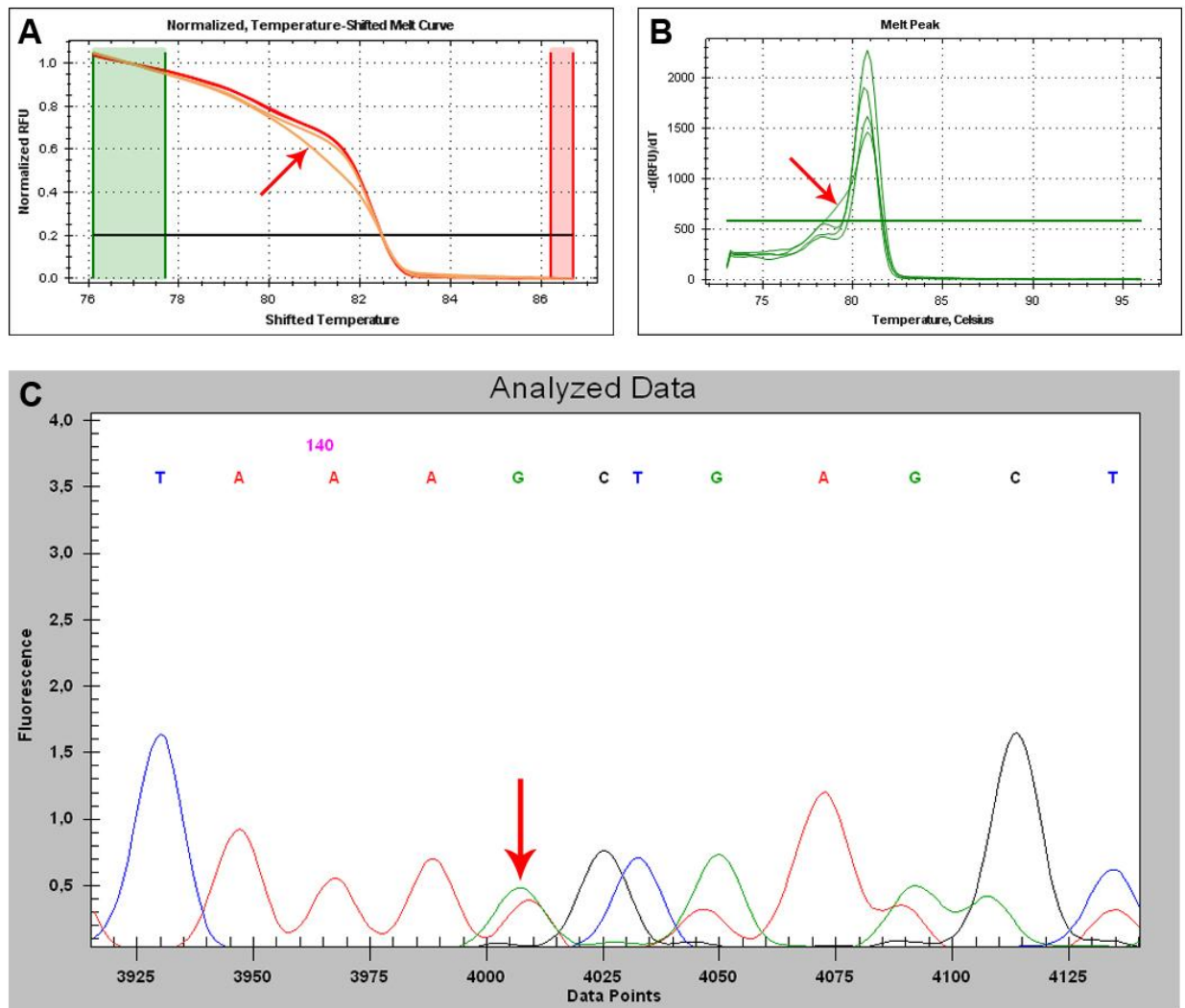
Таблица 11. Клинико-генетические характеристики всех выявленных случаев синдрома Линча

№	Возраст	Пол	Диагноз	Семейный анамнез	Выявленные мутации
Fu 4279	47	М	Рак слепой кишки	Сестра – РТК (28 лет), Отец – РТК (51 лет), Дед (о) – РТК (60 лет) <i>Подпадает под Амстердамские критерии</i>	MLH1: p.A681T (c.2041G>A)
Fu 3818	14	М	Рак толстой кишки, мультиформная глиобластома	Неизвестен.	MLH1: p.I637Lfs*6 (c.1909delA)
Fu 4554	53	Ж	Рак толстой кишки	Сестра – рак яичников (45 лет), отец – РТК (50 лет), Дядя (о) – РТК (40 лет), Племянник (о, д) – РТК (40 лет), Тетя (о) - РТК (30 лет), Племянник (о, т) – РТК (51 год), бабушка (о) – РТК, рак молочной железы, рак яичников (умерла в 50 лет) <i>Подпадает под Амстердамские критерии</i>	MLH1: p.R226L (c.677G>T)
Fu 9411	42	М	Первично-множественный РТК	неизвестно	MLH1: p.R226L (c.677G>T)
Fu 6719	30	М	Рак тонкой кишки	Бабушка (о) – РТК Дядя (о) – рак желудка (40 лет)	MSH2: p.R621X (c.2084C>T)

3.2 Семейный аденоматозный полипоз

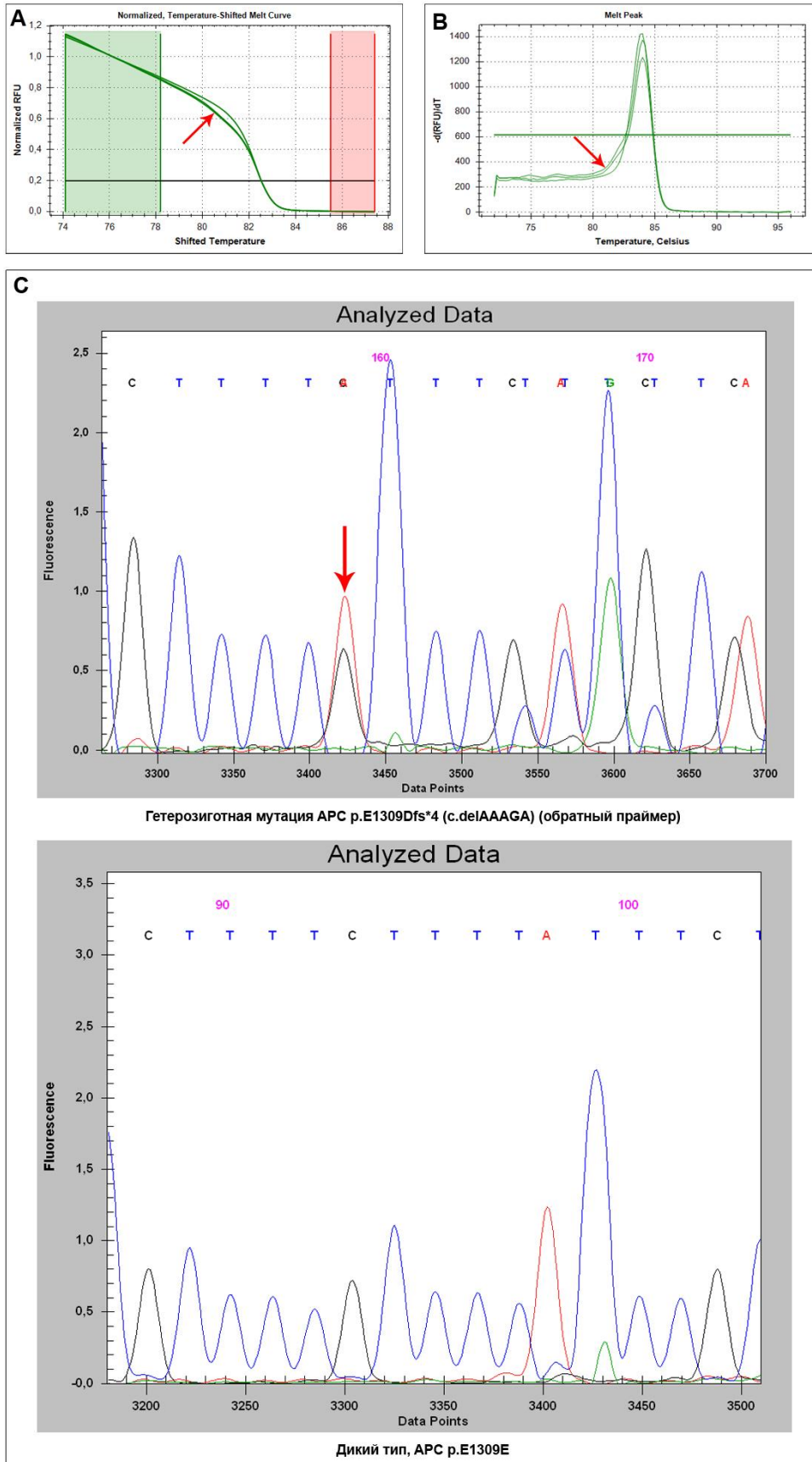
Генотипирование кодирующей последовательности гена APC у 30 больных с клинической картиной полипоза толстой кишки привело к выявлению 20/30 (66%) случаев с наследственными мутациями в этом гене. Интересно, что больные с мутациями в гене APC по возрасту не отличались от пациентов без мутаций ($p=0,56$, U-критерий Манна-Уитни). Клинико-генетические характеристики больных с мутациями приведены в Таблице 12. Как и в большинстве изученных популяций, преобладали две делеции, находящиеся в «горячих точках мутагенеза»: делеция c.3183_3187delACAAA (p.Q1062fs*), встретившаяся в 3/20 (15%) случаев, и c.3927_3931delAAAGA (p.E1309Dfs*4), обнаруженная у 3/20 (15%) больных. Совместно на эти два генетических повреждения приходится 6/20 (30%) случаев семейного аденоматозного полипоза. Примеры кривых плавления, деформации которых маркируют наличие этих повреждений, а также электрофореграммы секвенирования ДНК продемонстрированы на Рис. 2, 3.

Рисунок 2. Мутация с.3183_3187delACAAA (p.Q1062fs*) в гене APC (кривые плавления, секвенирование ДНК)



Гетерозиготная мутация APC p.Q1062X (с.delACAAA)

Рисунок 3. Мутация с.3927_3931delAAAGA (p.E1309Dfs*4) в гене APC и образец «дикого типа» (кривые плавления, секвенирование ДНК)



Один из обнаруженных генетических вариантов, p.K73Nfs*6, локализован в регионе, дефекты в котором ассоциированы с аттенуированной формой полипоза толстой кишки. Действительно, у носительницы данного аллеля заболевание проявилось поздно, в 64 года; тем не менее, наличие у нее 5 синхронных первичных очагов рака толстой кишки хорошо иллюстрирует тяжесть даже аттенуированной формы заболевания, целесообразность выявления всех носителей патогенных мутаций и проведение среди них соответствующих профилактических мероприятий. Подавляющее большинство, 17/20 (85%) выявленных нами повреждений – это «транскирующие» мутации: инсерции и делеции, влекущие сдвиг рамки считывания (12/20, 60%) и нонсенс-мутации (5/20, 25%). Патогенность двух найденных мутаций, затрагивающих сайты сплайсинга (с.1312+5G>A, с.1958+1G>A), не очевидна. Однако существуют эпидемиологические и функциональные данные, убедительно доказывающие их значимость (см. главу «Обсуждение результатов»). Наконец, одна из выявленных нами мутаций (1/20, 5%) представляет собой делецию всей кодирующей последовательности гена APC, детектированную при помощи MLPA.

Таблица 12. Клинико-генетические характеристики молекулярно подтвержденных случаев семейного аденоматозного полипоза

№	Возраст	Пол	Диагноз	Семейный анамнез	Выявленные мутации в гене APC
8013	64	ж	Полипоз, синхронный первично-множественный рак сигмовидной и поперечной ободочной кишки (печеночный изгиб), восходящей ободочной кишки и два фокуса карциномы in situ в полипах толстой кишки	неизвестно	p.K73Nfs*6 (с.219_220insTA)
MG76	33	м	Полипоз, РТК	бабушка (о) – рак желудка, двоюродный дядя (о) - РТК	p.R232X (с.694C>T)
7531	34	ж	Аттенуированный полипоз (80-100 полипов), рак поперечной ободочной кишки	мама, дядя (м), тетя (м) -РТК; двоюродные братья и сестры – РТК (?)	p.S254Hfs*49 (с.755_756insAGGTCATCTCAGAA CAAGCATGAAACCG)
MG293	27	ж	Полипоз, рак сигмовидной кишки	неизвестно	p.E422X (с.1264 G>T).
MG197	32	ж	Полипоз	мать – полипоз толстой кишки, дед (м) – полипоз толстой кишки, прабабушка(м, д) – полипоз толстой кишки	с.1312+5G>A
MG315	56	м	Полипоз, рак восходящей ободочной кишки	неизвестно	с.1958+1G>A
MG356	32	м	Полипоз, рак прямой кишки	брат – полипоз толстой кишки	p.E658Tfs*11 (с.1972_1975delAGAG)
MG412	18	м	Полипоз	неизвестно	p.Y796Wfs*2 (с.2387_2388delAT)
MG239	55	м	Полипоз, классическая форма: >100 полипов	мать - рак двенадцатиперстной кишки (55 л)	p.Q978X (с.2932C>T)

MG407	29	ж	Полипоз, рак прямой кишки	неизвестно	p.Q1062fs* (c.3183_3187delACAAA)
7214	41	ж	Полипоз, синхронный первично-множественный рак сигмовидной и прямой кишки	тетя (м) – рак шейки матки, бабушка (м) – рак почки, прадед (б,м) - рак губы, дед (о) – рак легкого	p.Q1062fs* (c.3183_3187delACAAA)
MG153	26	м	Полипоз	нет	p.Q1062fs* (c.3183_3187delACAAA)
6099	28	м	Полипоз	неизвестно	p.S1072Kfs*9 (c.3214insA)
MG210	52	ж	Полипоз, метахронный первично-множественный рак слепой (35 лет) и поперечной ободочной кишки (52 года)	неизвестно	p.S1189X (c.3566C>G)
MG236	49	ж	Полипоз, классическая форма: >100 полипов	дед(о) –рак прямой кишки, дочь - десмоид передней брюшной стенки (21 г)	p.E1309Dfs*4 (c.3927_3931delAAAGA)
MG238	24	м	Полипоз, РТК	дед (м) - полипоз толстой кишки (~60л), рак прямой кишки (72 г.)	p.E1309Dfs*4 (c.3927_3931delAAAGA).
8187	35	ж	Полипоз. Колпроктэктомия в 12 лет по поводу полипоза, остеомы	мать - полипоз (28 л), дед (м) – полипоз, РТК (46 л), двоюродный дед (м,д) - РТК (18 л) двоюродная бабушка (м,д) - РТК (40 л), прадед (м,д) - РТК	p.E1309Dfs*4 (c.3927_3931delAAAGA)
MG391	64	м	Полипоз	неизвестно	p.E1547Kfs*11 (c.4639_4640delGA)
5763	29	м	Полипоз	неизвестно	p.L1564X (c.4691T>G)
MG141	30	м	Полипоз, рак печеночного изгиба ободочной кишки	мать - РТК (63 г), тетя (м) - РТК (66 л)	Делеция всей последовательности гена APC

3.3 MUTYH-ассоциированный полипоз

3.3.1 Выявление мутаций в гене MUTYH среди больных с клиникой полипоза толстой кишки без наследственных дефектов гена APC

Генотипирование всей кодирующей последовательности гена MUTYH в группе больных с полипозом толстой кишки без мутаций в гене APC привело к выявлению 2/10 (20%) случаев биаллельной инактивации гена MUTYH: [p.R245H];[p.G396D] и [p.P295L];[p.Q416X]. Клинико-генетические характеристики носителей биаллельных повреждений MUTYH, а также пациентов с неустановленной причиной полипоза представлены в Таблице 13. При анализе клинических параметров обращает на себя внимание преобладание лиц мужского пола среди пациентов с неустановленной причиной полипоза по сравнению с группой носителей мутаций APC и MUTYH: 7/8 (88%) и 12/22 (55%). Однако эти различия не являются статистически значимыми ($p=0,2$ – критерий Фишера). У больных с биаллельной инактивацией гена MUTYH, в соответствии с рецессивным характером наследования, отсутствовал семейный онкологический анамнез. Неожиданной оказалась ранняя манифестация злокачественного заболевания у носителей биаллельных повреждений MUTYH (38 и 39 лет).

Интересно, что среди выявленных генетических повреждений всего 1/4 аллелей пришлась на p.G396D, европейскую founder-мутацию. Необычной находкой можно считать детекцию мутации p.Q416X. В отличие от повреждений p.R245H, p.G396D и p.P295L, эта мутация до сих пор была описана всего несколько раз. При попытке выяснить дополнительные клинико-генетические сведения о больной-носителнице этой мутации оказалось, что у пациентки якутское происхождение. Наконец, следует отметить, что у нас имелась возможность определить статус гена KRAS в опухолевой ткани одного из больных (MG80). В опухолевом материале пациента была обнаружена мутация KRAS p.G12C.

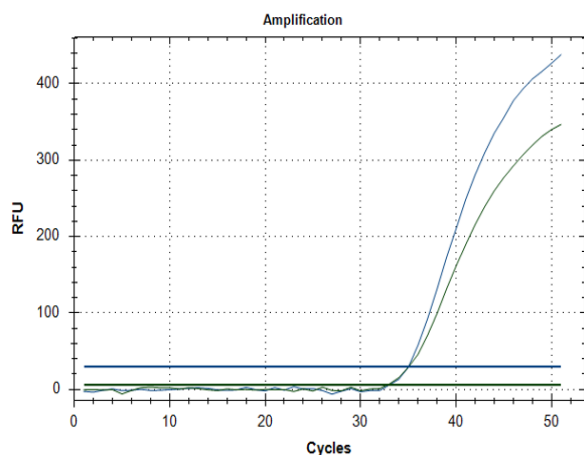
Таблица 13 Клинико-генетические характеристики случаев полипоза толстой кишки, не связанных с наследственными мутациями в гене APC:

№	Возраст	Пол	Диагноз	Семейный анамнез	Выявленные мутации
MG234	38	ж	Полипоз, РТК	нет	p.P295L (с.884C>T) и p.Q416X (с.1246C>T) в гене MUTYH
MG80	39	м	Полипоз, РТК	нет	p.R245H (с.734G>A) и p.G396D (с.1145G>A) в гене MUTYH
MG209	29	м	Полипоз, рак прямой кишки	неизвестно	Мутации не выявлены
MG270	43	м	Полипоз	отец - абдоминальный рак?	Мутации не выявлены
4945	30	м	Аттенуированный полипоз с ранним началом	отец - РТК (63г.)	Мутации не выявлены
6510	45	м	Полипоз, классическая форма (полипов более 100)	нет	Мутации не выявлены
MG110	23	м	Полипоз	бабушка (о) -рак легкого (67 л), бабушка (м) - рак желудка (51 г)	Мутации не выявлены
MG142	61	ж	Полипоз	неизвестно	Мутации не выявлены
MG147	40	м	Полипоз	нет	Мутации не выявлены
MG348	45	м	Полипоз	отец - рак почки, дед (о)- рак?, тетя (о) - рак молочной железы	Мутации не выявлены

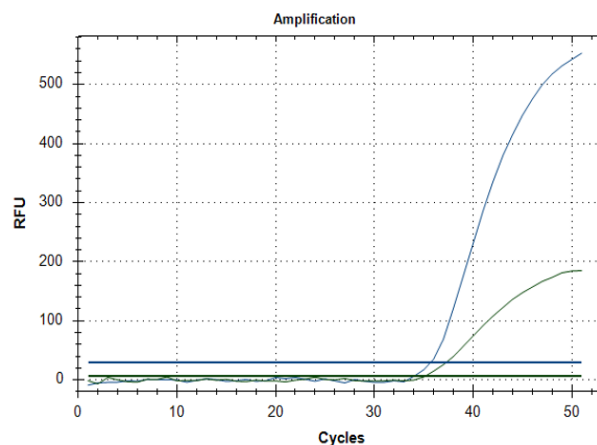
3.3.2 Определение частоты повторяющихся европейских мутаций p.Y179C и p.G396D в гене MUTYH среди случаев РТК с соматической мутацией p.G12C в гене KRAS

Генотипирование мутаций p.Y179C и p.G396D в выборке опухолей толстой кишки с соматической мутацией p. G12C в гене KRAS привело к выявлению трех случаев компаундных гетерозигот [p.Y179C];[p.G396D], 3/91 (3,2%), а также 3 гетерозиготных мутаций p.G396D и 1 гетерозиготной мутации p.Y179C. Примеры аллель-дискриминирующих тестов с использованием зондов TaqMan для детекции мутаций p.R245H и p.G396D см. на Рис. 5, 6.

Рисунок 5. Выявление миссенс-мутации p.R245H

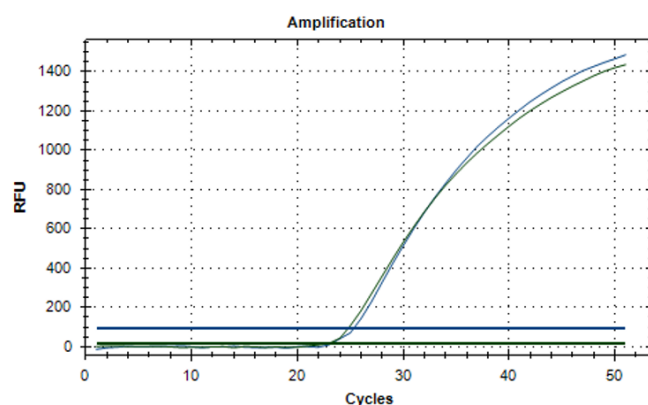


Гетерозиготная мутация p. R245H

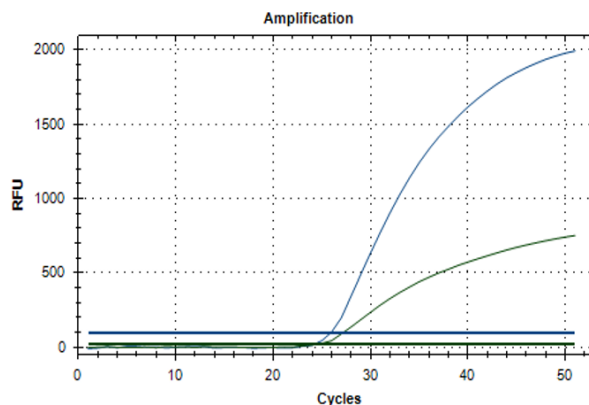


Дикий тип, p. R245R

Рисунок 6. Выявление миссенс-мутации p.G396D



Гетерозиготная мутация p. G396D



Дикий тип. p. G396

Далее, при наличии технической возможности, у гетерозиготных носителей патогенных мутаций был проведен поиск других патогенных дефектов в оставшейся части гена. К сожалению, в ряде образцов малое количество и низкое качество ДНК, выделенной из архивного материала, препятствовало генотипированию всей последовательности гена MUTYH. Тем не менее, удалось дополнительно выявить 3 носителей биаллельных повреждений в гене MUTYH: [p.R245H];[p.G396D], [p.Q293X];[p.G396D] и [p.G396D];[p.L111P]. Клинико-генетические характеристики всех носителей биаллельных мутаций сведены в Таблицу 14.

Таблица 14 Клинико-генетические характеристики носителей биаллельных мутаций в гене MUTYH

№	Критерий селекции на диагностику	Возраст	Пол	Диагноз	Выявленные мутации
Fu6924	Мутация p.G12C в гене KRAS	59	ж	Полипоз, РТК	p.Y179C (c.536A > G) и p.G396D (c.1187 G > A)

Fu10837	Мутация p.G12C в гене KRAS	62	ж	Полипоз, РТК	p.Y179C (c.536A > G) и p.G396D (c.1187 G > A)
P1109	Мутация p.G12C в гене KRAS	48	ж	РТК (полипоз?)	p.Y179C (c.536A > G) и p.G396D (c.1187 G > A)
Fu3906	Мутация p.G12C в гене KRAS	59	м	РТК (полипоз?)	p.L111P (c.332C>T) и p.G396D (c.1187 G > A)
Fu3046	Мутация p.G12C в гене KRAS	46	ж	РТК (полипоз?)	p.R245H (c.734G>A) и p.G396D (c.1187 G > A)
P1013	Мутация p.G12C в гене KRAS	38	м	Полипоз, классическая форма (полипов более 100)	p.Q293X (c.877G>A) и p.G396D (c.1187 G > A)
MG234	Полипоз	38	ж	Полипоз, РТК	p.P295L (c.884C>T) и p.Q416X (c.1246C>T)
MG80	Полипоз	39	м	Полипоз, РТК	p.R245H (c.734G>A) и p.G396D (c.1145G>A)

3.3.3 Определение частоты всех выявленных мутаций в гене MUTYH среди случаев РТК с соматической мутацией p.G12C в гене KRAS

Выборка из 91 РТК с соматической мутацией KRAS p.G12C была проанализирована на наличие мутаций p.L111P, p.R245H, p.Q293X, p.P295L и p.Q416X в гене MUTYH, в результате чего был дополнительно обнаружен один случай гетерозиготного носительства мутации p.R245H. Таким образом, среди РТК, содержащих KRAS p.G12C, всего имелось 6/91 (7%) случаев MUTYH-ассоциированного полипоза.

Как и следовало ожидать, при MUTYH-ассоциированном полипозе манифестация заболевания наблюдалась позднее по сравнению с молекулярно-подтвержденным семейным аденоматозным полипозом ($p=0,0394$, U-критерий Манна-Уитни). Действительно, средний возраст больных MUTYH-ассоциированным полипозом составил 48,6 лет, а больных с семейным аденоматозным полипозом – 37,6 лет. Во всех случаях MUTYH-ассоциированный полипоз манифестировал опухолями толстой кишки, что, впрочем, связано главным образом с избранными нами критериями отбора больных. Среди выявленных по клиническим и молекулярным критериям носителей биаллельных мутаций в гене MUTYH преобладали женщины (5/8, 63%).

С молекулярно-эпидемиологической точки зрения, интерес вызывает относительно низкая доля повторяющихся европейских аллелей в нашей выборке больных: 10/16 (63%). Мутация p.G396D составила 7/16 (44%) от всех патогенных аллелей, мутация p.Y179C – 3/16 (19%), мутация p.R245H – 2/16 (13%). Повторяющийся характер последнего повреждения был неожиданной находкой.

Гетерозиготные мутации p.Y179C и p.R245H были выявлены у двух 59-летних женщин. Так как в этих случаях имевшегося генетического материала было недостаточно, около половины последовательности гена MUTYH – экзоны 1, 2, 6, 8, 11, 12, 16 проанализировать не удалось.

3.3.4 Определение частоты выявленных повторяющихся мутаций в гене MUTYH в группе «последовательных» случаев РТК.

В когорте «последовательных», т.е. не отобранных по каким-либо специальным критериям, случаев РТК было проведено генотипирование мутаций p.Y179C, p.R245H и p.G396D в гене MUTYH. В данной группе мы не обнаружили случаев MUTYH-ассоциированного полипоза (0/167, 0%), однако были выявлены 2 случая гетерозиготного носительства патогенных мутаций. Носителем патогенного аллеля p.G396D был семидесятилетний больной, страдавший раком прямой кишки. В опухоли у него обнаружилась соматическая мутация p.G13D в гене KRAS, что позволяет исключить наличие MUTYH-ассоциированного полипоза. Пациентка 53 лет, также страдавшая раком прямой кишки, являлась носительницей патогенной мутации p.R245H. Соматических повреждений KRAS у данной больной не наблюдалось. К сожалению, экзоны 2-5, 8, 11, 12 и 16 гена MUTYH в этом случае не удалось проанализировать в силу технических причин; поиск второго повреждения в оставшейся части последовательности гена не обнаружил мутаций. Клинико-генетическая характеристика больных с гетерозиготными мутациями в гене MUTYH приведена в Таблице 15. Средний возраст больных с моноаллельными дефектами в гене MUTYH составил 60,2 года, что, очевидно, не отличается от среднего возраста в когортах больных РТК, в которых были выявлены носители этих мутаций.

Таблица 15 Клинико-генетические характеристики носителей моноаллельных мутаций в гене MUTYH

№	Критерий селекции на диагностику	Возраст	Пол	Диагноз	Выявленные мутации
5387	Мутация p.G12C в гене KRAS	59	ж	РТК	p.Y179C (c.536A > G)
7744	Мутация p.G12C в гене KRAS	59	ж	РТК	p.R245H (c.734G>A)
AB105	Последовательные случаи РТК	53	ж	РТК	p.R245H (c.734G>A)
AB203	Последовательные случаи РТК	70	м	РТК	p.G396D (c.1187 G > A)

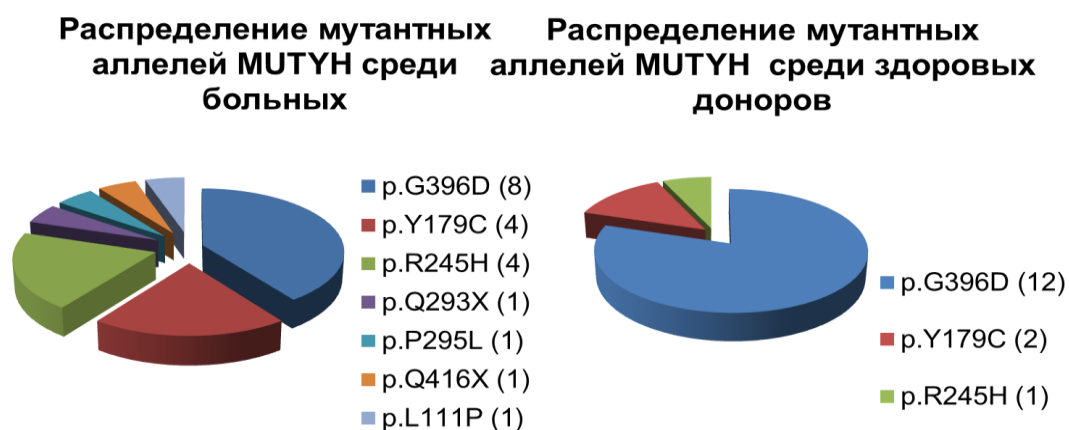
3.3.5 Характеристика спектра выявленных молекулярных повреждений в РТК

Таким образом, всего в исследованных случаях РТК нами было выявлено 20 патогенных аллелей. На мутацию p. G396D пришлось 8/20 (40%) аллелей, на мутацию p.Y179C – 4/20 (20%), на мутацию p.R245H - 4/20 (20%). Аллели, выявленные единожды, в совокупности также составили пятую часть в структуре патогенных повреждений: 4/20 (20%).

3.3.6. Определение частоты выявленных повторяющихся мутаций в гене MUTYH в группе здоровых контролей. Сопоставление структуры мутаций в группе здоровых контролей и группах носителей мутаций в гене MUTYH

1120 здоровых контролей были протестированы на наличие мутаций p.Y179C, p.R245H, p.G396D. Гетерозиготная мутация p.Y179C была обнаружена в 2/1120 (0,2%) случаев, p.R245H - в 1/1120 (0,1%) случаев и p.G396D – в 12/1120 (1,1%). Таким образом, аллельные частоты этих повреждений составили 0,1%, 0,05% и 0,6% соответственно. Суммарно мы выявили в популяции 15/1120 (1,3%) патогенных мутаций, т.е. их аллельная частота в совокупности составила 0,67%. Это означает, что, исходя из уравнения Харди-Вайнберга, расчетная частота случаев синдрома, приходящихся на повторяющиеся повреждения в гене MUTYH, составляет 1:22957 человек.

Рисунок 7. Представленность мутаций в гене MUTYH в группах больных РТК и здоровых контролей.



Интересно, что среди здоровых контролей на мутацию p.G396D пришлось 12/15 (80%) выявленных случаев, а в группе больных MUTYH-ассоциированным полипозом – 7/16 (44%). Различие между двумя группами статистически незначимо ($p=0,07$ – критерий Фишера).

Особенно сильно различаются по встречаемости этой мутации здоровые контроли и моноаллельные носители дефектов MUTYH – больные РТК: соответственно, 12/15 (80%) и 1/4 (25%) выявленных повреждений ($p=0,0307$ – критерий Фишера).

Если суммировать все обнаруженные нами в РТК патогенные аллели, включая гетерозиготные мутации, то различие между группами здоровых и больных (12/15 (80%) и 8/20 (39%) соответственно) приобретает статистическую достоверность ($p=0,0382$ – критерий Фишера). Диаграммы, представляющие распределение патогенных аллелей, найденных у больных РТК и у здоровых носителей мутаций, см. на Рис. 7.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

4.1 Синдром Линча

В настоящей работе представлены результаты исследования молекулярной эпидемиологии синдрома Линча. Выявление в структуре причинно-значимых мутаций повторяющихся повреждений имеет большое практическое значение. Молекулярная эпидемиология синдрома Линча в России изучена лучше, чем других форм наследственного рака толстой кишки. И все же исследования, посвященные этой теме в России, малочисленны, и имеющих на момент планирования диссертационной работы сведений было недостаточно, чтобы говорить о наличии или отсутствии характерных для российской популяции генетических дефектов. До сих пор имелись сведения о выявлении у российских больных синдромом Линча мутаций p.R226L и p. R659X в гене MLH1, а также p.N139fs*, p.G322D, p.L376fs, p.R621X, p.A636P и p.E878fs*3 в гене MSH2 [Maliaka et al., 1996]. Ни одно из этих повреждений не было выявлено хотя бы дважды у неродственных между собой пациентов.

В нашей работе мы постарались отобрать больных с выраженными клиническими признаками синдрома Линча, прошедших к тому же «сито» молекулярного скрининга на наличие в опухолях феномена микросателлитной нестабильности. Два пациента соответствовали чрезвычайно жестким Амстердамским критериям синдрома Линча – шанс выявить мутацию при этом составляет порядка 70-100% [Steinke et al., 2014; Katballe et al., 2002; Aaltonen et al., 1998; Salovaara et al., 2000]. Действительно, в этих двух случаях были обнаружены мутации (с.677G>T) p.R226L и p.A681T (с.2041G>A) в гене MLH1.

В развитых странах наблюдается тенденция к расширению и смягчению критериев отбора на молекулярно-генетическую диагностику, что приводит к увеличению чувствительности критериев и способствует выявлению максимального количества больных. Вместе с тем, для исследовательских целей специфичность критериев важнее чувствительности. Некоторым ограничением нашего подхода может быть смещение спектра обнаруженных мутаций в сторону их локализации в более высокопенетрантных генах. Очевидно, что при применении слишком жестких критериев отбора больных доля низкопенетрантных повреждений в структуре всех мутаций снизится. Например, описано, что чувствительность Амстердамских критериев в отношении мутаций в генах MSH2 и MLH1 примерно вдвое выше, чем в отношении мутаций в гене MSH6 [Ramsoekh et al., 2008]. Низкопенетрантных мутаций в гене MSH6 мы не выявили ни в данной диссертационной работе, ни ранее. Сложно уверенно сказать, в какой мере это связано с действительной редкостью

повреждений в этом гене в нашей популяции, а насколько – со слишком тщательной селекцией больных.

MLH1 p.R226L представляет собой миссенс-мутацию, поэтому ее патогенный эффект не очевиден и требует подтверждения. Однако нуклеотидная замена в данном случае затрагивает последний 3` нуклеотид донорского сайта сплайсинга и нарушает сплайсинг, снижая функциональную активность системы MMR [Kurzawski et al., 2006; Takahashi et al., 2007]. По классификации INSiGHT эта мутация относится к классу 4, вероятно патогенных повреждений [Thompson et al., 2014; INSIGHT]. Впервые эта мутация была описана в 1996 году в молдавской семье [Maliaka et al., 1996]. Она является минорным повторяющимся аллелем в Польше; в одном из крупных исследований ее частота составила 3/78 (4%) [Kurzawski et al., 2006]. Она была обнаружена также в Словакии [Bartosova et al., 2003]. За пределами славянских популяций p.R226L выявляли в США [Wagner et al., 2003].

MLH1 p.A681T – одна из двух наиболее распространенных мутаций в Польше, на ее долю приходится 10-17% всех случаев синдрома в этой стране [Kurzawski et al., 2002; Kurzawski et al., 2006]. Помимо Польши, эту мутацию регистрировали в Италии [Pedroni et al., 2007], Колумбии [Giraldo et al., 2005], Великобритании [Frogatt et al., 1996], Франции [Bonadona et al., 2011]. По классификации INSiGHT эта мутация относится к классу 5, безусловно патогенных повреждений [Thompson et al., 2014; INSIGHT].

Один больной имел яркие признаки синдрома Тюрко: в 14-летнем возрасте у него были диагностированы РТК и мультиформная глиобластома. У него, однако, была выявлена единственная мутация, MLH1 p. I637Lfs*6. Эта редкая мутация была ранее обнаружена во Франции [Bonadona et al., 2011]. Надо сказать, что изредка подобные проявления синдрома Тюрко бывают связаны даже с гетерозиготным мутациями [Durno et al., 2005; Amayiri et al., 2016]. Четвертый больной, у которого нам не удалось выявить наследственных генетических дефектов, также был очень молод на момент диагноза, однако у него не наблюдались множественные опухоли и был менее выраженный семейный анамнез.

Существуют редкие популяции с сильно выраженным «эффектом основателя» в отношении генов системы репарации неспаренных оснований ДНК, например, финская [Nyström-Lahti et al., 1995; Aaltonen et al., 1998; Salovaara et al., 2000; Holmberg et al., 1998; Gylling et al., 2009] или популяция евреев-ашкенази [Goldberg et al., 2014]. Большинство популяций столь значительного «эффекта основателя» лишены, но повторяющиеся мутации, выявляемые в 5-40% случаев синдрома, все же присутствуют. Такова, например, наиболее изученная в отношении синдрома Линча славянская популяция – польская. На мутации p.A681T в гене MLH1 и c.942+3A>T в гене MSH2 приходится в совокупности 20-40% [Kurzawski et al., 2002; Kurzawsky et al., 2006]. Полное отсутствие повторяющихся

повреждений почти невероятно, так как в генах системы MMR существуют горячие точки мутагенеза, служащие неиссякаемыми источниками определенных мутаций – именно такие повреждения заполняют популяционный пул патогенных аллелей повторяющимися, возникающими de novo дефектами [Desai et al., 2000; Ponti et al., 2015].

Предварительный анализ опубликованных данных свидетельствовал о том, что для нашей популяции характерны именно такие, минорные повторяющиеся повреждения. Кандидатом на роль подобной «редкой повторяющейся» мутации служит замена p. R226L в гене MLH1, так как она была выявлена нами дважды: в настоящей работе и ранее, у неродственного больного. Мы провели исследование на независимой выборке MSI-H новообразований и обнаружили еще одного носителя данного повреждения (1/42, 2%). Этот случай отличался выраженными признаками наследственного рака: первично-множественными опухолями и молодым возрастом манифестации болезни.

Далее мы предприняли попытку обнаружить в когорте MSI-H новообразований еще четыре «кандидатные» на роль повторяющихся мутации. В их число вошли p.A681T в гене MLH1 и c.942+3A>T в гене MSH2, характерные для Польши (наиболее изученной славянской популяции); p.A636P в гене MSH2, характерная для евреев-ашкенази (известно, что некоторые «славянские» мутации встречаются с высокой частотой среди этой хорошо изученной этнической группы, к тому же мутация p.A636P была ранее выявлена у российских больных). Наконец, мы провели поиск делеции 16 экзона гена MLH1, повторяющейся финской мутации, так как Финляндия сопредельна Северо-Западному региону России. Ни одного из этих четырех повреждений мы не обнаружили, однако случайно был выявлен еще один случай синдрома Линча, связанный с наследственной мутацией p.R621X в гене MSH2. Мутация была найдена у молодого больного раком двенадцатиперстной кишки – это редкое заболевание часто встречается в рамках наследственных опухолевых синдромов и должно вызывать соответствующие подозрения. У больного также наблюдался выраженный семейный анамнез. Мутация p.R621X была описана в первой работе, посвященной синдрому Линча в России [Maliaka et al., 1996]. Также ее обнаруживали в США в семье французского происхождения [Weber et al., 1997], Нидерландах [Berends et al., 2001], Венгрии [Papp et al., 2007]. Любопытной находкой является выявление необычной соматической мутации в гене MLH1 у семидесятилетней пациентки: p.L697Sfs*86_ext26 (c. 2089delT). Эта мутация обнаружена впервые. Она приводит к сдвигу рамки считывания и удлинению белка на 26 аминокислот. О функциональном значении такой «элонгирующей» мутации судить сложно, однако известен пример северо-итальянской «founder»-мутации, в которой еще дальше к 3` концу гена MLH1 происходит инсерция T (c.2269-2270insT), приводящая к удлинению белка на 33 аминокислоты [Viel et al., 1998; Ponz de Leon et al., 2004; Caluseriu et al., 2004]. Патогенность «итальянской»

мутации убедительно доказана, и, наверное, эти сведения могут быть экстраполированы на выявленное нами соматическое повреждение гена MLH1.

