

<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-227-7-68-74>

Результаты экспрессионного микрочипового анализа опухолевой ткани пациентов с колоректальным раком

Куликов Е. П.¹, Мерцалов С. А.¹, Стрельников В. В.², Калинин А. И.², Шумская Е. И.¹, Пискунов Р. О.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова Минздрава России, (ул. Высоковольная, д. 9, г. Рязань, 390026, Россия)

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр имени академика Н. П. Бочкова», (ул. Москворечье, д. 1, г. Москва, 115522, Россия)

Для цитирования: Куликов Е. П., Мерцалов С. А., Стрельников В. В., Калинин А. И., Шумская Е. И., Пискунов Р. О. Результаты экспрессионного микрочипового анализа опухолевой ткани пациентов с колоректальным раком. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2024;(7): 68–74. doi: 10.31146/1682-8658-ecg-227-7-68-74

✉ Для переписки:

Пискунов

Роман Олегович

Feodal123@yandex.ru

Куликов Евгений Петрович, д.м.н., профессор, зав. кафедрой онкологии с курсом анестезиологии и реаниматологии

Мерцалов Сергей Александрович, д.м.н., доцент кафедры онкологии с курсом анестезиологии и реаниматологии

Стрельников Владимир Викторович, д.б.н., зав. лабораторией эпигенетики

Калинин Алексей Игоревич, научный сотрудник лаборатории эпигенетики

Шумская Евгения Игоревна, ассистент кафедры гистологии, патологической анатомии и медицинской генетики

Пискунов Роман Олегович, очный аспирант 2 года обучения кафедры онкологии с курсом анестезиологии и реаниматологии

Резюме

Цель исследования — оценка экспрессионного профиля и поиск маркеров прогрессирования в опухолевой ткани при колоректальном раке.

Материалы и методы — Материалом для исследования послужили образцы опухолевой ткани, полученные в результате видеокколоноскопии у пациентов с верифицированным раком толстого кишечника. Всего в исследовании были задействованы 37 образцов. Из них — 14 образцов с «хорошим» прогнозом и 23 с «плохим» прогнозом. Качество и количество рибонуклеиновой кислоты в элюированном растворе оценивались с помощью наноспектрофотометра IMPLEN (Германия). Для оценки экспрессии генов использовался набор микрочипов SurePrint G3 HumanGeneExprv3 ArrayKit (Agilent, США). Сканирование микрочипов производилось на аппарате InnoScan 1100 AL (США) с последующей обработкой изображения на программном обеспечении Mapix Software (США). Для процедуры поиска дифференциально экспрессируемых генов использовали метод Moderated t-statistics, который реализован в пакете limma

Результаты — На основе диаграммы размаха были выбраны наиболее различающиеся гены в образцах с прогрессированием и без. Были отобраны следующие маркеры: Marker9 (GZMB), Marker5 (CXCL11), Marker3 (SYNE4), Marker20 (MIR4432HG), Marker19 (ZDHHC11), Marker11 (COL17A1), Marker13 (ZDHHC11B), Marker17 (AGR3). Низкоэкспрессирующие гены в основном затрагивали пути репликации ДНК и клеточного цикла, тогда как высокоэкспрессируемые гены — метаболические пути.

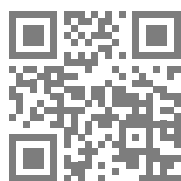
Заключение — Была обнаружена связь отдалённых результатов с экспрессией комбинации генов *ZDHHC11*, *MIR4432HG*, *GZMB*. Дальнейшее изучение данной комбинации генов и увеличение выборки позволит построить тест-систему для прогнозирования течения и ответа на лечение пациентов с колоректальным раком

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Источник финансирования / Funding source:

Статья написана на основании собственного исследования, и не финансировалась спонсорами и не является частью гранта. This article was written based on our own research, and was not funded by sponsors and is not part of a grant.

EDN: UTSNJI





Results of expression microarray analysis of tumor tissue from patients with colorectal cancer

E. P. Kulikov¹, S. A. Mertsalov¹, V. V. Strel'nikov², A. I. Kalinkin², E. I. Shumskaya¹, R. O. Piskunov¹

¹ Ryazan State Medical University (9, Vysokovolt'naya street, Ryazan, 390026, Russia)

² Scientific institution Medical Genetic Research Center named after Academician N. P. Bochkov, (1, Moscvorechye, Moscow, 115522, Russia)

For citation: Kulikov E. P., Mertsalov S. A., Strel'nikov V. V., Kalinkin A. I., Shumskaya E. I., Piskunov R. O. Results of expression microarray analysis of tumor tissue from patients with colorectal cancer. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2024;(7): 68–74. (In Russ.) doi: 10.31146/1682-8658-ecg-227-7-68-74

✉ **Corresponding author:**

Roman O. Piskunov
Feodal123@yandex.ru

Evgeny P. Kulikov, Doctor of medical sciences, Professor, Head of the Department of Oncology with the course of anesthesiology and reanimatology; ORCID: 0000–0003–4926–6646, Scopus Author ID: 59143390400

Sergey A. Mertsalov, Doctor of medical sciences, associate professor of the Department of Oncology with a course of anesthesiology and reanimatology; ORCID: 0000–0002–8804–3034, Scopus Author ID: 57211688632

Vladimir V. Strel'nikov, Doctor of Biological Sciences, Head of the Epigenetics Laboratory; ORCID: 0000–0001–9283–902X, Scopus Author ID: 6603557133

Alexey I. Kalinkin, Research Associate of the Epigenetics Laboratory; ORCID: 0000–0001–9215–4581, Scopus Author ID: 57204431870

Evgenia I. Shumskaya, Assistant of the Department of Histology, Pathological Anatomy and Medical Genetics; ORCID: 0009–0002–7223–6058, Scopus Author ID: 57374841900

Roman O. Piskunov, full-time 2nd year postgraduate student of the Department of Oncology with the course of anesthesiology and reanimatology; ORCID: 0000–0003–3238–3192, Scopus Author ID: 57221666027

Summary

The aim of the study was to evaluate the expression profile and search for markers of progression in tumor tissue in colorectal cancer.