Во время проведения настоящей диссертационной работы вышло еще одно российское исследование, посвященное изучению молекулярной эпидемиологии синдрома Линча. Обобщение данных различных исследований синдрома в России, включая наше, см. в Таблице 16. Итак, если рассматривать результаты настоящего исследования изолированно, можно сказать, что нами впервые установлен повторяющийся характер мутации p.R226L в гене MLH1 в российской популяции, так как в данном исследовании мутация выявлена дважды у неродственных лиц. Поставив наши данные в контекст других работ, можно отметить, что к настоящему времени известно 23 неродственных случая причинно-значимых повреждений при синдроме Линча в России. Среди них мутация p.R226L встретилась в 3/23 (13%), мутация p.R621X в гене MSH2 - в 2/23 (9%) [Maliaka et al., 1996], мутация p.Lys618del в гене MLH1 – также в 2/23 (9%) случаев [Поспехова и др., 2014]. Таким образом, на данный момент может быть зафиксировано, что на долю трех повторяющихся в России мутаций приходится около трети (7/23, 30,4%) случаев синдрома Линча. Безусловно, исходя из этого можно рекомендовать ступенчатый алгоритм молекулярно-генетической диагностики синдрома Линча: первоначальная проверка статуса трех локусов повторяющихся мутаций, и лишь при получении негативного результата - продолжение исследования полной кодирующей последовательности генов системы MMR. За счет незначительной потери времени, средств и трудозатрат почти у трети больных удастся избежать длительного, дорогостоящего и трудоемкого молекулярно-генетического исследования.

Говоря об ограничениях настоящей работы, следует отметить, что вклад мутации p.R226L в структуру патогенных повреждений при синдроме Линча может оказаться меньше, чем установленный на текущий момент, так как одна из трех описанных мутаций была выявлена в результате целенаправленного поиска в селектированной группе больных с MSI-H опухолями. О возможных отклонениях в наблюдаемой эпидемиологической структуре мутаций вследствие жесткости критериев отбора больных для предварительной фазы исследования уже упоминалось выше. Наконец, следует отметить, что для достоверного определения структуры патогенных мутаций, ассоциированных с синдромом Линча в России, настоятельно требуется выявление и описание возможно большего числа больных.

Таблица 16. Патогенные мутации в генах системы MMR, выявленные в России:

Исследование	Выявленные мутации (<i>сохранено авторское наименование мутаций</i>)
Maliaka et al., 1996	MSH2: p.G322D, p.L376fs и p.R621X
Поспехова и др., 2014	MLH1: p.R100X, p.R100P, p.Lys618del (дважды), c.546-2A>G, p.C680R, p.691delAT, c.1896+1G>C MSH2: c.942+3A>T

Данная работа и результаты, полученные нашим коллективом до ее начала	MSH6: p.I745N 0) Случай, выявленные нашим коллективом ранее MLH1: p.R226L и p.R659X MSH2: p.N139fs*, p.A636P и p.E878fs*3 1) Идентификация новых случаев и мутации, выявленные случайно: MLH1: p.R226L, p.I637Lfs*6, p.A681T MSH2: p.R621X 2) Целенаправленный поиск определенных мутаций: MLH1: p.R226L
-----------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

4.2 Семейный аденоматозный полипоз

В настоящей работе представлены также результаты изучения молекулярной эпидемиологии семейного аденоматозного полипоза на выборке российских пациентов. Семейный аденоматозный полипоз отличается многообразием проявлений, в достаточно заметной степени ассоциированных с той или иной локализацией причинно-значимых мутаций. Известно, что количество полипов при этой болезни коррелирует с вероятностью развития рака. Тем не менее все формы семейного аденоматозного полипоза, не исключая даже аттенуированный вариант - тяжело протекающие заболевания. Вероятно, именно из-за высокого давления очищающего отбора “традиционные” “founder”-мутации для этого заболевания нехарактерны, и очень немногим популяциям свойственен в данном отношении “founder”-эффект. Это популяция Балеарских островов [Gonzales et al., 2005], Ньюфаундленда [Spirio et al., 1999] и США, где, фактически, речь идет о представителях одной разветвленной семьи, многочисленные члены которой по большей части утратили связь друг с другом и проживают в различных штатах [Neklason et al., 2008]. Кроме того, в США продемонстрировано “founder”-повреждение, ассоциированное с атипичной формой болезни, связанной с преимущественным поражением верхних гастроинтестинальных отделов за счет мутаций, повреждающих лишь один из транскрипционных вариантов APC [Rohlin et al., 2011; Snow et al., 2015; Li et al., 2016].

Тем не менее, в APC существуют две «горячие точки мутагенеза», p.Q1062fs* и p.E1309Dfs*4, на которые в большинстве исследованных популяций приходится существенная доля, 5-40% (обычно 15-20%) причинно-значимых повреждений [Chiang et al., 2010; Friedl and Aretz, 2005; Gómez-Fernández et al., 2009; Kerr et al., 2013; Kim et al., 2005; Lagarde et al., 2010; Papp et al., 2016; Pilawski et al., 2008].

До начала настоящей работы о спектре мутаций в гене APC в России было известно, что разнообразие мутаций велико, однако около трети приходится на мутации p.Q1062fs* p.E1309Dfs*4 [Музаффарова, 2005]. Нам представлялось целесообразным воспроизвести и уточнить данные этой пилотной работы. Во время выполнения диссертационного исследования

были опубликованы результаты еще одной московской работы, в которой доля мутаций p.Q1062fs* и p.E1309Dfs*4 оказалась меньше (2/13 (15%)).

При исследовании группы больных полипозом толстой кишки различной степени выраженности нам удалось выявить мутации в гене APC в 20/30 (66%) случаев. Из них 6/20 (30%) составили мутации p.Q1062fs* и p.E1309Dfs*4. Интересно, что лишь эти два повреждения являются общими между больными из нашей когорты и участниками московского исследования [Поспехова и др., 2014]. Новыми мутациями являлись 5/20 (25%) повреждений: p.K73Nfs*6 (c.219_220insTA), p.S254Hfs*49 (c.755_756insAGGTCATCTCAGAACAAGCATGAAACCG), p.S1072Kfs*9 (c.3214insA), p.E1547Kfs*11 (c.4639_4640delGA), p.L1564X (c.4691T>G). Остальные обнаруженные мутации (15/20 (75%)) встречались хотя бы в одной работе или базе данных: p.R232X (c.694C>T) [Rivera et al., 2010], p.E422X (c.1264 G>T) (The UMD-APC mutations database, Last update 1/04/15 <http://www.umd.be/APC/>) [Grandval et al., 2015], c.1312+5G>A [Aretz et al., 2004], c.1958+1G>A [Aretz et al., 2004], p.E658Tfs*11 (c.1972_1975delAGAG) (The UMD-APC mutations database, Last update 1/04/15 <http://www.umd.be/APC/>) [Grandval et al., 2015], p.Y796Wfs*2 (c.2387_2388delAT) [Papp et al., 2016], p.Q978X (c.2932C>T) [Plawski and Slomski, 2008], p.S1189X (c.3566C>G) (The UMD-APC mutations database, Last update 1/04/15 <http://www.umd.be/APC/>) [Grandval et al., 2015], делеция всей последовательности гена APC [Nielsen et al., 2007].

Делеция всей последовательности гена APC была выявлена нами при помощи MLPA – этот метод не позволяет определять границы повреждения. Поэтому невозможно сказать, является ли найденная делеция уникальной для нашей популяции, или же, напротив, относится к уже известным мутациям. Из всех разновидностей затрагивающих ген небольших хромосомных перестроек делеция гена встречается наиболее часто [Nielsen et al., 2007]. Известно, что «транквирующие» мутации в 5` конце гена APC обычно приводят к аттенуированной форме семейного аденоматозного полипоза толстой кишки. Это объясняется большим преимуществом наличия остаточной активности APC для жизнедеятельности клетки по сравнению с полной инактивацией APC [Albuquerque et al., 2002; Gaspar and Fodde, 2004; Nieuwenhuis et al., 2009; White et al., 2012]. Однако любопытным представляется тот факт, что полная делеция всего APC обычно приводит к классической, а не аттенуированной форме синдрома [Nielsen et al., 2007].

Подавляющее большинство идентифицированных повреждений было представлено инактивирующими мутациями («транквирующие» повреждения, делеция всего гена): 18/20 (90%). Две другие мутации располагались в донорских сайтах сплайсинга 3` от 9 экзона (c.1312+5G>A) и 3` от 14 экзона (c.1958+1G>A), и их патогенность, на первый взгляд, не столь очевидна. Однако эти наследственные дефекты описаны у немецких больных с классическим

фенотипом семейного аденоматозного полипоза: они приводят к выпадению из транскрипта гена APC соответствующих экзонов, так как вместо инактивированных донорских сайтов функционируют аналогичные сайты предыдущего экзона [Aretz et al., 2004].

Нужно заметить, что в разграничении классической и аттенуированной формы синдрома есть определенная условность, хорошо иллюстрируемая примером из нашей работы. Действительно, у носительницы мутации p.K73Nfs*6 (с.219_220insTA), расположенной в регионе гена APC, ассоциированного с аттенуированным фенотипом, заболевание манифестировало в позднем возрасте, но проявилось сразу в виде пяти синхронных первично-множественных РТК.

Переходя к выводам из данного раздела настоящей работы, можно отметить, что она хорошо согласуется с данными, полученными московской исследовательницей в 2005 году [Музаффарова, 2005]. 30% выявляемых в гене APC мутаций приходится на два повторяющихся повреждения: p.Q1062fs* и p.E1309Dfs*4, из чего закономерно следуют практические рекомендации о внедрении ступенчатой диагностики синдрома. Интересно, что со времени пионерской работы 2005 года доля новых мутаций в структуре выявляемых повреждений снизилась с 50% до 25%: очевидно, по мере накопления данных становятся известными все более и более редкие аллели. Представляется важным, что с помощью MLPA можно выявить дополнительные случаи семейного аденоматозного полипоза.

4.3 MUTYH-ассоциированный полипоз

В настоящей работе представлены результаты изучения молекулярной эпидемиологии MUTYH-ассоциированного полипоза в российской популяции. Надо отметить, что не только в России, но и в мире из трех частых разновидностей наследственного рака толстой кишки эта форма изучена хуже других, несмотря на ее относительно высокую встречаемость (0,1-1% неселектированных РТК) [Küry et al., 2007; Croitoru et al., 2004]. Причина недостаточной изученности в том, что MUTYH-ассоциированный полипоз толстой кишки «трудноуловим» – это рецессивное заболевание с неяркой клиникой. В современной социальной и демографической ситуации редко встречаются крупные семьи, позволяющие легко выявить рецессивный тип наследования заболевания. Обычно случаи MUTYH-ассоциированного полипоза представлены изолированными, а не семейными случаями. Средний возраст больных составляет 46-58 лет в зависимости от генотипа [Nielsen et al., 2009a]. Тот факт, что средний возраст превышает 50 лет у носителей гипоморфных мутаций, делает отбор больных на диагностику по возрасту не только малоспецифичным [Landon et al., 2015], но и низко чувствительным [Knoppertz et al., 2013]. Типичная клиника MUTYH-ассоциированного

полипоза – аттенуированный фенотип полипоза толстой кишки (10-100 полипов). Обычный подход к выявлению MUTYH-ассоциированного полипоза – генотипирование больных с полипозом толстой кишки после исключения мутаций в гене APC.

Около трети носителей биаллельных мутаций в гене MUTYH имеют менее 10 полипов [Farrington et al., 2005; Landon et al., 2015]. Надо заметить, что выраженность полипоза при MUTYH-ассоциированном полипозе не коррелирует с вероятностью возникновения РТК – пренебречь случаями с малым количеством полипов или их отсутствием нельзя [Nieuwenhuis et al., 2012]. По-видимому, это происходит оттого, что для синдрома может быть характерно два феномена – повышенное образование аденоматозных полипов и их ускоренная малигнизация, причем экспрессивность этих феноменов не всегда одинакова, не всегда согласована. Ускоренное озлокачествление полипа – свойство, хорошо известное для синдрома Линча – здесь, вероятно, связано с аналогичными тому причинами. MUTYH-ассоциированные новообразования гипермутабельны, так как белок MUTYH – участник системы эксцизионной репарации оснований ДНК. Гипермутабельность при MUTYH-ассоциированном полипозе носит избирательный характер: в опухолях, в частности, встречается только один тип повреждений в гене KRAS (p.G12C) из множества возможных, причем частота этих мутаций выше, чем в типичных РТК. В современных условиях почти все метастатические карциномы толстой кишки тестируют на наличие мутаций в гене KRAS. Поэтому был предложен новый критерий селекции больных на молекулярно-генетическую диагностику: наличие соматической мутации p.G12C в гене KRAS. Опыт применения этого подхода небольшой, есть две работы на сериях пациентов – среди таких больных мутации выявляют в 10-25% случаев [Puijtenbroek et al., 2008b; Aime et al., 2015]. Одной из наших задач было попытаться апробировать оба подхода для выявления MUTYH-ассоциированного полипоза.

Наконец, следует сказать, что в диагностике синдрома большую роль играют “founder”-мутации, главным образом две европейские мутации p.Y179C и p.G396D: в большинстве популяций Европы на их долю приходится порядка 60-90% патогенных аллелей. Обычный алгоритм диагностики – ступенчатый: генотируют эти две мутации, а затем проверяют наличие иных повреждений среди выявленных гетерозиготных носителей. Однако у народов неевропейского происхождения мутации p.Y179C и p.G396D не являются частыми. Если не учитывать этот факт и ограничиться применением ступенчатого подхода, в смешанных популяциях, таких как население США, можно «пропустить» около 25% случаев синдрома [Inra et al., 2015]. Проверка адекватности ступенчатого подхода в нашей популяции также являлась одной из задач настоящей работы. До проведения нашего исследования о структуре патогенных мутаций MUTYH в России было известно крайне мало: в работе [Музаффарова, 2005] был выявлен 1 пациент с гомозиготной мутацией p.Y179C. В более новом исследовании было

найден 2 случая MUTYH-ассоциированного полипоза, больные с гомозиготными мутациями p.Y179C и p.G396D. В проведенном одновременно с нашим исследованием [Поспехова и др., 2014] был выявлен 1 больной с гомозиготной мутацией p.G396D, один – с гетерозиготной мутацией p.G396D и два пациента с мутацией p.G183D. Значимость последней мутации не доказана, но это повреждение наблюдалось в сочетании с мутацией p.Y179C у польского больного [Skrzypczak et al., 2006]. Вызывает удивление, что этот аллель не встретился в дальнейшем в нашей выборке.

Итак, в группе из 10 больных полипозом толстой кишки без мутаций в гене APC нами было выявлено 2 (20%) пациента с биаллельными повреждениями гена MUTYH: [p.R245H];[p.G396D] и [p.P295L];[p.Q416X]. Частота синдрома в этой группе больных хорошо согласуется с мировыми данными [Dallosso et al., 2008; Gómez-Fernández et al., 2009; Papp et al., 2016; Nielsen et al., 2005; Sampson et al., 2003; Kairupan et al., 2005; Jo et al., 2005; Bouguen et al., 2007; Cattaneo et al., 2007].

Обсуждая спектр обнаруженных мутаций, надо сказать, что на замену p.R245H приходится 3% патогенных аллелей среди немецких больных MUTYH-ассоциированным полипозом [Aretz et al., 2006], а также совсем недавно было установлено, что эта мутация является ведущим "founder"-дефектом в Венгрии, стране, исторически населенной популяцией финно-угорского происхождения [Papp et al., 2016]. В Финляндии, однако, этот вариант выявлен не был [Alhorigo et al., 2005]. Мутация p.P295L несколько раз встречалась ранее при MUTYH-ассоциированном полипозе в европейских популяциях, например, в Германии [Vogt et al., 2009]. Мутация p.Q416X присутствует в виде единичной ссылки на неопубликованные данные во французской базе данных о мутациях в гене MUTYH [Grandval et al., 2015; UMD-MUTYH]. Необычный набор мутаций у пациентки № MG234, скорее всего, объясняется ее отличным от европейского этническим происхождением – больная имеет якутские корни. Применение ступенчатого подхода к молекулярно-генетической диагностике в данном случае привело бы к ложно-негативному результату.

Генотипирование частых европейских мутаций позволило выявить 3 случая в когорте из 91 РТК с характерной для MUTYH-ассоциированного полипоза соматической мутацией в гене KRAS. Тестирование гетерозигот позволило обнаружить еще три случая: [p.L111P];[p.G396D], [p.R245H];[p.G396D] и [p.Q293X];[p.G396D]. Таким образом, в этой группе частота больных с MUTYH-ассоциированным полипозом достигла 6/91 (7%). Мутация p.Q293X – новая, однако патогенность ее сомнений не вызывает в силу «транквилирующего» характера повреждения гена. Мутация p.L111P также встретилась впервые, и достаточно сложно доказать ее значимость. Мы не имели возможности проведения соответствующих функциональных тестов. Однако в том же кодоне встречается патогенное повреждение L111V [Guarinos et al., 2014], что служит

косвенным, но достаточно убедительным доказательством патогенности выявленной нами замены.

Мы обнаружили 2 образца, гетерозиготных по аллелям p.Y179C и p.R245H. Технические ограничения позволили лишь частично проскринировать кодирующую последовательность MUTYH в этих образцах, поэтому исключить возможность биаллельного повреждения нельзя. С целью установить вклад MUTYH-ассоциированного полипоза в заболеваемость РТК в целом мы оценили встречаемость повторяющихся мутаций (p.Y179C, p.R245H и p.G396D) в 167 неселектированных случаях РТК. Носителей биаллельных мутаций мы не обнаружили, однако было выявлено 2 случая гетерозиготного носительства аллелей p.R245H и p.G396D. В силу технических сложностей не удалось проверить всю кодирующую последовательность MUTYH у этих больных.

Наконец, мы определили частоту трех повторяющихся мутаций в крупной выборке здоровых контролей. В коллекции из 1120 образцов были выявлены все три повреждения MUTYH. Совокупная аллельная частота патогенных вариантов составила в популяции 0,67%. Таким образом, расчетная частота случаев синдрома, приходящихся на повторяющиеся повреждения в гене MUTYH, составляет 1:22957 человек. Это несколько меньше аналогичных расчетных величин в европейских популяциях, составляющих порядка 1:7695-1:15625 [Aretz et al., 2014]. При этом гетерозиготная мутация p.Y179C была обнаружена в 2/1120 (0,2%) случаев, p.R245H - в 1/1120 (0,1%) случаев и p.G396D – в 12/1120 (1,1%).

Рассматривая 8 выявленных нами случаев биаллельного носительства патогенных аллелей, можно отметить, что мутация p.G396D составила 7/16 (44%) от всех патогенных аллелей, мутация p.Y179C – 3/16 (19%), мутация p.R245H – 2/16 (13%). Всего в исследованных случаях РТК нами было выявлено 20 патогенных аллелей. На мутацию p.G396D пришлось 8/20 (40%) аллелей, на мутацию p.Y179C – 4/20 (20%), на мутацию p.R245H - 4/20 (20%). Аллели, выявленные единожды, в совокупности также составили пятую часть в структуре патогенных аллелей: 4/20 (20%). Структура аллелей в группе здоровых контролей достоверно отличалась от распределения патогенных вариантов в группе носителей мутаций, больных РТК; самым значительным при этом было отличие от носителей моноаллельных повреждений. Это известный феномен, связанный с гипоморфным характером мутации p.G396D [Nielsen et al., 2009a; Ali et al., 2008]. Ее встречаемость снижается в группах больных по сравнению с более высокопенетрантными повреждениями. Интересно, что этот эффект оказался сильнее выражен среди моноаллельных носителей мутации. Дискуссионным вопросом остается способность гетерозиготного повреждения MUTYH способствовать развитию РТК. По некоторым сведениям, такая способность есть лишь у высокопентрантной мутации p.Y179C [Theodoratou et al., 2010]. В отличие от аллеля p.G396D, функциональная активность MUTYH в случае мутации

p.R245H нарушена так же сильно, как при замене p.Y179C. Возможно, выраженность наблюдаемого нами эффекта снижения представленности аллеля p.G396D у гетерозигот связана с существованием более резкого разрыва в последствиях наличия различных по силе повреждений у моноаллельных носителей мутаций по сравнению с биаллельными.

Итак, частоты выявляемых случаев МАП для нашей популяции не отличаются от типичных при применении двух протестированных подходов к селекции больных на молекулярно-генетическую диагностику. Среди российских больных МАП не столь редко встречаются пациенты отличного от европейского этнического происхождения, поэтому применение ступенчатого подхода к молекулярно-генетической диагностике МАП вполне оправданно лишь как предварительный этап. Если не удастся выявить частые повреждения, то требуется анализ всей последовательности гена MUTYH.

Идентификация повторяющейся мутации p.R245H является ценным результатом настоящего исследования. Интересной научной задачей в дальнейшем было бы гаплотипирование, призванное установить единое или различное происхождение мутации p.R245H в Венгрии и в России. Представляется необходимым включение данной мутации в панель для скрининга больных в рамках ступенчатого подхода к диагностике.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выводы

1. Мутация p.R226L в гене MLH1 имеет повторяющийся характер в российской популяции и встречается в 9-13% случаев синдрома Линча.
2. На два повторяющихся повреждения в гене APC, p.Q1062fs* и p.E1309Dfs*4, приходится 30% случаев семейного аденоматозного полипоза.
3. Биаллельные дефекты гена MUTYH встречаются с частотой 7% у больных РТК с соматической мутацией p.G12C в гене KRAS.
4. Впервые обнаружен повторяющийся характер мутации p. R245H в гене MUTYH в российской популяции.
5. Расчетная популяционная частота случаев MUTYH-ассоциированного полипоза, связанных с тремя повторяющимися в России мутациями, составила 1:22957, что приблизительно в 1,5-3 раза меньше, чем аналогичные показатели для европейских популяций (1:7695-1:15625).

Практические рекомендации

1. При проведении молекулярно-генетического анализа для выявления синдрома Линча целесообразно внедрение предварительного генотипирования трех мутаций: p.R226L в гене MLH1, p.R621X в гене MSH2, и, возможно, p.K618del в гене MLH1. Повторяющийся характер последнего повреждения, не выявленного в ходе настоящей диссертационной работы, известен по данным литературы.
2. При проведении молекулярно-генетического анализа для выявления наследственных мутаций в гене APC целесообразно внедрение предварительного тестирования на мутации p.Q1062fs* и p.E1309Dfs*4.
3. Наличие соматической мутации p.G12C в гене KRAS при РТК может служить поводом к тестированию больного на наличие наследственных мутаций в гене MUTYH, так как в этой группе пациентов биаллельные дефекты MUTYH встречаются с частотой 7%.
4. При проведении молекулярно-генетического анализа для выявления наследственных мутаций в гене MUTYH целесообразно внедрение предварительного тестирования не только на повторяющиеся мутации p.Y179C и p.G396D, но и на мутацию p.R245H.
5. Больным MUTYH-ассоциированным полипозом не европейского этнического происхождения показано определение всей последовательности гена MUTYH.

Перспективы разработки темы

Представляется целесообразным продолжение молекулярно-эпидемиологических исследований, направленных на уточнение частоты и спектра мутаций, ассоциированных с частыми формами наследственного рака толстой кишки в России. Также представляется важным изучение клинико-биологического своеобразия наследственных форм РТК, особенно недоизученного MUTYH-ассоциированного полипоза

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Злокачественные новообразования в России в 2014 году (заболеваемость и смертность) / Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. — М.: МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИРЦ» МЗ РФ. — 2016. — 250 с.
2. Состояние онкологической помощи населению России в 2015 году / под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. - М. : МНИОИ им. П.А. - филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2016. - 236 с.
3. Коротаяева А.А., Музаффарова Т.А., Карпухин А.В. Молекулярно-генетические причины множественного полипоза и рака толстой кишки: наследственные мутации в гене

МУН // Медицинская генетика: ежемесячный научно-практический журнал. - 2008. - Том 7. - С. 10-17.

4. Корчагина Е.Л., Белев Н.Ф., Казубская Т.П., Барсуков Ю.А., Тимофеев Ю.М., Музаффарова Т. А., А.В. Карпухин А.В., Р.Ф. Гарькавцева Р.Ф. Клинико-генетические аспекты рака толстой кишки и идентификация его наследственных форм. // Колопроктология. 2008. – Том 2. - С. 19-24.

5. Музаффарова Т.А. Молекулярно-генетические особенности семейного аденоматозного полипоза :диссертация ...кандидата медицинских наук: 03.00.15 / Музаффарова Татьяна Александровна; [Место защиты: ГУ "Медико-генетический научный центр РАМН"]. - Москва, 2005. - 120 с. : 13 ил.

6. Поспехова Н.И., Цуканов А.С., Шубин В.П., Сачков И.Ю., Ачкасов С.И., Кашников В.Н., Фролов С.А., Шельгин Ю.А. Молекулярно-генетическая диагностика основных наследственных форм колоректального рака // МедАлфавит. – 2014. – Т.1. – С.11-15

7. Талалаев А.Г., Тертычный А.С., Коновалов Д.М., Маренич Н.С., Варфоломеева С.Р., Добренков К.В. Синдром Тюрко (обзор литературы и описание собственного наблюдения). // Вопросы гематологии, онкологии и иммунопатологии в педиатрии. - 2006. - Т. 5. - С. 44-47.

8. Aarnio M, Mecklin JP, Aaltonen LA, Nyström-Lahti M, Järvinen HJ. Life-time risk of different cancers in hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC) syndrome // Int J Cancer. – 1995. – V. 64. – P. 430-433.

9. Abdelmaksoud-Dammak R, Miladi-Abdennadher I, Amouri A, Tahri N, Ayadi L, Khabir A, Frikha F, Gargouri A, Mokdad-Gargouri R. High prevalence of the c.1227_1228dup (p.Glu410Glyfs*43) mutation in Tunisian families affected with MUTYH-associated-polyposis // Fam Cancer. – 2012. – V. 11. – P. 503-508.

10. Aceto G, Curia MC, Veschi S, De Lellis L, Mammarella S, Catalano T, Stuppia L, Palka G, Valanzano R, Tonelli F, Casale V, Stigliano V, Cetta F, Battista P, Mariani-Costantini R, Cama A. Mutations of APC and МУН in unrelated Italian patients with adenomatous polyposis coli // Hum Mutat. – 2005. – V. 26. – P. 394.

11. Adam R, Spier I, Zhao B, Kloth M, Marquez J, Hinrichsen I, Kirfel J, Tafazzoli A, Horpaopan S, Uhlhaas S, Stienen D, Friedrichs N, Altmüller J, Laner A, Holzapfel S, Peters S, Kayser K, Thiele H, Holinski-Feder E, Marra G, Kristiansen G, Nöthen MM, Büttner R, Möslein G, Betz RC, Brieger A, Lifton RP, Aretz S. Exome Sequencing Identifies Biallelic MSH3 Germline Mutations as a Recessive Subtype of Colorectal Adenomatous Polyposis // Am J Hum Genet. – 2016. – V. 99. – P. 337-351.

12. Ahadova A, von Knebel Doeberitz M, Bläker H, Kloor M. CTNNB1-mutant colorectal carcinomas with immediate invasive growth: a model of interval cancers in Lynch syndrome // *Fam Cancer*. – 2016. - [Epub ahead of print].
13. Aimé A, Coulet F, Lefevre JH, Colas C, Cervera P, Flejou JF, Lascols O, Soubrier F, Parc Y. Somatic c.34G>T KRAS mutation: a new prescreening test for MUTYH-associated polyposis? // *Cancer Genet*. – 2015. – V. 208. - P. 390-395.
14. Ait Ouakrim D, Dashti SG, Chau R, Buchanan DD, Clendenning M, Rosty C, Winship IM, Young JP, Giles GG, Leggett B, Macrae FA, Ahnen DJ, Casey G, Gallinger S, Haile RW, Le Marchand L, Thibodeau SN, Lindor NM, Newcomb PA, Potter JD, Baron JA, Hopper JL, Jenkins MA, Win AK. Aspirin, Ibuprofen, and the Risk of Colorectal Cancer in Lynch Syndrome // *J Natl Cancer Inst*. – 2015. – V.107. - pii: djv170.
15. Ait Ouakrim D, Pizot C, Boniol M, Malvezzi M, Boniol M, Negri E, Bota M, Jenkins MA, Bleiberg H, Autier P. Trends in colorectal cancer mortality in Europe: retrospective analysis of the WHO mortality database // *BMJ*. – 2015. – V. 351. – P. h4970.
16. Alam NA, Gorman P, Jaeger EE, Kelsell D, Leigh IM, Ratnavel R, Murdoch ME, Houlston RS, Aaltonen LA, Roylance RR, Tomlinson IP. Germline deletions of EXO1 do not cause colorectal tumors and lesions which are null for EXO1 do not have microsatellite instability // *Cancer Genet Cytogenet*. – 2003. - V. 147. – P. 121-127.
17. Ali M, Kim H, Cleary S, Cupples C, Gallinger S, Bristow R. Characterization of mutant MUTYH proteins associated with familial colorectal cancer. // *Gastroenterology*. – 2008. – V. 135. – P. 499-507.
18. Al-Tassan N, Chmiel NH, Maynard J, Fleming N, Livingston AL, Williams GT, Hodges AK, Davies DR, David SS, Sampson JR, Cheadle JP. Inherited variants of MYH associated with somatic G:C-->T:A mutations in colorectal tumors. // *Nat Genet*. – 2002. - V. 30. –P. 227-232.
19. Albuquerque C, Breukel C, van der Luijt R, Fidalgo P, Lage P, Slors FJ, Leitão CN, Fodde R, Smits R. The 'just-right' signaling model: APC somatic mutations are selected based on a specific level of activation of the beta-catenin signaling cascade. // *Hum Mol Genet*. – 2002. – V. 11. – P. 1549-1560.
20. Alexandrov LB, Nik-Zainal S, Wedge DC, Aparicio SA, Behjati S, Biankin AV, Bignell GR, Bolli N, Borg A, Børresen-Dale AL, Boyault S, Burkhardt B, Butler AP, Caldas C, Davies HR, Desmedt C, Eils R, Eyfjörd JE, Foekens JA, Greaves M, Hosoda F, Hutter B, Illicic T, Imbeaud S, Imielinski M, Jäger N, Jones DT, Jones D, Knappskog S, Kool M, Lakhani SR, López-Otín C, Martin S, Munshi NC, Nakamura H, Northcott PA, Pajic M, Papaemmanuil E, Paradiso A, Pearson JV, Puente XS, Raine K, Ramakrishna M, Richardson AL, Richter J,

Rosenstiel P, Schlesner M, Schumacher TN, Span PN, Teague JW, Totoki Y, Tutt AN, Valdés-Mas R, van Buuren MM, van 't Veer L, Vincent-Salomon A, Waddell N, Yates LR; Australian Pancreatic Cancer Genome Initiative; ICGC Breast Cancer Consortium; ICGC MMML-Seq Consortium; ICGC PedBrain, Zucman-Rossi J, Futreal PA, McDermott U, Lichter P, Meyerson M, Grimmond SM, Siebert R, Campo E, Shibata T, Pfister SM, Campbell PJ, Stratton MR. Signatures of mutational processes in human cancer. // *Nature*. – 2013. – V. 500. – P. 415-421.

21. Alhopuro P, Parker AR, Lehtonen R, Enholm S, Järvinen HJ, Mecklin JP, Karhu A, Eshleman JR, Aaltonen LA. A novel functionally deficient MYH variant in individuals with colorectal adenomatous polyposis. // *Hum Mutat*. – 2005. - V. 26. - P.393.

22. Allaire JM, Roy SA, Ouellet C, Lemieux É, Jones C, Paquet M, Boudreau F, Perreault N. Bmp signaling in colonic mesenchyme regulates stromal microenvironment and protects from polyposis initiation. // *Int J Cancer*. – 2016. – V. 138. – P.2700-2712.

23. Amayiri N, Tabori U, Campbell B, Bakry D, Aronson M, Durno C, Rakopoulos P, Malkin D, Qaddoumi I, Musharbash A, Swaidan M, Bouffet E, Hawkins C, Al-Hussaini M; BMMRD Consortium. High frequency of mismatch repair deficiency among pediatric high grade gliomas in Jordan. // *Int J Cancer*. – 2016. – V. 138. – P.380-385.

24. Ananthakrishnan AN, Cheng SC, Cai T, Cagan A, Gainer VS, Szolovits P, Shaw SY, Churchill S, Karlson EW, Murphy SN, Kohane I, Liao KP. Association between reduced plasma 25-hydroxy vitamin D and increased risk of cancer in patients with inflammatory bowel diseases. // *Clin Gastroenterol Hepatol*. – 2014. – V. 12. – P. 821-827.

25. Antill YC, Dowty JG, Win AK, Thompson T, Walsh MD, Cummings MC, Gallinger S, Lindor NM, Le Marchand L, Hopper JL, Newcomb PA, Haile RW, Church J, Tucker KM, Buchanan DD, Young JP, Winship IM, Jenkins MA. Lynch syndrome and cervical cancer. // *Int J Cancer*. – 2015. - V. 137. – P. 2757-2761.

26. Aoude LG, Heitzer E, Johansson P, Gartside M, Wadt K, Pritchard AL, Palmer JM, Symmons J, Gerdes AM, Montgomery GW, Martin NG, Tomlinson I, Kearsley S, Hayward NK. POLE mutations in families predisposed to cutaneous melanoma // *Fam Cancer*. – 2015. – V. 14. –P. 621-628.

27. Aran D, Lasry A, Zinger A, Biton M, Pikarsky E, Hellman A, Butte AJ, Ben-Neriah Y. Widespread parainflammation in human cancer. // *Genome Biol*. – 2016. – V. 17. – P. 145.

28. Aretz S, Stienen D, Uhlhaas S, Loff S, Back W, Pagenstecher C, McLeod DR, Graham GE, Mangold E, Santer R, Propping P, Friedl W. High proportion of large genomic STK11 deletions in Peutz-Jeghers syndrome. // *Hum Mutat*. – 2005. - V. 26.- P. 513-519.

29. Aretz S, Stienen D, Uhlhaas S, Stolte M, Entius MM, Loff S, Back W, Kaufmann A, Keller KM, Blaas SH, Siebert R, Vogt S, Spranger S, Holinski-Feder E, Sunde L, Propping P,

Friedl W. High proportion of large genomic deletions and a genotype phenotype update in 80 unrelated families with juvenile polyposis syndrome. // *J Med Genet.* – 2007. – V. 44. – P. 702-709.

30. Aretz S, Tricarico R, Papi L, Spier I, Pin E, Horpaopan S, Cordisco EL, Pedroni M, Stienen D, Gentile A, Panza A, Piepoli A, de Leon MP, Friedl W, Viel A, Genuardi M. MUTYH-associated polyposis (MAP): evidence for the origin of the common European mutations p.Tyr179Cys and p.Gly396Asp by founder events. // *Eur J Hum Genet.* – 2014. – V. 22. – P. 923-929.

31. Aretz S, Uhlhaas S, Caspari R, Mangold E, Pagenstecher C, Propping P, Friedl W. Frequency and parental origin of de novo APC mutations in familial adenomatous polyposis. // *Eur J Hum Genet.* – 2004. – V. 12. – P. 52-58.

32. Aretz S, Uhlhaas S, Goergens H, Siberg K, Vogel M, Pagenstecher C, Mangold E, Caspari R, Propping P, Friedl W. MUTYH-associated polyposis: 70 of 71 patients with biallelic mutations present with an attenuated or atypical phenotype. // *Int J Cancer.* – 2006. – V. 119. – P. 807-814.

33. Aretz S, Uhlhaas S, Sun Y, Pagenstecher C, Mangold E, Caspari R, Möslein G, Schulmann K, Propping P, Friedl W. Familial adenomatous polyposis: aberrant splicing due to missense or silent mutations in the APC gene. // *Hum Mutat.* – 2004. – V. 24. – P. 370-380.

34. Aretz S, Vasen HF, Olschwang S. Clinical Utility Gene Card for: Familial adenomatous polyposis (FAP) and attenuated FAP (AFAP)--update 2014. // *Eur J Hum Genet.* – 2015. – V. 23

35. Arnold M, Sierra MS, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. // *Gut.* – 2016. - pii: gutjnl-2015-310912. - [Epub ahead of print]

36. Aronson M, Gallinger S, Cohen Z, Cohen S, Dvir R, Elhasid R, Baris HN, Kariv R, Druker H, Chan H, Ling SC, Kortan P, Holter S, Semotiuk K, Malkin D, Farah R, Sayad A, Heald B, Kalady MF, Penney LS, Rideout AL, Rashid M, Hasadsri L, Pichurin P, Riegert-Johnson D, Campbell B, Bakry D, Al-Rimawi H, Alharbi QK, Alharbi M, Shamvil A, Tabori U, Durno C. Gastrointestinal Findings in the Largest Series of Patients With Hereditary Biallelic Mismatch Repair Deficiency Syndrome: Report from the International Consortium. // *Am J Gastroenterol.* – 2016. – V. 111. – P. 275-284.

37. Arora S, Yan H, Cho I, Fan HY, Luo B, Gai X, Bodian DL, Vockley JG, Zhou Y, Handorf EA, Egleston BL, Andrade MD, Nicolas E, Serebriiskii IG, Yen TJ, Hall MJ, Golemis EA, Enders GH. Genetic Variants That Predispose to DNA Double-Strand Breaks in Lymphocytes From a Subset of Patients With Familial Colorectal Carcinomas. // *Gastroenterology.* – 2015. – V. 149. – P. 1872-1883.

38. Ashley DJ. Colonic cancer arising in polyposis coli. // *J Med Genet.* – 1969. - V. 6. - P. 376-378.
39. Ashton KA, Meldrum CJ, McPhillips ML, Kairupan CF, Scott RJ. Frequency of the Common MYH Mutations (G382D and Y165C) in MMR Mutation Positive and Negative HNPCC Patients. // *Hered Cancer Clin Pract.* – 2005. – V.3. – P. 65-70.
40. Askling J, Dickman PW, Karlén P, Broström O, Lapidus A, Löfberg R, Ekblom A. Family history as a risk factor for colorectal cancer in inflammatory bowel disease. // *Gastroenterology.* – 2001. – V. 120. – P. 1356-1362.
41. Attard TM, Giglio P, Koppula S, Snyder C, Lynch HT. Brain tumors in individuals with familial adenomatous polyposis: a cancer registry experience and pooled case report analysis. // *Cancer.* – 2007. – V. 109. – P.761-766.
42. Aune D, Chan DS, Lau R, Vieira R, Greenwood DC, Kampman E, Norat T. Carbohydrates, glycemic index, glycemic load, and colorectal cancer risk: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. // *Cancer Causes Control.* – 2012. – V. 23. – P. 521-535.
43. Aune D, Lau R, Chan DS, Vieira R, Greenwood DC, Kampman E, Norat T. Dairy products and colorectal cancer risk: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. // *Ann Oncol.* – 2012. – V. 23. – P. 37-45.
44. Avezzù A, Agostini M, Pucciarelli S, Lise M, Urso ED, Mammi I, Maretto I, Enzo MV, Pastrello C, Lise M, Nitti D, Viel A. The role of MYH gene in genetic predisposition to colorectal cancer: another piece of the puzzle. // *Cancer Lett.* – 2008. –V. 268. - P.308-313.
45. Aykan NF. Red Meat and Colorectal Cancer. // *Oncol Rev.* – 2015. – V. 9. - P. 288.
46. Baggott JE, Oster RA, Tamura T. Meta-analysis of cancer risk in folic acid supplementation trials. // *Cancer Epidemiol.* – 2012. – V. 36. – P. 78-81.
47. Baglietto L, Lindor NM, Dowty JG, White DM, Wagner A, Gomez Garcia EB, Vriends AH; Dutch Lynch Syndrome Study Group, Cartwright NR, Barnetson RA, Farrington SM, Tenesa A, Hampel H, Buchanan D, Arnold S, Young J, Walsh MD, Jass J, Macrae F, Antill Y, Winship IM, Giles GG, Goldblatt J, Parry S, Suthers G, Leggett B, Butz M, Aronson M, Poynter JN, Baron JA, Le Marchand L, Haile R, Gallinger S, Hopper JL, Potter J, de la Chapelle A, Vasen HF, Dunlop MG, Thibodeau SN, Jenkins MA. Risks of Lynch syndrome cancers for MSH6 mutation carriers. *J Natl Cancer Inst.* 2010 Feb 3;102(3):193-201. doi: 10.1093/jnci/djp473. Epub 2009 Dec 22.
48. Baglioni S, Melean G, Gensini F, Santucci M, Scatizzi M, Papi L, Genuardi M. A kindred with MYH-associated polyposis and pilomatricomas. *Am J Med Genet A.* 2005 Apr 15;134A(2):212-4.

49. Bagnardi V, Rota M, Botteri E, Tramacere I, Islami F, Fedirko V, Scotti L, Jenab M, Turati F, Pasquali E, Pelucchi C, Galeone C, Bellocco R, Negri E, Corrao G, Boffetta P, La Vecchia C. Alcohol consumption and site-specific cancer risk: a comprehensive dose-response meta-analysis. *Br J Cancer*. 2015 Feb 3;112(3):580-93. doi: 10.1038/bjc.2014.579. Epub 2014 Nov 25.
50. Balaguer F, Castellví-Bel S, Castells A, Andreu M, Muñoz J, Gisbert JP, Llor X, Jover R, de Cid R, Gonzalo V, Bessa X, Xicola RM, Pons E, Alenda C, Payá A, Piqué JM; Gastrointestinal Oncology Group of the Spanish Gastroenterological Association. Identification of MYH mutation carriers in colorectal cancer: a multicenter, case-control, population-based study. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007 Mar;5(3):379-87.
51. Bao F, Panarelli NC, Rennert H, Sherr DL, Yantiss RK. Neoadjuvant therapy induces loss of MSH6 expression in colorectal carcinoma. // *Am J Surg Pathol*. 2010 Dec;34(12):1798-804. doi: 10.1097/PAS.0b013e3181f906cc.
52. Baris HN, Barnes-Kedar I, Toledano H, Halpern M, Hershkovitz D, Lossos A, Lerer I, Peretz T, Kariv R, Cohen S, Half EE, Magal N, Drasinover V, Wimmer K, Goldberg Y, Bercovich D, Levi Z. Constitutional Mismatch Repair Deficiency in Israel: High Proportion of Founder Mutations in MMR Genes and Consanguinity. *Pediatr Blood Cancer*. 2016 Mar;63(3):418-27. doi: 10.1002/pbc.25818. Epub 2015 Nov 6.
53. Barnetson RA, Devlin L, Miller J, Farrington SM, Slater S, Drake AC, Campbell H, Dunlop MG, Porteous ME. Germline mutation prevalence in the base excision repair gene, MYH, in patients with endometrial cancer. *Clin Genet*. 2007 Dec;72(6):551-5. Epub 2007 Oct 22.
54. Baron JA, Barry EL, Mott LA, Rees JR, Sandler RS, Snover DC, Bostick RM, Ivanova A, Cole BF, Ahnen DJ, Beck GJ, Bresalier RS, Burke CA, Church TR, Cruz-Correa M, Figueiredo JC, Goodman M, Kim AS, Robertson DJ, Rothstein R, Shaikat A, Seabrook ME, Summers RW. A Trial of Calcium and Vitamin D for the Prevention of Colorectal Adenomas. *N Engl J Med*. 2015 Oct 15;373(16):1519-30. doi: 10.1056/NEJMoa1500409.
55. Barrow P, Khan M, Lalloo F, Evans DG, Hill J. Systematic review of the impact of registration and screening on colorectal cancer incidence and mortality in familial adenomatous polyposis and Lynch syndrome. *Br J Surg*. 2013 Dec;100(13):1719-31. doi: 10.1002/bjs.9316. Review.
56. Barrow E, Robinson L, Alduaij W, Shenton A, Clancy T, Lalloo F, Hill J, Evans DG. Cumulative lifetime incidence of extracolonic cancers in Lynch syndrome: a report of 121 families with proven mutations. *Clin Genet*. 2009 Feb;75(2):141-9. doi: 10.1111/j.1399-0004.2008.01125.x.

57. Bartley AN, Luthra R, Saraiya DS, Urbauer DL, Broaddus RR. Identification of cancer patients with Lynch syndrome: clinically significant discordances and problems in tissue-based mismatch repair testing. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2012 Feb;5(2):320-7. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-11-0288. Epub 2011 Nov 15.
58. Bartosova Z, Fridrichova I, Bujalkova M, Wolf B, Ilencikova D, Krizan P, Hlavcak P, Palaj J, Lukac L, Lukacova M, Böör A, Haider R, Jiricny J, Nyström-Lahti M, Marra G. Novel MLH1 and MSH2 germline mutations in the first HNPCC families identified in Slovakia. // *Hum Mutat*. 2003 Apr;21(4):449.
59. Bashir A, Miskeen AY, Hazari YM, Asrafuzzaman S, Fazili KM. *Fusobacterium nucleatum*, inflammation, and immunity: the fire within human gut *Tumour Biol*. 2016 Mar;37(3):2805-10. doi: 10.1007/s13277-015-4724-0. Epub 2015 Dec 30. Review.
60. Basson A, Trotter A, Rodriguez-Palacios A, Cominelli F. Mucosal Interactions between Genetics, Diet, and Microbiome in Inflammatory Bowel Disease. *Front Immunol*. 2016 Aug 2;7:290. doi: 10.3389/fimmu.2016.00290. eCollection 2016. Review.
61. Baudhuin LM, Ferber MJ, Winters JL, Steenblock KJ, Swanson RL, French AJ, Butz ML, Thibodeau SN. Characterization of hMLH1 and hMSH2 gene dosage alterations in Lynch syndrome patients. // *Gastroenterology*. 2005 Sep;129(3):846-54.
62. Beaugerie L, Itzkowitz SH. Cancers Complicating Inflammatory Bowel Disease. *N Engl J Med*. 2015 Jul 9;373(2):195. doi: 10.1056/NEJMc1505689. No abstract available.
63. Beggs AD, Latchford AR, Vasen HF, Moslein G, Alonso A, Aretz S, Bertario L, Blanco I, Bülow S, Burn J, Capella G, Colas C, Friedl W, Møller P, Hes FJ, Järvinen H, Mecklin JP, Nagengast FM, Parc Y, Phillips RK, Hyer W, Ponz de Leon M, Renkonen-Sinisalo L, Sampson JR, Stormorken A, Tejpar S, Thomas HJ, Wijnen JT, Clark SK, Hodgson SV. Peutz-Jeghers syndrome: a systematic review and recommendations for management. *Gut*. 2010 Jul;59(7):975-86. doi: 10.1136/gut.2009.198499.
64. Belhadj S, Mur P, Navarro M, González S, Moreno V, Capellá G, Valle L. Delineating the phenotypic spectrum of the NTHL1-associated polyposis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2016 Oct 5. pii: S1542-3565(16)30865-5. doi: 10.1016/j.cgh.2016.09.153. No abstract available.
65. Beiner ME, Zhang WW, Zhang S, Gallinger S, Sun P, Narod SA. Mutations of the MYH gene do not substantially contribute to the risk of breast cancer. // *Breast Cancer Res Treat*. – 2009. – V. 114. – P. 575-578.
66. Bellido F, Pineda M, Aiza G, Valdés-Mas R, Navarro M, Puente DA, Pons T, González S, Iglesias S, Darder E, Piñol V, Soto JL, Valencia A, Blanco I, Urioste M, Brunet J, Lázaro C, Capellá G, Puente XS, Valle L. POLE and POLD1 mutations in 529 kindred with familial

colorectal cancer and/or polyposis: review of reported cases and recommendations for genetic testing and surveillance. // *Genet Med.* – 2016. – V. 18. – P. 325-332.

67. Ben Q, Zhong J, Liu J, Wang L, Sun Y, Yv L, Yuan Y. Association Between Consumption of Fruits and Vegetables and Risk of Colorectal Adenoma: A PRISMA-Compliant Meta-Analysis of Observational Studies. // *Medicine (Baltimore).* – 2015. – V. 94. – P. e1599.

68. Berends MJ, Hollema H, Wu Y, van Der Sluis T, Mensink RG, ten Hoor KA, Sijmons RH, de Vries EG, Pras E, Mourits MJ, Hofstra RM, Buys CH, Kleibeuker JH, van Der Zee AG. MLH1 and MSH2 protein expression as a pre-screening marker in hereditary and non-hereditary endometrial hyperplasia and cancer. // *Int J Cancer.* – 2001. – V. 92. – P. 398-403.

69. Berginc G, Bracko M, Ravnik-Glavac M, Glavac D. Screening for germline mutations of MLH1, MSH2, MSH6 and PMS2 genes in Slovenian colorectal cancer patients: implications for a population specific detection strategy of Lynch syndrome. // *Fam Cancer.* – 2009. – V. 8. – P. 421-429.

70. Berstein LM. Newborn macrosomy and cancer. // *Adv Cancer Res.* – 1988. – V. 50. – P. 231-278.

71. Bessa X, Ballesté B, Andreu M, Castells A, Bellosillo B, Balaguer F, Castellví-Bel S, Paya A, Jover R, Alenda C, Titó L, Martínez-Villacampa M, Vilella A, Xicola RM, Pons E, Llor X; Gastrointestinal Oncology Group of Spanish Gastroenterological Association. A prospective, multicenter, population-based study of BRAF mutational analysis for Lynch syndrome screening. // *Clin Gastroenterol Hepatol.* – 2008. – V. 6. – P. 206-214.

72. Bettington M, Walker N, Rosty C, Brown I, Clouston A, McKeone D, Pearson SA, Leggett B, Whitehall V. Clinicopathological and molecular features of sessile serrated adenomas with dysplasia or carcinoma. // *Gut.* – 2015. - pii: gutjnl-2015-310456. - [Epub ahead of print]

73. Beyaz S, Mana MD, Roper J, Kedrin D, Saadatpour A, Hong SJ, Bauer-Rowe KE, Xifaras ME, Akkad A, Arias E, Pinello L, Katz Y, Shinagare S, Abu-Remaileh M, Mihaylova MM, Lamming DW, Dogum R, Guo G, Bell GW, Selig M, Nielsen GP, Gupta N, Ferrone CR, Deshpande V, Yuan GC, Orkin SH, Sabatini DM, Yilmaz ÖH. High-fat diet enhances stemness and tumorigenicity of intestinal progenitors. // *Nature.* – 2016. – V. 531. – P. 53-58.

74. Bianchi F, Galizia E, Catalani R, Belvederesi L, Ferretti C, Corradini F, Cellerino R. CAT25 is a mononucleotide marker to identify HNPCC patients. // *J Mol Diagn.* – 2009. - V. 11. – P. 248-252.

75. Bikle DD. Vitamin D and cancer: the promise not yet fulfilled. // *Endocrine.* – 2014. - V. 46. – P. 29-38.

76. Billingsley CC, Cohn DE, Mutch DG, Stephens JA, Suarez AA, Goodfellow PJ. Polymerase ϵ (POLE) mutations in endometrial cancer: clinical outcomes and implications for Lynch syndrome testing. // *Cancer*. – 2015. – V. 121. – P. 386-394.
77. Bíró A, Fehér T, Bárány G, Pamjav H. Testing Central and Inner Asian admixture among contemporary Hungarians. // *Forensic Sci Int Genet*. – 2015. – V. 15. – P.121-126.
78. Bisgaard ML, Fenger K, Bülow S, Niebuhr E, Mohr J. Familial adenomatous polyposis (FAP): frequency, penetrance, and mutation rate. // *Hum Mutat*. – 1994. – V. 3. – P. 121-125.
79. Bjelakovic G, Gluud LL, Nikolova D, Whitfield K, Krstic G, Wetterslev J, Gluud C. Vitamin D supplementation for prevention of cancer in adults. // *Cochrane Database Syst Rev*. – 2014. - (6):CD007469.
80. Blatter RH, Plasilova M, Wenzel F, Gokaslan ST, Terracciano L, Ashfaq R, Heinemann K. Somatic alterations in juvenile polyps from BMPR1A and SMAD4 mutation carriers. // *Genes Chromosomes Cancer*. – 2015. - V. 54.- P. 575-582.
81. Bodo S, Colas C, Buhard O, Collura A, Tinat J, Lavoine N, Guilloux A, Chalastanis A, Lafitte P, Coulet F, Buisine MP, Ilencikova D, Ruiz-Ponte C, Kinzel M, Grandjouan S, Brems H, Lejeune S, Blanché H, Wang Q, Caron O, Cabaret O, Svrcek M, Vidaud D, Parfait B, Verloes A, Knappe UJ, Soubrier F, Mortemousque I, Leis A, Auclair-Perrossier J, Frébourg T, Fléjou JF, Entz-Werle N, Leclerc J, Malka D, Cohen-Haguenaer O, Goldberg Y, Gerdes AM, Fedhila F, Mathieu-Dramard M, Hamelin R, Wafaa B, Gauthier-Villars M, Bourdeaut F, Sheridan E, Vasen H, Brugières L, Wimmer K, Muleris M, Duval A; European Consortium “Care for CMMRD”. Diagnosis of Constitutional Mismatch Repair-Deficiency Syndrome Based on Microsatellite Instability and Lymphocyte Tolerance to Methylating Agents. // *Gastroenterology*. – 2015. - V. 149. – P. 1017-1029.
82. Boland CR, Goel A. Microsatellite instability in colorectal cancer. // *Gastroenterology*. – 2010. – V. 138. – P. 2073-2087.
83. Boland CR, Shike M. Report from the Jerusalem workshop on Lynch syndrome-hereditary nonpolyposis colorectal cancer. // *Gastroenterology*. – 2010. –V.138. - P.2197.
84. Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, Sidransky D, Eshleman JR, Burt RW, Meltzer SJ, Rodriguez-Bigas MA, Fodde R, Ranzani GN, Srivastava S. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. // *Cancer Res*. – 1998. – V. 58. – P. 5248-5257.
85. Bolderson E, Scorch J, Helleday T, Smythe C, Meuth M. ATM is required for the cellular response to thymidine induced replication fork stress. // *Hum Mol Genet*. – 2004. – V. 13. – P. 2937-2945.

86. Boleij A, van Gelder MM, Swinkels DW, Tjalsma H. Clinical Importance of *Streptococcus gallolyticus* infection among colorectal cancer patients: systematic review and meta-analysis. // *Clin Infect Dis.* – 2011. – V. 53. – P. 870-878.
87. Boleij A, Hechenbleikner EM, Goodwin AC, Badani R, Stein EM, Lazarev MG, Ellis B, Carroll KC, Albesiano E, Wick EC, Platz EA, Pardoll DM, Sears CL. The *Bacteroides fragilis* toxin gene is prevalent in the colon mucosa of colorectal cancer patients. // *Clin Infect Dis.* – 2015. – V. 60. - P. 208-215.
88. Bonadona V, Bonaïti B, Olschwang S, Grandjouan S, Huiart L, Longy M, Guimbaud R, Buecher B, Bignon YJ, Caron O, Colas C, Noguès C, Lejeune-Dumoulin S, Olivier-Faivre L, Polycarpe-Osaer F, Nguyen TD, Desseigne F, Saurin JC, Berthet P, Leroux D, Duffour J, Manouvrier S, Frébourg T, Sobol H, Lasset C, Bonaïti-Pellié C; French Cancer Genetics Network. Cancer risks associated with germline mutations in *MLH1*, *MSH2*, and *MSH6* genes in Lynch syndrome. // *JAMA.* – 2011. – V. 305. – P. 2304-2310. .
89. Bond CE, Nancarrow DJ, Wockner LF, Wallace L, Montgomery GW, Leggett BA, Whitehall VL. Microsatellite stable colorectal cancers stratified by the *BRAF* V600E mutation show distinct patterns of chromosomal instability. // *PLoS One.* – 2014. – V. 9. - P. e91739.
90. Bonnet D, Selves J, Toulas C, Danjoux M, Duffas JP, Portier G, Kirzin S, Ghouti L, Carrère N, Suc B, Alric L, Barange K, Buscail L, Chaubard T, Imani K, Guimbaud R. Simplified identification of Lynch syndrome: a prospective, multicenter study. // *Dig Liver Dis.* – 2012. – V. 44. – P. 515-522.
91. Boparai KS, Dekker E, Van Eeden S, Polak MM, Bartelsman JF, Mathus-Vliegen EM, Keller JJ, van Noesel CJ. Hyperplastic polyps and sessile serrated adenomas as a phenotypic expression of MYH-associated polyposis. // *Gastroenterology.* – 2008. – V. 135. – P. 2014-2018.
92. Borelli I, Barberis MA, Spina F, Casalis Cavalchini GC, Vivinet C, Balestrino L, Micheletti M, Allavena A, Sala P, Carcassi C, Pasini B. A unique *MSH2* exon 8 deletion accounts for a major portion of all mismatch repair gene mutations in Lynch syndrome families of Sardinian origin. // *Eur J Hum Genet.* – 2013. – V. 21. – P. 154-161.
93. Borelli I, Casalis Cavalchini GC, Del Peschio S, Micheletti M, Venesio T, Sarotto I, Allavena A, Delsedime L, Barberis MA, Mandrile G, Berchiolla P, Ogliara P, Bracco C, Pasini B. A founder *MLH1* mutation in Lynch syndrome families from Piedmont, Italy, is associated with an increased risk of pancreatic tumours and diverse immunohistochemical patterns. // *Fam Cancer.* – 2014. - V. 13. – P. 401-413.
94. Borràs E, Pineda M, Blanco I, Jewett EM, Wang F, Teulé A, Caldés T, Urioste M, Martínez-Bouzas C, Brunet J, Balmaña J, Torres A, Ramón y Cajal T, Sanz J, Pérez-Cabornero L, Castellví-Bel S, Alonso A, Lanás A, González S, Moreno V, Gruber SB, Rosenberg NA,

- Mukherjee B, Lázaro C, Capellá G. MLH1 founder mutations with moderate penetrance in Spanish Lynch syndrome families. // *Cancer Res.* – 2010. – V. 70. – P. 7379-7391.
95. Borun P, De Rosa M, Nedoszytko B, Walkowiak J, Plawski A. Specific Alu elements involved in a significant percentage of copy number variations of the STK11 gene in patients with Peutz-Jeghers syndrome. // *Fam Cancer.* – 2015. – V. 14. – P. 455-461.
96. Botma A, Nagengast FM, Braem MG, Hendriks JC, Kleibeuker JH, Vasen HF, Kampman E. Body mass index increases risk of colorectal adenomas in men with Lynch syndrome: the GEOLynch cohort study. // *J Clin Oncol.* – 2010. - V. 28. – P. 4346-4353.
97. Botma A, Vasen HF, van Duijnhoven FJ, Kleibeuker JH, Nagengast FM, Kampman E. Dietary patterns and colorectal adenomas in Lynch syndrome: the GEOLynch cohort study. // *Cancer.* – 2013. – V. 119. – P. 512-521.
98. Bouffet E, Larouche V, Campbell BB, Merico D, de Borja R, Aronson M, Durno C, Krueger J, Cabric V, Ramaswamy V, Zhukova N, Mason G, Farah R, Afzal S, Yalon M, Rechavi G, Magimairajan V, Walsh MF, Constantini S, Dvir R, Elhasid R, Reddy A, Osborn M, Sullivan M, Hansford J, Dodgshun A, Klauber-Demore N, Peterson L, Patel S, Lindhorst S, Atkinson J, Cohen Z, Laframboise R, Dirks P, Taylor M, Malkin D, Albrecht S, Dudley RW, Jabado N, Hawkins CE, Shlien A, Tabori U. Immune Checkpoint Inhibition for Hypermutant Glioblastoma Multiforme Resulting From Germline Biallelic Mismatch Repair Deficiency. // *J Clin Oncol.* – 2016. – V. 34. – P. 2206-2211.
99. Bouguen G, Manfredi S, Blayau M, Dugast C, Buecher B, Bonneau D, Siproudhis L, David V, Bretagne JF. Colorectal adenomatous polyposis Associated with MYH mutations: genotype and phenotype characteristics. // *Dis Colon Rectum.* – 2007. - V. 50. – P. 1612-1617.
100. Boursi B, Haynes K, Mamtani R, Yang YX. Height as an independent anthropomorphic risk factor for colorectal cancer. // *Eur J Gastroenterol Hepatol.* – 2014. - V. 26. – P. 1422-1427.
101. Bouvard V, Loomis D, Guyton KZ, Grosse Y, Ghissassi FE, Benbrahim-Tallaa L, Guha N, Mattock H, Straif K; International Agency for Research on Cancer Monograph Working Group. Carcinogenicity of consumption of red and processed meat. // *Lancet Oncol.* – 2015. - V. 16. – P. 1599-1600.
102. Bubien V, Bonnet F, Brouste V, Hoppe S, Barouk-Simonet E, David A, Edery P, Bottani A, Layet V, Caron O, Gilbert-Dussardier B, Delnatte C, Dugast C, Fricker JP, Bonneau D, Sevenet N, Longy M, Caux F; French Cowden Disease Network. High cumulative risks of cancer in patients with PTEN hamartoma tumour syndrome. // *J Med Genet.* – 2013. - V. 50. – P. 255-263.

103. Buhard O, Suraweera N, Lectard A, Duval A, Hamelin R. Quasimonomorphic mononucleotide repeats for high-level microsatellite instability analysis. // *Dis Markers*. – 2004. – V. 20. – P. 251-257.
104. Bujalkova M, Zavodna K, Krivulcik T, Ilencikova D, Wolf B, Kovac M, Karner-Hanusch J, Heinemann K, Marra G, Jiricny J, Bartosova Z. Multiplex SNaPshot genotyping for detecting loss of heterozygosity in the mismatch-repair genes MLH1 and MSH2 in microsatellite-unstable tumors. // *Clin Chem*. – 2008. – V. 54. – P. 1844-1854.
105. Burkart AL, Sheridan T, Lewin M, Fenton H, Ali NJ, Montgomery E. Do sporadic Peutz-Jeghers polyps exist? Experience of a large teaching hospital. // *Am J Surg Pathol*. – 2007. – P. 31. – P. 1209-1214.
106. Bøhn SK, Blomhoff R, Paur I. Coffee and cancer risk, epidemiological evidence, and molecular mechanisms // *Mol Nutr Food Res*. – 2014. - V. 58. – P. 915-930.
107. Brenner H, Stock C, Hoffmeister M. Effect of screening sigmoidoscopy and screening colonoscopy on colorectal cancer incidence and mortality: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials and observational studies. // *BMJ*. – 2014. – V. 348. – P. g2467.
108. Briggs S, Tomlinson I. Germline and somatic polymerase ϵ and δ mutations define a new class of hypermutated colorectal and endometrial cancers. // *J Pathol*. 2013. – V. 230. – P. 148-153.
109. Broeders MJ, Lambe M, Baron JA, Leon DA. History of childbearing and colorectal cancer risk in women aged less than 60: an analysis of Swedish routine registry data 1960-1984. // *Int J Cancer*. – 1996. - V. 66. –P. 170-175.
110. ten Broeke SW, Brohet RM, Tops CM, van der Klift HM, Velthuis ME, Bernstein I, Capellá Munar G, Gomez Garcia E, Hoogerbrugge N, Letteboer TG, Menko FH, Lindblom A, Mensenkamp AR, Moller P, van Os TA, Rahner N, Redeker BJ, Sijmons RH, Spruijt L, Suerink M, Vos YJ, Wagner A, Hes FJ, Vasen HF, Nielsen M, Wijnen JT. Lynch syndrome caused by germline PMS2 mutations: delineating the cancer risk. // *J Clin Oncol*. – 2015. – V. 33. – P. 319-325.
111. Bronner CE, Baker SM, Morrison PT et al. Mutation in the DNA mismatch repair gene homologue hMLH1 is associated with hereditary non-polyposis colon cancer. // *Nature*. – 1994. – V. 368. – P. 258-261.
112. Brosens LA, van Hattem A, Hyland LM, Iacobuzio-Donahue C, Romans KE, Axilbund J, Cruz-Correa M, Tersmette AC, Offerhaus GJ, Giardiello FM. Risk of colorectal cancer in juvenile polyposis. // *Gut*. – 2007. – V. 56. – P. 965-967.
113. Browning MJ, Chandra A, Carbonaro V, Okkenhaug K, Barwell J. Cowden's syndrome with immunodeficiency. // *J Med Genet*. – 2015. - V. 52. - P. 856-859.

114. Buerki N, Gautier L, Kovac M, Marra G, Buser M, Mueller H, Heinimann K. Evidence for breast cancer as an integral part of Lynch syndrome. // *Genes Chromosomes Cancer*. – 2012. – V. 51. – P. 83-91.
115. Buisine MP, Cattani S, Wacrenier A, Leclerc J, Lejeune S. Identification of a patient with atypical MUTYH-associated polyposis through detection of the KRAS c.34G>T mutation in liver metastasis. // *J Clin Oncol*. – 2013. - V. 31. – P. e125-127.
116. Burger B, Cattani N, Trueb S, de Lorenzo R, Albertini M, Bontognali E, Itin C, Schaub N, Itin PH, Heinimann K. Prevalence of skin lesions in familial adenomatous polyposis: a marker for presymptomatic diagnosis? // *Oncologist*. – 2011. – V. 16. – P. 1698-1705.
117. Burisch J, Jess T, Martinato M, Lakatos PL; ECCO -EpiCom. The burden of inflammatory bowel disease in Europe. // *J Crohns Colitis*. – 2013. - V. 7. – P. 322-337.
118. Burke CA, Dekker E, Samadder NJ, Stoffel E, Cohen A. Efficacy and safety of eflornithine (CPP-1X)/sulindac combination therapy versus each as monotherapy in patients with familial adenomatous polyposis (FAP): design and rationale of a randomized, double-blind, Phase III trial. // *BMC Gastroenterol*. – 2016. – V. 16. – P. 87.
119. Burn J, Gerdes AM, Macrae F, Mecklin JP, Moeslein G, Olschwang S, Eccles D, Evans DG, Maher ER, Bertario L, Bisgaard ML, Dunlop MG, Ho JW, Hodgson SV, Lindblom A, Lubinski J, Morrison PJ, Murday V, Ramesar R, Side L, Scott RJ, Thomas HJ, Vasen HF, Barker G, Crawford G, Elliott F, Movahedi M, Pylvanainen K, Wijnen JT, Fodde R, Lynch HT, Mathers JC, Bishop DT; CAPP2 Investigators. Long-term effect of aspirin on cancer risk in carriers of hereditary colorectal cancer: an analysis from the CAPP2 randomised controlled trial. // *Lancet*. – 2011. - V. 378. – P. 2081-2087.
120. Bülow S. Results of national registration of familial adenomatous polyposis. // *Gut*. – 2003. - V. 52. - P. 742-746.
121. Bülow S, Björk J, Christensen IJ, Fausa O, Järvinen H, Moesgaard F, Vasen HF; DAF Study Group. Duodenal adenomatosis in familial adenomatous polyposis. // *Gut*. – 2004. - V. 53. – P. 381-386.
122. Caldwell CM, Kaplan KB. The role of APC in mitosis and in chromosome instability. // *Adv Exp Med Biol*. – 2009. – V. 656. – P. 51-64.
123. Caluseriu O, Di Gregorio C, Lucci-Cordisco E, Santarosa M, Trojan J, Brieger A, Benatti P, Pedroni M, Colibazzi T, Bellacosa A, Neri G, Ponz de Leon M, Viel A, Genuardi M. A founder MLH1 mutation in families from the districts of Modena and Reggio-Emilia in northern Italy with hereditary non-polyposis colorectal cancer associated with protein elongation and instability. // *J Med Genet*. - 2004. - V. 41. – P. e34.

124. Calva-Cerqueira D, Chinnathambi S, Pechman B, Bair J, Larsen-Haidle J, Howe JR. The rate of germline mutations and large deletions of SMAD4 and BMPR1A in juvenile polyposis. // *Clin Genet.* – 2009. - V. 75. – P. 79-85.
125. Campos FG, Figueiredo MN, Martinez CA. Colorectal cancer risk in hamartomatous polyposis syndromes. // *World J Gastrointest Surg.* – 2015. - V. 7. – P. 25-32.
126. Canard G, Lefevre JH, Colas C, Coulet F, Svrcek M, Lascols O, Hamelin R, Shields C, Duval A, Fléjou JF, Soubrier F, Tiret E, Parc Y. Screening for Lynch syndrome in colorectal cancer: are we doing enough? // *Ann Surg Oncol.* – 2012. - V. 19. – P. 809-816.
127. Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. // *Nature.* – 2012. - V. 487. - P. 330-337.
128. Cao Y, Keum NN, Chan AT, Fuchs CS, Wu K, Giovannucci EL. Television watching and risk of colorectal adenoma. // *Br J Cancer.* – 2015. - V. 112. – P. 934-942.
129. Cao Y, Nishihara R, Qian ZR, Song M, Mima K, Inamura K, Nowak JA, Drew DA, Lochhead P, Nosho K, Morikawa T, Zhang X, Wu K, Wang M, Garrett WS, Giovannucci EL, Fuchs CS, Chan AT, Ogino S. Regular Aspirin Use Associates with Lower Risk of Colorectal Cancers With Low Numbers of Tumor-infiltrating Lymphocytes. // *Gastroenterology.* – 2016. - pii: S0016-5085(16)34826-0. - [Epub ahead of print]
130. Capelle LG, Van Grieken NC, Lingsma HF, Steyerberg EW, Klokman WJ, Bruno MJ, Vasen HF, Kuipers EJ. Risk and epidemiological time trends of gastric cancer in Lynch syndrome carriers in the Netherlands. // *Gastroenterology.* – 2010. - V. 138. – P. 487-492.
131. Carethers JM, Jung BH. Genetics and Genetic Biomarkers in Sporadic Colorectal Cancer. // *Gastroenterology.* – 2015. – V. 149. – P. 1177-1190.
132. Carethers JM, Koi M, Tseng-Rogenski SS. EMAS is a Form of Microsatellite Instability That is Initiated by Inflammation and Modulates Colorectal Cancer Progression.// *Genes (Basel).* – 2015. – V. 6. – P. 185-205.
133. Carr PR, Walter V, Brenner H, Hoffmeister M. Meat subtypes and their association with colorectal cancer: Systematic review and meta-analysis. // *Int J Cancer.* – 2016. – V. 138. – P. 293-302.
134. Casper M, Plotz G, Juengling B, Zeuzem S, Lammert F, Raedle J. MUTYH hotspot mutations in unselected colonoscopy patients. - *Colorectal Dis.* – 2012. – V. 14. – P. e238-244.
135. Castillejo A, Vargas G, Castillejo MI, Navarro M, Barberá VM, González S, Hernández-Illán E, Brunet J, Ramón y Cajal T, Balmaña J, Oltra S, Iglesias S, Velasco A, Solanes A, Campos O, Sánchez Heras AB, Gallego J, Carrasco E, González Juan D, Segura A, Chirivella I, Juan MJ, Tena I, Lázaro C, Blanco I, Pineda M, Capellá G, Soto JL. Prevalence of germline

MUTYH mutations among Lynch-like syndrome patients. // *Eur J Cancer*. – 2014. – V. 50. – P. 2241-2250.

136. Cattaneo F, Molatore S, Mihalatos M, Apeessos A, Venesio T, Bione S, Grignani P, Nasioulas G, Ranzani GN. Heterogeneous molecular mechanisms underlie attenuated familial adenomatous polyposis. // *Genet Med*. – 2007. - V. 9. – P. 836-841.

137. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Vital signs: colorectal cancer screening test use--United States, 2012. // *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. – 2013. – V. 62. – P. 881-888.

138. Chan AT, Ogino S, Fuchs CS. Aspirin and the risk of colorectal cancer in relation to the expression of COX-2. // *N Engl J Med*. – 2007. - V. 356. – P. 2131-2142.

139. Chang SC, Lin PC, Yang SH, Wang HS, Liang WY, Lin JK. Taiwan hospital-based detection of Lynch syndrome distinguishes 2 types of microsatellite instabilities in colorectal cancers. // *Surgery*. – 2010. – V. 147. – P. 720-728.

140. de la Chapelle A. The incidence of Lynch syndrome. // *Fam Cancer*. – 2005. – V. 4. – P. 233-237.

141. Charbonneau N, Amunugama R, Schmutte C, Yoder K, Fishel R. Evidence that hMLH3 functions primarily in meiosis and in hMSH2-hMSH3 mismatch repair. // *Cancer Biol Ther*. - 2009. – V. 8. – P. 1411-1420.

142. Chau R, Dashti SG, Ait Ouakrim D, Buchanan DD, Clendenning M, Rosty C, Winship IM, Young JP, Giles GG, Macrae FA, Boussioutas A, Parry S, Figueiredo JC, Levine AJ, Ahnen DJ, Casey G, Haile RW, Gallinger S, Le Marchand L, Thibodeau SN, Lindor NM, Newcomb PA, Potter JD, Baron JA, Hopper JL, Jenkins MA, Win AK. Multivitamin, calcium and folic acid supplements and the risk of colorectal cancer in Lynch syndrome. // *Int J Epidemiol*. – 2016. – V. 45. - P. 940-953.

143. Chen CS, Phillips KD, Grist S, Bennet G, Craig JE, Muecke JS, Suthers GK. Congenital hypertrophy of the retinal pigment epithelium (CHRPE) in familial colorectal cancer. // *Fam Cancer*. – 2006. – 5. – P. 397-404.

144. Chen K, Xia G, Zhang C, Sun Y. Correlation between smoking history and molecular pathways in sporadic colorectal cancer: a meta-analysis. // *Int J Clin Exp Med*. – 2015. - V. 8. – P. 3241-3257.

145. Chesnokova V, Zonis S, Zhou C, Recouvreux MV, Ben-Shlomo A, Araki T, Barrett R, Workman M, Wawrowsky K, Ljubimov VA, Uhart M, Melmed S. Growth hormone is permissive for neoplastic colon growth. // *Proc Natl Acad Sci U S A*. – 2016. - V. 113. – P. E3250-3259.

146. Chiang JM, Chen HW, Tang RP, Chen JS, Changchien CR, Hsieh PS, Wang JY. Mutation analysis of the APC gene in Taiwanese FAP families: low incidence of APC germline mutation in a distinct subgroup of FAP families. // *Fam Cancer*. – 2010. - V. 9. – P. 117-124.
147. Choi YH, Cotterchio M, McKeown-Eyssen G, Neerav M, Bapat B, Boyd K, Gallinger S, McLaughlin J, Aronson M, Briollais L. Penetrance of colorectal cancer among MLH1/MSH2 carriers participating in the colorectal cancer familial registry in Ontario. // *Hered Cancer Clin Pract*. – 2009. – V. 7. – P. 14. .
148. Chubb D, Broderick P, Dobbins SE, Frampton M, Kinnersley B, Penegar S, Price A, Ma YP, Sherborne AL, Palles C, Timofeeva MN, Bishop DT, Dunlop MG, Tomlinson I, Houlston RS. Rare disruptive mutations and their contribution to the heritable risk of colorectal cancer. // *Nat Commun*. – 2016. - V. 7. – P. 11883.
149. Chubb D, Broderick P, Frampton M, Kinnersley B, Sherborne A, Penegar S, Lloyd A, Ma YP, Dobbins SE, Houlston RS. Genetic diagnosis of high-penetrance susceptibility for colorectal cancer (CRC) is achievable for a high proportion of familial CRC by exome sequencing. // *J Clin Oncol*. – 2015. - V. 33. – P. 426-432.
150. Chui MH, Ryan P, Radigan J, Ferguson SE, Pollett A, Aronson M, Semotiuk K, Holter S, Sy K, Kwon JS, Soma A, Singh N, Gallinger S, Shaw P, Arseneau J, Foulkes WD, Gilks CB, Clarke BA. The histomorphology of Lynch syndrome-associated ovarian carcinomas: toward a subtype-specific screening strategy. // *Am J Surg Pathol*. – 2014. – V. 38. – P. 1173-1181.
151. Church DN, Briggs SE, Palles C, Domingo E, Kearsley SJ, Grimes JM, Gorman M, Martin L, Howarth KM, Hodgson SV; NSECG Collaborators, Kaur K, Taylor J, Tomlinson IP. DNA polymerase ϵ and δ exonuclease domain mutations in endometrial cancer. // *Hum Mol Genet*. - 2013. - V. 22. – P. 2820-2828.
152. Cicek MS, Lindor NM, Gallinger S, Bapat B, Hopper JL, Jenkins MA, Young J, Buchanan D, Walsh MD, Le Marchand L, Burnett T, Newcomb PA, Grady WM, Haile RW, Casey G, Plummer SJ, Krumroy LA, Baron JA, Thibodeau SN. Quality assessment and correlation of microsatellite instability and immunohistochemical markers among population- and clinic-based colorectal tumors results from the Colon Cancer Family Registry. // *J Mol Diagn*. – 2011. - V. 13. – P. 271-281.
153. Cleary SP, Cotterchio M, Jenkins MA, Kim H, Bristow R, Green R, Haile R, Hopper JL, LeMarchand L, Lindor N, Parfrey P, Potter J, Younghusband B, Gallinger S. Germline MutY human homologue mutations and colorectal cancer: a multisite case-control study. // *Gastroenterology*. – 2009. – V. 136. – P. 1251-1260.

154. Clendenen TV, Koenig KL, Shore RE, Levitz M, Arslan AA, Zeleniuch-Jacquotte A. Postmenopausal levels of endogenous sex hormones and risk of colorectal cancer. // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – 2009. - V. 18. – P. 275-281.
155. Clendenning M, Baze ME, Sun S, Walsh K, Liyanarachchi S, Fix D, Schunemann V, Comeras I, Deacon M, Lynch JF, Gong G, Thomas BC, Thibodeau SN, Lynch HT, Hampel H, de la Chapelle A. Origins and prevalence of the American Founder Mutation of MSH2. // *Cancer Res.* – 2008. - V. 68. – P. 2145-2153.
156. Cleynen I, Vermeire S. The genetic architecture of inflammatory bowel disease: past, present and future. // *Curr Opin Gastroenterol.* – 2015. – V. 31. – P. 456-463.
157. Cohen SA, Turner EH, Beightol MB, Jacobson A, Gooley TA, Salipante SJ, Haraldsdottir S, Smith C, Scroggins S, Tait JF, Grady WM, Lin EH, Cohn DE, Goodfellow PJ, Arnold MW, de la Chapelle A, Pearlman R, Hampel H, Pritchard CC. Frequent PIK3CA Mutations in Colorectal and Endometrial Tumors With 2 or More Somatic Mutations in Mismatch Repair Genes. // *Gastroenterology.* – 2016. - V. 151. – P. 440-447.
158. Cohen SB. Familial polyposis coli and its extracolonic manifestations. // *J Med Genet.* 1982. - V. 19. – P. 193-203.
159. Colebatch A, Hitchins M, Williams R, Meagher A, Hawkins NJ, Ward RL. The role of MYH and microsatellite instability in the development of sporadic colorectal cancer. // *Br J Cancer.* - 2006. - V. 95. – P. 1239-1243.
160. Collura A, Lagrange A, Svrcek M, Marisa L, Buhard O, Guilloux A, Wanherdrick K, Dorard C, Taieb A, Saget A, Loh M, Soong R, Zeps N, Platell C, Mews A, Iacopetta B, De Thonel A, Seigneuric R, Marcion G, Chapusot C, Lepage C, Bouvier AM, Gaub MP, Milano G, Selves J, Senet P, Delarue P, Arzouk H, Lacoste C, Coquelle A, Bengrine-Lefèvre L, Tournigand C, Lefèvre JH, Parc Y, Biard DS, Fléjou JF, Garrido C, Duval A. Patients with colorectal tumors with microsatellite instability and large deletions in HSP110 T17 have improved response to 5-fluorouracil-based chemotherapy. // *Gastroenterology.* – 2014. - V/ 146. – P. 401-411.
161. da Costa LT, Liu B, el-Deiry W, Hamilton SR, Kinzler KW, Vogelstein B, Markowitz S, Willson JK, de la Chapelle A, Downey KM, et al. Polymerase delta variants in RER colorectal tumours. // *Nat Genet.* – 1995. - V. 9. – P. 10-11.
162. Cragun D, Radford C, Dolinsky JS, Caldwell M, Chao E, Pal T. Panel-based testing for inherited colorectal cancer: a descriptive study of clinical testing performed by a US laboratory. // *Clin Genet.* – 2014. - V. 86. – P. 510-520.
163. Croitoru ME, Cleary SP, Berk T, Di Nicola N, Kopolovic I, Bapat B, Gallinger S. Germline MYH mutations in a clinic-based series of Canadian multiple colorectal adenoma patients. // *J Surg Oncol.* - 2007. - V. 95. – P. 499-506.

164. Croitoru ME, Cleary SP, Di Nicola N, Manno M, Selander T, Aronson M, Redston M, Cotterchio M, Knight J, Gryfe R, Gallinger S. Association between biallelic and monoallelic germline MYH gene mutations and colorectal cancer risk. // *J Natl Cancer Inst.* – 2004. - V. 96. – P. 1631-1634.
165. Croner RS, Brueckl WM, Reingruber B, Hohenberger W, Guenther K. Age and manifestation related symptoms in familial adenomatous polyposis. // *BMC Cancer.* – 2005. - V. 5. – P. 24.
166. Crump C, Sundquist J, Sieh W, Winkleby MA, Sundquist K. Fetal growth and subsequent maternal risk of colorectal cancer. // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – 2015. - V. 24. – P. 1184-1189.
167. Csősz A, Szécsényi-Nagy A, Csákyová V, Langó P, Bódis V, Köhler K, Tömöry G, Nagy M, Mende BG. Maternal Genetic Ancestry and Legacy of 10(th) Century AD Hungarians. // *Sci Rep.* – 2016. – V.6. – P. 33446.
168. Cunningham JM, Kim CY, Christensen ER, Tester DJ, Parc Y, Burgart LJ, Halling KC, McDonnell SK, Schaid DJ, Walsh Vockley C, Kubly V, Nelson H, Michels VV, Thibodeau SN. The frequency of hereditary defective mismatch repair in a prospective series of unselected colorectal carcinomas. // *Am J Hum Genet.* – 2001. - V. 69. – P. 780-790.
169. Czene K, Lichtenstein P, Hemminki K. Environmental and heritable causes of cancer among 9.6 million individuals in the Swedish Family-Cancer Database. // *Int J Cancer.* – 2002. - V. 99. – P. 260-266.
170. Dallosso AR, Dolwani S, Jones N, Jones S, Colley J, Maynard J, Idziaszczyk S, Humphreys V, Arnold J, Donaldson A, Eccles D, Ellis A, Evans DG, Frayling IM, Hes FJ, Houlston RS, Maher ER, Nielsen M, Parry S, Tyler E, Moskvina V, Cheadle JP, Sampson JR. Inherited predisposition to colorectal adenomas caused by multiple rare alleles of MUTYH but not OGG1, NUDT1, NTH1 or NEIL 1, 2 or 3. // *Gut.* – 2008. - V. 57. – P. 1252-1255.
171. Danielsen SA, Eide PW, Nesbakken A, Guren T, Leithe E, Lothe RA. Portrait of the PI3K/AKT pathway in colorectal cancer. // *Biochim Biophys Acta.* – 2015. - V. 1855. – P. 104-121.
172. Dejea CM, Wick EC, Hechenbleikner EM, White JR, Mark Welch JL, Rossetti BJ, Peterson SN, Snesrud EC, Borisy GG, Lazarev M, Stein E, Vadivelu J, Roslani AC, Malik AA, Wanyiri JW, Goh KL, Thevambiga I, Fu K, Wan F, Llosa N, Housseau F, Romans K, Wu X, McAllister FM, Wu S, Vogelstein B, Kinzler KW, Pardoll DM, Sears CL. Microbiota organization is a distinct feature of proximal colorectal cancers. // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2014. - V. 111. – P. 18321-6.

173. Deng L, Gui Z, Zhao L, Wang J, Shen L. Diabetes mellitus and the incidence of colorectal cancer: an updated systematic review and meta-analysis. // *Dig Dis Sci.* – 2012. - V. 57. – P. 1576-1585.
174. Derikx LA, Smits LJ, van Vliet S, Dekker E, Aalfs CM, van Kouwen MC, Nagengast FM, Nagtegaal ID, Hoogerbrugge N, Hoentjen F. Colorectal Cancer Risk in Patients with Both Lynch Syndrome and Inflammatory Bowel Disease. // *Clin Gastroenterol Hepatol.* – 2016. - pii: S1542-3565(16)30515-8. - [Epub ahead of print]
175. Desai DC, Lockman JC, Chadwick RB, Gao X, Percesepe A, Evans DG, Miyaki M, Yuen ST, Radice P, Maher ER, Wright FA, de La Chapelle A. Recurrent germline mutation in MSH2 arises frequently de novo. // *J Med Genet.* – 2000. - V. 37. – P. 646-652.
176. Deschoolmeester V, Baay M, Wuyts W, Van Marck E, Van Damme N, Vermeulen P, Lukaszuk K, Lardon F, Vermorken JB. Detection of microsatellite instability in colorectal cancer using an alternative multiplex assay of quasi-monomorphic mononucleotide markers. // *J Mol Diagn.* – 2008. - V. 10. – P. 154-159.
177. Devaud N, Gallinger S. Chemotherapy of MMR-deficient colorectal cancer. // *Fam Cancer.* – 2013. – V. 12. – P. 301-306.
178. De Vos M, Hayward BE, Picton S, Sheridan E, Bonthron DT. Novel PMS2 pseudogenes can conceal recessive mutations causing a distinctive childhood cancer syndrome. // *Am J Hum Genet.* – 2004. - V. 74. – P. 954-964.
179. Dobbins SE, Broderick P, Chubb D, Kinnersley B, Sherborne AL, Houlston RS. Undefined familial colorectal cancer and the role of pleiotropism in cancer susceptibility genes. // *Fam Cancer.* – 2016. - V. 15. – P. 593-599.
180. Donehower LA, Creighton CJ, Schultz N, Shinbrot E, Chang K, Gunaratne PH, Muzny D, Sander C, Hamilton SR, Gibbs RA, Wheeler D. MLH1-silenced and non-silenced subgroups of hypermutated colorectal carcinomas have distinct mutational landscapes. // *J Pathol.* – 2013. - V. 229. – P. 99-110.
181. Dowty JG, Win AK, Buchanan DD, Lindor NM, Macrae FA, Clendenning M, Antill YC, Thibodeau SN, Casey G, Gallinger S, Marchand LL, Newcomb PA, Haile RW, Young GP, James PA, Giles GG, Gunawardena SR, Leggett BA, Gattas M, Boussioutas A, Ahnen DJ, Baron JA, Parry S, Goldblatt J, Young JP, Hopper JL, Jenkins MA. Cancer risks for MLH1 and MSH2 mutation carriers. // *Hum Mutat.* – 2013. – V. 34. – P. 490-497.
182. Drew DA, Cao Y, Chan AT. Aspirin and colorectal cancer: the promise of precision chemoprevention. // *Nat Rev Cancer.* – 2016. - V. 16. – P.173-186.
183. Drewes JL, Housseau F, Sears CL. Sporadic colorectal cancer: microbial contributors to disease prevention, development and therapy. // *Br J Cancer.* – 2016. – V. 115. – P. 273-280.

184. Dunne PD, McArt DG, Bradley CA, O'Reilly PG, Barrett HL, Cummins R, O'Grady T, Arthur K, Loughrey MB, Allen WL, McDade SS, Waugh DJ, Hamilton PW, Longley DB, Kay EW, Johnston PG, Lawler M, Salto-Tellez M, Van Schaeybroeck S. Challenging the Cancer Molecular Stratification Dogma: Intratumoral Heterogeneity Undermines Consensus Molecular Subtypes and Potential Diagnostic Value in Colorectal Cancer. // *Clin Cancer Res.* – 2016. - V. 22. – P. 4095-4104.
185. Duraturo F, Liccardo R, Izzo P. Coexistence of MLH3 germline variants in colon cancer patients belonging to families with Lynch syndrome-associated brain tumors. // *J Neurooncol.* – 2016. – V. 129. - P. 577-578.
186. Durno C, Aronson M, Bapat B, Cohen Z, Gallinger S. Family history and molecular features of children, adolescents, and young adults with colorectal carcinoma. // *Gut.* – 2005. – V. 54. – P. 1146-1150.
187. Durno CA, Aronson M, Tabori U, Malkin D, Gallinger S, Chan HS. Oncologic surveillance for subjects with biallelic mismatch repair gene mutations: 10 year follow-up of a kindred. // *Pediatr Blood Cancer.* – 2012. - V. 59. – P. 652-656.
188. Durno C, Monga N, Bapat B, Berk T, Cohen Z, Gallinger S. Does early colectomy increase desmoid risk in familial adenomatous polyposis? // *Clin Gastroenterol Hepatol.* – 2007. - V. 5. – P. 1190-1194.
189. Durno CA, Sherman PM, Aronson M, Malkin D, Hawkins C, Bakry D, Bouffet E, Gallinger S, Pollett A, Campbell B, Tabori U; International BMMRD Consortium. Phenotypic and genotypic characterisation of biallelic mismatch repair deficiency (BMMR-D) syndrome. // *Eur J Cancer.* – 2015. – V. 51. – P. 977-983.
190. Dworakowska D, Gueorguiev M, Kelly P, Monson JP, Besser GM, Chew SL, Akker SA, Drake WM, Fairclough PD, Grossman AB, Jenkins PJ. Repeated colonoscopic screening of patients with acromegaly: 15-year experience identifies those at risk of new colonic neoplasia and allows for effective screening guidelines.// *Eur J Endocrinol.* – 2010. – V. 163. – P. 21-28.
191. Eaden JA, Abrams KR, Mayberry JF. The risk of colorectal cancer in ulcerative colitis: a meta-analysis. // *Gut.* – 2001. – V. 48. – P. 526-535.
192. Edelstein DL, Axilbund J, Baxter M, Hyland LM, Romans K, Griffin CA, Cruz-Correa M, Giardiello FM. Rapid development of colorectal neoplasia in patients with Lynch syndrome. // *Clin Gastroenterol Hepatol.* – 2011. - V. 9. – P. 340-343.
193. Edwards BK, Ward E, Kohler BA, Ehemann C, Zuber AG, Anderson RN, Jemal A, Schymura MJ, Lansdorf-Vogelaar I, Seeff LC, van Ballegooijen M, Goede SL, Ries LA. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2006, featuring colorectal cancer trends and

impact of interventions (risk factors, screening, and treatment) to reduce future rates. // *Cancer*. – 2010. - V. 116. – P. 544-573.

194. Eliason K, Hendrickson BC, Judkins T, Norton M, Leclair B, Lyon E, Ward B, Noll W, Scholl T. The potential for increased clinical sensitivity in genetic testing for polyposis colorectal cancer through the analysis of MYH mutations in North American patients. // *J Med Genet*. – 2005. - V. 42. – P. 95-96

195. Elsayed FA, Kets CM, Ruano D, van den Akker B, Mensenkamp AR, Schrupf M, Nielsen M, Wijnen JT, Tops CM, Ligtenberg MJ, Vasen HF, Hes FJ, Morreau H, van Wezel T. Germline variants in POLE are associated with early onset mismatch repair deficient colorectal cancer. // *Eur J Hum Genet*. – 2015. – V. 23. – P. 1080-1084.

196. Engel C, Loeffler M, Steinke V, Rahner N, Holinski-Feder E, Dietmaier W, Schackert HK, Goergens H, von Knebel Doeberitz M, Goecke TO, Schmiegel W, Buettner R, Moeslein G, Letteboer TG, Gómez García E, Hes FJ, Hoogerbrugge N, Menko FH, van Os TA, Sijmons RH, Wagner A, Kluijdt I, Propping P, Vasen HF. Risks of less common cancers in proven mutation carriers with lynch syndrome. // *J Clin Oncol*. – 2012. - V. 30. – P. 4409-4415.

197. Enholm S, Hienonen T, Suomalainen A, Lipton L, Tomlinson I, Kärjä V, Eskelinen M, Mecklin JP, Karhu A, Järvinen HJ, Aaltonen LA. Proportion and phenotype of MYH-associated colorectal neoplasia in a population-based series of Finnish colorectal cancer patients. // *Am J Pathol*. – 2003. – V. 163. – P. 827-832.

198. Engel C, Rahner N, Schulmann K, Holinski-Feder E, Goecke TO, Schackert HK, Kloor M, Steinke V, Vogelsang H, Möslein G, Görgens H, Dechant S, von Knebel Doeberitz M, Rüschoff J, Friedrichs N, Büttner R, Loeffler M, Propping P, Schmiegel W; German HNPCC Consortium. Efficacy of annual colonoscopic surveillance in individuals with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. // *Clin Gastroenterol Hepatol*. – 2010. – V. 8. – P. 174-182.

199. Ertych N, Stolz A, Stenzinger A, Weichert W, Kaulfuß S, Burfeind P, Aigner A, Wordeman L, Bastians H. Increased microtubule assembly rates influence chromosomal instability in colorectal cancer cells. // *Nat Cell Biol*. – 2014. – V. 16. – P. 779-791.

200. Escobar C, Munker R, Thomas JO, Li BD, Burton GV. Update on desmoid tumors. // *Ann Oncol*. – 2012. - V. 23. – P. 562-569.

201. Espejo-Herrera N, Gràcia-Lavedan E, Boldo E, Aragonés N, Pérez-Gómez B, Pollán M, Molina AJ, Fernández T, Martín V, La Vecchia C, Bosetti C, Tavani A, Polesel J, Serraino D, Gómez Acebo I, Altzibar JM, Ardanaz E, Burgui R, Pisa F, Fernández-Tardón G, Tardón A, Peiró R, Navarro C, Castaño-Vinyals G, Moreno V, Righi E, Aggazzotti G, Basagaña X, Nieuwenhuijsen M, Kogevinas M, Villanueva CM. Colorectal cancer risk and nitrate exposure through drinking water and diet. // *Int J Cancer*. – 2016. - V. 139. – P. 334-46.

202. Esteban-Jurado C, Franch-Expósito S, Muñoz J, Ocaña T, Carballal S, López-Cerón M, Cuatrecasas M, Vila-Casadesús M, Lozano JJ, Serra E, Beltran S, Brea-Fernández A, Ruiz-Ponte C, Castells A, Bujanda L, Garre P, Caldés T, Cubiella J, Balaguer F, Castellví-Bel S. The Fanconi anemia DNA damage repair pathway in the spotlight for germline predisposition to colorectal cancer. // *Eur J Hum Genet.* – 2016. - [Epub ahead of print]
203. Evans DG, Howard E, Giblin C, Clancy T, Spencer H, Huson SM, Lalloo F. Birth incidence and prevalence of tumor-prone syndromes: estimates from a UK family genetic register service. // *Am J Med Genet A.* – 2010. - V. 152A. – P.327-332.
204. Fakhri MG. Metastatic colorectal cancer: current state and future directions. // *J Clin Oncol.* – 2015. - V. 33. – P. 1809-1824.
205. Farrington SM, Tenesa A, Barnetson R, Wiltshire A, Prendergast J, Porteous M, Campbell H, Dunlop MG. Germline susceptibility to colorectal cancer due to base-excision repair gene defects. // *Am J Hum Genet.* – 2005. - V. 77. – P. 112-119.
206. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. // *Cell.* – 1990. - V. 61. - P. 59-67.
207. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray, F. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. - V. 2013. Available from: <http://globocan.iarc.fr>, accessed on 08/08/2016.
208. Ferrari P, Jenab M, Norat T, Moskal A, Slimani N, Olsen A, Tjønneland A, Overvad K, Jensen MK, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Morois S, Rohrmann S, Linseisen J, Boeing H, Bergmann M, Kontopoulou D, Trichopoulou A, Kassapa C, Masala G, Krogh V, Vineis P, Panico S, Tumino R, van Gils CH, Peeters P, Bueno-de-Mesquita HB, Ocké MC, Skeie G, Lund E, Agudo A, Ardanaz E, López DC, Sanchez MJ, Quirós JR, Amiano P, Berglund G, Manjer J, Palmqvist R, Van Guelpen B, Allen N, Key T, Bingham S, Mazuir M, Boffetta P, Kaaks R, Riboli E. Lifetime and baseline alcohol intake and risk of colon and rectal cancers in the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC). // *Int J Cancer.* – 2007. - V. 121. – P. 2065-2072.
209. de Ferro SM, Suspiro A, Fidalgo P, Lage P, Rodrigues P, Fragoso S, Vitoriano I, Baltazar C, Albuquerque C, Bettencourt A, Leitão CN. Aggressive phenotype of MYH-associated polyposis with jejunal cancer and intra-abdominal desmoid tumor: report of a case. // *Dis Colon Rectum.* - 2009. - V. 52. – P. 742-745.
210. Figueiredo JC, Hsu L, Hutter CM, Lin Y, Campbell PT, Baron JA, Berndt SI, Jiao S, Casey G, Fortini B, Chan AT, Cotterchio M, Lemire M, Gallinger S, Harrison TA, Le Marchand L, Newcomb PA, Slattery ML, Caan BJ, Carlson CS, Zanke BW, Rosse SA, Brenner H,

Giovannucci EL, Wu K, Chang-Claude J, Chanock SJ, Curtis KR, Duggan D, Gong J, Haile RW, Hayes RB, Hoffmeister M, Hopper JL, Jenkins MA, Kolonel LN, Qu C, Rudolph A, Schoen RE, Schumacher FR, Seminara D, Stelling DL, Thibodeau SN, Thornquist M, Warnick GS, Henderson BE, Ulrich CM, Gauderman WJ, Potter JD, White E, Peters U. - V. CCFR. - V. GECCO. Genome-wide diet-gene interaction analyses for risk of colorectal cancer. // *PLoS Genet.* - 2014. - V. 10. – P. e1004228.

211. Figueiredo JC, Mott LA, Giovannucci E, Wu K, Cole B, Grainge MJ, Logan RF, Baron JA. Folic acid and prevention of colorectal adenomas: a combined analysis of randomized clinical trials. // *Int J Cancer.* – 2011. - V. 129. – P. 192-203.

212. Filipe B, Baltazar C, Albuquerque C, Fragoso S, Lage P, Vitoriano I, Mão de Ferro S, Claro I, Rodrigues P, Fidalgo P, Chaves P, Cravo M, Nobre Leitão C. APC or MUTYH mutations account for the majority of clinically well-characterized families with FAP and AFAP phenotype and patients with more than 30 adenomas. // *Clin Genet.* – 2009. - V. 76. – P. 242-55.

213. Fishel R, Lescoe MK, Rao MR, Copeland NG, Jenkins NA, Garber J, Kane M, Kolodner R. The human mutator gene homolog MSH2 and its association with hereditary nonpolyposis colon cancer. // *Cell.* - 1993. - V. 75. – P. 1027-1038.

214. Fleischmann C, Peto J, Cheadle J, Shah B, Sampson J, Houlston RS. Comprehensive analysis of the contribution of germline MYH variation to early-onset colorectal cancer. // *Int J Cancer.* - 2004. - V. 109. – P. 554-558

215. Fleisher AS, Esteller M, Harpaz N, Leytin A, Rashid A, Xu Y, Liang J, Stine OC, Yin J, Zou TT, Abraham JM, Kong D, Wilson KT, James SP, Herman JG, Meltzer SJ. Microsatellite instability in inflammatory bowel disease-associated neoplastic lesions is associated with hypermethylation and diminished expression of the DNA mismatch repair gene, hMLH1 // *Cancer Res.* – 2000. - V. 60. – P.864-86y8.

216. Forbes SA, Beare D, Gunasekaran P, Leung K, Bindal N, Boutselakis H, Ding M, Bamford S, Cole C, Ward S, Kok CY, Jia M, De T, Teague JW, Stratton MR, McDermott U, Campbell PJ. COSMIC: exploring the world's knowledge of somatic mutations in human cancer. // *Nucleic Acids Res.* – 2015. - V. 43(Database issue). – P. D805-811.

217. Foulkes WD, Thiffault I, Gruber SB, Horwitz M, Hamel N, Lee C, Shia J, Markowitz A, Figer A, Friedman E, Farber D, Greenwood CM, Bonner JD, Nafa K, Walsh T, Marcus V, Tomsho L, Gebert J, Macrae FA, Gaff CL, Paillerets BB, Gregersen PK, Weitzel JN, Gordon PH, MacNamara E, King MC, Hampel H, De La Chapelle A, Boyd J, Offit K, Rennert G, Chong G, Ellis NA. The founder mutation MSH2*1906G-->C is an important cause of hereditary nonpolyposis colorectal cancer in the Ashkenazi Jewish population. // *Am J Hum Genet.* - 2002. - V. 71. – P. 1395-1412.

218. Fornasarig M, Minisini AM, Viel A, Quaia M, Canzonieri V, Veronesi A. Twelve years of endoscopic surveillance in a family carrying biallelic Y165C MYH defect: report of a case. // *Dis Colon Rectum*. - 2006. - V. 49. – P. 272-275.
219. Friedl W, Aretz S. Familial adenomatous polyposis: experience from a study of 1164 unrelated german polyposis patients. // *Hered Cancer Clin Pract*. - 2005. - V. 3. – P. 95-114.
220. Froggatt NJ, Brassett C, Koch DJ, Evans DG, Hodgson SV, Ponder BA, Maher ER. Mutation screening of MSH2 and MLH1 mRNA in hereditary non-polyposis colon cancer syndrome. // *J Med Genet*. – 1996. - V. 33. – P. 726-730.
221. Furukawa T, Konishi F, Shitoh K, Kojima M, Nagai H, Tsukamoto T. Evaluation of screening strategy for detecting hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma. // *Cancer*. – 2002. - V. 94. – P. 911-920.
222. Gagnière J, Raisch J, Veziat J, Barnich N, Bonnet R, Buc E, Bringer MA, Pezet D, Bonnet M. Gut microbiota imbalance and colorectal cancer. // *World J Gastroenterol*. – 2016. - V. 22. P. 501-518.
223. Gallagher EJ, LeRoith D. Obesity and Diabetes: The Increased Risk of Cancer and Cancer-Related Mortality. // *Physiol Rev*. – 2015. - V. 95. – P. 727-748.
224. Gallois C, Laurent-Puig P, Taieb J. Methylator phenotype in colorectal cancer: A prognostic factor or not? // *Crit Rev Oncol Hematol*. – 2016. - V. 99. – P. 74-80.
225. Garg K, Shih K, Barakat R, Zhou Q, Iasonos A, Soslow RA. Endometrial carcinomas in women aged 40 years and younger: tumors associated with loss of DNA mismatch repair proteins comprise a distinct clinicopathologic subset. // *Am J Surg Pathol*. – 2009. - V. 33. – P. 1869-1877.
226. Garland CF, Garland FC. Do sunlight and vitamin D reduce the likelihood of colon cancer? // *Int J Epidemiol*. – 1980. - V. 9. – P. 227-231.
227. Gaspar C, Fodde R. APC dosage effects in tumorigenesis and stem cell differentiation. // *Int J Dev Biol*. - 2004. - V. 48. – P. 377-386.
228. Gaujoux S, Pinson S, Gimenez-Roqueplo AP, Amar L, Ragazzon B, Launay P, Meatchi T, Libé R, Bertagna X, Audebourg A, Zucman-Rossi J, Tissier F, Bertherat J. Inactivation of the APC gene is constant in adrenocortical tumors from patients with familial adenomatous polyposis but not frequent in sporadic adrenocortical cancers. // *Clin Cancer Res*. – 2010. - V. 16. – P. 5133-5141.
229. Gazzoli I, Loda M, Garber J, Syngal S, Kolodner RD. A hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma case associated with hypermethylation of the MLH1 gene in normal tissue and loss of heterozygosity of the unmethylated allele in the resulting microsatellite instability-high tumor. // *Cancer Res*. - 2002. - V. 62. - P. 3925-3928.

230. Geurts-Giele WR, Leenen CH, Dubbink HJ, Meijssen IC, Post E, Sleddens HF, Kuipers EJ, Goverde A, van den Ouweland AM, van Lier MG, Steyerberg EW, van Leerdam ME, Wagner A, Dinjens WN. Somatic aberrations of mismatch repair genes as a cause of microsatellite-unstable cancers. // *J Pathol.* - 2014. - V. 234. – P. 548-559.
231. Gevers D, Kugathasan S, Denson LA, Vázquez-Baeza Y, Van Treuren W, Ren B, Schwager E, Knights D, Song SJ, Yassour M, Morgan XC, Kostic AD, Luo C, González A, McDonald D, Haberman Y, Walters T, Baker S, Rosh J, Stephens M, Heyman M, Markowitz J, Baldassano R, Griffiths A, Sylvester F, Mack D, Kim S, Crandall W, Hyams J, Huttenhower C, Knight R, Xavier RJ. The treatment-naive microbiome in new-onset Crohn's disease. // *Cell Host Microbe.* – 2014. - V. 153. – P. 382-392.
232. Ghorbanoghli Z, Nieuwenhuis MH, Houwing-Duistermaat JJ, Jagmohan-Changur S, Hes FJ, Tops CM, Wagner A, Aalfs CM, Verhoef S, Gómez García EB, Sijmons RH, Menko FH, Letteboer TG, Hoogerbrugge N, van Wezel T, Vasen HF, Wijnen JT. Colorectal cancer risk variants at 8q23.3 and 11q23.1 are associated with disease phenotype in APC mutation carriers. // *Fam Cancer.* – 2016. - V. 15. - P. 563-570.
233. Giardiello FM, Allen JI, Axilbund JE, Boland CR, Burke CA, Burt RW, Church JM, Dornitz JA, Johnson DA, Kaltenbach T, Levin TR, Lieberman DA, Robertson DJ, Syngal S, Rex DK. Guidelines on genetic evaluation and management of Lynch syndrome: a consensus statement by the US Multi-society Task Force on colorectal cancer. // *Am J Gastroenterol.* - 2014. - V. 109. - P. 1159-1179.
234. Giardiello FM, Hamilton SR, Krush AJ, Piantadosi S, Hyland LM, Celano P, Booker SV, Robinson CR, Offerhaus GJ. Treatment of colonic and rectal adenomas with sulindac in familial adenomatous polyposis. // *N Engl J Med.* - 1993. - V. 328. –P. 1313-1316.
235. Giardiello FM, Krush AJ, Petersen GM, Booker SV, Kerr M, Tong LL, Hamilton SR. Phenotypic variability of familial adenomatous polyposis in 11 unrelated families with identical APC gene mutation. // *Gastroenterology.* – 1994. - V. 106. – P. 542-547.
236. Gille JJ, Hogervorst FB, Pals G, Wijnen JT, van Schooten RJ, Dommering CJ, Meijer GA, Craanen ME, Nederlof PM, de Jong D, McElgunn CJ, Schouten JP, Menko FH. Genomic deletions of MSH2 and MLH1 in colorectal cancer families detected by a novel mutation detection approach. // *Br J Cancer.* – 2002. - V. 87. – P. 892-897.
237. Gillessen S, Templeton A, Marra G, Kuo YF, Valtorta E, Shahinian VB. Risk of colorectal cancer in men on long-term androgen deprivation therapy for prostate cancer. // *J Natl Cancer Inst.* – 2010. - V. 102. – P. 1760-1770.
238. Giorgi Rossi P, Vicentini M, Sacchetti C, Di Felice E, Caroli S, Ferrari F, Mangone L, Pezzarossi A, Roncaglia F, Campari C, Sassatelli R, Sacchero R, Sereni G, Paterlini L, Zappa M.

Impact of Screening Program on Incidence of Colorectal Cancer: A Cohort Study in Italy. // *Am J Gastroenterol.* – 2015. - V. 110. – P. 1359-1366.

239. Giraldo A, Gómez A, Salguero G, García H, Aristizábal F, Gutiérrez O, Angel LA, Padrón J, Martínez C, Martínez H, Malaver O, Flórez L, Barvo R. MLH1 and MSH2 mutations in Colombian families with hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome)--description of four novel mutations. // *Fam Cancer.* - 2005. - V. 4. - 285-290.

240. Gismondi V, Meta M, Bonelli L, Radice P, Sala P, Bertario L, Viel A, Fornasarig M, Arrigoni A, Gentile M, Ponz de Leon M, Anselmi L, Mareni C, Bruzzi P, Varesco L. Prevalence of the Y165C, G382D and 1395delGGA germline mutations of the MYH gene in Italian patients with adenomatous polyposis coli and colorectal adenomas. // *Int J Cancer.* – 2004. - V. 109. – P. 680-684.

241. Giuffrè G, Müller A, Brodegger T, Bocker-Edmonston T, Gebert J, Kloor M, Dietmaier W, Kullmann F, Büttner R, Tuccari G, Rüschoff J. - V. German HNPCC Consortium, German Cancer Aid, (Deutsche Krebshilfe). Microsatellite analysis of hereditary nonpolyposis colorectal cancer-associated colorectal adenomas by laser-assisted microdissection: correlation with mismatch repair protein expression provides new insights in early steps of tumorigenesis. // *J Mol Diagn.* – 2005. - V. 7. – P. 160-170.

242. Giunti L, Cetica V, Ricci U, Giglio S, Sardi I, Paglierani M, Andreucci E, Sanzo M, Forni M, Buccoliero AM, Genitori L, Genuardi M. Type A microsatellite instability in pediatric gliomas as an indicator of Turcot syndrome. // *Eur J Hum Genet.* - 2009. - V. 17. – P. 919-927..

243. Goel A, Nagasaka T, Hamelin R, Boland CR. An optimized pentaplex PCR for detecting DNA mismatch repair-deficient colorectal cancers. // *PLoS One.* – 2010. - V. 5. – P. e9393.

244. Goldberg Y, Kedar I, Kariiv R, Halpern N, Plessner M, Hubert A, Kaduri L, Sagi M, Lerer I, Abeliovich D, Hamburger T, Nissan A, Goldshmidt H, Solar I, Geva R, Strul H, Rosner G, Baris H, Levi Z, Peretz T. Lynch Syndrome in high risk Ashkenazi Jews in Israel. // *Fam Cancer.* - 2014. - V. 13. – P. 65-73.

245. Goldberg Y, Porat RM, Kedar I, Shochat C, Galinsky D, Hamburger T, Hubert A, Strul H, Kariiv R, Ben-Avi L, Savion M, Pikarsky E, Abeliovich D, Bercovich D, Lerer I, Peretz T. An Ashkenazi founder mutation in the MSH6 gene leading to HNPCC. // *Fam Cancer.* – 2010. - V. 9. - P. 141-150.

246. Goldstein J, Tran B, Ensor J, Gibbs P, Wong HL, Wong SF, Vilar E, Tie J, Broaddus R, Kopetz S, Desai J, Overman MJ. Multicenter retrospective analysis of metastatic colorectal cancer (CRC) with high-level microsatellite instability (MSI-H). // *Ann Oncol.* - 2014. - V. 25. – P. 1032-1038.

247. Gómez-Fernández N, Castellví-Bel S, Fernández-Rozadilla C, Balaguer F, Muñoz J, Madrigal I, Milà M, Graña B, Vega A, Castells A, Carracedo A, Ruiz-Ponte C. Molecular analysis of the APC and MUTYH genes in Galician and Catalanian FAP families: a different spectrum of mutations? // *BMC Med Genet.* – 2009. - V. 10. – P. 57.
248. Gonçalves V, Theisen P, Antunes O, Medeira A, Ramos JS, Jordan P, Isidro G. A missense mutation in the APC tumor suppressor gene disrupts an ASF/SF2 splicing enhancer motif and causes pathogenic skipping of exon 14. // *Mutat Res.* - 2009. - V. 662. – P.33-36.
249. González S, Blanco I, Campos O, Julià M, Reyes J, Llompарт A, Cabeza E, Germà JR, Obrador A, Capellà G. Founder mutation in familial adenomatous polyposis (FAP) in the Balearic Islands. // *Cancer Genet Cytogenet.* – 2005. - V. 158. – P. 70-74.
250. van Gool IC, Eggink FA, Freeman-Mills L, Stelloo E, Marchi E, de Bruyn M, Palles C, Nout RA, de Kroon CD, Osse EM, Klenerman P, Creutzberg CL, Tomlinson IP, Smit VT, Nijman HW, Bosse T, Church DN. POLE Proofreading Mutations Elicit an Antitumor Immune Response in Endometrial Cancer. // *Clin Cancer Res.* – 2015. - V. 21. – P. 3347-3355.
251. Grabowski M, Mueller-Koch Y, Grasbon-Frodl E, Koehler U, Keller G, Vogelsang H, Dietmaier W, Kopp R, Siebers U, Schmitt W, Neitzel B, Gruber M, Doerner C, Kerker B, Ruemmele P, Henke G, Holinski-Feder E. Deletions account for 17% of pathogenic germline alterations in MLH1 and MSH2 in hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC) families. // *Genet Test.* – 2005. - V. 9. – P. 138-146.
252. Grandval P, Blayau M, Buisine MP, Coulet F, Maugard C, Pinson S, Remenieras A, Tinat J, Uhrhammer N, Bérout C, Olschwang S. The UMD-APC database, a model of nationwide knowledge base: update with data from 3,581 variations. // *Hum Mutat.* - 2014. - V. 35. - P. 532-536.
253. Grandval P, Fabre AJ, Gaildrat P, Baert-Desurmont S, Blayau M, Buisine MP, Coulet F, Maugard C, Pinson S, Remenieras A, Rouleau E, Uhrhammer N, Beroud C, Olschwang S. Genomic variations integrated database for MUTYH-associated adenomatous polyposis // *J Med Genet.* - 2015. - V. 52. - P. 25-27.
254. Di Gregorio C, Frattini M, Maffei S, Ponti G, Losi L, Pedroni M, Venesio T, Bertario L, Varesco L, Risio M, Ponz de Leon M. Immunohistochemical expression of MYH protein can be used to identify patients with MYH-associated polyposis. // *Gastroenterology.* - 2006. - V. 131. – P. 439-444.
255. Groden J, Thliveris A, Samowitz W, Carlson M, Gelbert L, Albertsen H, Joslyn G, Stevens J, Spirio L, Robertson M, et al. Identification and characterization of the familial adenomatous polyposis coli gene. // *Cell.* - 1991. - V. 66. – P. 589-600.

256. Grover S, Kastrinos F, Steyerberg EW, Cook EF, Dewanwala A, Burbidge LA, Wenstrup RJ, Syngal S. Prevalence and phenotypes of APC and MUTYH mutations in patients with multiple colorectal adenomas. // *JAMA*. – 2012. - V. 308. – P. 485-492.
257. Groves C, Lamlum H, Crabtree M, Williamson J, Taylor C, Bass S, Cuthbert-Heavens D, Hodgson S, Phillips R, Tomlinson I. Mutation cluster region, association between germline and somatic mutations and genotype-phenotype correlation in upper gastrointestinal familial adenomatous polyposis. // *Am J Pathol*. - 2002. - V. 160. – P. 2055-2061.
258. Gryfe R, Kim H, Hsieh ET, Aronson MD, Holowaty EJ, Bull SB, Redston M, Gallinger S. Tumor microsatellite instability and clinical outcome in young patients with colorectal cancer. // *N Engl J Med*. – 2000. - V. 342. – P. 69-77.
259. Gryfe R, Di Nicola N, Gallinger S, Redston M. Somatic instability of the APC I1307K allele in colorectal neoplasia. // *Cancer Res*. – 1998. - V. 58. – P. 4040-4043.
260. Guan HB, Wu QJ, Gong TT, Lin B, Wang YL, Liu CX. Parity and risk of colorectal cancer: a dose-response meta-analysis of prospective studies. // *PLoS One*. - 2013. - V. 8. – P. e75279.
261. Guarinos C, Juárez M, Egoavil C, Rodríguez-Soler M, Pérez-Carbonell L, Salas R, Cubiella J, Rodríguez-Moranta F, de-Castro L, Bujanda L, Serradesanferm A, Nicolás-Pérez D, Herráiz M, Fernández-Bañares F, Herreros-de-Tejada A, Aguirre E, Balmaña J, Rincón ML, Pizarro A, Polo-Ortiz F, Castillejo A, Alenda C, Payá A, Soto JL, Jover R. Prevalence and characteristics of MUTYH-associated polyposis in patients with multiple adenomatous and serrated polyps. // *Clin Cancer Res*. - 2014. - V. 20. – P. 1158-1168.
262. Guevara-Aguirre J, Balasubramanian P, Guevara-Aguirre M, Wei M, Madia F, Cheng CW, Hwang D, Martin-Montalvo A, Saavedra J, Ingles S, de Cabo R, Cohen P, Longo VD. Growth hormone receptor deficiency is associated with a major reduction in pro-aging signaling, cancer, and diabetes in humans. // *Sci Transl Med*. - 2011. - V. 3. - P. 70ra13.
263. Guda K, Fink SP, Milne GL, Molyneaux N, Ravi L, Lewis SM, Dannenberg AJ, Montgomery CG, Zhang S, Willis J, Wiesner GL, Markowitz SD. Inactivating mutation in the prostaglandin transporter gene, *SLCO2A1*, associated with familial digital clubbing, colon neoplasia, and NSAID resistance. // *Cancer Prev Res (Phila)*. - 2014. - V. 7. – P. 805-812.
264. Guerrerio AL, Frischmeyer-Guerrerio PA, Huang C, Wu Y, Haritunians T, McGovern DP, MacCarrick GL, Brant SR, Dietz HC. Increased Prevalence of Inflammatory Bowel Disease in Patients with Mutations in Genes Encoding the Receptor Subunits for TGF β . // *Inflamm Bowel Dis*. - 2016. - V. 22. – P. 2058-2062.
265. Gylfe AE, Katainen R, Kondelin J, Tanskanen T, Cajuso T, Hänninen U, Taipale J, Taipale M, Renkonen-Sinisalo L, Järvinen H, Mecklin JP, Kilpivaara O, Pitkänen E, Vahteristo P,

Tuupanen S, Karhu A, Aaltonen LA. Eleven candidate susceptibility genes for common familial colorectal cancer. // *PLoS Genet.* 2013. - V. 9. – P. e1003876.

266. Gylling A, Ridanpää M, Vierimaa O, Aittomäki K, Avela K, Kääriäinen H, Laivuori H, Pöyhönen M, Sallinen SL, Wallgren-Pettersson C, Järvinen HJ, Mecklin JP, Peltomäki P. Large genomic rearrangements and germline epimutations in Lynch syndrome. // *Int J Cancer.* - 2009. - V. 124. – P. 2333-2340.

267. Guinney J, Dienstmann R, Wang X, de Reyniès A, Schlicker A, Soneson C, Marisa L, Roepman P, Nyamundanda G, Angelino P, Bot BM, Morris JS, Simon IM, Gerster S, Fessler E, De Sousa E Melo F, Missiaglia E, Ramay H, Barras D, Homicsko K, Maru D, Manyam GC, Broom B, Boige V, Perez-Villamil B, Laderas T, Salazar R, Gray JW, Hanahan D, Tabernero J, Bernards R, Friend SH, Laurent-Puig P, Medema JP, Sadanandam A, Wessels L, Delorenzi M, Kopetz S, Vermeulen L, Tejpar S. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. // *Nat Med.* - 2015. - V. 21. – P. 1350-1356.

268. Haan JC, Labots M, Rausch C, Koopman M, Tol J, Mekenkamp LJ, van de Wiel MA, Israeli D, van Essen HF, van Grieken NC, Voorham QJ, Bosch LJ, Qu X, Kabbarah O, Verheul HM, Nagtegaal ID, Punt CJ, Ylstra B, Meijer GA. Genomic landscape of metastatic colorectal cancer. // *Nat Commun.* - 2014. - V. 5. – P. 5457.

269. Halford SE, Rowan AJ, Lipton L, Sieber OM, Pack K, Thomas HJ, Hodgson SV, Bodmer WF, Tomlinson IP. Germline mutations but not somatic changes at the MYH locus contribute to the pathogenesis of unselected colorectal cancers. // *Am J Pathol.* - 2003. - V. 162. – P. 1545-1548.

270. Hamilton SR, Liu B, Parsons RE, Papadopoulos N, Jen J, Powell SM, Krush AJ, Berk T, Cohen Z, Tetu B, et al. The molecular basis of Turcot's syndrome. // *N Engl J Med.* - 1995. - V. 332. – P. 839-847.

271. Hamer M, Sabia S, Batty GD, Shipley MJ, Tabák AG, Singh-Manoux A, Kivimaki M. Physical activity and inflammatory markers over 10 years: follow-up in men and women from the Whitehall II cohort study. // *Circulation.* - 2012. - V. 126. – P. 928-933.

272. Hampel H, de la Chapelle A. How do we approach the goal of identifying everybody with Lynch syndrome? // *Fam Cancer.* - 2013. - V. 12. – P. 313-317.

273. Hampel H, Frankel WL, Martin E, Arnold M, Khanduja K, Kuebler P, Clendenning M, Sotamaa K, Prior T, Westman JA, Panescu J, Fix D, Lockman J, LaJeunesse J, Comeras I, de la Chapelle A. Feasibility of screening for Lynch syndrome among patients with colorectal cancer. // *J Clin Oncol.* - 2008. - V. 26. – P. 5783-5788.

274. Hampel H, Frankel WL, Martin E, Arnold M, Khanduja K, Kuebler P, Nakagawa H, Sotamaa K, Prior TW, Westman J, Panescu J, Fix D, Lockman J, Comeras I, de la Chapelle A.

Screening for the Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer). // *N Engl J Med.* – 2005. – V. 352. – P. 1851-1860.

275. Hansen MF, Johansen J, Bjørnevoll I, Sylvander AE, Steinsbekk KS, Sætrum P, Sandvik AK, Drabløs F, Sjørusen W. A novel POLE mutation associated with cancers of colon, pancreas, ovaries and small intestine. // *Fam Cancer.* - 2015. - V. 14. – P. 437-448.

276. Hara K, Saito T, Hayashi T, Yimit A, Takahashi M, Mitani K, Takahashi M, Yao T. A mutation spectrum that includes GNAS, KRAS and TP53 may be shared by mucinous neoplasms of the appendix. // *Pathol Res Pract.* - 2015. - V. 211. – P. 657-664.

277. Haraldsdottir S, Hampel H, Tomsic J, Frankel WL, Pearlman R, de la Chapelle A, Pritchard CC. Colon and Endometrial Cancers with Mismatch Repair Deficiency can Arise from Somatic, Rather Than Germline, Mutations. // *Gastroenterology.* - 2014. - pii: S0016-5085(14)01080-4.

278. Haraldsdottir S, Hampel H, Wu C, Weng DY, Shields PG, Frankel WL, Pan X, de la Chapelle A, Goldberg RM, Bekaii-Saab T. Patients with colorectal cancer associated with Lynch syndrome and MLH1 promoter hypermethylation have similar prognoses. // *Genet Med.* - 2016. - V. 18. – P. 863-868.

279. Harkness EF, Barrow E, Newton K, Green K, Clancy T, Lalloo F, Hill J, Evans DG. Lynch syndrome caused by MLH1 mutations is associated with an increased risk of breast cancer: a cohort study. // *J Med Genet.* - 2015. - V. 52. – P. 553-556.

280. Harpaz N, Ward SC, Mescoli C, Itzkowitz SH, Polydorides AD. Precancerous lesions in inflammatory bowel disease. // *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* - 2013. - V. 27. – P. 257-267.

281. Hartman DJ, Brand RE, Hu H, Bahary N, Dudley B, Chiosea SI, Nikiforova MN, Pai RK. Lynch syndrome-associated colorectal carcinoma: frequent involvement of the left colon and rectum and late-onset presentation supports a universal screening approach. // *Hum Pathol.* – 2013. - V. 44. – P. 2518-2528.

282. van Hattem WA, Brosens LA, Marks SY, Milne AN, van Eeden S, Iacobuzio-Donahue CA, Ristimäki A, Giardiello FM, Offerhaus GJ. Increased cyclooxygenase-2 expression in juvenile polyposis syndrome. // *Clin Gastroenterol Hepatol.* - 2009. - V. 7. – P. 93-97.

283. Haugen AC, Goel A, Yamada K, Marra G, Nguyen TP, Nagasaka T, Kanazawa S, Koike J, Kikuchi Y, Zhong X, Arita M, Shibuya K, Oshimura M, Hemmi H, Boland CR, Koi M. Genetic instability caused by loss of MutS homologue 3 in human colorectal cancer. // *Cancer Res.* - 2008. - V. 68. – P. 8465-8472.

284. zur Hausen H. Red meat consumption and cancer: reasons to suspect involvement of bovine infectious factors in colorectal cancer. // *Int J Cancer.* - 2012. - V. 130. – P. 2475-2483.

285. Heald B, Mester J, Rybicki L, Orloff MS, Burke CA, Eng C. Frequent gastrointestinal polyps and colorectal adenocarcinomas in a prospective series of PTEN mutation carriers. // *Gastroenterology*. - 2010. - V. 139. – P. 1927-1933.
286. Hearle N, Schumacher V, Menko FH, Olschwang S, Boardman LA, Gille JJ, Keller JJ, Westerman AM, Scott RJ, Lim W, Trimbath JD, Giardiello FM, Gruber SB, Offerhaus GJ, de Rooij FW, Wilson JH, Hansmann A, Möslein G, Royer-Pokora B, Vogel T, Phillips RK, Spigelman AD, Houlston RS. Frequency and spectrum of cancers in the Peutz-Jeghers syndrome. // *Clin Cancer Res*. - 2006. - V. 12. – P. 3209-3215.
287. Heine-Bröring RC, Winkels RM, Renkema JM, Kragt L, van Orten-Luiten AC, Tigchelaar EF, Chan DS, Norat T, Kampman E. Dietary supplement use and colorectal cancer risk: a systematic review and meta-analyses of prospective cohort studies. // *Int J Cancer*. - 2015. - V. 136. – P. 2388-2401.
288. Helder-Woolderink JM, Blok EA, Vasen HF, Hollema H, Mourits MJ, De Bock GH. Ovarian cancer in Lynch syndrome - a systematic review. // *Eur J Cancer*. - 2016. - V. 55. - P. 65-73.
289. Hendriks YM, Wagner A, Morreau H, Menko F, Stormorken A, Quehenberger F, Sandkuijl L, Møller P, Genuardi M, Van Houwelingen H, Tops C, Van Puijenbroek M, Verkuijlen P, Kenter G, Van Mil A, Meijers-Heijboer H, Tan GB, Breuning MH, Fodde R, Wijnen JT, Bröcker-Vriends AH, Vasen H. Cancer risk in hereditary nonpolyposis colorectal cancer due to MSH6 mutations: impact on counseling and surveillance. // *Gastroenterology*. - 2004. - V. 127. – P. 17-25.
290. Hes FJ, Nielsen M, Bik EC, Konvalinka D, Wijnen JT, Bakker E, Vasen HF, Breuning MH, Tops CM. Somatic APC mosaicism: an underestimated cause of polyposis coli. // *Gut*. 2008. - V. 57.- P. 71-76.
291. van Heumen BW, Nieuwenhuis MH, van Goor H, Mathus-Vliegen LE, Dekker E, Gouma DJ, Dees J, van Eijck CH, Vasen HF, Nagengast FM. Surgical management for advanced duodenal adenomatosis and duodenal cancer in Dutch patients with familial adenomatous polyposis: a nationwide retrospective cohort study. // *Surgery*. - 2012. - V. 151. – P. 681-690.
292. Hewish M, Martin SA, Elliott R, Cunningham D, Lord CJ, Ashworth A. Cytosine-based nucleoside analogs are selectively lethal to DNA mismatch repair-deficient tumour cells by enhancing levels of intracellular oxidative stress. // *Br J Cancer*. - 2013. - V. 108. – P. 983-992.
293. Hienonen T, Laiho P, Salovaara R, Mecklin JP, Järvinen H, Sistonen P, Peltomäki P, Lehtonen R, Nupponen NN, Launonen V, Karhu A, Aaltonen LA. Little evidence for involvement of MLH3 in colorectal cancer predisposition. // *Int J Cancer*. - 2003. - V. 106. – P. 292-296.

294. Hinoue T, Weisenberger DJ, Pan F, Campan M, Kim M, Young J, Whitehall VL, Leggett BA, Laird PW. Analysis of the association between CIMP and BRAF in colorectal cancer by DNA methylation profiling. // *PLoS One*. - 2009. - V. 4. – P. e8357.
295. Hoang JM, Cottu PH, Thuille B, Salmon RJ, Thomas G, Hamelin R. BAT-26, an indicator of the replication error phenotype in colorectal cancers and cell lines. // *Cancer Res*. - 1997. - V. 57. – P. 300-303.
296. Hoang LN, McConechy MK, Köbel M, Anglesio M, Senz J, Maassen M, Kommoss S, Meng B, Postovit L, Kelemen LE, Staebler A, Brucker S, Krämer B, McAlpine JN, Gilks CB, Huntsman DG, Lee CH. Polymerase Epsilon Exonuclease Domain Mutations in Ovarian Endometrioid Carcinoma. // *Int J Gynecol Cancer*. - 2015. - V. 25. – P. 1187-1193.
297. Holden SE, Jenkins-Jones S, Morgan CL, Scherthaner G, Currie CJ. Glucose-lowering with exogenous insulin monotherapy in type 2 diabetes: dose association with all-cause mortality, cardiovascular events and cancer. // *Diabetes Obes Metab*. - 2015. - V. 17. – P. 350-362.
298. Holmberg M, Kristo P, Chadwicks RB, Mecklin JP, Järvinen H, de la Chapelle A, Nyström-Lahti M, Peltomäki P. Mutation sharing, predominant involvement of the MLH1 gene and description of four novel mutations in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. Mutations in brief no. 144. Online. // *Hum Mutat*. - 1998. - V. 11. – P. 482.
299. Howard RA, Freedman DM, Park Y, Hollenbeck A, Schatzkin A, Leitzmann MF. Physical activity, sedentary behavior, and the risk of colon and rectal cancer in the NIH-AARP Diet and Health Study. // *Cancer Causes Control*. - 2008. - V. 19. – P. 939-953.
300. Howe JR, Haidle JL, Lal G, Bair J, Song C, Pechman B, Chinnathambi S, Lynch HT. ENG mutations in MADH4/BMPR1A mutation negative patients with juvenile polyposis. // *Clin Genet*. - 2007. - V. 71. - P. 91-92.
301. Howe JR, Mitros FA, Summers RW. The risk of gastrointestinal carcinoma in familial juvenile polyposis. // *Ann Surg Oncol*. - 1998. - V. 5. - P. 751-756.
302. Hu PJ, Knoepp SM, Wu R, Cho KR. Ovarian steroid cell tumor with biallelic adenomatous polyposis coli inactivation in a patient with familial adenomatous polyposis. // *Genes Chromosomes Cancer*. – 2012. - V. 51. – P. 283-289.
303. Hughes LA, Khalid-de Bakker CA, Smits KM, van den Brandt PA, Jonkers D, Ahuja N, Herman JG, Weijenberg MP, van Engeland M. The CpG island methylator phenotype in colorectal cancer: progress and problems. // *Biochim Biophys Acta*. - 2012. - V. 1825. – P. 77-85.
304. Hussein YR, Weigelt B, Levine DA, Schoolmeester JK, Dao LN, Balzer BL, Liles G, Karlan B, Köbel M, Lee CH, Soslow RA. Clinicopathological analysis of endometrial carcinomas harboring somatic POLE exonuclease domain mutations. // *Mod Pathol*. - 2015. - V. 28. – P. 505-514.

305. Ingham D, Diggle CP, Berry I, Bristow CA, Hayward BE, Rahman N, Markham AF, Sheridan EG, Bonthron DT, Carr IM. Simple detection of germline microsatellite instability for diagnosis of constitutional mismatch repair cancer syndrome. // *Hum Mutat.* - 2013. - V. 34. – P. 847-852.
306. Inra JA, Steyerberg EW, Grover S, McFarland A, Syngal S, Kastrinos F. Racial variation in frequency and phenotypes of APC and MUTYH mutations in 6,169 individuals undergoing genetic testing. // *Genet Med.* - 2015. - V. 17. – P. 815-821.
307. Isidro G, Laranjeira F, Pires A, Leite J, Regateiro F, Castro e Sousa F, Soares J, Castro C, Gíria J, Brito MJ, Medeira A, Teixeira R, Morna H, Gaspar I, Marinho C, Jorge R, Brehm A, Ramos JS, Boavida MG. Germline MUTYH (MYH) mutations in Portuguese individuals with multiple colorectal adenomas. // *Hum Mutat.* - 2004. - V. 24. – P. 353-354.
308. Ito Y, Miyauchi A, Ishikawa H, Hirokawa M, Kudo T, Tomoda C, Miya A. Our experience of treatment of cribriform morular variant of papillary thyroid carcinoma; difference in clinicopathological features of FAP-associated and sporadic patients. // *Endocr J.* - 2011. - V. 58. – P. 685-689.
309. Itoh H, Ohsato K, Yao T, Iida M, Watanabe H. Turcot's syndrome and its mode of inheritance. // *Gut.* - 1979. - V. 20. – P. 414-419.
310. Iyama T, Wilson DM 3rd. DNA repair mechanisms in dividing and non-dividing cells. // *DNA Repair (Amst).* - 2013. - V. 12. – P. 620-636.
311. Jacobs ET, Kohler LN, Kunihiro AG, Jurutka PW. Vitamin D and Colorectal, Breast, and Prostate Cancers: A Review of the Epidemiological Evidence. // *J Cancer.* - 2016. - V. 7. – P. 232-240.
312. Jaeger E, Leedham S, Lewis A, Segditsas S, Becker M, Cuadrado PR, Davis H, Kaur K, Heinemann K, Howarth K, East J, Taylor J, Thomas H, Tomlinson I. Hereditary mixed polyposis syndrome is caused by a 40-kb upstream duplication that leads to increased and ectopic expression of the BMP antagonist GREM1. // *Nat Genet.* - 2012. - V. 44. – P. 699-703.
313. Jansen M, Langeveld D, De Leng WW, Milne AN, Giardiello FM, Offerhaus GJ. LKB1 as the ghostwriter of crypt history. // *Fam Cancer.* - 2011. - V. 10. – P. 437-446.
314. Jansen AM, van Wezel T, van den Akker BE, Ventayol Garcia M, Ruano D, Tops CM, Wagner A, Letteboer TG, Gómez-García EB, Devilee P, Wijnen JT, Hes FJ, Morreau H. Combined mismatch repair and POLE/POLD1 defects explain unresolved suspected Lynch syndrome cancers. // *Eur J Hum Genet.* - 2016. - V. 24. – P. 1089-1092.
315. Jass JR. Classification of colorectal cancer based on correlation of clinical, morphological and molecular features. // *Histopathology.* - 2007. - V. 50. – P. 113-130.

316. Jass JR, Baker K, Zlobec I, Higuchi T, Barker M, Buchanan D, Young J. Advanced colorectal polyps with the molecular and morphological features of serrated polyps and adenomas: concept of a 'fusion' pathway to colorectal cancer. // *Histopathology*. - 2006. - V. 49. – P. 121-131.
317. Jass JR, Williams CB, Bussey HJ, Morson BC. Juvenile polyposis--a precancerous condition. // *Histopathology*. - 1988. - V. 13. - 619-630.
318. Jelsig AM, Brusgaard K, Hansen TP, Qvist N, Larsen M, Bojesen A, Nielsen CB, Ousager LB. Germline variants in Hamartomatous Polyposis Syndrome-associated genes from patients with one or few hamartomatous polyps. // *Scand J Gastroenterol*. - 2016. - V. 51. – P. 1118-1125.
319. Jelsig AM, Qvist N, Sunde L, Brusgaard K, Hansen T, Wikman FP, Nielsen CB, Nielsen IK, Gerdes AM, Bojesen A, Ousager LB. Disease pattern in Danish patients with Peutz-Jeghers syndrome. // *Int J Colorectal Dis*. - 2016. - V. 31. – P. 997-1004.
320. Jelsig AM, Qvist N, Brusgaard K, Nielsen CB, Hansen TP, Ousager LB. Hamartomatous polyposis syndromes: a review. // *Orphanet J Rare Dis*. - 2014. - V. 9. – P. 101.
321. Jess T, Gamborg M, Matzen P, Munkholm P, Sørensen TI. Increased risk of intestinal cancer in Crohn's disease: a meta-analysis of population-based cohort studies. // *Am J Gastroenterol*. - 2005. - V. 100. – P. 2724-2729.
322. Jess T, Simonsen J, Jørgensen KT, Pedersen BV, Nielsen NM, Frisch M. Decreasing risk of colorectal cancer in patients with inflammatory bowel disease over 30 years. // *Gastroenterology*. - 2012. - V. 143. – P. 375-381.
323. Jia M, Gao X, Zhang Y, Hoffmeister M, Brenner H. Different definitions of CpG island methylator phenotype and outcomes of colorectal cancer: a systematic review. // *Clin Epigenetics*. - 2016. - V. 8. – P. 25.
324. Jiao S, Hsu L, Berndt S, Bézieau S, Brenner H, Buchanan D, Caan BJ, Campbell PT, Carlson CS, Casey G, Chan AT, Chang-Claude J, Chanock S, Conti DV, Curtis KR, Duggan D, Gallinger S, Gruber SB, Harrison TA, Hayes RB, Henderson BE, Hoffmeister M, Hopper JL, Hudson TJ, Hutter CM, Jackson RD, Jenkins MA, Kantor ED, Kolonel LN, Küry S, Le Marchand L, Lemire M, Newcomb PA, Potter JD, Qu C, Rosse SA, Schoen RE, Schumacher FR, Seminara D, Slattery ML, Ulrich CM, Zanke BW, Peters U. Genome-wide search for gene-gene interactions in colorectal cancer. // *PLoS One*. - 2012. - V. 7. – P. e52535.
325. Jiao S, Peters U, Berndt S, Brenner H, Butterbach K, Caan BJ, Carlson CS, Chan AT, Chang-Claude J, Chanock S, Curtis KR, Duggan D, Gong J, Harrison TA, Hayes RB, Henderson BE, Hoffmeister M, Kolonel LN, Le Marchand L, Potter JD, Rudolph A, Schoen RE, Seminara D,

Slattery ML, White E, Hsu L. Estimating the heritability of colorectal cancer. // *Hum Mol Genet.* - 2014. - V. 23. – P. 3898-3905.

326. Jo WS, Bandipalliam P, Shannon KM, Niendorf KB, Chan-Smutko G, Hur C, Syngal S, Chung DC. Correlation of polyp number and family history of colon cancer with germline MYH mutations. // *Clin Gastroenterol Hepatol.* - 2005. - V. 3. – P. 1022-1028.

327. Johnson CM, Wei C, Ensor JE, Smolenski DJ, Amos CI, Levin B, Berry DA. Meta-analyses of colorectal cancer risk factors. // *Cancer Causes Control.* - 2013. - V. 24. - 1207-1222.

328. Johnson V, Volikos E, Halford SE, Eftekhar Sadat ET, Popat S, Talbot I, Truninger K, Martin J, Jass J, Houlston R, Atkin W, Tomlinson IP, Silver AR. Exon 3 beta-catenin mutations are specifically associated with colorectal carcinomas in hereditary non-polyposis colorectal cancer syndrome. // *Gut.* - 2005. - V. 54. – P. 264-267.

329. Jones S, Lambert S, Williams GT, Best JM, Sampson JR, Cheadle JP. Increased frequency of the k-ras G12C mutation in MYH polyposis colorectal adenomas. // *Br J Cancer.* - 2004. - V. 90. – P. 1591-1593

330. Jones N, Vogt S, Nielsen M, Christian D, Wark PA, Eccles D, Edwards E, Evans DG, Maher ER, Vasen HF, Hes FJ, Aretz S, Sampson JR. Increased colorectal cancer incidence in obligate carriers of heterozygous mutations in MUTYH. // *Gastroenterology.* - 2009. - V. 137. – P. 489-494.

331. de Jong AE, Hendriks YM, Kleibeuker JH, de Boer SY, Cats A, Griffioen G, Nagengast FM, Nelis FG, Rookus MA, Vasen HF. Decrease in mortality in Lynch syndrome families because of surveillance. // *Gastroenterology.* - 2006. - V. 130. – P. 665-671.

332. Joost P, Therkildsen C, Dominguez-Valentin M, Jönsson M, Nilbert M. Urinary Tract Cancer in Lynch Syndrome; Increased Risk in Carriers of MSH2 Mutations. // *Urology.* - 2015. - V. 86. – P. 1212-1217.

333. Juhn E, Khachemoune A. Gardner syndrome: skin manifestations, differential diagnosis and management. // *Am J Clin Dermatol.* - 2010. - V. 11. – P. 117-122.

334. Julié C, Trésallet C, Brouquet A, Vallot C, Zimmermann U, Mitry E, Radvanyi F, Rouleau E, Lidereau R, Coulet F, Olschwang S, Frébourg T, Rougier P, Nordlinger B, Laurent-Puig P, Penna C, Boileau C, Franc B, Muti C, Hofmann-Radvanyi H. Identification in daily practice of patients with Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer): revised Bethesda guidelines-based approach versus molecular screening. // *Am J Gastroenterol.* - 2008. - V. 103. – P. 2825-2835.

335. Jung YS, Yun KE, Chang Y, Ryu S, Park DI. Risk Factors Such as Male Sex, Smoking, Metabolic Syndrome, Obesity, and Fatty Liver Do Not Justify Screening Colonoscopies Before Age 45. // *Dig Dis Sci.* - 2016. - V. 61. – P. 1021-1027.

336. Järvinen HJ, Aarnio M, Mustonen H, Aktan-Collan K, Aaltonen LA, Peltomäki P, De La Chapelle A, Mecklin JP. Controlled 15-year trial on screening for colorectal cancer in families with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. // *Gastroenterology*. - 2000. - V. 118. – P. 829-834.
337. Järvinen HJ, Renkonen-Sinisalo L, Aktán-Collán K, Peltomäki P, Aaltonen LA, Mecklin JP. Ten years after mutation testing for Lynch syndrome: cancer incidence and outcome in mutation-positive and mutation-negative family members. // *J Clin Oncol*. - 2009. - V. 27. – P. 4793-4797.
338. Kadyrova LY, Kadyrov FA. Endonuclease activities of MutL α and its homologs in DNA mismatch repair. // *DNA Repair (Amst)*. - 2016. - V. 38. – P. 42-49.
339. Kairupan CF, Meldrum CJ, Crooks R, Milward EA, Spigelman AD, Burgess B, Groombridge C, Kirk J, Tucker K, Ward R, Williams R, Scott RJ. Mutation analysis of the MYH gene in an Australian series of colorectal polyposis patients with or without germline APC mutations. // *Int J Cancer*. - 2005. - V. 116. – P. 73-77.
340. Kambara T, Whitehall VL, Spring KJ, Barker MA, Arnold S, Wynter CV, Matsubara N, Tanaka N, Young JP, Leggett BA, Jass JR. Role of inherited defects of MYH in the development of sporadic colorectal cancer. // *Genes Chromosomes Cancer*. - 2004. - V. 40. – P. 1-9.
341. Kane DP, Shcherbakova PV. A common cancer-associated DNA polymerase ϵ mutation causes an exceptionally strong mutator phenotype, indicating fidelity defects distinct from loss of proofreading. // *Cancer Res*. - 2014. - V. 74. – P. 1895-1901.
342. Kane MF, Loda M, Gaida GM, Lipman J, Mishra R, Goldman H, Jessup JM, Kolodner R. Methylation of the hMLH1 promoter correlates with lack of expression of hMLH1 in sporadic colon tumors and mismatch repair-defective human tumor cell lines. // *Cancer Res*. - 1997. - V. 57. – P. 808-811.
343. Kang GH. Four molecular subtypes of colorectal cancer and their precursor lesions. // *Arch Pathol Lab Med*. - 2011. - V. 135. – P. 698-703.
344. Kang SY, Park CK, Chang DK, Kim JW, Son HJ, Cho YB, Yun SH, Kim HC, Kwon M, Kim KM. Lynch-like syndrome: Characterization and comparison with EPCAM deletion carriers. // *Int J Cancer*. - 2014. - [Epub ahead of print]
345. Kansal R, Li X, Shen J, Samuel D, Laningham F, Lee H, Panigrahi GB, Shuen A, Kantarci S, Dorrani N, Reiss J, Shintaku P, Deignan JL, Strom SP, Pearson CE, Vilain E, Grody WW. An infant with MLH3 variants, FOXP1-duplication and multiple, benign cranial and spinal tumors: A clinical exome sequencing study. // *Genes Chromosomes Cancer*. - 2016. - V. 55. – P. 131 - 142.

346. Kaplan GG. The global burden of IBD: from 2015 to 2025. // *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* - 2015. - V. 12. – P. 720-727.
347. Karahalios A, English DR, Simpson JA. Weight change and risk of colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. // *Am J Epidemiol.* - 2015. - V. 181. – P. 832-845.
348. Kasper B, Ströbel P, Hohenberger P. Desmoid tumors: clinical features and treatment options for advanced disease. // *Oncologist.* - 2011. - V. 16. – P. 682-693.
349. Kastrinos F, Allen JI, Stockwell DH, Stoffel EM, Cook EF, Mutinga ML, Balmaña J, Syngal S. Development and validation of a colon cancer risk assessment tool for patients undergoing colonoscopy. // *Am J Gastroenterol.* - 2009. - V. 104. – P. 1508-1518.
350. Kastrinos F, Mukherjee B, Tayob N, Wang F, Sparr J, Raymond VM, Bandipalliam P, Stoffel EM, Gruber SB, Syngal S. Risk of pancreatic cancer in families with Lynch syndrome. // *JAMA.* - 2009. - V. 302. – P. 1790-1795.
351. Katballe N, Christensen M, Wikman FP, Ørntoft TF, Laurberg S. Frequency of hereditary non-polyposis colorectal cancer in Danish colorectal cancer patients. // *Gut.* - 2002. - V. 50. – P. 43-51.
352. Kawakami H, Zaanan A, Sinicrope FA. Microsatellite instability testing and its role in the management of colorectal cancer. // *Curr Treat Options Oncol.* - 2015. - V. 16. – P. 30.
353. Kawasaki T, Nosho K, Ohnishi M, Suemoto Y, Kirkner GJ, Dehari R, Meyerhardt JA, Fuchs CS, Ogino S. Correlation of beta-catenin localization with cyclooxygenase-2 expression and CpG island methylator phenotype (CIMP) in colorectal cancer. // *Neoplasia.* - 2007. - V. 9. – P. 569-577.
354. Kempers MJ, Kuiper RP, Ockeloen CW, Chappuis PO, Hutter P, Rahner N, Schackert HK, Steinke V, Holinski-Feder E, Morak M, Kloor M, Büttner R, Verwiel ET, van Krieken JH, Nagtegaal ID, Goossens M, van der Post RS, Niessen RC, Sijmons RH, Kluijdt I, Hogervorst FB, Leter EM, Gille JJ, Aalfs CM, Redeker EJ, Hes FJ, Tops CM, van Nesselrooij BP, van Gijn ME, Gómez García EB, Eccles DM, Bunyan DJ, Syngal S, Stoffel EM, Culver JO, Palomares MR, Graham T, Velsher L, Papp J, Oláh E, Chan TL, Leung SY, van Kessel AG, Kiemeny LA, Hoogerbrugge N, Ligtenberg MJ. Risk of colorectal and endometrial cancers in EPCAM deletion-positive Lynch syndrome: a cohort study. // *Lancet Oncol.* - 2011. - V. 12. – P. 49-55.
355. Kennedy RD, Potter DD, Moir CR, El-Youssef M. The natural history of familial adenomatous polyposis syndrome: a 24 year review of a single center experience in screening, diagnosis, and outcomes. // *J Pediatr Surg.* - 2014. - V. 49. – P. 82-86.
356. Kerr SE, Thomas CB, Thibodeau SN, Ferber MJ, Halling KC. APC germline mutations in individuals being evaluated for familial adenomatous polyposis: a review of the Mayo Clinic experience with 1591 consecutive tests. // *J Mol Diagn.* - 2013. - V. 15. – P. 31-43.

357. Keum N, Bao Y, Smith-Warner SA, Orav J, Wu K, Fuchs CS, Giovannucci EL. Association of Physical Activity by Type and Intensity With Digestive System Cancer Risk. // *JAMA Oncol.* - 2016. - [Epub ahead of print]
358. Keum N, Cao Y, Oh H, Smith-Warner SA, Orav J, Wu K, Fuchs CS, Cho E, Giovannucci EL. Sedentary behaviors and light-intensity activities in relation to colorectal cancer risk. // *Int J Cancer.* - 2016. - V. 138. – P. 2109-2117.
359. Keum N, Giovannucci EL. Folic acid fortification and colorectal cancer risk. // *Am J Prev Med.* - 2014. - V. 46 (3 Suppl 1):S65-72.
360. Kim BG, Li C, Qiao W, Mamura M, Kasprzak B, Anver M, Wolfraim L, Hong S, Mushinski E, Potter M, Kim SJ, Fu XY, Deng C, Letterio JJ. Smad4 signalling in T cells is required for suppression of gastrointestinal cancer. // *Nature.* - 2006. - V. 441. – P. 1015-1019.
361. Kim DW, Kim IJ, Kang HC, Jang SG, Kim K, Yoon HJ, Ahn SA, Han SY, Hong SH, Hwang JA, Sohn DK, Jeong SY, Choi HS, Hong CW, Lim SB, Park JG. Germline mutations of the MYH gene in Korean patients with multiple colorectal adenomas. // *Int J Colorectal Dis.* - 2007. - V. 22. – P. 1173-1178.
362. Kim DW, Kim IJ, Kang HC, Park HW, Shin Y, Park JH, Jang SG, Yoo BC, Lee MR, Hong CW, Park KJ, Oh NG, Kim NK, Sung MK, Lee BW, Kim YJ, Lee H, Park JG. Mutation spectrum of the APC gene in 83 Korean FAP families. // *Hum Mutat.* - 2005. - V. 26. – P. 281.
363. Kim ER, Chang DK. Colorectal cancer in inflammatory bowel disease: the risk, pathogenesis, prevention and diagnosis. // *World J Gastroenterol.* - 2014. - V. 20. – P. 9872-9881.
364. Kim JH, Kang GH. Molecular and prognostic heterogeneity of microsatellite-unstable colorectal cancer. // *World J Gastroenterol.* - 2014. - V. 20. – P. 4230-4243.
365. Kim TM, Laird PW, Park PJ. The landscape of microsatellite instability in colorectal and endometrial cancer genomes. // *Cell.* - 2013. - V. 155. – P. 858-868.
366. Kinnersley B, Chubb D, Dobbins SE, Frampton M, Buch S, Timofeeva MN, Castellví-Bel S, Farrington SM, Forsti A, Hampe J, Hemminki K, Hofstra RM, Northwood E, Palles C, Pinheiro M, Ruiz-Ponte C, Schafmayer C, Teixeira MR, Westers H, van Wezel T, Timothy Bishop D, Tomlinson I, Dunlop MG, Houlston RS. Correspondence: SEMA4A variation and risk of colorectal cancer. // *Nat Commun.* - 2016. - V. 7. – P. 10611.
367. Kitahara CM, Berndt SI, de González AB, Coleman HG, Schoen RE, Hayes RB, Huang WY. Prospective investigation of body mass index, colorectal adenoma, and colorectal cancer in the prostate, lung, colorectal, and ovarian cancer screening trial. // *J Clin Oncol.* - 2013. - V. 31. – P. 2450-2459.

368. Kloor M, Huth C, Voigt AY, Benner A, Schirmacher P, von Knebel Doeberitz M, Bläker H. Prevalence of mismatch repair-deficient crypt foci in Lynch syndrome: a pathological study. // *Lancet Oncol.* - 2012. - V. 13. – P. 598-606.
369. Klumpen HJ, Queiroz KC, Spek CA, van Noesel CJ, Brink HC, de Leng WW, de Wilde RF, Mathus-Vliegen EM, Offerhaus GJ, Alleman MA, Westermann AM, Richel DJ. mTOR inhibitor treatment of pancreatic cancer in a patient With Peutz-Jeghers syndrome. // *J Clin Oncol.* - 2011. - V. 29. – P. e150-153.
370. Kloor M, Staffa L, Ahadova A, von Knebel Doeberitz M. Clinical significance of microsatellite instability in colorectal cancer. // *Langenbecks Arch Surg.* - 2014. - V. 399. – P. 23-31.
371. Knopperts AP, Nielsen M, Niessen RC, Tops CM, Jorritsma B, Varkevisser J, Wijnen J, Siezen CL, Heine-Bröring RC, van Kranen HJ, Vos YJ, Westers H, Kampman E, Sijmons RH, Hes FJ. Contribution of bi-allelic germline MUTYH mutations to early-onset and familial colorectal cancer and to low number of adenomatous polyps: case-series and literature review. // *Fam Cancer.* - 2013. - V. 12. – P. 43-50.
372. Knudsen AB, Zauber AG, Rutter CM, Naber SK, Doria-Rose VP, Pabiniak C, Johanson C, Fischer SE, Lansdorp-Vogelaar I, Kuntz KM. Estimation of Benefits, Burden, and Harms of Colorectal Cancer Screening Strategies: Modeling Study for the US Preventive Services Task Force. // *JAMA.* - 2016. - V. 315. – P. 2595-2609.
373. Kolodner RD. A personal historical view of DNA mismatch repair with an emphasis on eukaryotic DNA mismatch repair. // *DNA Repair (Amst).* - 2016. - V. 38. – P. 3-13.
374. Komine K, Shimodaira H, Takao M, Soeda H, Zhang X, Takahashi M, Ishioka C. Functional Complementation Assay for 47 MUTYH Variants in a MutY-Disrupted *Escherichia coli* Strain. // *Hum Mutat.* - 2015. - V. 36. – P. 704-711.
375. Koopman M, Kortman GA, Mekenkamp L, Ligtenberg MJ, Hoogerbrugge N, Antonini NF, Punt CJ, van Krieken JH. Deficient mismatch repair system in patients with sporadic advanced colorectal cancer. // *Br J Cancer.* - 2009. - V. 100. – P. 266-273.
376. Korsse SE, Biermann K, Offerhaus GJ, Wagner A, Dekker E, Mathus-Vliegen EM, Kuipers EJ, van Leerdam ME, van Veelen W. Identification of molecular alterations in gastrointestinal carcinomas and dysplastic hamartomas in Peutz-Jeghers syndrome. // *Carcinogenesis.* - 2013. - V. 34. – P. 1611-1619.
377. Koskenvuo L, Pitkäniemi J, Rantanen M, Lepistö A. Impact of Screening on Survival in Familial Adenomatous Polyposis. // *J Clin Gastroenterol.* - 2016. - V. 50. – P. 40-44.
378. Koushik A, Hunter DJ, Spiegelman D, Beeson WL, van den Brandt PA, Buring JE, Calle EE, Cho E, Fraser GE, Freudenheim JL, Fuchs CS, Giovannucci EL, Goldbohm RA,

Harnack L, Jacobs DR Jr, Kato I, Krogh V, Larsson SC, Leitzmann MF, Marshall JR, McCullough ML, Miller AB, Pietinen P, Rohan TE, Schatzkin A, Sieri S, Virtanen MJ, Wolk A, Zeleniuch-Jacquotte A, Zhang SM, Smith-Warner SA. Fruits, vegetables, and colon cancer risk in a pooled analysis of 14 cohort studies. // *J Natl Cancer Inst.* - 2007. - V. 99. – P. 1471-1483.

379. Kowall B, Stang A, Rathmann W, Kostev K. No reduced risk of overall, colorectal, lung, breast, and prostate cancer with metformin therapy in diabetic patients: database analyses from Germany and the UK. // *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* - 2015. - V. 24. – P. 865-874.

380. Kunzmann AT, Coleman HG, Huang WY, Cantwell MM, Kitahara CM, Berndt SI. Fruit and vegetable intakes and risk of colorectal cancer and incident and recurrent adenomas in the PLCO cancer screening trial. // *Int J Cancer.* - 2016. - V. 138. - P. 1851-1861.

381. Kurzawski G, Suchy J, Kładny J, Safranow K, Jakubowska A, Elsakov P, Kucinkas V, Gardovski J, Irmejs A, Sibul H, Huzarski T, Byrski T, Debniak T, Cybulski C, Gronwald J, Oszurek O, Clark J, Góźdz S, Niepsuj S, Słomski R, Pławski A, Łacka-Wojciechowska A, Rozmiarek A, Fiszer-Maliszewska Ł, Bebenek M, Sorokin D, Stawicka M, Godlewski D, Richter P, Brozek I, Wysocka B, Jawień A, Banaszkiwicz Z, Kowalczyk J, Czudowska D, Goretzki PE, Moeslein G, Lubiński J. Germline MSH2 and MLH1 mutational spectrum in HNPCC families from Poland and the Baltic States. // *J Med Genet.* - 2002. - V. 39. – P. E65.

382. Kurzawski G, Suchy J, Lener M, Kłujso-Grabowska E, Kładny J, Safranow K, Jakubowska K, Jakubowska A, Huzarski T, Byrski T, Debniak T, Cybulski C, Gronwald J, Oszurek O, Oszutowska D, Kowalska E, Góźdz S, Niepsuj S, Słomski R, Pławski A, Łacka-Wojciechowska A, Rozmiarek A, Fiszer-Maliszewska Ł, Bebenek M, Sorokin D, Sasiadek MM, Stembalska A, Grzebieniak Z, Kilar E, Stawicka M, Godlewski D, Richter P, Brozek I, Wysocka B, Limon J, Jawień A, Banaszkiwicz Z, Janiszewska H, Kowalczyk J, Czudowska D, Scott RJ, Lubiński J. Germline MSH2 and MLH1 mutational spectrum including large rearrangements in HNPCC families from Poland (update study). // *Clin Genet.* - 2006. - V. 69./ - P. 40-47.

383. Küry S, Buecher B, Robiou-du-Pont S, Scoul C, Colman H, Lelièvre B, Olschwang S, Le Houérou C, Le Neel T, Faroux R, Ollivry J, Lafraise B, Chupin LD, Bézieau S. The thorough screening of the MUTYH gene in a large French cohort of sporadic colorectal cancers. // *Genet Test.* - 2007. - V. 11. – P. 373-379.

384. Laarabi FZ, Cherkaoui Jaouad I, Baert-Desurmont S, Ouldım K, Ibrahimi A, Kanouni N, Frebourg T, Sefiani A. The first mutations in the MYH gene reported in Moroccan colon cancer patients. // *Gene.* - 2012. - V. 496. – P. 55-58.

385. Laarabi FZ, Cherkaoui Jaouad I, Benazzouz A, Squalli D, Sefiani A. Prevalence of MYH-associated polyposis related to three recurrent mutations in Morocco. // *Ann Hum Biol.* - 2011. - V. 38. – P. 360-363.

386. Lagarde A, Rouleau E, Ferrari A, Noguchi T, Qiu J, Briaux A, Bourdon V, Rémy V, Gaildrat P, Adélaïde J, Birnbaum D, Lidereau R, Sobol H, Olschwang S. Germline APC mutation spectrum derived from 863 genomic variations identified through a 15-year medical genetics service to French patients with FAP. // *J Med Genet.* - 2010. - V. 47. – P. 721-722.
387. Laghi L, Bianchi P, Malesci A. Differences and evolution of the methods for the assessment of microsatellite instability. // *Oncogene.* - 2008. - V. 27. – P. 6313-6321.
388. Laiho P, Launonen V, Lahermo P, Esteller M, Guo M, Herman JG, Mecklin JP, Järvinen H, Sistonen P, Kim KM, Shibata D, Houlston RS, Aaltonen LA. Low-level microsatellite instability in most colorectal carcinomas. // *Cancer Res.* - 2002. - V. 62. – P. 1166-1170.
389. Laitman Y, Jaeger E, Katz L, Tomlinson I, Friedman E. GREM1 germline mutation screening in Ashkenazi Jewish patients with familial colorectal cancer. // *Genet Res (Camb).* - 2015. - V. 97. – P. e11.
390. Lamberti C, Mangold E, Pagenstecher C, Jungck M, Schwering D, Bollmann M, Vogel J, Kindermann D, Nikorowitsch R, Friedrichs N, Schneider B, Houshdaran F, Schmidt-Wolf IG, Friedl W, Propping P, Sauerbruch T, Büttner R, Mathiak M. Frequency of hereditary non-polyposis colorectal cancer among unselected patients with colorectal cancer in Germany. // *Digestion.* - 2006. - V. 74. – P. 58-67.
391. Lammi L, Arte S, Somer M, Jarvinen H, Lahermo P, Thesleff I, Pirinen S, Nieminen P. Mutations in AXIN2 cause familial tooth agenesis and predispose to colorectal cancer. // *Am J Hum Genet.* - 2004. - V. 74. – P. 1043-1050.
392. Langner C. Serrated and non-serrated precursor lesions of colorectal cancer. // *Dig Dis.* 2015. - V. 33. – P. 28-37.
393. Lastella P, Patruno M, Forte G, Montanaro A, Di Gregorio C, Sabbà C, Suppressa P, Piepoli A, Panza A, Andriulli A, Resta N, Stella A. Identification and surveillance of 19 Lynch syndrome families in southern Italy: report of six novel germline mutations and a common founder mutation. // *Fam Cancer.* - 2011. - V. 10. – P. 285-295.
394. Latchford AR, Neale K, Phillips RK, Clark SK. Juvenile polyposis syndrome: a study of genotype, phenotype, and long-term outcome. // *Dis Colon Rectum.* - 2012. - V. 55. – P. 1038-1043.
395. Latchford AR, Neale KF, Spigelman AD, Phillips RK, Clark SK. Features of duodenal cancer in patients with familial adenomatous polyposis. // *Clin Gastroenterol Hepatol.* - 2009. - V. 7. – P. 659-663.
396. Launonen V. Mutations in the human LKB1/STK11 gene. // *Hum Mutat.* - 2005. - V. 26. – P. 291-297.

397. Lavoine N, Colas C, Muleris M, Bodo S, Duval A, Entz-Werle N, Coulet F, Cabaret O, Andreiuolo F, Charpy C, Sebillé G, Wang Q, Lejeune S, Buisine MP, Leroux D, Couillault G, Leverger G, Fricker JP, Guimbaud R, Mathieu-Dramard M, Jedraszak G, Cohen-Hagenauer O, Guerrini-Rousseau L, Bourdeaut F, Grill J, Caron O, Baert-Dusermont S, Tinat J, Bougeard G, Frébourg T, Brugières L. Constitutional mismatch repair deficiency syndrome: clinical description in a French cohort. // *J Med Genet.* - 2015. - V. 52. – P. 770-778.
398. Le DT, Uram JN, Wang H, Bartlett BR, Kemberling H, Eyring AD, Skora AD, Luber BS, Azad NS, Laheru D, Biedrzycki B, Donehower RC, Zaheer A, Fisher GA, Crocenzi TS, Lee JJ, Duffy SM, Goldberg RM, de la Chapelle A, Koshiji M, Bhaijee F, Hübner T, Hruban RH, Wood LD, Cuka N, Pardoll DM, Papadopoulos N, Kinzler KW, Zhou S, Cornish TC, Taube JM, Anders RA, Eshleman JR, Vogelstein B, Diaz LA Jr. PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency. // *N Engl J Med.* - 2015. - V. 372. –P. 2509-2520.
399. Lee JE, Li H, Chan AT, Hollis BW, Lee IM, Stampfer MJ, Wu K, Giovannucci E, Ma J. Circulating levels of vitamin D and colon and rectal cancer: the Physicians' Health Study and a meta-analysis of prospective studies. // *Cancer Prev Res (Phila).* - 2011. - V. 4. – P. 735-743.
400. Leenders M, Siersema PD, Overvad K, Tjønneland A, Olsen A, Boutron-Ruault MC, Bastide N, Fagherazzi G, Katzke V, Kühn T, Boeing H, Aleksandrova K, Trichopoulou A, Lagiou P, Klinaki E, Masala G, Gioni S, Santucci De Magistris M, Tumino R, Ricceri F, Peeters PH, Lund E, Skeie G, Weiderpass E, Quirós JR, Agudo A, Sánchez MJ, Dorronsoro M, Navarro C, Ardanaz E, Ohlsson B, Jirström K, Van Gulpen B, Wennberg M, Khaw KT, Wareham N, Key TJ, Romieu I, Huybrechts I, Cross AJ, Murphy N, Riboli E, Bueno-de-Mesquita HB. Subtypes of fruit and vegetables, variety in consumption and risk of colon and rectal cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. // *Int J Cancer.* - 2015. - V. 137. – P. 2705-2714.
401. Leggett B, Whitehall V. Role of the serrated pathway in colorectal cancer pathogenesis. // *Gastroenterology.* - 2010. - V. 138. – P. 2088-2100.
402. Lehmann U. Re: Rahner et al. Coexisting somatic promoter hypermethylation and pathogenic MLH1 germline mutation in Lynch syndrome. *J Pathol* 2008. - V. 214: 10-16. // *J Pathol.* - 2008. - V. 215. – P. 97. author reply
403. Leitzmann M, Powers H, Anderson AS, Scoccianti C, Berrino F, Boutron-Ruault MC, Cecchini M, Espina C, Key TJ, Norat T, Wiseman M, Romieu I. European Code against Cancer 4th Edition: Physical activity and cancer. // *Cancer Epidemiol.* - 2015. - V. 39 Suppl 1:S46-55.
404. Lejbkiewicz F, Cohen I, Barnett-Griness O, Pinchev M, Poynter J, Gruber SB, Rennert G. Common MUTYH mutations and colorectal cancer risk in multiethnic populations. // *Fam Cancer.* - 2012. - V. 11. –P. 329-335.

405. Lejeune S, Guillemot F, Triboulet JP, Cattan S, Mouton C. - V. PAFNORD Group, Porchet N, Manouvrier S, Buisine MP. Low frequency of AXIN2 mutations and high frequency of MUTYH mutations in patients with multiple polyposis. // *Hum Mutat.* - 2006. - V. 27. – P. 1064.
406. de Leng WW, Jansen M, Keller JJ, de Gijzel M, Milne AN, Morsink FH, Weterman MA, Iacobuzio-Donahue CA, Clevers HC, Giardiello FM, Offerhaus GJ. Peutz-Jeghers syndrome polyps are polyclonal with expanded progenitor cell compartment. // *Gut.* - 2007. - V. 56. – P. 1475-1476.
407. de Leon MP, Benatti P, Di Gregorio C, Losi L, Pedroni M, Ponti G, Genuardi M, Viel A, Lucci-Cordisco E, Rossi G, Roncucci L. Genotype-phenotype correlations in individuals with a founder mutation in the MLH1 gene and hereditary non-polyposis colorectal cancer. // *Scand J Gastroenterol.* - 2007. - V. 42. – P. 746-753.
408. Leoz ML, Carballal S, Moreira L, Ocaña T, Balaguer F. The genetic basis of familial adenomatous polyposis and its implications for clinical practice and risk management. // *Appl Clin Genet.* - 2015. - V. 8. – P. 95-107.
409. Lepistö A, Kiviluoto T, Halttunen J, Järvinen HJ. Surveillance and treatment of duodenal adenomatosis in familial adenomatous polyposis. // *Endoscopy.* - 2009. - V. 41. – P. 504-509.
410. Levi Z, Kariv R, Barnes-Kedar I, Goldberg Y, Half E, Morgentern S, Eli B, Baris HN, Vilkin A, Belfer RG, Niv Y, Elhasid R, Dvir R, Abu-Freha N, Cohen S. The gastrointestinal manifestation of constitutional mismatch repair deficiency syndrome: from a single adenoma to polyposis-like phenotype and early onset cancer. // *Clin Genet.* - 2015. - V. 88. – P. 474-478.
411. Li J, Woods SL, Healey S, Beesley J, Chen X, Lee JS, Sivakumaran H, Wayne N, Nones K, Waterfall JJ, Pearson J, Patch AM, Senz J, Ferreira MA, Kaurah P, Mackenzie R, Heravi-Moussavi A, Hansford S, Lannagan TR, Spurdle AB, Simpson PT, da Silva L, Lakhani SR, Clouston AD, Bettington M, Grimpen F, Busuttill RA, Di Costanzo N, Boussioutas A, Jeanjean M, Chong G, Fabre A, Olschwang S, Faulkner GJ, Bellos E, Coin L, Rioux K, Bathe OF, Wen X, Martin HC, Neklason DW, Davis SR, Walker RL, Calzone KA, Avital I, Heller T, Koh C, Pineda M, Rudloff U, Quezado M, Pichurin PN, Hulick PJ, Weissman SM, Newlin A, Rubinstein WS, Sampson JE, Hamman K, Goldgar D, Poplawski N, Phillips K, Schofield L, Armstrong J, Kiraly-Borri C, Suthers GK, Huntsman DG, Foulkes WD, Carneiro F, Lindor NM, Edwards SL, French JD, Waddell N, Meltzer PS, Worthley DL, Schrader KA, Chenevix-Trench G. Point Mutations in Exon 1B of APC Reveal Gastric Adenocarcinoma and Proximal Polyposis of the Stomach as a Familial Adenomatous Polyposis Variant. // *Am J Hum Genet.* - 2016. - V. 98. –P. 830-842.

412. Li L, Hamel N, Baker K, McGuffin MJ, Couillard M, Gologan A, Marcus VA, Chodirker B, Chudley A, Stefanovici C, Durandy A, Hegele RA, Feng BJ, Goldgar DE, Zhu J, De Rosa M, Gruber SB, Wimmer K, Young B, Chong G, Tischkowitz MD, Foulkes WD. A homozygous PMS2 founder mutation with an attenuated constitutional mismatch repair deficiency phenotype. // *J Med Genet.* - 2015. - V. 52. – P. 348-352.
413. Li N, Thompson ER, Rowley SM, McInerney S, Devereux L, Goode D, Investigators L, Wong-Brown MW, Scott RJ, Trainer AH, Goringe KL, James PA, Campbell IG. Reevaluation of RINT1 as a breast cancer predisposition gene. // *Breast Cancer Res Treat.* - 2016. - [Epub ahead of print]
414. Liang PS, Chen TY, Giovannucci E. Cigarette smoking and colorectal cancer incidence and mortality: systematic review and meta-analysis. // *Cancer.* - 2009. - V. 124. – P. 2406-2415.
415. Lichtenstein P, Holm NV, Verkasalo PK, Iliadou A, Kaprio J, Koskenvuo M, Pukkala E, Skytthe A, Hemminki K. Environmental and heritable factors in the causation of cancer--analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark, and Finland. // *N Engl J Med.* - 2000. - V. 343. – P. 78-85.
416. van Lier MG, Leenen CH, Wagner A, Ramsoekh D, Dubbink HJ, van den Ouweland AM, Westenend PJ, de Graaf EJ, Wolters LM, Vrijland WW, Kuipers EJ, van Leerdam ME, Steyerberg EW, Dinjens WN. - V. LIMO Study Group. Yield of routine molecular analyses in colorectal cancer patients ≤ 70 years to detect underlying Lynch syndrome. // *J Pathol.* - 2012. - V. 226. – P. 764-774.
417. van Lier MG, Mathus-Vliegen EM, Wagner A, van Leerdam ME, Kuipers EJ. High cumulative risk of intussusception in patients with Peutz-Jeghers syndrome: time to update surveillance guidelines? // *Am J Gastroenterol.* - 2011. - V. 106. – P. 940-945.
418. van Lier MG, Wagner A, Mathus-Vliegen EM, Kuipers EJ, Steyerberg EW, van Leerdam ME. High cancer risk in Peutz-Jeghers syndrome: a systematic review and surveillance recommendations. // *Am J Gastroenterol.* - 2010. - V. 105. – P. 1258-1264.
419. Ligtenberg MJ, Kuiper RP, Chan TL, Goossens M, Hebeda KM, Voorendt M, Lee TY, Bodmer D, Hoenselaar E, Hendriks-Cornelissen SJ, Tsui WY, Kong CK, Brunner HG, van Kessel AG, Yuen ST, van Krieken JH, Leung SY, Hoogerbrugge N. Heritable somatic methylation and inactivation of MSH2 in families with Lynch syndrome due to deletion of the 3' exons of TACSTD1. // *Nat Genet.* - 2009. - V. 41. – P. 112-117.
420. Limsui D, Vierkant RA, Tillmans LS, Wang AH, Weisenberger DJ, Laird PW, Lynch CF, Anderson KE, French AJ, Haile RW, Harnack LJ, Potter JD, Slager SL, Smyrk TC, Thibodeau SN, Cerhan JR, Limburg PJ. Postmenopausal hormone therapy and colorectal cancer risk by molecularly defined subtypes among older women. // *Gut.* - 2012. - V. 61. –P. 1299-1305.

421. Limsui D, Vierkant RA, Tillmans LS, Wang AH, Weisenberger DJ, Laird PW, Lynch CF, Anderson KE, French AJ, Haile RW, Harnack LJ, Potter JD, Slager SL, Smyrk TC, Thibodeau SN, Cerhan JR, Limburg PJ. Cigarette smoking and colorectal cancer risk by molecularly defined subtypes. // *J Natl Cancer Inst.* - 2010. - V. 102. – P. 1012-1022.

422. Lindhurst MJ, Sapp JC, Teer JK, Johnston JJ, Finn EM, Peters K, Turner J, Cannons JL, Bick D, Blakemore L, Blumhorst C, Brockmann K, Calder P, Cherman N, Deardorff MA, Everman DB, Golas G, Greenstein RM, Kato BM, Keppler-Noreuil KM, Kuznetsov SA, Miyamoto RT, Newman K, Ng D, O'Brien K, Rothenberg S, Schwartzenuber DJ, Singhal V, Tirabosco R, Upton J, Wientroub S, Zackai EH, Hoag K, Whitewood-Neal T, Robey PG, Schwartzberg PL, Darling TN, Tosi LL, Mullikin JC, Biesecker LG. A mosaic activating mutation in AKT1 associated with the Proteus syndrome. // *N Engl J Med.* - 2011. - V. 365. –P. 611-619.

423. Lindor NM, Win AK, Gallinger S, Daftary D, Thibodeau SN, Silva R, Letra A. Colorectal cancer and self-reported tooth agenesis. // *Hered Cancer Clin Pract.* - 2014. - V. 12. – P. 7.

424. Lin JE, Colon-Gonzalez F, Blomain E, Kim GW, Aing A, Stoecker B, Rock J, Snook AE, Zhan T, Hyslop TM, Tomczak M, Blumberg RS, Waldman SA. Obesity-Induced Colorectal Cancer Is Driven by Caloric Silencing of the Guanylin-GUCY2C Paracrine Signaling Axis. // *Cancer Res.* - 2016. - V. 76. – P. 339-346.

425. Lin JH, Zhang SM, Rexrode KM, Manson JE, Chan AT, Wu K, Tworoger SS, Hankinson SE, Fuchs C, Gaziano JM, Buring JE, Giovannucci E. Association between sex hormones and colorectal cancer risk in men and women. // *Clin Gastroenterol Hepatol.* - 2013. - V. 11. – P. 419-424.

426. Lin JS, Piper MA, Perdue LA, Rutter CM, Webber EM, O'Connor E, Smith N, Whitlock EP. Screening for Colorectal Cancer: Updated Evidence Report and Systematic Review for the US Preventive Services Task Force. // *JAMA.* - 2016. - V. 315. – P. 2576-2594. doi: 10.1001/jama.2016.3332.

427. Lin KJ, Cheung WY, Lai JY, Giovannucci EL. The effect of estrogen vs. combined estrogen-progestogen therapy on the risk of colorectal cancer. // *Int J Cancer.* - 2012. - V. 130. – P. 419-430.

428. Lindor NM, Burgart LJ, Leontovich O, Goldberg RM, Cunningham JM, Sargent DJ, Walsh-Vockley C, Petersen GM, Walsh MD, Leggett BA, Young JP, Barker MA, Jass JR, Hopper J, Gallinger S, Bapat B, Redston M, Thibodeau SN. Immunohistochemistry versus microsatellite instability testing in phenotyping colorectal tumors. // *J Clin Oncol.* - 2002. - V. 20. – P. 1043-1048.

429. Lipton L, Halford SE, Johnson V, Novelli MR, Jones A, Cummings C, Barclay E, Sieber O, Sadat A, Bisgaard ML, Hodgson SV, Aaltonen LA, Thomas HJ, Tomlinson IP. Carcinogenesis in MYH-associated polyposis follows a distinct genetic pathway. // *Cancer Res.* - 2003. - V. 63. – P. 7595-7599.
430. Liu G, Hu X, Chakrabarty S. Vitamin D mediates its action in human colon carcinoma cells in a calcium-sensing receptor-dependent manner: downregulates malignant cell behavior and the expression of thymidylate synthase and survivin and promotes cellular sensitivity to 5-FU. // *Int J Cancer.* - 2010. - V. 126. – P. 631-639.
431. Liu HX, Zhou XL, Liu T, Werelius B, Lindmark G, Dahl N, Lindblom A. The role of hMLH3 in familial colorectal cancer. // *Cancer Res.* - 2003. - V. 63. – P. 1894-1899.
432. Liu L, Markowitz S, Gerson SL. Mismatch repair mutations override alkyltransferase in conferring resistance to temozolomide but not to 1,3-bis(2-chloroethyl)nitrosourea. // *Cancer.* - V. 56. – P. 5375–5379.
433. Liu L, Shi Y, Li T, Qin Q, Yin J, Pang S, Nie S, Wei S. Leisure time physical activity and cancer risk: evaluation of the WHO's recommendation based on 126 high-quality epidemiological studies. // *Br J Sports Med.* - 2016. - V. 50. –P. 372-378.
434. Liu T, Yan H, Kuismanen S, Percesepe A, Bisgaard ML, Pedroni M, Benatti P, Kinzler KW, Vogelstein B, Ponz de Leon M, Peltomäki P, Lindblom A. The role of hPMS1 and hPMS2 in predisposing to colorectal cancer. // *Cancer Res.* - 2001. - V. 61. – P. 7798-7802.
435. Liu W, Dong X, Mai M, Seelan RS, Taniguchi K, Krishnadath KK, Halling KC, Cunningham JM, Boardman LA, Qian C, Christensen E, Schmidt SS, Roche PC, Smith DI, Thibodeau SN. Mutations in AXIN2 cause colorectal cancer with defective mismatch repair by activating beta-catenin/TCF signalling. // *Nat Genet.* - 2000. - V. 26. – P. 146-147.
436. Liu Y, Tang W, Wang J, Xie L, Li T, He Y, Deng Y, Peng Q, Li S, Qin X. Association between statin use and colorectal cancer risk: a meta-analysis of 42 studies. // *Cancer Causes Control.* – 2014. - V. 25. – P. 237-249.
437. Llosa NJ, Cruise M, Tam A, Wicks EC, Hechenbleikner EM, Taube JM, Blosser RL, Fan H, Wang H, Luber BS, Zhang M, Papadopoulos N, Kinzler KW, Vogelstein B, Sears CL, Anders RA, Pardoll DM, Housseau F. The vigorous immune microenvironment of microsatellite instable colon cancer is balanced by multiple counter-inhibitory checkpoints. // *Cancer Discov.* - 2015. - V. 5. – P. 43-51.
438. Lopez-Ceron M, Pellise M. Biology and diagnosis of aberrant crypt foci. // *Colorectal Dis.* - 2012. - V. 14. – P.e157-164.

439. López-Villar I, Ayala R, Wesselink J, Morillas JD, López E, Marín JC, Díaz-Tasende J, González S, Robles L, Martínez-López J. Simplifying the detection of MUTYH mutations by high resolution melting analysis. // *BMC Cancer*. - 2010. - V. 10. –P. 408.
440. Louis P, Hold GL, Flint HJ. The gut microbiota, bacterial metabolites and colorectal cancer. // *Nat Rev Microbiol*. - 2014. - V. 12. – P. 661-672.
441. Loukola A, Eklin K, Laiho P, Salovaara R, Kristo P, Järvinen H, Mecklin JP, Launonen V, Aaltonen LA. Microsatellite marker analysis in screening for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC). // *Cancer Res*. - 2001. - V. 61. – P. 4545-4549.
442. Lu Y, Oddsberg J, Martling A, Lagergren J. Reproductive history and risk of colorectal adenocarcinoma. // *Epidemiology*. - 2014. - V. 25. – P. 595-604.
443. Lubbe SJ, Di Bernardo MC, Chandler IP, Houlston RS. Clinical implications of the colorectal cancer risk associated with MUTYH mutation. // *J Clin Oncol*. - 2009. - V. 27. – P. 3975-3980.
444. Lutgens MW, van Oijen MG, van der Heijden GJ, Vleggaar FP, Siersema PD, Oldenburg B. Declining risk of colorectal cancer in inflammatory bowel disease: an updated meta-analysis of population-based cohort studies. // *Inflamm Bowel Dis*. - 2013. - V. 19. –P. 789-799.
445. Lynch PM. Chemoprevention of familial adenomatous polyposis. // *Fam Cancer*. - 2016. - V. 15. – P. 467-475.
446. Lytras T, Nikolopoulos G, Bonovas S. Statins and the risk of colorectal cancer: an updated systematic review and meta-analysis of 40 studies. // *World J Gastroenterol*. - 2014. - V. 20. – P. 1858-1870.
447. Ma Y, Zhang P, Wang F, Yang J, Liu Z, Qin H. Association between vitamin D and risk of colorectal cancer: a systematic review of prospective studies. // *J Clin Oncol*. - 2011. - V. 29. - P. 3775-3782.
448. Maddox J. Competition and the death of science. // *Nature*. - 1993. - V. 363. – P. 667.
449. Malesci A, Laghi L, Bianchi P, Delconte G, Randolph A, Torri V, Carnaghi C, Doci R, Rosati R, Montorsi M, Roncalli M, Gennari L, Santoro A. Reduced likelihood of metastases in patients with microsatellite-unstable colorectal cancer. // *Clin Cancer Res*. - 2007. - V. 13. – P. 3831-3839.
450. Maliaka YK, Chudina AP, Belev NF, Alday P, Bochkov NP, Buerstedde JM. CpG dinucleotides in the hMSH2 and hMLH1 genes are hotspots for HNPCC mutations. // *Hum Genet*. - 1996. - V. 97. – P. 251-255.
451. Mangold E, Pagenstecher C, Friedl W, Mathiak M, Buettner R, Engel C, Loeffler M, Holinski-Feder E, Müller-Koch Y, Keller G, Schackert HK, Krüger S, Goecke T, Moeslein G, Kloor M, Gebert J, Kunstmann E, Schulmann K, Rüschoff J, Propping P. Spectrum and

frequencies of mutations in MSH2 and MLH1 identified in 1,721 German families suspected of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. // *Int J Cancer*. - 2005. - V. 116. – P. 692-702.

452. Marsh Durban V, Jansen M, Davies EJ, Morsink FH, Offerhaus GJ, Clarke AR. Epithelial-specific loss of PTEN results in colorectal juvenile polyp formation and invasive cancer. // *Am J Pathol*. - 2014. - V. 184. – P. 86-91.

453. Martin SA, Hewish M, Sims D, Lord CJ, Ashworth A. Parallel high-throughput RNA interference screens identify PINK1 as a potential therapeutic target for the treatment of DNA mismatch repair-deficient cancers. // *Cancer Res*. - 2011. - V. 71. – P. 1836-1848.

454. Martin SA, McCarthy A, Barber LJ, Burgess DJ, Parry S, Lord CJ, Ashworth A. Methotrexate induces oxidative DNA damage and is selectively lethal to tumour cells with defects in the DNA mismatch repair gene MSH2. // *EMBO Mol Med*. - 2009. - V. 1. – P. 323-337.

455. Martinez-Lopez A, Blasco-Morente G, Perez-Lopez I, Herrera-Garcia JD, Luque-Valenzuela M, Sanchez-Cano D, Lopez-Gutierrez JC, Ruiz-Villaverde R, Tercedor-Sanchez J. CLOVES syndrome: review of a PIK3CA-related overgrowth spectrum (PROS). // *Clin Genet*. - 2016. - [Epub ahead of print].

456. Marvin ML, Mazzoni SM, Herron CM, Edwards S, Gruber SB, Petty EM. AXIN2-associated autosomal dominant ectodermal dysplasia and neoplastic syndrome. // *Am J Med Genet A*. - 2011. - V. 155A. – P. 898-902.

457. Mas-Moya J, Dudley B, Brand RE, Thull D, Bahary N, Nikiforova MN, Pai RK. Clinicopathological comparison of colorectal and endometrial carcinomas in patients with Lynch-like syndrome versus patients with Lynch syndrome. // *Hum Pathol*. - 2015. - V. 46. –P. 1616-1625.

458. Matsumoto T, Iida M, Kobori Y, Mizuno M, Nakamura S, Hizawa K, Yao T. Serrated adenoma in familial adenomatous polyposis: relation to germline APC gene mutation. // *Gut*. - 2002. - V. 50. – P. 402-404.

459. McGoldrick JP, Yeh YC, Solomon M, Essigmann JM, Lu AL. Characterization of a mammalian homolog of the Escherichia coli MutY mismatch repair protein. // *Mol Cell Biol*. - 1995. - V. 15. – P. 989-996.

460. McGovern DP, Kugathasan S, Cho JH. Genetics of Inflammatory Bowel Diseases. // *Gastroenterology*. - 2015. - V. 149. – P. 1163-1176.

461. McKay V, Cairns D, Gokhale D, Mountford R, Greenhalgh L. First report of somatic mosaicism for mutations in STK11 in four patients with Peutz-Jeghers syndrome. // *Fam Cancer*. - 2016. - V. 15. – P. 57-61.

462. Meng B, Hoang LN, McIntyre JB, Duggan MA, Nelson GS, Lee CH, Köbel M. POLE exonuclease domain mutation predicts long progression-free survival in grade 3 endometrioid carcinoma of the endometrium. // *Gynecol Oncol.* - 2014. - V. 134. – P. 15-19.
463. Mensenkamp AR, Vogelaar IP, van Zelst-Stams WA, Goossens M, Ouchene H, Hendriks-Cornelissen SJ, Kwint MP, Hoogerbrugge N, Nagtegaal ID, Ligtenberg MJ. Somatic mutations in MLH1 and MSH2 are a frequent cause of mismatch-repair deficiency in Lynch syndrome-like tumors. // *Gastroenterology.* - 2014. - V. 146. – P. 643-646.
464. Mills AM, Liou S, Ford JM, Berek JS, Pai RK, Longacre TA. Lynch syndrome screening should be considered for all patients with newly diagnosed endometrial cancer. // *Am J Surg Pathol.* - 2014. - V. 38. – P. 1501-1509.
465. de Miranda NF, Nielsen M, Pereira D, van Puijtenbroek M, Vasen HF, Hes FJ, van Wezel T, Morreau H. MUTYH-associated polyposis carcinomas frequently lose HLA class I expression - a common event amongst DNA-repair-deficient colorectal cancers. // *J Pathol.* - 2009. - V. 219. – P. 69-76.
466. Miyaki M, Konishi M, Tanaka K, Kikuchi-Yanoshita R, Muraoka M, Yasuno M, Igari T, Koike M, Chiba M, Mori T. Germline mutation of MSH6 as the cause of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. // *Nat Genet.* - 1997. - V. 17. – P. 271-272.
467. Miyakura Y, Tahara M, Lefor AT, Yasuda Y, Sugano K. Haplotype defined by the MLH1-93G/A polymorphism is associated with MLH1 promoter hypermethylation in sporadic colorectal cancers. // *BMC Res Notes.* - 2014. - V. 7. – P. 835.
468. Mørch LS, Lidegaard Ø, Keiding N, Løkkegaard E, Kjær SK. The influence of hormone therapies on colon and rectal cancer. // *Eur J Epidemiol.* - 2016. - V. 31. – P. 481-489.
469. Moghaddam AA, Woodward M, Huxley R. Obesity and risk of colorectal cancer: a meta-analysis of 31 studies with 70,000 events. // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* - 2007. - V. 16. – P. 2533-2547.
470. Morak M, Heidenreich B, Keller G, Hampel H, Laner A, de la Chapelle A, Holinski-Feder E. Biallelic MUTYH mutations can mimic Lynch syndrome. // *Eur J Hum Genet.* - 2014. - V. 22. – P. 1334-1337.
471. Moran CJ, Klein C, Muise AM, Snapper SB. Very early-onset inflammatory bowel disease: gaining insight through focused discovery. // *Inflamm Bowel Dis.* - 2015. - V. 21. – P. 1166-1175.
472. Morandi L, de Biase D, Visani M, Monzoni A, Tosi A, Brulatti M, Turchetti D, Baccarini P, Tallini G, Pession A. T([20]) repeat in the 3'-untranslated region of the MT1X gene: a marker with high sensitivity and specificity to detect microsatellite instability in colorectal cancer. // *Int J Colorectal Dis.* - 2012. - V. 27. – P. 647-656.

473. Moreira L, Balaguer F, Lindor N, de la Chapelle A, Hampel H, Aaltonen LA, Hopper JL, Le Marchand L, Gallinger S, Newcomb PA, Haile R, Thibodeau SN, Gunawardena S, Jenkins MA, Buchanan DD, Potter JD, Baron JA, Ahnen DJ, Moreno V, Andreu M, Ponz de Leon M, Rustgi AK, Castells A. - V. EPICOLON Consortium. Identification of Lynch syndrome among patients with colorectal cancer. // *JAMA*. - 2012. - V. 308. – P. 1555-1565
474. Moreno V, Gemignani F, Landi S, Gioia-Patricola L, Chabrier A, Blanco I, González S, Guino E, Capellà G, Canzian F. Polymorphisms in genes of nucleotide and base excision repair: risk and prognosis of colorectal cancer. // *Clin Cancer Res*. - 2006. - V. 12. – P. 2101-2108.
475. Mazzei F, Viel A, Bignami M. Role of MUTYH in human cancer. // *Mutat Res*. - 2013. - V.743-744. – P. 33-43.
476. Moreira L, Muñoz J, Cuatrecasas M, Quintanilla I, Leoz ML, Carballal S, Ocaña T, López-Cerón M, Pellise M, Castellví-Bel S, Jover R, Andreu M, Carracedo A, Xicola RM, Llor X, Boland CR, Goel A, Castells A, Balaguer F. - V. Gastrointestinal Oncology Group of the Spanish Gastroenterological Association Prevalence of somatic mutl homolog 1 promoter hypermethylation in Lynch syndrome colorectal cancer. // *Cancer*. - 2015. - V. 121. – P. 1395-1404.
477. Movahedi M, Bishop DT, Macrae F, Mecklin JP, Moeslein G, Olschwang S, Eccles D, Evans DG, Maher ER, Bertario L, Bisgaard ML, Dunlop MG, Ho JW, Hodgson SV, Lindblom A, Lubinski J, Morrison PJ, Murday V, Ramesar RS, Side L, Scott RJ, Thomas HJ, Vasen HF, Burn J, Mathers JC. Obesity, Aspirin, and Risk of Colorectal Cancer in Carriers of Hereditary Colorectal Cancer: A Prospective Investigation in the CAPP2 Study. // *J Clin Oncol*. - 2015. - V. 33. – P. 3591-3597.
478. Müller MF, Ibrahim AE, Arends MJ. Molecular pathological classification of colorectal cancer. // *Virchows Arch*. - 2016. - V. 469. – P. 125-134.
479. Mucci LA, Hjelmborg JB, Harris JR, Czene K, Havelick DJ, Scheike T, Graff RE, Holst K, Möller S, Unger RH, McIntosh C, Nuttall E, Brandt I, Penney KL, Hartman M, Kraft P, Parmigiani G, Christensen K, Koskenvuo M, Holm NV, Heikkilä K, Pukkala E, Skytthe A, Adami HO, Kaprio J. - V. Nordic Twin Study of Cancer (NorTwinCan) Collaboration. Familial Risk and Heritability of Cancer Among Twins in Nordic Countries. // *JAMA*. - 2016. - V. 315. – P. 68-76.
480. Mur P, Elena SC, Aussó S, Aiza G, Rafael VM, Pineda M, Navarro M, Brunet J, Urioste M, Lázaro C, Moreno V, Capellà G, Puente XS, Valle L. Scarce evidence of the causal role of germline mutations in *UNC5C* in hereditary colorectal cancer and polyposis. // *Sci Rep*. - 2016. - V.6. – P. 20697.

481. Murphy G, Devesa SS, Cross AJ, Inskip PD, McGlynn KA, Cook MB. Sex disparities in colorectal cancer incidence by anatomic subsite, race and age. // *Int J Cancer*. - 2011. - V. 128. – P. 1668-1675.
482. Murphy KM, Zhang S, Geiger T, Hafez MJ, Bacher J, Berg KD, Eshleman JR. Comparison of the microsatellite instability analysis system and the Bethesda panel for the determination of microsatellite instability in colorectal cancers. // *J Mol Diagn*. - 2006. - V. 8. – P. 305-311.
483. Murphy N, Norat T, Ferrari P, Jenab M, Bueno-de-Mesquita B, Skeie G, Dahm CC, Overvad K, Olsen A, Tjønneland A, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Racine A, Kaaks R, Teucher B, Boeing H, Bergmann MM, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Lagiou P, Palli D, Pala V, Panico S, Tumino R, Vineis P, Siersema P, van Duijnhoven F, Peeters PH, Hjartaker A, Engeset D, González CA, Sánchez MJ, Dorronsoro M, Navarro C, Ardanaz E, Quirós JR, Sonestedt E, Ericson U, Nilsson L, Palmqvist R, Khaw KT, Wareham N, Key TJ, Crowe FL, Fedirko V, Wark PA, Chuang SC, Riboli E. Dietary fibre intake and risks of cancers of the colon and rectum in the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC). // *PLoS One*. - 2012. - V. 7. – P. e39361.
484. Murphy N, Strickler HD, Stanczyk FZ, Xue X, Wassertheil-Smoller S, Rohan TE, Ho GY, Anderson GL, Potter JD, Gunter MJ. A Prospective Evaluation of Endogenous Sex Hormone Levels and Colorectal Cancer Risk in Postmenopausal Women. // *J Natl Cancer Inst*. - 2015. - V. 107. pii: djv210.
485. Nagasaka T, Rhee J, Kloor M, Gebert J, Naomoto Y, Boland CR, Goel A. Somatic hypermethylation of MSH2 is a frequent event in Lynch Syndrome colorectal cancers. // *Cancer Res*. - 2010. - V. 70. – P. 3098-3108.
486. Nan H, Hutter CM, Lin Y, Jacobs EJ, Ulrich CM, White E, Baron JA, Berndt SI, Brenner H, Butterbach K, Caan BJ, Campbell PT, Carlson CS, Casey G, Chang-Claude J, Chanock SJ, Cotterchio M, Duggan D, Figueiredo JC, Fuchs CS, Giovannucci EL, Gong J, Haile RW, Harrison TA, Hayes RB, Hoffmeister M, Hopper JL, Hudson TJ, Jenkins MA, Jiao S, Lindor NM, Lemire M, Le Marchand L, Newcomb PA, Ogino S, Pflugeisen BM, Potter JD, Qu C, Rosse SA, Rudolph A, Schoen RE, Schumacher FR, Seminara D, Slattery ML, Thibodeau SN, Thomas F, Thornquist M, Warnick GS, Zanke BW, Gauderman WJ, Peters U, Hsu L, Chan AT. - V. CCFR. - V. GECCO. Association of aspirin and NSAID use with risk of colorectal cancer according to genetic variants. // *JAMA*. - 2015. - V. 313. – P. 1133-1142.
487. Nardon E, Glavač D, Benhattar J, Groenen PJ, Höfler G, Höfler H, Jung A, Keller G, Kirchner T, Lessi F, Ligtenberg MJ, Mazzanti CM, Winter G, Stanta G. A multicenter study to

validate the reproducibility of MSI testing with a panel of 5 quasimonomorphic mononucleotide repeats. // *Diagn Mol Pathol.* - 2010. - V. 19. – P. 236-242.

488. Neklason DW, Stevens J, Boucher KM, Kerber RA, Matsunami N, Barlow J, Mineau G, Leppert MF, Burt RW. American founder mutation for attenuated familial adenomatous polyposis. // *Clin Gastroenterol Hepatol.* - 2008. - V. 6. – P. 46-52.

489. Newcomb PA, Zheng Y, Chia VM, Morimoto LM, Doria-Rose VP, Templeton A, Thibodeau SN, Potter JD. Estrogen plus progestin use, microsatellite instability, and the risk of colorectal cancer in women. // *Cancer Res.* - 2007. - V. 67. – P. 7534-7539.

490. Newton KF, Mallinson EK, Bowen J, Lalloo F, Clancy T, Hill J, Evans DG. Genotype-phenotype correlation in colorectal polyposis. // *Clin Genet.* - 2012. - V. 81. – P. 521-531.

491. Nguyen A, Bougeard G, Koob M, Chenard MP, Schneider A, Maugard C, Entz-Werle N. MSI detection and its pitfalls in CMMRD syndrome in a family with a bi-allelic MLH1 mutation. // *Fam Cancer.* - 2016. - V. 15. – P. 571-577.

492. Nicolaides NC, Papadopoulos N, Liu B et al. Mutations of two PMS homologues in hereditary nonpolyposis colon cancer. // *Nature.* - 1994. - V. 371. – P. 75-80.

493. Nie Z, Zhu H, Gu M. Reduced colorectal cancer incidence in type 2 diabetic patients treated with metformin: a meta-analysis. // *Pharm Biol.* – 2016. – P.1-7.

494. Nielsen M, Bik E, Hes FJ, Breuning MH, Vasen HF, Bakker E, Tops CM, Weiss MM. Genotype-phenotype correlations in 19 Dutch cases with APC gene deletions and a literature review. // *Eur J Hum Genet.* - 2007. - V. 15. – P. 1034-1042.

495. Nielsen M, Franken PF, Reinards TH, Weiss MM, Wagner A, van der Klift H, Kloosterman S, Houwing-Duistermaat JJ, Aalfs CM, Ausems MG, Bröcker-Vriends AH, Gomez Garcia EB, Hoogerbrugge N, Menko FH, Sijmons RH, Verhoef S, Kuipers EJ, Morreau H, Breuning MH, Tops CM, Wijnen JT, Vasen HF, Fodde R, Hes FJ. Multiplicity in polyp count and extracolonic manifestations in 40 Dutch patients with MYH associated polyposis coli (MAP). // *J Med Genet.* - 2005. - V. 42. – P.e54.

496. Nielsen M, Joerink-van de Beld MC, Jones N, Vogt S, Tops CM, Vasen HF, Sampson JR, Aretz S, Hes FJ. Analysis of MUTYH genotypes and colorectal phenotypes in patients with MUTYH-associated polyposis. // *Gastroenterology.* - 2009. - V. 136. – P. 471-476.

497. Nielsen M, de Miranda NF, van Puijenbroek M, Jordanova ES, Middeldorp A, van Wezel T, van Eijk R, Tops CM, Vasen HF, Hes FJ, Morreau H. Colorectal carcinomas in MUTYH-associated polyposis display histopathological similarities to microsatellite unstable carcinomas. // *BMC Cancer.* - 2009. - V. 9. – P. 184.

498. Nielsen M, Morreau H, Vasen HF, Hes FJ. MUTYH-associated polyposis (MAP). // *Crit Rev Oncol Hematol.* - 2011. - V. 79. – P.1-16.

499. Nielsen M, van Steenberg LN, Jones N, Vogt S, Vasen HF, Morreau H, Aretz S, Sampson JR, Dekkers OM, Janssen-Heijnen ML, Hes FJ. Survival of MUTYH-associated polyposis patients with colorectal cancer and matched control colorectal cancer patients. // *J Natl Cancer Inst.* - 2010. - V. 102. – P. 1724-1730.
500. Nieminen TT, O'Donohue MF, Wu Y, Lohi H, Scherer SW, Paterson AD, Ellonen P, Abdel-Rahman WM, Valo S, Mecklin JP, Järvinen HJ, Gleizes PE, Peltomäki P. Germline mutation of RPS20, encoding a ribosomal protein, causes predisposition to hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma without DNA mismatch repair deficiency. // *Gastroenterology.* - 2014. - V. 147. – P. 595-598.
501. Nieuwenhuis MH, Bülow S, Björk J, Järvinen HJ, Bülow C, Bisgaard ML, Vasen HF. Genotype predicting phenotype in familial adenomatous polyposis: a practical application to the choice of surgery. // *Dis Colon Rectum.* - 2009. - V. 52. – P. 1259-1263.
502. Nieuwenhuis MH, Vogt S, Jones N, Nielsen M, Hes FJ, Sampson JR, Aretz S, Vasen HF. Evidence for accelerated colorectal adenoma--carcinoma progression in MUTYH-associated polyposis? // *Gut.* - 2012. - V. 61. – P. 734-738.
503. Ngamruengphong S, Boardman LA, Heigh RI, Krishna M, Roberts ME, Riegert-Johnson DL. Gastric adenomas in familial adenomatous polyposis are common, but subtle, and have a benign course. // *Hered Cancer Clin Pract.* - 2014. - V. 12. – P. 4.
504. Nilbert M, Therkildsen C, Nissen A, Akerman M, Bernstein I. Sarcomas associated with hereditary nonpolyposis colorectal cancer: broad anatomical and morphological spectrum. // *Fam Cancer.* - 2009. - V. 8. – P. 209-213.
505. Nishihara R, Morikawa T, Kuchiba A, Lochhead P, Yamauchi M, Liao X, Imamura Y, Nosho K, Shima K, Kawachi I, Qian ZR, Fuchs CS, Chan AT, Giovannucci E, Ogino S. A prospective study of duration of smoking cessation and colorectal cancer risk by epigenetics-related tumor classification. // *Am J Epidemiol.* - 2013. - V. 178. – P. 84-100.
506. Nugent KP, Farmer KC, Spigelman AD, Williams CB, Phillips RK. Randomized controlled trial of the effect of sulindac on duodenal and rectal polyposis and cell proliferation in patients with familial adenomatous polyposis. // *Br J Surg.* - 1993. - V. 80. – P. 1618-1619.
507. Nyström-Lahti M, Kristo P, Nicolaides NC, Chang SY, Aaltonen LA, Moisio AL, Järvinen HJ, Mecklin JP, Kinzler KW, Vogelstein B, et al. Founding mutations and Alu-mediated recombination in hereditary colon cancer. // *Nat Med.* - 1995. - V. 1. – P. 1203-1206.
508. Ogino S, Kawasaki T, Kirkner GJ, Loda M, Fuchs CS. CpG island methylator phenotype-low (CIMP-low) in colorectal cancer: possible associations with male sex and KRAS mutations. // *J Mol Diagn.* - 2006. - V. 8. – P. 582-588.

509. Ollikainen M, Hannelius U, Lindgren CM, Abdel-Rahman WM, Kere J, Peltomäki P. Mechanisms of inactivation of MLH1 in hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma: a novel approach. // *Oncogene*. - 2007. - V. 26. – P. 4541-4549.
510. O'Malley M, LaGuardia L, Kalady MF, Parambil J, Heald B, Eng C, Church J, Burke CA. The prevalence of hereditary hemorrhagic telangiectasia in juvenile polyposis syndrome. // *Dis Colon Rectum*. - 2012. - V. 55. – P. 886-892.
511. O'Riordan JM1, O'Donoghue D, Green A, Keegan D, Hawkes LA, Payne SJ, Sheahan K, Winter DC. Hereditary mixed polyposis syndrome due to a BMPR1A mutation. // *Colorectal Dis*. - 2010. - V. 12. – P. 570-573.
512. Orlich MJ, Singh PN, Sabaté J, Fan J, Sveen L, Bennett H, Knutsen SF, Beeson WL, Jaceldo-Siegl K, Butler TL, Herring RP, Fraser GE. Vegetarian dietary patterns and the risk of colorectal cancers. // *JAMA Intern Med*. - 2015. - V. 175. – P. 767-776.
513. Ostwald C, Linnebacher M, Weirich V, Prall F. Chromosomally and microsatellite stable colorectal carcinomas without the CpG island methylator phenotype in a molecular classification. // *Int J Oncol*. - 2009. - V. 35. – P. 321-327.
514. O'Shea AM, Cleary SP, Croitoru MA, Kim H, Berk T, Monga N, Riddell RH, Pollett A, Gallinger S. Pathological features of colorectal carcinomas in MYH-associated polyposis. // *Histopathology*. - 2008. - V. 53. – P. 184-194.
515. Out AA, van Minderhout IJ, van der Stoep N, van Bommel LS, Kluijdt I, Aalfs C, Voorendt M, Vossen RH, Nielsen M, Vasen HF, Morreau H, Devilee P, Tops CM, Hes FJ. High-resolution melting (HRM) re-analysis of a polyposis patients cohort reveals previously undetected heterozygous and mosaic APC gene mutations. // *Fam Cancer*. - 2015. - V. 14. – P. 247-257.
516. Out AA, Tops CM, Nielsen M, Weiss MM, van Minderhout IJ, Fokkema IF, Buisine MP, Claes K, Colas C, Fodde R, Fostira F, Franken PF, Gaustadnes M, Heinimann K, Hodgson SV, Hogervorst FB, Holinski-Feder E, Lagerstedt-Robinson K, Olschwang S, van den Ouweland AM, Redeker EJ, Scott RJ, Vankeirsbilck B, Grønlund RV, Wijnen JT, Wikman FP, Aretz S, Sampson JR, Devilee P, den Dunnen JT, Hes FJ. Leiden Open Variation Database of the MUTYH gene. // *Hum Mutat*. - 2010. - V. 31. – P. 1205-1215.
517. Overbeek LI, Ligtenberg MJ, Willems RW, Hermens RP, Blokx WA, Dubois SV, van der Linden H, Meijer JW, Mlynek-Kersjes ML, Hoogerbrugge N, Hebeda KM, van Krieken JH. Interpretation of immunohistochemistry for mismatch repair proteins is only reliable in a specialized setting. // *Am J Surg Pathol*. - 2008. - V. 32. – P. 1246-1251.
518. Pagin A, Zerimech F, Leclerc J, Wacrenier A, Lejeune S, Descarpentries C, Escande F, Porchet N, Buisine MP. Evaluation of a new panel of six mononucleotide repeat markers for the

detection of DNA mismatch repair-deficient tumours. // *Br J Cancer*. - 2013. - V. 108. – P. 2079-2087.

519. Palles C, Cazier JB, Howarth KM, Domingo E, Jones AM, Broderick P, Kemp Z, Spain SL, Guarino E, Salguero I, Sherborne A, Chubb D, Carvajal-Carmona LG, Ma Y, Kaur K, Dobbins S, Barclay E, Gorman M, Martin L, Kovac MB, Humphray S. - V. CORGI Consortium. - V. WGS500 Consortium, Lucassen A, Holmes CC, Bentley D, Donnelly P, Taylor J, Petridis C, Roylance R, Sawyer EJ, Kerr DJ, Clark S, Grimes J, Kearsley SE, Thomas HJ, McVean G, Houlston RS, Tomlinson I. Germline mutations affecting the proofreading domains of POLE and POLD1 predispose to colorectal adenomas and carcinomas. // *Nat Genet*. - 2013. - V. 45. – P. 136-144.

520. Pande M, Lynch PM, Hopper JL, Jenkins MA, Gallinger S, Haile RW, LeMarchand L, Lindor NM, Campbell PT, Newcomb PA, Potter JD, Baron JA, Frazier ML, Amos CI. Smoking and colorectal cancer in Lynch syndrome: results from the Colon Cancer Family Registry and the University of Texas M.D. Anderson Cancer Center. // *Clin Cancer Res*. - 2010. - V. 16. – P. 1331-1339.

521. Papastergiou V, Karatapanis S, Georgopoulos SD. Helicobacter pylori and colorectal neoplasia: Is there a causal link? // *World J Gastroenterol*. - 2016. - V. 22. – P. 649-658.

522. Papp J, Kovacs ME, Matrai Z, Orosz E, Kásler M, Børresen-Dale AL, Olah E. Contribution of APC and MUTYH mutations to familial adenomatous polyposis susceptibility in Hungary. // *Fam Cancer*. - 2016. - V. 15. – P. 85-97.

523. Papp J, Kovacs ME, Olah E. Germline MLH1 and MSH2 mutational spectrum including frequent large genomic aberrations in Hungarian hereditary non-polyposis colorectal cancer families: implications for genetic testing. // *World J Gastroenterol*. - 2007. - V. 13. – P. 2727-2732.

524. Park DJ, Tao K, Le Calvez-Kelm F, Nguyen-Dumont T, Robinot N, Hammet F, Odefrey F, Tsimiklis H, Teo ZL, Thingholm LB, Young EL, Voegelé C, Lonie A, Pope BJ, Roane TC, Bell R, Hu H, Shankaracharya, Huff CD, Ellis J, Li J, Makunin IV, John EM, Andrulis IL, Terry MB, Daly M, Buys SS, Snyder C, Lynch HT, Devilee P, Giles GG, Hopper JL, Feng BJ, Lesueur F, Tavtigian SV, Southey MC, Goldgar DE. Rare mutations in RINT1 predispose carriers to breast and Lynch syndrome-spectrum cancers. // *Cancer Discov*. - 2014. - V. 4. – P. 804-815.

525. Park JS, Nakache YP, Katz J, Boutin RD, Steffner RJ, Monjazebe AM, Canter RJ. Conservative management of desmoid tumors is safe and effective. // *J Surg Res*. – 2016. - V. 205. – P. 115-120.

526. Park YJ, Shin KH, Park JG. Risk of gastric cancer in hereditary nonpolyposis colorectal cancer in Korea. // *Clin Cancer Res*. - 2000. - V. 6. – P. 2994-2998.

527. Parsons MT, Buchanan DD, Thompson B, Young JP, Spurdle AB. Correlation of tumour BRAF mutations and MLH1 methylation with germline mismatch repair (MMR) gene mutation status: a literature review assessing utility of tumour features for MMR variant classification. // *J Med Genet.* - 2012. - V. 49. – P. 151-157.
528. Parsons R, Li GM, Longley M, Modrich P, Liu B, Berk T, Hamilton SR, Kinzler KW, Vogelstein B. Mismatch repair deficiency in phenotypically normal human cells. // *Science.* - 1995. - V. 268. – P. 738-740.
529. Pastrello C, Baglioni S, Tibiletti MG, Papi L, Fornasarig M, Morabito A, Agostini M, Genuardi M, Viel A. Stability of BAT26 in tumours of hereditary nonpolyposis colorectal cancer patients with MSH2 intragenic deletion. // *Eur J Hum Genet.* - 2006. - V. 14. – P. 63-68.
530. Pedroni M, Roncari B, Maffei S, Losi L, Scarselli A, Di Gregorio C, Marino M, Roncucci L, Benatti P, Ponti G, Rossi G, Menigatti M, Viel A, Genuardi M, de Leon MP. A mononucleotide markers panel to identify hMLH1/hMSH2 germline mutations. // *Dis Markers.* - 2007. - V. 23. – P. 179-187.
531. Pedroni M, Sala E, Scarselli A, Borghi F, Menigatti M, Benatti P, Percesepe A, Rossi G, Foroni M, Losi L, Di Gregorio C, De Pol A, Nascimbeni R, Di Betta E, Salerni B, de Leon MP, Roncucci L. Microsatellite instability and mismatch-repair protein expression in hereditary and sporadic colorectal carcinogenesis. // *Cancer Res.* - 2001. - V. 61. – P. 896-899.
532. Pérez-Cabornero L, Infante M, Velasco E, Lastra E, Miner C, Durán M. Genotype-phenotype correlation in MMR mutation-positive families with Lynch syndrome // *Int J Colorectal Dis.* - 2013. - V. 28. – P. 1195-1201.
533. Pérez-Carbonell L, Ruiz-Ponte C, Guarinos C, Alenda C, Payá A, Brea A, Egoavil CM, Castillejo A, Barberá VM, Bessa X, Xicola RM, Rodríguez-Soler M, Sánchez-Fortún C, Acame N, Castellví-Bel S, Piñol V, Balaguer F, Bujanda L, De-Castro ML, Llor X, Andreu M, Carracedo A, Soto JL, Castells A, Jover R. Comparison between universal molecular screening for Lynch syndrome and revised Bethesda guidelines in a large population-based cohort of patients with colorectal cancer. // *Gut.* - 2012. - V. 61. – P. 865-872.
534. Pérez-Cabornero L, Borrás Flores E, Infante Sanz M, Velasco Sampedro E, Acedo Becares A, Lastra Aras E, Cuevas González J, Pineda Riu M, Ramón y Cajal Asensio T, Capellá Munar G, Miner Pino C, Durán Domínguez M. Characterization of new founder Alu-mediated rearrangements in MSH2 gene associated with a Lynch syndrome phenotype. // *Cancer Prev Res (Phila).* - 2011. - V. 4. – P. 1546-1555.
535. Perucho M. Correspondence re: C.R. Boland et al., A National Cancer Institute workshop on microsatellite instability for cancer detection and familial predisposition:

development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res.*, 58: 5248-5257, 1998. // *Cancer Res.* - 1999. - V. 59. – P. 249-256.

536. Peterlongo P, Howe LR, Radice P, Sala P, Hong YJ, Hong SI, Mitra N, Offit K, Ellis NA. Germline mutations of AXIN2 are not associated with nonsyndromic colorectal cancer. // *Hum Mutat.* - 2005. - V. 25. – P. 498-500.

537. Peters U, Bien S, Zubair N. Genetic architecture of colorectal cancer. // *Gut.* - 2015. - V. 64. – P. 1623-1636.

538. Pflaum T, Hausler T, Baumung C, Ackermann S, Kuballa T, Rehm J, Lachenmeier DW. Carcinogenic compounds in alcoholic beverages: an update. // *Arch Toxicol.* - 2016. - [Epub ahead of print]

539. Phipps AI, Limburg PJ, Baron JA, Burnett-Hartman AN, Weisenberger DJ, Laird PW, Sinicrope FA, Rosty C, Buchanan DD, Potter JD, Newcomb PA. Association between molecular subtypes of colorectal cancer and patient survival // *Gastroenterology.* - 2015. - V. 148. – P. 77-87.

540. Pilarski R, Burt R, Kohlman W, Pho L, Shannon KM, Swisher E. Cowden syndrome and the PTEN hamartoma tumor syndrome: systematic review and revised diagnostic criteria. // *J Natl Cancer Inst.* - 2013. - V. 105. – P. 1607-1616.

541. Pin E, Pastrello C, Tricarico R, Papi L, Quaia M, Fornasarig M, Carnevali I, Oliani C, Fornasin A, Agostini M, Maestro R, Barana D, Aretz S, Genuardi M, Viel A. MUTYH c.933+3A>C, associated with a severely impaired gene expression, is the first Italian founder mutation in MUTYH-Associated Polyposis. // *Int J Cancer.* - 2013. - V. 132. – P. 1060-1069.

542. Pinheiro M, Pinto C, Peixoto A, Veiga I, Lopes P, Henrique R, Baldaia H, Carneiro F, Seruca R, Tomlinson I, Kovac M, Heinimann K, Teixeira MR. Target gene mutational pattern in Lynch syndrome colorectal carcinomas according to tumour location and germline mutation. // *Br J Cancer.* - 2015. - V. 113. – P. 686-692.

543. Pino MS, Chung DC. The chromosomal instability pathway in colon cancer. // *Gastroenterology.* - 2010. - V. 138. – P. 2059-2072.

544. Pino MS, Mino-Kenudson M, Wildemore BM, Ganguly A, Batten J, Sperduti I, Iafrate AJ, Chung DC. Deficient DNA mismatch repair is common in Lynch syndrome-associated colorectal adenomas. // *J Mol Diagn.* - 2009. - V. 11. – P. 238-247.

545. Plawski A, Slomski R. APC gene mutations causing familial adenomatous polyposis in Polish patients. // *J Appl Genet.* - 2008. - V. 49. – P. 407-414.

546. Polakis P. Wnt signaling in cancer. // *Cold Spring Harb Perspect Biol.* - 2012. - V. 4. - pii: a008052.

547. Ponti G, Castellsagué E, Ruini C, Percesepe A, Tomasi A. Mismatch repair genes founder mutations and cancer susceptibility in Lynch syndrome. // *Clin Genet.* - 2015. - V. 87. – P. 507-516.
548. Ponti G, Manfredini M, Tomasi A, Pellacani G. Muir-Torre Syndrome and founder mismatch repair gene mutations: A long gone historical genetic challenge. // *Gene.* - 2016. - V. 589. – P. 127-132.
549. Popat S, Hubner R, Houlston RS. Systematic review of microsatellite instability and colorectal cancer prognosis. // *J Clin Oncol.* - 2005. - V. 23. – P. 609-618.
550. Poynter JN, Siegmund KD, Weisenberger DJ, Long TI, Thibodeau SN, Lindor N, Young J, Jenkins MA, Hopper JL, Baron JA, Buchanan D, Casey G, Levine AJ, Le Marchand L, Gallinger S, Bapat B, Potter JD, Newcomb PA, Haile RW, Laird PW. - V. Colon Cancer Family Registry Investigators. Molecular characterization of MSI-H colorectal cancer by MLHI promoter methylation, immunohistochemistry, and mismatch repair germline mutation screening. // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* - 2008. - V. 17. – P. 3208-3215.
551. Pribluda A, Elyada E, Wiener Z, Hamza H, Goldstein RE, Biton M, Burstain I, Morgenstern Y, Brachya G, Billauer H, Biton S, Snir-Alkalay I, Vucic D, Schlereth K, Mernberger M, Stiewe T, Oren M, Alitalo K, Pikarsky E, Ben-Neriah Y. A senescence-inflammatory switch from cancer-inhibitory to cancer-promoting mechanism. // *Cancer Cell.* - 2013. - V. 24. – P. 242-256.
552. van Puijenbroek M, Middeldorp A, Tops CM, van Eijk R, van der Klift HM, Vasen HF, Wijnen JT, Hes FJ, Oosting J, van Wezel T, Morreau H. Genome-wide copy neutral LOH is infrequent in familial and sporadic microsatellite unstable carcinomas. // *Fam Cancer.* - 2008. - V. 7. – P. 319-330.
553. van Puijenbroek M, Nielsen M, Tops CM, Halfwerk H, Vasen HF, Weiss MM, van Wezel T, Hes FJ, Morreau H. Identification of patients with (atypical) MUTYH-associated polyposis by KRAS2 c.34G> T prescreening followed by MUTYH hotspot analysis in formalin-fixed paraffin-embedded tissue. // *Clin Cancer Res.* - 2008. - V. 14. – P. 139-142.
554. Pukkala E, Martinsen JI, Lynge E, Gunnarsdottir HK, Sparén P, Tryggvadottir L, Weiderpass E, Kjaerheim K. Occupation and cancer - follow-up of 15 million people in five Nordic countries. // *Acta Oncol.* - 2009. - V. 48. – P. 646-790.
555. Putnam CD, Srivatsan A, Nene RV, Martinez SL, Clotfelter SP, Bell SN, Somach SB, de Souza JE, Fonseca AF, de Souza SJ, Kolodner RD. A genetic network that suppresses genome rearrangements in *Saccharomyces cerevisiae* and contains defects in cancers. // *Nat Commun.* - 2016. - V. 7. – P. 11256.

556. Pyatt R, Chadwick RB, Johnson CK, Adebamowo C, de la Chapelle A, Prior TW. Polymorphic variation at the BAT-25 and BAT-26 loci in individuals of African origin. Implications for microsatellite instability testing. // *Am J Pathol.* - 1999. - V. 155. - 349-353.
557. Pylvänäinen K, Lehtinen T, Kellokumpu I, Järvinen H, Mecklin JP. Causes of death of mutation carriers in Finnish Lynch syndrome families. // *Fam Cancer.* - 2012. - V. 11. – P. 467-471.
558. Quehenberger F, Vasen HF, van Houwelingen HC. Risk of colorectal and endometrial cancer for carriers of mutations of the hMLH1 and hMSH2 gene: correction for ascertainment. // *J Med Genet.* - 2005. - V. 42. – P. 491-496.
559. Radin DR, Fortgang KC, Zee CS, Mikity VG, Halls JM. Turcot syndrome: a case with spinal cord and colonic neoplasms. // *AJR Am J Roentgenol.* - 1984. - V. 142. – P.475-476.
560. Rahner N, Friedrichs N, Steinke V, Aretz S, Friedl W, Buettner R, Mangold E, Propping P, Walldorf C. Coexisting somatic promoter hypermethylation and pathogenic MLH1 germline mutation in Lynch syndrome. // *J Pathol.* - 2008. - V. 214. – P. 10-16.
561. Raisch J, Buc E, Bonnet M, Sauvanet P, Vazeille E, de Vallée A, Déchelotte P, Darcha C, Pezet D, Bonnet R, Bringer MA, Darfeuille-Michaud A. Colon cancer-associated B2 Escherichia coli colonize gut mucosa and promote cell proliferation. // *World J Gastroenterol.* 2014. - V. 20. – P. 6560-6572.
562. Ramsoekh D, Wagner A, van Leerdam ME, Dinjens WN, Steyerberg EW, Halley DJ, Kuipers EJ, Dooijes D. A high incidence of MSH6 mutations in Amsterdam criteria II-negative families tested in a diagnostic setting. // *Gut.* - 2008. - V. 57. – P. 1539-1544.
563. Rashid M, Fischer A, Wilson CH, Tiffen J, Rust AG, Stevens P, Idziaszczyk S, Maynard J, Williams GT, Mustonen V, Sampson JR, Adams DJ. Adenoma development in familial adenomatous polyposis and MUTYH-associated polyposis: somatic landscape and driver genes. // *J Pathol.* - 2016. - V. 238. – P. 98-108.
564. Raskin L, Schwenter F, Freytsis M, Tischkowitz M, Wong N, Chong G, Narod SA, Levine DA, Bogomolny F, Aronson M, Thibodeau SN, Hunt KS, Rennert G, Gallinger S, Gruber SB, Foulkes WD. Characterization of two Ashkenazi Jewish founder mutations in MSH6 gene causing Lynch syndrome. // *Clin Genet.* - 2011. - V. 79. – P. 512-522.
565. Ravnik-Glavac M, Potocnik U, Glavac D. Incidence of germline hMLH1 and hMSH2 mutations (HNPCC patients) among newly diagnosed colorectal cancers in a Slovenian population. // *J Med Genet.* - 2000. - V. 37. - 533-536.
566. Raymond VM, Everett JN, Furtado LV, Gustafson SL, Jungbluth CR, Gruber SB, Hammer GD, Stoffel EM, Greenson JK, Giordano TJ, Else T. Adrenocortical carcinoma is a lynch syndrome-associated cancer. // *J Clin Oncol.* - 2013. - V. 31. – P. 3012-3018.

567. Rekik NM, Ben Salah S, Kallel N, Kamoun M, Charfi N, Abid M. Adrenocortical Secreting Mass in a Patient with Gardner's Syndrome: A Case Report. // *Case Rep Med.* - 2010. - V. 2010. – P. 682081.
568. Renehan AG, Zwahlen M, Egger M. Adiposity and cancer risk: new mechanistic insights from epidemiology. // *Nat Rev Cancer.* - 2015. - V. 15. – P. 484-498.
569. Rennert G, Lejbkowitz F, Cohen I, Pinchev M, Rennert HS, Barnett-Griness O. MutYH mutation carriers have increased breast cancer risk. // *Cancer.* - 2012. - V. 118. – P. 1989-1993.
570. Reyes GX, Schmidt TT, Kolodner RD, Hombauer H. New insights into the mechanism of DNA mismatch repair. // *Chromosoma.* - 2015. - V. 124. – P. 443-462.
571. Rhees J, Arnold M, Boland CR. Inversion of exons 1-7 of the MSH2 gene is a frequent cause of unexplained Lynch syndrome in one local population. // *Fam Cancer.* - 2014. - V. 13. – P. 219-225.
572. Ricciardone MD, Ozçelik T, Cevher B, Ozdağ H, Tuncer M, Gürgey A, Uzunalimoğlu O, Cetinkaya H, Tanyeli A, Erken E, Oztürk M. Human MLH1 deficiency predisposes to hematological malignancy and neurofibromatosis type 1. // *Cancer Res.* - 1999. - V. 59. – P. 290-293.
573. Riegert-Johnson DL, Gleeson FC, Roberts M, Tholen K, Youngborg L, Bullock M, Boardman LA. Cancer and Lhermitte-Duclos disease are common in Cowden syndrome patients. // *Hered Cancer Clin Pract.* - 2010. - V. 8. – P. 6.
574. Risio M. The natural history of adenomas. // *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* - 2010. - V. 24. – P.271-280.
575. Rivera B, Castellsagué E, Bah I, van Kempen LC, Foulkes WD. Biallelic NTHL1 Mutations in a Woman with Multiple Primary Tumors. // *N Engl J Med.* - 2015. - V. 373. – P. 1985-1986.
576. Rivera B, González S, Sánchez-Tomé E, Blanco I, Mercadillo F, Letón R, Benítez J, Robledo M, Capellá G, Urioste M. Clinical and genetic characterization of classical forms of familial adenomatous polyposis: a Spanish population study. // *Ann Oncol.* - 2011. - V. 22. – P. 903-909.
577. Rodriguez-Bigas MA, Boland CR, Hamilton SR, Henson DE, Jass JR, Khan PM, Lynch H, Perucho M, Smyrk T, Sobin L, Srivastava S. A National Cancer Institute Workshop on Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer Syndrome: meeting highlights and Bethesda guidelines. // *J Natl Cancer Inst.* - 1997. - V. 89. – P. 1758-1762.
578. Rohlin A, Engwall Y, Fritzell K, Göransson K, Bergsten A, Einbeigi Z, Nilbert M, Karlsson P, Björk J, Nordling M. Inactivation of promoter 1B of APC causes partial gene

silencing: evidence for a significant role of the promoter in regulation and causative of familial adenomatous polyposis. // *Oncogene*. - 2011. - V. 30. – P. 4977-4989.

579. Rohlin A, Zagoras T, Nilsson S, Lundstam U, Wahlström J, Hultén L, Martinsson T, Karlsson GB, Nordling M. A mutation in POLE predisposing to a multi-tumour phenotype. // *Int J Oncol*. - 2014. - V. 45. - 77-81.

580. Romero A, Garre P, Valentin O, Sanz J, Pe'rez-Segura P, Llovet P, Di'az-Rubio E, de la Hoya M, Calde's T. Frequency and variability of genomic rearrangements on MSH2 in Spanish Lynch Syndrome families. // *PLoS One*. - 2013. - V. 8. – P. e72195.

581. Rosty C, Walsh MD, Lindor NM, Thibodeau SN, Mundt E, Gallinger S, Aronson M, Pollett A, Baron JA, Pearson S, Clendenning M, Walters RJ, Nagler BN, Crawford WJ, Young JP, Winship I, Win AK, Hopper JL, Jenkins MA, Buchanan DD. High prevalence of mismatch repair deficiency in prostate cancers diagnosed in mismatch repair gene mutation carriers from the colon cancer family registry. // *Fam Cancer*. - 2014. - V. 13. – P. 573-582.

582. Roth AD, Delorenzi M, Tejpar S, Yan P, Klingbiel D, Fiocca R, d'Ario G, Cisar L, Labianca R, Cunningham D, Nordlinger B, Bosman F, Van Cutsem E. Integrated analysis of molecular and clinical prognostic factors in stage II/III colon cancer. // *J Natl Cancer Inst*. – 2012. - V. 104. – P. 1635-1646.

583. Rosato V, Guercio V, Bosetti C, Negri E, Serraino D, Giacosa A, Montella M, La Vecchia C, Tavani A. Mediterranean diet and colorectal cancer risk: a pooled analysis of three Italian case-control studies. // *Br J Cancer*. - 2016. - [Epub ahead of print]

584. Rosty C, Walsh MD, Lindor NM, Thibodeau SN, Mundt E, Gallinger S, Aronson M, Pollett A, Baron JA, Pearson S, Clendenning M, Walters RJ, Nagler BN, Crawford WJ, Young JP, Winship I, Win AK, Hopper JL, Jenkins MA, Buchanan DD. High prevalence of mismatch repair deficiency in prostate cancers diagnosed in mismatch repair gene mutation carriers from the colon cancer family registry. // *Fam Cancer*. - 2014. - V. 13. – P. 573-582.

585. Rozek LS, Herron CM, Greenson JK, Moreno V, Capella G, Rennert G, Gruber SB. Smoking, gender, and ethnicity predict somatic BRAF mutations in colorectal cancer. // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. - 2010. - V. 19. – P. 838-843.

586. Rustagi T, Rangasamy P, Myers M, Sanders M, Vaziri H, Wu GY, Birk JW, Protiva P, Anderson JC. Sessile serrated adenomas in the proximal colon are likely to be flat, large and occur in smokers. // *World J Gastroenterol*. - 2013. - V. 19. – P. 5271-5277.

587. Ryan S, Jenkins MA, Win AK. Risk of prostate cancer in Lynch syndrome: a systematic review and meta-analysis. // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. - 2014. - V. 23. – P. 437-449.

588. Salovaara R, Loukola A, Kristo P, Kääriäinen H, Ahtola H, Eskelinen M, Härkönen N, Julkunen R, Kangas E, Ojala S, Tulikoura J, Valkamo E, Järvinen H, Mecklin JP, Aaltonen LA,

de la Chapelle A. Population-based molecular detection of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. // *J Clin Oncol.* - 2000. - V. 18. – P. 2193-2200.

589. Samadder NJ, Neklason DW, Boucher KM, Byrne KR, Kanth P, Samowitz W, Jones D, Tavtigian SV, Done MW, Berry T, Jasperson K, Pappas L, Smith L, Sample D, Davis R, Topham MK, Lynch P, Strait E, McKinnon W, Burt RW, Kuwada SK. Effect of Sulindac and Erlotinib vs Placebo on Duodenal Neoplasia in Familial Adenomatous Polyposis: A Randomized Clinical Trial. // *JAMA.* - 2016. - V. 315. – P. 1266-1275.

590. Samowitz WS, Curtin K, Lin HH, Robertson MA, Schaffer D, Nichols M, Gruenthal K, Leppert MF, Slattery ML. The colon cancer burden of genetically defined hereditary nonpolyposis colon cancer. // *Gastroenterology.* - 2001. - V. 121. – P. 830-838.

591. Sampson JR, Dolwani S, Jones S, Eccles D, Ellis A, Evans DG, Frayling I, Jordan S, Maher ER, Mak T, Maynard J, Pigatto F, Shaw J, Cheadle JP. Autosomal recessive colorectal adenomatous polyposis due to inherited mutations of MYH. // *Lancet.* - 2003. - V. 362. – P. 39-41.

592. Samraj AN, Pearce OM, Läubli H, Crittenden AN, Bergfeld AK, Banda K, Gregg CJ, Bingman AE, Secrest P, Diaz SL, Varki NM, Varki A. A red meat-derived glycan promotes inflammation and cancer progression. // *Proc Natl Acad Sci U S A.* - 2015. - V. 112. – P. 542-547.

593. Santin AD, Bellone S, Buza N, Choi J, Schwartz PE, Schlessinger J, Lifton RP. Regression of chemotherapy-resistant Polymerase epsilon (POLE) ultra-mutated and MSH6 hyper-mutated endometrial tumors with nivolumab. // *Clin Cancer Res.* - 2016. - pii: clincanres.1031.2016.

594. Santos L, Brcic I, Unterweger G, Riddell R, Langner C. Hamartomatous polyposis in tuberous sclerosis complex: Case report and review of the literature. // *Pathol Res Pract.* - 2015. - V. 211. – P. 1025-1029.

595. Sarroca C, Valle AD, Fresco R, Renkonen E, Peltömaki P, Lynch H. Frequency of hereditary non-polyposis colorectal cancer among Uruguayan patients with colorectal cancer. // *Clin Genet.* - 2005. - V. 68. – P. 80-87.

596. Scarpa M, Castagliuolo I, Castoro C, Pozza A, Scarpa M, Kotsafti A, Angriman I. Inflammatory colonic carcinogenesis: a review on pathogenesis and immunosurveillance mechanisms in ulcerative colitis. // *World J Gastroenterol.* - 2014. - V. 20. – P. 6774-6785.

597. Schmit SL, Rennert HS, Rennert G, Gruber SB. Coffee Consumption and the Risk of Colorectal Cancer. // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* - 2016. - V. 25. – P. 634-639.

598. Schofield L, Watson N, Grieu F, Li WQ, Zeps N, Harvey J, Stewart C, Abdo M, Goldblatt J, Iacopetta B. Population-based detection of Lynch syndrome in young colorectal

cancer patients using microsatellite instability as the initial test. // *Int J Cancer*. - 2009. - V. 124. – P. 1097-1102.

599. Schouten JP, McElgunn CJ, Waaijer R, Zwijnenburg D, Diepvens F, Pals G. Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. // *Nucleic Acids Res*. - 2002. - V. 30. – P. e57

600. Schwabe RF, Jobin C. The microbiome and cancer // *Nat Rev Cancer*. - 2013. - V. 13. – P. 800-812.

601. Seguí N, Mina LB, Lázaro C, Sanz-Pamplona R, Pons T, Navarro M, Bellido F, López-Doriga A, Valdés-Mas R, Pineda M, Guinó E, Vidal A, Soto JL, Caldés T, Durán M, Urioste M, Rueda D, Brunet J, Balbín M, Blay P, Iglesias S, Garré P, Lastra E, Sánchez-Heras AB, Valencia A, Moreno V, Pujana MÁ, Villanueva A, Blanco I, Capellá G, Surrallés J, Puente XS, Valle L. Germline Mutations in FAN1 Cause Hereditary Colorectal Cancer by Impairing DNA Repair. // *Gastroenterology*. - 2015. - V. 149. – P. 563-566.

602. Seguí N1, Pineda M, Navarro M, Lázaro C, Brunet J, Infante M, Durán M, Soto JL, Blanco I, Capellá G, Valle L. GALNT12 is not a major contributor of familial colorectal cancer type X. // *Hum Mutat*. - 2014. - V. 35. – P. 50-52.

603. Schulz E, Klampfl P, Holzapfel S, Janecke AR, Ulz P, Renner W, Kashofer K, Nojima S, Leitner A, Zebisch A, Wölfler A, Hofer S, Gerger A, Lax S, Beham-Schmid C, Steinke V, Heitzer E, Geigl JB, Windpassinger C, Hoefler G, Speicher MR, Boland CR, Kumanogoh A, Sill H. Germline variants in the SEMA4A gene predispose to familial colorectal cancer type X. // *Nat Commun*. - 2014. - V. 5. – P. 5191.

604. Scott RJ, Meldrum C, Crooks R, Spigelman AD, Kirk J, Tucker K, Koorey D. - V. Hunter Family Cancer Service. Familial adenomatous polyposis: more evidence for disease diversity and genetic heterogeneity. // *Gut*. - 2001. - V. 48. – P. 508-514.

605. Sehdev A, Shih YC, Vekhter B, Bissonnette MB, Olopade OI, Polite BN. Metformin for primary colorectal cancer prevention in patients with diabetes: a case-control study in a US population. // *Cancer*. - 2015. - V. 121. – P. 1071-1078.

606. Senter L, Clendenning M, Sotamaa K, Hampel H, Green J, Potter JD, Lindblom A, Lagerstedt K, Thibodeau SN, Lindor NM, Young J, Winship I, Dowty JG, White DM, Hopper JL, Baglietto L, Jenkins MA, de la Chapelle A. The clinical phenotype of Lynch syndrome due to germ-line PMS2 mutations. // *Gastroenterology*. - 2008. - V. 135. – P. 419-428. doi: 10.1053/j.gastro.2008.04.026. Epub 2008 May 2.

607. Septer S, Slowik V, Morgan R, Dai H, Attard T. Thyroid cancer complicating familial adenomatous polyposis: mutation spectrum of at-risk individuals. // *Hered Cancer Clin Pract*. – 2013. - V. 11. – P. 13.

608. Sever R, Brugge JS. Signal transduction in cancer. // *Cold Spring Harb Perspect Med.* - 2015. - V. 5. - pii: a006098.
609. Shaco-Levy R, Jasperson KW, Martin K, Samadder NJ, Burt RW, Ying J, Bronner MP. Morphologic characterization of hamartomatous gastrointestinal polyps in Cowden syndrome, Peutz-Jeghers syndrome, and juvenile polyposis syndrome. // *Hum Pathol.* - 2016. - V. 49. – P. 39-48.
610. Shen L, Toyota M, Kondo Y, Lin E, Zhang L, Guo Y, Hernandez NS, Chen X, Ahmed S, Konishi K, Hamilton SR, Issa JP. Integrated genetic and epigenetic analysis identifies three different subclasses of colon cancer. // *Proc Natl Acad Sci U S A.* - 2007. - V. 104. – P. 18654-18659.
611. Shinbrot E, Henninger EE, Weinhold N, Covington KR, Göksenin AY, Schultz N, Chao H, Doddapaneni H, Muzny DM, Gibbs RA, Sander C, Pursell ZF, Wheeler DA. Exonuclease mutations in DNA polymerase epsilon reveal replication strand specific mutation patterns and human origins of replication. // *Genome Res.* - 2014. - V. 24. – P. 1740-1750.
612. Shirts BH, Salipante SJ, Casadei S, Ryan S, Martin J, Jacobson A, Vlaskin T, Koehler K, Livingston RJ, King MC, Walsh T, Pritchard CC. Deep sequencing with intronic capture enables identification of an APC exon 10 inversion in a patient with polyposis. // *Genet Med.* - 2014. - V. 16. – P. 783-786.
613. Shlien A, Campbell BB, de Borja R, Alexandrov LB, Merico D, Wedge D, Van Loo P, Tarpey PS, Coupland P, Behjati S, Pollett A, Lipman T, Heidari A, Deshmukh S, Avitzur N, Meier B, Gerstung M, Hong Y, Merino DM, Ramakrishna M, Remke M, Arnold R, Panigrahi GB, Thakkar NP, Hodel KP, Henninger EE, Göksenin AY, Bakry D, Charames GS, Druker H, Lerner-Ellis J, Mistry M, Dvir R, Grant R, Elhasid R, Farah R, Taylor GP, Nathan PC, Alexander S, Ben-Shachar S, Ling SC, Gallinger S, Constantini S, Dirks P, Huang A, Scherer SW, Grundy RG, Durno C, Aronson M, Gartner A, Meyn MS, Taylor MD, Pursell ZF, Pearson CE, Malkin D, Futreal PA, Stratton MR, Bouffet E, Hawkins C, Campbell PJ, Tabori U. - V. Biallelic Mismatch Repair Deficiency Consortium. Combined hereditary and somatic mutations of replication error repair genes result in rapid onset of ultra-hypermuted cancers. // *Nat Genet.* - 2015. - V. 47. – P. 257-262.
614. Schreibman IR, Baker M, Amos C, McGarrity TJ. The hamartomatous polyposis syndromes: a clinical and molecular review. // *Am J Gastroenterol.* - 2005. - V. 100. – P. 476-490.
615. Shussman N, Wexner SD. Colorectal polyps and polyposis syndromes. // *Gastroenterol Rep (Oxf).* - 2014. - V. 2. – P. 1-15.
616. Sieber OM, Lipton L, Crabtree M, Heinemann K, Fidalgo P, Phillips RK, Bisgaard ML, Orntoft TF, Aaltonen LA, Hodgson SV, Thomas HJ, Tomlinson IP. Multiple colorectal adenomas,

classic adenomatous polyposis, and germ-line mutations in MYH. // *N Engl J Med.* - 2003. - V. 348. – P. 791-799.

617. Siegel R, Desantis C, Jemal A. Colorectal cancer statistics, 2014. // *CA Cancer J Clin.* - 2014. - V. 64. – P. 104-117.

618. Sieri S, Krogh V, Agnoli C, Ricceri F, Palli D, Masala G, Panico S, Mattiello A, Tumino R, Giurdanella MC, Brighenti F, Scazzina F, Vineis P, Sacerdote C. Dietary glycemic index and glycemic load and risk of colorectal cancer: results from the EPIC-Italy study. // *Int J Cancer.* - 2015. - V. 136. – P. 2923-2931.

619. da Silva FC, de Oliveira LP, Santos EM, Nakagawa WT, Aguiar Junior S, Valentin MD, Rossi BM, de Oliveira Ferreira F. Frequency of extracolonic tumors in Brazilian families with Lynch syndrome: analysis of a hereditary colorectal cancer institutional registry. // *Fam Cancer.* - 2010. - V. 9. – P. 563-570.

620. Simons CC, Hughes LA, Smits KM, Khalid-de Bakker CA, de Bruïne AP, Carvalho B, Meijer GA, Schouten LJ, van den Brandt PA, Weijnenberg MP, van Engeland M. A novel classification of colorectal tumors based on microsatellite instability, the CpG island methylator phenotype and chromosomal instability: implications for prognosis. // *Ann Oncol.* 2013. - V. 24. – P. 2048-2056.

621. Sinicrope FA, Foster NR, Thibodeau SN, Marsoni S, Monges G, Labianca R, Kim GP, Yothers G, Allegra C, Moore MJ, Gallinger S, Sargent DJ. DNA mismatch repair status and colon cancer recurrence and survival in clinical trials of 5-fluorouracil-based adjuvant therapy. // *J Natl Cancer Inst.* - 2011. - V. 103. – P. 863-875.

622. Sjursen W, Haukanes BI, Grindedal EM, Aarset H, Stormorken A, Engebretsen LF, Jonsrud C, Bjørnevoll I, Andresen PA, Ariansen S, Lavik LA, Gilde B, Bowitz-Lothe IM, Maehle L, Møller P. Current clinical criteria for Lynch syndrome are not sensitive enough to identify MSH6 mutation carriers. // *J Med Genet.* - 2010. - V. 47. – P. 579-585.

623. Skeen VR, Paterson I, Paraskeva C, Williams AC. TGF- β 1 signalling, connecting aberrant inflammation and colorectal tumorigenesis. // *Curr Pharm Des.* - 2012. - V. 18. – P. 3874-3888.

624. Skeldon SC, Semotiuk K, Aronson M, Holter S, Gallinger S, Pollett A, Kuk C, van Rhijn B, Bostrom P, Cohen Z, Fleshner NE, Jewett MA, Hanna S, Shariat SF, Van Der Kwast TH, Evans A, Catto J, Bapat B, Zlotta AR. Patients with Lynch syndrome mismatch repair gene mutations are at higher risk for not only upper tract urothelial cancer but also bladder cancer. // *Eur Urol.* - 2013. - V. 63. – P. 379-385.

625. Skriver C, Dehlendorff C, Borre M, Brasso K, Sørensen HT, Hallas J, Larsen SB, Tjønneland A, Friis S. Low-dose aspirin or other nonsteroidal anti-inflammatory drug use and

prostate cancer risk: a nationwide study. // *Cancer Causes Control*. - 2016. - V. 27. – P. 1067-1079.

626. Skrzypczak M, Podralska M, Heinritz W, Froster UG, Lipiński D, Słomski R, Pławski A. MYH Gene Status in Polish FAP Patients without APC Gene Mutations. // *Hered Cancer Clin Pract*. - 2006. - V. 4. – P. 43-47.

627. Slattery ML, Potter JD, Curtin K, Edwards S, Ma KN, Anderson K, Schaffer D, Samowitz WS. Estrogens reduce and withdrawal of estrogens increase risk of microsatellite instability-positive colon cancer. // *Cancer Res*. - 2001. - V. 61. – P. 126-130.

628. Slowik V, Attard T, Dai H, Shah R, Septer S. Desmoid tumors complicating Familial Adenomatous Polyposis: a meta-analysis mutation spectrum of affected individuals. // *BMC Gastroenterol*. - 2015. - V. 15. – P. 84.

629. Snow AK, Tuohy TM, Sargent NR, Smith LJ, Burt RW, Neklason DW. APC promoter 1B deletion in seven American families with familial adenomatous polyposis. // *Clin Genet*. - 2015. - V. 88. – P. 360-365.

630. Song M, Nishihara R, Wang M, Chan AT, Qian ZR, Inamura K, Zhang X, Ng K, Kim SA, Mima K, Sukawa Y, Nosho K, Fuchs CS, Giovannucci EL, Wu K, Ogino S. Plasma 25-hydroxyvitamin D and colorectal cancer risk according to tumour immunity status. // *Gut*. - 2016. - V. 65. – P. 296-304.

631. Sourrouille I, Coulet F, Lefevre JH, Colas C, Eyries M, Svrcek M, Bardier-Dupas A, Parc Y, Soubrier F. Somatic mosaicism and double somatic hits can lead to MSI colorectal tumors. // *Fam Cancer*. - 2013. - V. 12. – P. 27-33.

632. South CD, Hampel H, Comeras I, Westman JA, Frankel WL, de la Chapelle A. The frequency of Muir-Torre syndrome among Lynch syndrome families. // *J Natl Cancer Inst*. - 2008. - V. 100. – P. 277-281.

633. Southey MC, Jenkins MA, Mead L, Whitty J, Trivett M, Tesoriero AA, Smith LD, Jennings K, Grubb G, Royce SG, Walsh MD, Barker MA, Young JP, Jass JR, St John DJ, Macrae FA, Giles GG, Hopper JL. Use of molecular tumor characteristics to prioritize mismatch repair gene testing in early-onset colorectal cancer. // *J Clin Oncol*. - 2005. - V. 23. – P. 6524-6532.

634. Spier I, Drichel D, Kerick M, Kirfel J, Horpaopan S, Laner A, Holzapfel S, Peters S, Adam R, Zhao B, Becker T, Lifton RP, Perner S, Hoffmann P, Kristiansen G, Timmermann B, Nöthen MM, Holinski-Feder E, Schweiger MR, Aretz S. Low-level APC mutational mosaicism is the underlying cause in a substantial fraction of unexplained colorectal adenomatous polyposis cases. // *J Med Genet*. - 2016. - V. 53. – P. 172-179.

635. Spier I, Holzapfel S, Altmüller J, Zhao B, Horpaopan S, Vogt S, Chen S, Morak M, Raeder S, Kayser K, Stienen D, Adam R, Nürnberg P, Plotz G, Holinski-Feder E, Lifton RP,

Thiele H, Hoffmann P, Steinke V, Aretz S. Frequency and phenotypic spectrum of germline mutations in POLE and seven other polymerase genes in 266 patients with colorectal adenomas and carcinomas. // *Int J Cancer*. - 2015. - V. 137. – P. 320-331.

636. Spier I, Horpaopan S, Vogt S, Uhlhaas S, Morak M, Stienen D, Draaken M, Ludwig M, Holinski-Feder E, Nöthen MM, Hoffmann P, Aretz S. Deep intronic APC mutations explain a substantial proportion of patients with familial or early-onset adenomatous polyposis. // *Hum Mutat*. - 2012. - V. 33. – P. 1045-1050.

637. Spirio L, Green J, Robertson J, Robertson M, Otterud B, Sheldon J, Howse E, Green R, Groden J, White R, Leppert M. The identical 5' splice-site acceptor mutation in five attenuated APC families from Newfoundland demonstrates a founder effect. // *Hum Genet*. - 1999. - V. 105. – P. 388-398.

638. Squarize CH, Castilho RM, Gutkind JS. Chemoprevention and treatment of experimental Cowden's disease by mTOR inhibition with rapamycin. // *Cancer Res*. - 2008. - V. 68. – P. 7066-7072.

639. Steinke V, Holzapfel S, Loeffler M, Holinski-Feder E, Morak M, Schackert HK, Görgens H, Pox C, Royer-Pokora B, von Knebel-Doerberitz M, Büttner R, Propping P, Engel C. - V. German HNPCC Consortium. Evaluating the performance of clinical criteria for predicting mismatch repair gene mutations in Lynch syndrome: a comprehensive analysis of 3,671 families. // *Int J Cancer*. - 2014. - V. 135. – P. 69-77.

640. Stenzinger A, Pfarr N, Endris V, Penzel R, Jansen L, Wolf T, Herpel E, Warth A, Klauschen F, Kloor M, Roth W, Bläker H, Chang-Claude J, Brenner H, Hoffmeister M, Weichert W. Mutations in POLE and survival of colorectal cancer patients--link to disease stage and treatment. // *Cancer Med*. - 2014. - V. 3. – P. 1527-1538.

641. Stoffel EM, Erichsen R, Frøslev T, Pedersen L, Vyberg M, Koeppe E, Crockett SD, Hamilton SR, Sørensen HT, Baron JA. Clinical and Molecular Characteristics of Post-Colonoscopy Colorectal Cancer: A Population-based Study. // *Gastroenterology*. - 2016. - pii: S0016-5085(16)34787-4.

642. Suraweera N, Duval A, Reperant M, Vaury C, Furlan D, Leroy K, Seruca R, Iacopetta B, Hamelin R. Evaluation of tumor microsatellite instability using five quasimonomorphic mononucleotide repeats and pentaplex PCR. // *Gastroenterology*. - 2002. - V. 123. – P. 1804-1811

643. Susswein LR, Marshall ML, Nusbaum R, Vogel Postula KJ, Weissman SM, Yackowski L, Vaccari EM, Bissonnette J, Booker JK, Cremona ML, Gibellini F, Murphy PD, Pineda-Alvarez DE, Pollevick GD, Xu Z, Richard G, Bale S, Klein RT, Hruska KS, Chung WK. Pathogenic and likely pathogenic variant prevalence among the first 10,000 patients referred for next-generation cancer panel testing. // *Genet Med*. - 2016. - V. 18. – P. 823-832.

644. Suter CM, Martin DI, Ward RL. Germline epimutation of MLH1 in individuals with multiple cancers. // *Nat Genet.* - 2004. - V. 36. – P. 497-501.
645. Suzuki H, Yamamoto E, Maruyama R, Niinuma T, Kai M. Biological significance of the CpG island methylator phenotype. // *Biochem Biophys Res Commun.* - 2014. - pii: S0006-291X(14)01221-2.
646. Svrcek M, El-Bchiri J, Chalastanis A, Capel E, Dumont S, Buhard O, Oliveira C, Seruca R, Bossard C, Mosnier JF, Berger F, Leteurtre E, Lavergne-Slove A, Chenard MP, Hamelin R, Cosnes J, Beaugerie L, Tiret E, Duval A, Fléjou JF. Specific clinical and biological features characterize inflammatory bowel disease associated colorectal cancers showing microsatellite instability. // *J Clin Oncol.* - 2007. - V. 25. – P. 4231-4238.
647. Sweetser S, Ahlquist DA, Osborn NK, Sanderson SO, Smyrk TC, Chari ST, Boardman LA. Clinicopathologic features and treatment outcomes in Cronkhite-Canada syndrome: support for autoimmunity. // *Dig Dis Sci.* - 2012. - V. 57. – P. 496-502.
648. Syngal S, Brand RE, Church JM, Giardiello FM, Hampel HL, Burt RW. - V. American College of Gastroenterology. ACG clinical guideline: Genetic testing and management of hereditary gastrointestinal cancer syndromes. // *Am J Gastroenterol.* - 2015. - V. 110. – P. 223-262.
649. Takahashi M, Shimodaira H, Andreutti-Zaugg C, Iggo R, Kolodner RD, Ishioka C. Functional analysis of human MLH1 variants using yeast and in vitro mismatch repair assays. // *Cancer Res.* - 2007. - V. 67. – P. 4595-4604.
650. Takane K, Matsusaka K, Ota S, Fukuyo M, Yue Y, Nishimura M, Sakai E, Matsushita K, Miyauchi H, Aburatani H, Nakatani Y, Takayama T, Matsubara H, Akagi K, Kaneda A. Two subtypes of colorectal tumor with distinct molecular features in familial adenomatous polyposis. // *Oncotarget.* - 2016. - [Epub ahead of print]
651. Takata Y, Shrubsole MJ, Li H, Cai Q, Gao J, Wagner C, Wu J, Zheng W, Xiang YB, Shu XO. Plasma folate concentrations and colorectal cancer risk: a case-control study nested within the Shanghai Men's Health Study. // *Int J Cancer.* - 2014. - V. 135. – P. 2191-2198.
652. Tan MH, Mester JL, Ngeow J, Rybicki LA, Orloff MS, Eng C. Lifetime cancer risks in individuals with germline PTEN mutations. // *Clin Cancer Res.* - 2012. - V. 18. – P. 400-407.
653. Tanskanen T, Gylfe AE, Katainen R, Taipale M, Renkonen-Sinisalo L, Järvinen H, Mecklin JP, Böhm J, Kilpivaara O, Pitkänen E, Palin K, Vahteristo P, Tuupanen S, Aaltonen LA. Systematic search for rare variants in Finnish early-onset colorectal cancer patients. // *Cancer Genet.* - 2015. - V. 208. – P. 35-40.
654. Tenesa A, Campbell H, Barnetson R, Porteous M, Dunlop M, Farrington SM. Association of MUTYH and colorectal cancer. // *Br J Cancer.* - 2006. - V. 95. – P. 239-242.

655. Teng JA, Wu SG, Chen JX, Li Q, Peng F, Zhu Z, Qin J, He ZY. The Activation of ERK1/2 and JNK MAPK Signaling by Insulin/IGF-1 Is Responsible for the Development of Colon Cancer with Type 2 Diabetes Mellitus. // *PLoS One*. - 2016. - V. 11. – P. e0149822.

656. Theodoratou E, Campbell H, Tenesa A, Houlston R, Webb E, Lubbe S, Broderick P, Gallinger S, Croitoru EM, Jenkins MA, Win AK, Cleary SP, Koessler T, Pharoah PD, Küry S, Bézieau S, Buecher B, Ellis NA, Peterlongo P, Offit K, Aaltonen LA, Enholm S, Lindblom A, Zhou XL, Tomlinson IP, Moreno V, Blanco I, Capellà G, Barnetson R, Porteous ME, Dunlop MG, Farrington SM. A large-scale meta-analysis to refine colorectal cancer risk estimates associated with MUTYH variants. // *Br J Cancer*. - 2010. - V. 103. – P. 1875-1884.

657. Thibodeau SN, Bren G, Schaid D. Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. // *Science*. - 1993. - V. 260. – P. 816-819.

658. Thompson BA, Spurdle AB, Plazzer JP, Greenblatt MS, Akagi K, Al-Mulla F, Bapat B, Bernstein I, Capellà G, den Dunnen JT, du Sart D, Fabre A, Farrell MP, Farrington SM, Frayling IM, Frebourg T, Goldgar DE, Heinen CD, Holinski-Feder E, Kohonen-Corish M, Robinson KL, Leung SY, Martins A, Moller P, Morak M, Nystrom M, Peltomaki P, Pineda M, Qi M, Ramesar R, Rasmussen LJ, Royer-Pokora B, Scott RJ, Sijmons R, Tavtigian SV, Tops CM, Weber T, Wijnen J, Woods MO, Macrae F, Genuardi M. - V. InSiGHT. Application of a 5-tiered scheme for standardized classification of 2,360 unique mismatch repair gene variants in the InSiGHT locus-specific database. // *Nat Genet*. - 2014. - V. 46. – P. 107-115.

659. Thrift AP, Gong J, Peters U, Chang-Claude J, Rudolph A, Slattery ML, Chan AT, Esko T, Wood AR, Yang J, Vedantam S, Gustafsson S, Pers TH. - V. GIANT Consortium, Baron JA, Bezieau S, Küry S, Ogino S, Berndt SI, Casey G, Haile RW, Du M, Harrison TA, Thornquist M, Duggan DJ, Le Marchand L, Lemire M, Lindor NM, Seminara D, Song M, Thibodeau SN, Cotterchio M, Win AK, Jenkins MA, Hopper JL, Ulrich CM, Potter JD, Newcomb PA, Schoen RE, Hoffmeister M, Brenner H, White E, Hsu L, Campbell PT. Mendelian randomization study of height and risk of colorectal cancer. // *Int J Epidemiol*. - 2015. - V. 44. – P. 662-672.

660. Tomasetti C, Marchionni L, Nowak MA, Parmigiani G, Vogelstein B. Only three driver gene mutations are required for the development of lung and colorectal cancers. // *Proc Natl Acad Sci U S A*. - 2015. - V. 112. – P. 118-123.

661. Tomasetti C, Vogelstein B, Parmigiani G. Half or more of the somatic mutations in cancers of self-renewing tissues originate prior to tumor initiation. // *Proc Natl Acad Sci U S A*. - 2013. - V. 110. – P. 1999-2004.

662. Tomsic J, Liyanarachchi S, Hampel H, Morak M, Thomas BC, Raymond VM, Chittenden A, Schackert HK, Gruber SB, Syngal S, Viel A, Holinski-Feder E, Thibodeau SN, de

la Chapelle A. An American founder mutation in MLH1. // *Int J Cancer*. - 2012. - V. 130. – P. 2088-2095.

663. Tops CM, Vasen HF, van Berge Henegouwen G, Simoons PP, van de Klift HM, van Leeuwen SJ, Breukel C, Fodde R, den Hartog Jager FC, Nagengast FM, et al. Genetic evidence that Turcot syndrome is not allelic to familial adenomatous polyposis. // *Am J Med Genet*. – 1992. - V. 43. – P. 888-893.

664. Tougeron D, Mouillet G, Trouilloud I, Lecomte T, Coriat R, Aparicio T, Des Guetz G, Lécaille C, Artru P, Sickersen G, Cauchin E, Sefrioui D, Boussaha T, Ferru A, Matysiak-Budnik T, Silvain C, Karayan-Tapon L, Pagès JC, Vernerey D, Bonnetain F, Michel P, Taïeb J, Zaanani A. Efficacy of Adjuvant Chemotherapy in Colon Cancer With Microsatellite Instability: A Large Multicenter AGEO Study. // *J Natl Cancer Inst*. - 2016. - V. 108. - pii: djv438.

665. Trimbath JD, Petersen GM, Erdman SH, Ferre M, Luce MC, Giardiello FM. Café-au-lait spots and early onset colorectal neoplasia: a variant of HNPCC? // *Fam Cancer*. - 2001. - V. 1. – P. 101-105.

666. Tsilidis KK, Kasimis JC, Lopez DS, Ntzani EE, Ioannidis JP. Type 2 diabetes and cancer: umbrella review of meta-analyses of observational studies. // *BMJ*. - 2015. - V. 350. – P. g7607.

667. Tulchinsky H, Keidar A, Strul H, Goldman G, Klausner JM, Rabau M. Extracolonic manifestations of familial adenomatous polyposis after proctocolectomy. // *Arch Surg*. – 2005. - V. 140. – P. 159-163.

668. Tung N, Domchek SM, Stadler Z, Nathanson KL, Couch F, Garber JE, Offit K, Robson ME. Counselling framework for moderate-penetrance cancer-susceptibility mutations. // *Nat Rev Clin Oncol*. - 2016. - V. 13. – P. 581-588.

669. Tuupanen S, Karhu A, Järvinen H, Mecklin JP, Launonen V, Aaltonen LA. No evidence for dual role of loss of heterozygosity in hereditary non-polyposis colorectal cancer. // *Oncogene*. - 2007. - V. 26. – P. 2513-2517.

670. Uchino S, Ishikawa H, Miyauchi A, Hirokawa M, Noguchi S, Ushiyama M, Yoshida T, Michikura M, Sugano K, Sakai T. Age- and Gender-Specific Risk of Thyroid Cancer in Patients with Familial Adenomatous Polyposis. // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2016. - [Epub ahead of print].

671. Udd L, Katajisto P, Rossi DJ, Lepistö A, Lahesmaa AM, Ylikorkala A, Järvinen HJ, Ristimäki AP, Mäkelä TP. Suppression of Peutz-Jeghers polyposis by inhibition of cyclooxygenase-2. // *Gastroenterology*. - 2004. - V. 127. – P. 1030-1037.

672. Ulbright TM, Amin MB, Young RH. Intratubular large cell hyalinizing sertoli cell neoplasia of the testis: a report of 8 cases of a distinctive lesion of the Peutz-Jeghers syndrome. // *Am J Surg Pathol.* - 2007. - V. 31. – P. 827-835.
673. Umar A, Boland CR, Terdiman JP, Syngal S, de la Chapelle A, Rüschoff J, Fishel R, Lindor NM, Burgart LJ, Hamelin R, Hamilton SR, Hiatt RA, Jass J, Lindblom A, Lynch HT, Peltomaki P, Ramsey SD, Rodriguez-Bigas MA, Vasen HF, Hawk ET, Barrett JC, Freedman AN, Srivastava S. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. // *J Natl Cancer Inst.* - 2004. - V. 96. – P. 261-268.
674. Urso E, Agostini M, Pucciarelli S, Rugge M, Bertorelle R, Maretto I, Bedin C, D'Angelo E, Mescoli C, Zorzi M, Viel A, Bruttocao G, Ferraro B, Erroi F, Contin P, De Salvo GL, Nitti D. Clinical and molecular detection of inherited colorectal cancers in northeast Italy: a first prospective study of incidence of Lynch syndrome and MUTYH-related colorectal cancer in Italy. // *Tumour Biol.* - 2012. - V. 33. – P. 857-864.
675. US Preventive Services Task Force, Bibbins-Domingo K, Grossman DC, Curry SJ, Davidson KW, Epling JW Jr, García FA, Gillman MW, Harper DM, Kemper AR, Krist AH, Kurth AE, Landefeld CS, Mangione CM, Owens DK, Phillips WR, Phipps MG, Pignone MP, Siu AL. Screening for Colorectal Cancer: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. // *JAMA.* - 2016. - V. 315. – P. 2564-2575.
676. Valle L, Hernández-Illán E, Bellido F, Aiza G, Castillejo A, Castillejo MI, Navarro M, Seguí N, Vargas G, Guarinos C, Juárez M, Sanjuán X, Iglesias S, Alenda C, Egoavil C, Segura Á, Juan MJ, Rodríguez-Soler M, Brunet J, González S, Jover R, Lázaro C, Capellá G, Pineda M, Soto JL, Blanco I. New insights into POLE and POLD1 germline mutations in familial colorectal cancer and polyposis. // *Hum Mol Genet.* - 2014. - V. 23. – P. 3506-3512.
677. Vasen HF, Abdirahman M, Brohet R, Langers AM, Kleibeuker JH, van Kouwen M, Koornstra JJ, Boot H, Cats A, Dekker E, Sanduleanu S, Poley JW, Hardwick JC, de Vos Tot Nederveen Cappel WH, van der Meulen-de Jong AE, Tan TG, Jacobs MA, Mohamed FL, de Boer SY, van de Meeberg PC, Verhulst ML, Salemans JM, van Bentem N, Westerveld BD, Vecht J, Nagengast FM. One to 2-year surveillance intervals reduce risk of colorectal cancer in families with Lynch syndrome. // *Gastroenterology.* - 2010. - V. 138. – P. 2300-2306.
678. Vasen HF, Blanco I, Aktan-Collan K, Gopie JP, Alonso A, Aretz S, Bernstein I, Bertario L, Burn J, Capella G, Colas C, Engel C, Frayling IM, Genuardi M, Heinimann K, Hes FJ, Hodgson SV, Karagiannis JA, Laloo F, Lindblom A, Mecklin JP, Møller P, Myrhoj T, Nagengast FM, Parc Y, Ponz de Leon M, Renkonen-Sinisalo L, Sampson JR, Stormorken A, Sijmons RH, Tejpar S, Thomas HJ, Rahner N, Wijnen JT, Järvinen HJ, Möslein G. - V. Mallorca group.

Revised guidelines for the clinical management of Lynch syndrome (HNPCC): recommendations by a group of European experts. // *Gut*. - 2013. - V. 62. – P. 812-823.

679. Vasen HF, Ghorbanoghli Z, Bourdeaut F, Cabaret O, Caron O, Duval A, Entz-Werle N, Goldberg Y, Ilencikova D, Kratz CP, Lavoine N, Loeffen J, Menko FH, Muleris M, Sebille G, Colas C, Burkhardt B, Brugieres L, Wimmer K. - V. EU-Consortium Care for CMMR-D (C4CMMR-D). Guidelines for surveillance of individuals with constitutional mismatch repair-deficiency proposed by the European Consortium "Care for CMMR-D" (C4CMMR-D). // *J Med Genet*. - 2014. - V. 51. – P. 283-293.

680. Vasen HF, Mecklin JP, Khan PM, Lynch HT. The International Collaborative Group on Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer (ICG-HNPCC). // *Dis Colon Rectum*. – 1991. - V. 34. – P. 424-425.

681. Vasen HF, Watson P, Mecklin JP, Lynch HT. New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative group on HNPCC. // *Gastroenterology*. - 1999. - V. 116. – P. 1453-1456.

682. Vaughn CP, Robles J, Swensen JJ, Miller CE, Lyon E, Mao R, Bayrak-Toydemir P, Samowitz WS. Clinical analysis of PMS2: mutation detection and avoidance of pseudogenes. // *Hum Mutat*. - 2010. - V. 31. – P. 588-593.

683. Vecchione L, Gambino V, Raaijmakers J, Schlicker A, Fumagalli A, Russo M, Villanueva A, Beerling E, Bartolini A, Mollevi DG, El-Murr N, Chiron M, Calvet L, Nicolazzi C, Combeau C, Henry C, Simon IM, Tian S, in 't Veld S, D'ario G, Mainardi S, Beijersbergen RL, Liefstink C, Linn S, Rumpf-Kienzl C, Delorenzi M, Wessels L, Salazar R, Di Nicolantonio F, Bardelli A, van Rheejen J, Medema RH, Tejpar S, Bernards R. A Vulnerability of a Subset of Colon Cancers with Potential Clinical Utility. // *Cell*. - 2016. - V. 165. – P. 317-330.

684. Viel A, Genuardi M, Lucci-Cordisco E, Capozzi E, Rovella V, Fornasarig M, Ponz de Leòn M, Anti M, Pedroni M, Bellacosa A, Percesepe A, Covino M, Benatti P, Del Tin L, Roncucci L, Valentini M, Boiocchi M, Neri G. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer: an approach to the selection of candidates to genetic testing based on clinical and molecular characteristics. // *Community Genet*. - 1998. - V. 1. – P. 229-236.

685. Vierkoetter KR, Ayabe AR, VanDrunen M, Ahn HJ, Shimizu DM, Terada KY. Lynch Syndrome in patients with clear cell and endometrioid cancers of the ovary. // *Gynecol Oncol*. - 2014. - V. 135. – P. 81-84. .

686. Vigneri R, Goldfine ID, Frittitta L. Insulin, insulin receptors, and cancer. // *J Endocrinol Invest*. - 2016. - [Epub ahead of print].

687. Vilar E, Tabernero J. Molecular dissection of microsatellite instable colorectal cancer. // *Cancer Discov*. - 2013. - V. 3. – P. 502-511.

688. Vilar E, Scaltriti M, Balmaña J, Saura C, Guzman M, Arribas J, Baselga J, Taberero J. Microsatellite instability due to hMLH1 deficiency is associated with increased cytotoxicity to irinotecan in human colorectal cancer cell lines. // *Br J Cancer*. - 2008. - V. 99. – P. 1607-1612.
689. Vilkki S, Tsao JL, Loukola A, Pöyhönen M, Vierimaa O, Herva R, Aaltonen LA, Shibata D. Extensive somatic microsatellite mutations in normal human tissue. // *Cancer Res*. – 2001. - V. 61. – P. 4541-4544.
690. Vitellaro M, Sala P, Signoroni S, Radice P, Fortuzzi S, Civelli EM, Ballardini G, Kleiman DA, Morrissey KP, Bertario L. Risk of desmoid tumours after open and laparoscopic colectomy in patients with familial adenomatous polyposis. // *Br J Surg*. - 2014. - V. 101. – P. 558-565.
691. de Voer RM, Hahn MM, Mensenkamp AR, Hoischen A, Gilissen C, Henkes A, Spruijt L, van Zelst-Stams WA, Kets CM, Verwiel ET, Nagtegaal ID, Schackert HK, van Kessel AG, Hoogerbrugge N, Ligtenberg MJ, Kuiper RP. Deleterious Germline BLM Mutations and the Risk for Early-onset Colorectal Cancer. // *Sci Rep*. - 2015. - V. 5. – P. 14060.
692. Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, Kern SE, Preisinger AC, Leppert M, Nakamura Y, White R, Smits AM, Bos JL. Genetic alterations during colorectal-tumor development. // *N Engl J Med*. - 1988. - V. 319. – P. 525-532.
693. Volikos E, Robinson J, Aittomäki K, Mecklin JP, Järvinen H, Westerman AM, de Rooij FW, Vogel T, Moeslein G, Launonen V, Tomlinson IP, Silver AR, Aaltonen LA. LKB1 exonic and whole gene deletions are a common cause of Peutz-Jeghers syndrome. // *J Med Genet*. - 2006. - V. 43. – P. e18.
694. Vollset SE, Clarke R, Lewington S, Ebbing M, Halsey J, Lonn E, Armitage J, Manson JE, Hankey GJ, Spence JD, Galan P, Bønaa KH, Jamison R, Gaziano JM, Guarino P, Baron JA, Logan RF, Giovannucci EL, den Heijer M, Ueland PM, Bennett D, Collins R, Peto R. - V. B-Vitamin Treatment Trialists' Collaboration. Effects of folic acid supplementation on overall and site-specific cancer incidence during the randomised trials: meta-analyses of data on 50,000 individuals. // *Lancet*. - 2013. - V. 381. – P. 1029-1036.
695. Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, Zhou S, Diaz LA Jr, Kinzler KW. Cancer genome landscapes. // *Science*. - 2013. - V. 339. – P. 1546-1558.
696. Vogt S, Jones N, Christian D, Engel C, Nielsen M, Kaufmann A, Steinke V, Vasen HF, Propping P, Sampson JR, Hes FJ, Aretz S. Expanded extracolonic tumor spectrum in MUTYH-associated polyposis. // *Gastroenterology*. - 2009. - V. 137. – P. 1976-1985.
697. de Vos tot Nederveen Cappel WH, Nagengast FM, Griffioen G, Menko FH, Taal BG, Kleibeuker JH, Vasen HF. Surveillance for hereditary nonpolyposis colorectal cancer: a long-term study on 114 families. // *Dis Colon Rectum*. - 2002. - V. 45. – P. 1588-1594.

698. Vulcan A, Brändstedt J, Manjer J, Jirström K, Ohlsson B, Ericson U. Fibre intake and incident colorectal cancer depending on fibre source, sex, tumour location and Tumour, Node, Metastasis stage. // *Br J Nutr.* - 2015. - V. 114. – P. 959-969.
699. Waddell WR, Gerner RE. Indomethacin and ascorbate inhibit desmoid tumors. // *J Surg Oncol.* - 1980. - V. 15. – P. 85-90.
700. Waddell WR, Loughry RW. Sulindac for polyposis of the colon. // *J Surg Oncol.* - 1983. - V. 24. - 83-87.
701. Wagner A, Barrows A, Wijnen JT, van der Klift H, Franken PF, Verkuijlen P, Nakagawa H, Geugien M, Jaghmohan-Changur S, Breukel C, Meijers-Heijboer H, Morreau H, van Puijenbroek M, Burn J, Coronel S, Kinarski Y, Okimoto R, Watson P, Lynch JF, de la Chapelle A, Lynch HT, Fodde R. Molecular analysis of hereditary nonpolyposis colorectal cancer in the United States: high mutation detection rate among clinically selected families and characterization of an American founder genomic deletion of the MSH2 gene. // *Am J Hum Genet.* - 2003. - V. 72. – P. 1088-1100.
702. Wain KE, Ellingson MS, McDonald J, Gammon A, Roberts M, Pichurin P, Winship I, Riegert-Johnson DL, Weitzel JN, Lindor NM. Appreciating the broad clinical features of SMAD4 mutation carriers: a multicenter chart review. // *Genet Med.* - 2014. - V. 16. – P. 588-593.
703. Walcott FL, Patel J, Lubet R, Rodriguez L, Calzone KA. Hereditary cancer syndromes as model systems for chemopreventive agent development. // *Semin Oncol.* - 2016. - V. 43. - P. 134-145.
704. Walton SJ, Kallenberg FG, Clark SK, Dekker E, Latchford A. Frequency and Features of Duodenal Adenomas in Patients With MUTYH-Associated Polyposis. // *Clin Gastroenterol Hepatol.* - 2016. - V. 14. – P. 986-992.
705. Wang Q, Lasset C, Desseigne F, Frappaz D, Bergeron C, Navarro C, Ruano E, Puisieux A. Neurofibromatosis and early onset of cancers in hMLH1-deficient children. // *Cancer Res.* - 1999. - V. 59. – P. 294-297.
706. Wang Q, Montmain G, Ruano E, Upadhyaya M, Dudley S, Liskay RM, Thibodeau SN, Puisieux A. Neurofibromatosis type 1 gene as a mutational target in a mismatch repair-deficient cell type. // *Hum Genet.* - 2003. - V. 112. – P. 117-123.
707. Wang T, Cai G, Qiu Y, Fei N, Zhang M, Pang X, Jia W, Cai S, Zhao L. Structural segregation of gut microbiota between colorectal cancer patients and healthy volunteers. // *ISME J.* - 2012. - V. 6. – P. 320-329.
708. Ward RL, Dobbins T, Lindor NM, Rapkins RW, Hitchins MP. Identification of constitutional MLH1 epimutations and promoter variants in colorectal cancer patients from the Colon Cancer Family Registry. // *Genet Med.* - 2013. - V. 15. – P. 25-35.

709. Ward RL, Hicks S, Hawkins NJ. Population-based molecular screening for Lynch syndrome: implications for personalized medicine. // *J Clin Oncol.* - 2013. - V. 31. – P. 2554-2562.
710. Wasielewski M, Vasen H, Wijnen J, Hooning M, Dooijes D, Tops C, Klijn JG, Meijers-Heijboer H, Schutte M. CHEK2 1100delC is a susceptibility allele for HNPCC-related colorectal cancer. // *Clin Cancer Res.* - 2008. - V. 14. – P. 4989-4994.
711. Watson P, Ashwathnarayan R, Lynch HT, Roy HK. Tobacco use and increased colorectal cancer risk in patients with hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome). // *Arch Intern Med.* - 2004. - V. 164. – P. 2429-2431.
712. Watson P, Vasen HF, Mecklin JP, Bernstein I, Aarnio M, Järvinen HJ, Myrhøj T, Sunde L, Wijnen JT, Lynch HT. The risk of extra-colonic, extra-endometrial cancer in the Lynch syndrome. // *Int J Cancer.* - 2008. - V. 123. – P. 444-449.
713. Webber EM, Kauffman TL, O'Connor E, Goddard KA. Systematic review of the predictive effect of MSI status in colorectal cancer patients undergoing 5FU-based chemotherapy. // *BMC Cancer.* - 2015. - V. 15. – P. 156.
714. Weber TK, Conlon W, Petrelli NJ, Rodriguez-Bigas M, Keitz B, Pazik J, Farrell C, O'Malley L, Oshanim M, Abdo M, Anderson G, Stoler D, Yandell D. Genomic DNA-based hMSH2 and hMLH1 mutation screening in 32 Eastern United States hereditary nonpolyposis colorectal cancer pedigrees. // *Cancer Res.* - 1997. - V. 57. – P. 3798-3803.
715. Weedon MN, Ellard S, Prindle MJ, Caswell R, Lango Allen H, Oram R, Godbole K, Yajnik CS, Sbraccia P, Novelli G, Turnpenny P, McCann E, Goh KJ, Wang Y, Fulford J, McCulloch LJ, Savage DB, O'Rahilly S, Kos K, Loeb LA, Semple RK, Hattersley AT. An in-frame deletion at the polymerase active site of POLD1 causes a multisystem disorder with lipodystrophy. // *Nat Genet.* - 2013. - V. 45. – P. 947-950.
716. Wei C, Amos CI, Zhang N, Wang X, Rashid A, Walker CL, Behringer RR, Frazier ML. Suppression of Peutz-Jeghers polyposis by targeting mammalian target of rapamycin signaling. // *Clin Cancer Res.* - 2008. - V. 14. – P. 1167-1171.
717. Weisenberger DJ, Levine AJ, Long TI, Buchanan DD, Walters R, Clendenning M, Rosty C, Joshi AD, Stern MC, Le Marchand L, Lindor NM, Daftary D, Gallinger S, Selander T, Bapat B, Newcomb PA, Campbell PT, Casey G, Ahnen DJ, Baron JA, Haile RW, Hopper JL, Young JP, Laird PW, Siegmund KD, for the Colon Cancer Family Registry. Association of the colorectal CpG island methylator phenotype with molecular features, risk factors, and family history. // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* - 2015. - V. 24. – P. 512-519.
718. Weisenberger DJ, Siegmund KD, Campan M, Young J, Long TI, Faasse MA, Kang GH, Widschwendter M, Weener D, Buchanan D, Koh H, Simms L, Barker M, Leggett B, Levine

J, Kim M, French AJ, Thibodeau SN, Jass J, Haile R, Laird PW. CpG island methylator phenotype underlies sporadic microsatellite instability and is tightly associated with BRAF mutation in colorectal cancer. // *Nat Genet.* - 2006. - V. 38. – P. 787-793.

719. Weren RD, Ligtenberg MJ, Kets CM, de Voer RM, Verwiel ET, Spruijt L, van Zelst-Stams WA, Jongmans MC, Gilissen C, Hehir-Kwa JY, Hoischen A, Shendure J, Boyle EA, Kamping EJ, Nagtegaal ID, Tops BB, Nagengast FM, Geurts van Kessel A, van Krieken JH, Kuiper RP, Hoogerbrugge N. A germline homozygous mutation in the base-excision repair gene NTHL1 causes adenomatous polyposis and colorectal cancer // *Nat Genet.* - 2015. - V. 47. – P. 668-671.

720. Whitehall VL, Walsh MD, Young J, Leggett BA, Jass JR. Methylation of O-6-methylguanine DNA methyltransferase characterizes a subset of colorectal cancer with low-level DNA microsatellite instability. // *Cancer Res.* - 2001. - V. 61. – P. 827-830.

721. Wernli KJ, Wang Y, Zheng Y, Potter JD, Newcomb PA. The relationship between gravidity and parity and colorectal cancer risk. // *J Womens Health (Larchmt).* - 2009. - V. 18. – P. 995-1001.

722. White BD, Chien AJ, Dawson DW. Dysregulation of Wnt/ β -catenin signaling in gastrointestinal cancers. // *Gastroenterology.* - 2012. - V. 142. – P. 219-232.

723. Whitelaw SC, Murday VA, Tomlinson IP, Thomas HJ, Cottrell S, Ginsberg A, Bukofzer S, Hodgson SV, Skudowitz RB, Jass JR, Talbot IC, Northover JM, Bodmer WF, Solomon E. Clinical and molecular features of the hereditary mixed polyposis syndrome. // *Gastroenterology.* – 1997. - V. 112. – P. 327-334.

724. Wijnen JT, Brohet RM, van Eijk R, Jagmohan-Changur S, Middeldorp A, Tops CM, van Puijenbroek M, Ausems MG, Gómez García E, Hes FJ, Hoogerbrugge N, Menko FH, van Os TA, Sijmons RH, Verhoef S, Wagner A, Nagengast FM, Kleibeuker JH, Devilee P, Morreau H, Goldgar D, Tomlinson IP, Houlston RS, van Wezel T, Vasen HF. Chromosome 8q23.3 and 11q23.1 variants modify colorectal cancer risk in Lynch syndrome. // *Gastroenterology.* - 2009. - V. 136. – P. 131-137.

725. Will OC, Hansmann A, Phillips RK, Palazzo FF, Meeran K, Marshall M, Clark SK. Adrenal incidentaloma in familial adenomatous polyposis: a long-term follow-up study and schema for management. // *Dis Colon Rectum.* - 2009. - V. 52. – P. 1637-1644.

726. Williamson T, Bai RY, Staedtke V, Huso D, Riggins GJ. Mebendazole and a non-steroidal anti-inflammatory combine to reduce tumor initiation in a colon cancer preclinical model. // *Oncotarget.* - 2016. - [Epub ahead of print]

727. Wimmer K, Kratz CP, Vasen HF, Caron O, Colas C, Entz-Werle N, Gerdes AM, Goldberg Y, Ilencikova D, Muleris M, Duval A, Lavoine N, Ruiz-Ponte C, Slavic I, Burkhardt B,

Brugieres L. - V. EU-Consortium Care for CMMRD (C4CMMRD). Diagnostic criteria for constitutional mismatch repair deficiency syndrome: suggestions of the European consortium 'care for CMMRD' (C4CMMRD). // *J Med Genet.* - 2014. - V. 51. – P. 355-365.

728. Win AK, Cleary SP, Dowty JG, Baron JA, Young JP, Buchanan DD, Southey MC, Burnett T, Parfrey PS, Green RC, Le Marchand L, Newcomb PA, Haile RW, Lindor NM, Hopper JL, Gallinger S, Jenkins MA. Cancer risks for monoallelic MUTYH mutation carriers with a family history of colorectal cancer. // *Int J Cancer.* - 2011. - V. 129. – P. 2256-2262.

729. Win AK, Dowty JG, Cleary SP, Kim H, Buchanan DD, Young JP, Clendenning M, Rosty C, MacInnis RJ, Giles GG, Boussioutas A, Macrae FA, Parry S, Goldblatt J, Baron JA, Burnett T, Le Marchand L, Newcomb PA, Haile RW, Hopper JL, Cotterchio M, Gallinger S, Lindor NM, Tucker KM, Winship IM, Jenkins MA. Risk of colorectal cancer for carriers of mutations in MUTYH, with and without a family history of cancer. // *Gastroenterology.* - 2014. - V. 146. – P. 1208-1211.

730. Win AK, Dowty JG, English DR, Campbell PT, Young JP, Winship I, Macrae FA, Lipton L, Parry S, Young GP, Buchanan DD, Martínez ME, Jacobs ET, Ahnen DJ, Haile RW, Casey G, Baron JA, Lindor NM, Thibodeau SN, Newcomb PA, Potter JD, Le Marchand L, Gallinger S, Hopper JL, Jenkins MA. Body mass index in early adulthood and colorectal cancer risk for carriers and non-carriers of germline mutations in DNA mismatch repair genes. // *Br J Cancer.* - 2011. - V. 105. – P. 162-169.

731. Win AK, Hopper JL, Buchanan DD, Young JP, Tenesa A, Dowty JG, Giles GG, Goldblatt J, Winship I, Boussioutas A, Young GP, Parry S, Baron JA, Duggan D, Gallinger S, Newcomb PA, Haile RW, Le Marchand L, Lindor NM, Jenkins MA. Are the common genetic variants associated with colorectal cancer risk for DNA mismatch repair gene mutation carriers? // *Eur J Cancer.* - 2013. - V. 49. – P. 1578-1587.

732. Win AK, Jenkins MA, Buchanan DD, Clendenning M, Young JP, Giles GG, Goldblatt J, Leggett BA, Hopper JL, Thibodeau SN, Lindor NM. Determining the frequency of de novo germline mutations in DNA mismatch repair genes. // *J Med Genet.* - 2011. - V. 48. – P. 530-534.

733. Win AK, Lindor NM, Winship I, Tucker KM, Buchanan DD, Young JP, Rosty C, Leggett B, Giles GG, Goldblatt J, Macrae FA, Parry S, Kalady MF, Baron JA, Ahnen DJ, Marchand LL, Gallinger S, Haile RW, Newcomb PA, Hopper JL, Jenkins MA. Risks of colorectal and other cancers after endometrial cancer for women with Lynch syndrome. // *J Natl Cancer Inst.* - 2013. - V. 105. – P. 274-279.

734. Win AK, Lindor NM, Young JP, Macrae FA, Young GP, Williamson E, Parry S, Goldblatt J, Lipton L, Winship I, Leggett B, Tucker KM, Giles GG, Buchanan DD, Clendenning M, Rosty C, Arnold J, Levine AJ, Haile RW, Gallinger S, Le Marchand L, Newcomb PA, Hopper

JL, Jenkins MA. Risks of primary extracolonic cancers following colorectal cancer in lynch syndrome. // *J Natl Cancer Inst.* - 2012. - V. 104. – P. 1363-1372.

735. Win AK, Macinnis RJ, Dowty JG, Jenkins MA. Criteria and prediction models for mismatch repair gene mutations: a review. // *J Med Genet.* - 2013. - V. 50. – P. 785-793.

736. Win AK, Reece JC, Buchanan DD, Clendenning M, Young JP, Cleary SP, Kim H, Cotterchio M, Dowty JG, MacInnis RJ, Tucker KM, Winship IM, Macrae FA, Burnett T, Le Marchand L, Casey G, Haile RW, Newcomb PA, Thibodeau SN, Lindor NM, Hopper JL, Gallinger S, Jenkins MA. Risk of colorectal cancer for people with a mutation in both a MUTYH and a DNA mismatch repair gene. // *Fam Cancer.* - 2015. - V. 14. – P. 575-583.

737. Win AK, Reece JC, Dowty JG, Buchanan DD, Clendenning M, Rosty C, Southey MC, Young JP, Cleary SP, Kim H, Cotterchio M, Macrae FA, Tucker KM, Baron JA, Burnett T, Le Marchand L, Casey G, Haile RW, Newcomb PA, Thibodeau SN, Hopper JL, Gallinger S, Winship IM, Lindor NM, Jenkins MA. Risk of extracolonic cancers for people with biallelic and monoallelic mutations in MUTYH. // *Int J Cancer.* - 2016. - V. 139. – P. 1557-1563.

738. Win AK, Young JP, Lindor NM, Tucker KM, Ahnen DJ, Young GP, Buchanan DD, Clendenning M, Giles GG, Winship I, Macrae FA, Goldblatt J, Southey MC, Arnold J, Thibodeau SN, Gunawardena SR, Bapat B, Baron JA, Casey G, Gallinger S, Le Marchand L, Newcomb PA, Haile RW, Hopper JL, Jenkins MA. Colorectal and other cancer risks for carriers and noncarriers from families with a DNA mismatch repair gene mutation: a prospective cohort study. // *J Clin Oncol.* - 2012. - V. 30. – P. 958-964.

739. Winkels RM, Botma A, Van Duijnhoven FJ, Nagengast FM, Kleibeuker JH, Vasen HF, Kampman E. Smoking increases the risk for colorectal adenomas in patients with Lynch syndrome. // *Gastroenterology.* - 2012. - V. 142. – P. 241-247.

740. Wu S, Feng B, Li K, Zhu X, Liang S, Liu X, Han S, Wang B, Wu K, Miao D, Liang J, Fan D. Fish consumption and colorectal cancer risk in humans: a systematic review and meta-analysis. // *Am J Med.* - 2012. - V. 125. – P. 551-559.

741. Xiang HP, Geng XP, Ge WW, Li H. Meta-analysis of CHEK2 1100delC variant and colorectal cancer susceptibility. // *Eur J Cancer.* - 2011. - V. 47. – P. 2546-2551.

742. Xiao GQ, Granato RC, Unger PD. Bilateral Sertoli cell tumors of the testis-a likely new extracolonic manifestation of familial adenomatous polyposis. // *Virchows Arch.* - 2012. - V. 461. - P. 713-715.

743. Xicola RM, Llor X, Pons E, Castells A, Alenda C, Piñol V, Andreu M, Castellví-Bel S, Payá A, Jover R, Bessa X, Girós A, Duque JM, Nicolás-Pérez D, Garcia AM, Rigau J, Gassull MA. - V. Gastrointestinal Oncology Group of the Spanish Gastroenterological Association.

Performance of different microsatellite marker panels for detection of mismatch repair-deficient colorectal tumors. // *J Natl Cancer Inst.* - 2007. - V. 99. – P. 244-252.

744. Xie J, Guillemette S, Peng M, Gilbert C, Buermeier A, Cantor SB. An MLH1 mutation links BACH1/FANCDJ to colon cancer, signaling, and insight toward directed therapy. // *Cancer Prev Res (Phila).* - 2010. - V. 3. – P. 1409-1416.

745. Yamaguchi T, Ishida H, Ueno H, Kobayashi H, Hinoi T, Inoue Y, Ishida F, Kanemitsu Y, Konishi T, Tomita N, Matsubara N, Watanabe T, Sugihara K. Upper gastrointestinal tumours in Japanese familial adenomatous polyposis patients. // *Jpn J Clin Oncol.* - 2016. - V. 46. – P. 310-315.

746. Yu F, Guo Y, Wang H, Feng J, Jin Z, Chen Q, Liu Y, He J. Type 2 diabetes mellitus and risk of colorectal adenoma: a meta-analysis of observational studies. // *BMC Cancer.* - 2016. - V. 16. - P. 642.

747. Yu J, Chen Y, Fu X, Zhou X, Peng Y, Shi L, Chen T, Wu Y. Invasive *Fusobacterium nucleatum* may play a role in the carcinogenesis of proximal colon cancer through the serrated neoplasia pathway. // *Int J Cancer.* - 2016. - V. 139. – P. 1318-1326.

748. Yuhara H, Steinmaus C, Cohen SE, Corley DA, Tei Y, Buffler PA. Is diabetes mellitus an independent risk factor for colon cancer and rectal cancer? // *Am J Gastroenterol.* - 2011. - V. 106. – P. 1911-1921.

749. Yurgelun MB, Allen B, Kaldate RR, Bowles KR, Judkins T, Kaushik P, Roa BB, Wenstrup RJ, Hartman AR, Syngal S. Identification of a Variety of Mutations in Cancer Predisposition Genes in Patients With Suspected Lynch Syndrome. // *Gastroenterology.* - 2015. - V. 149. – P. 604-613.

750. Yurgelun MB, Goel A, Hornick JL, Sen A, Turgeon DK, Ruffin MT 4th, Marcon NE, Baron JA, Bresalier RS, Syngal S, Brenner DE, Boland CR, Stoffel EM. Microsatellite instability and DNA mismatch repair protein deficiency in Lynch syndrome colorectal polyps. // *Cancer Prev Res (Phila).* - 2012. - V. 5. – P. 574-582.

751. Yurgelun MB, Masciari S, Joshi VA, Mercado RC, Lindor NM, Gallinger S, Hopper JL, Jenkins MA, Buchanan DD, Newcomb PA, Potter JD, Haile RW, Kucherlapati R, Syngal S. - V. Colon Cancer Family Registry. Germline TP53 Mutations in Patients With Early-Onset Colorectal Cancer in the Colon Cancer Family Registry. // *JAMA Oncol.* - 2015. - V. 1. – P. 214-221.

752. Zanders MM, Vissers PA, Haak HR, van de Poll-Franse LV. Colorectal cancer, diabetes and survival: epidemiological insights // *Diabetes Metab.* - 2014. - V. 40. – P. 120-127.

753. Zane L, Sharma V, Misteli T. Common features of chromatin in aging and cancer: cause or coincidence? // *Trends Cell Biol.* - 2014. - V. 24. – P. 686-694.

754. Zauber P, Marotta S, Sabbath-Solitare M. KRAS gene mutations are more common in colorectal villous adenomas and in situ carcinomas than in carcinomas. // *Int J Mol Epidemiol Genet.* - 2013. - V. 4. – P. 1-10.
755. Zauber P, Marotta SP, Sabbath-Solitare M. GNAS gene mutation may be present only transiently during colorectal tumorigenesis. // *Int J Mol Epidemiol Genet.* - 2016. - V. 7. – P. 24-31.
756. Zhang JX, Fu L, de Voer RM, Hahn MM, Jin P, Lv CX, Verwiel ET, Ligtenberg MJ, Hoogerbrugge N, Kuiper RP, Sheng JQ, Geurts van Kessel A. Candidate colorectal cancer predisposing gene variants in Chinese early-onset and familial cases. // *World J Gastroenterol.* - 2015. - V. 21. – P. 4136-4149.
757. Zhang Y, Liu X, Fan Y, Ding J, Xu A, Zhou X, Hu X, Zhu M, Zhang X, Li S, Wu J, Cao H, Li J, Wang Y. Germline mutations and polymorphic variants in MMR, E-cadherin and MYH genes associated with familial gastric cancer in Jiangsu of China. // *Int J Cancer.* - 2006. - V. 119. – P. 2592-2596.
758. Zorcolo L, Fantola G, Balestrino L, Restivo A, Vivinet C, Spina F, Cabras F, Ambu R, Casula G. MUTYH-associated colon disease: adenomatous polyposis is only one of the possible phenotypes. A family report and literature review. // *Tumori.* - 2011. - V. 97. – P. 676-680.