Materials and Methods — Tumor tissue samples obtained from videocolonoscopy in patients with verified colorectal cancer served as the material for the study. A total of 37 specimens were involved in the study. Of these, there were 14 samples with a “favorable” prognosis and 23 with an “unfavorable” prognosis. The quality and quantity of ribonucleic acid in the eluted solution were evaluated using an IMPLEN nanospectrophotometer (Germany). A SurePrint G3 HumanGeneExpv3 ArrayKit microarray kit (Agilent, USA) was used to assess gene expression. Microarrays were scanned on an InnoScan 1100 AL (USA) with subsequent image processing using Mapix Software (USA). For the procedure of searching for differentially expressed genes, we used the Moderated t-statistics method, which is implemented in the limma package.

Results — Based on the scatter plot, the most divergent genes in samples with and without progression were selected. The following markers were selected: Marker9 (GZMB), Marker5 (CXCL11), Marker3 (SYNE4), Marker20 (MIR4432HG), Marker19 (ZDHHC11), Marker11 (COL17A1), Marker13 (ZDHHC11B), Marker17 (AGR3). Low-expressing genes mainly affected DNA replication and cell cycle pathways, whereas high-expressing genes affected metabolic pathways.

Conclusions — We found an association of long-term outcomes with the expression of the gene combination ZDHHC11, MIR4432HG, and GZMB. Further study of this gene combination and increased sampling will allow the construction of a test system for predicting the course and response to treatment of patients with colorectal cancer.

Keywords: colorectal cancer, microarray technology, expression microarrays, personalized approach

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Введение

На сегодняшний день колоректальный рак является серьёзной проблемой в Российской Федерации. По данным А. Д. Каприна и соавт. [1] колоректальный рак в структуре заболеваемости занимает 3 место, составляя 12.1% от всех вновь выявленных случаев злокачественных новообразований обоих полов, пропуская вперёд лишь опухоли кожи (кроме меланомы) и злокачественные новообразования

молочной железы. В совокупности с ростом заболеваемости, растёт и интерес врачебного сообщества к данной проблеме. Эволюционируют методики изучения [2, 3], совершенствуются программы профилактики и скрининга [4, 5], разработаны и введены в практику методики комбинированного и комплексного лечения [6, 7], однако существенно снизить смертность от колоректального рака

не удаётся [1]. Ежегодно от колоректального рака в России погибают более 30 тыс. пациентов [1]. Становится всё более очевидным необходимость совершенствовать методы лечения и тактику ведения пациентов данной группы [8].

Современный подход в лечении злокачественных новообразований подразумевает персонализированный подход к каждому конкретному пациенту. Это достигается в том числе за счёт совершенствования молекулярно-генетических методов [9, 10]. Перспективной в этом отношении методикой является экспрессионный микрочиповый анализ [11], поскольку он позволяет за счёт

анализа матричной РНК определить – какие белки в настоящий момент гиперэкспрессированы, а экспрессия каких снижена в опухолевой ткани. Оценивая функции этих белков, сравнивая непосредственные и отдалённые результаты лечения пациентов с данными экспрессионного профиля мы можем получить маркеры прогноза, которые в дальнейшем возможно использовать на ранних этапах лечения для совершенствования тактики ведения пациентов данной группы.

Цель работы – оценка экспрессионного профиля и поиск маркеров прогрессирования в опухолевой ткани при колоректальном раке

Материалы и методы

Исследование проводилось на базе Рязанского государственного медицинского университета имени академика И. П. Павлова, Областного клинического онкологического диспансера (г. Рязань), Медикогенетического научного центра имени академика Н. П. Бочкова (г. Москва). Исследование одобрено локальным этическим комитетом Рязанского государственного медицинского университета имени академика И. П. Павлова (Протокол № 5 от 09.12.2020). Все включённые пациенты подписали информированное согласие.

Материалом для исследования послужили образцы опухолевой ткани, полученные в результате видеокOLONоскопии у пациентов с верифицированным раком толстого кишечника. Всего в исследовании были задействованы 37 образцов. Из них – 14 образцов с «хорошим» прогнозом и 23 с «плохим» прогнозом.

Для оценки экспрессии генов использован набор микрочипов SurePrint G3 HumanGeneExprv3 ArrayKit (Agilent, США). Сканирование микрочипов выполнено на аппарате InnoScan 1100 AL (США). Данные с микрочипового анализатора были предоставлены для биоинформатической обработки в Медико-генетический научный центр имени

академика Н. П. Бочкова (соглашение о сотрудничестве от 30.05.2022).

Всего было получено данных от 37 образцов колоректального рака. Верификация диагноза имелась у всех пациентов. Гистологически опухоли были представлены аденокарциномами, преимущественно умеренной дифференцировки. Стадию заболевания устанавливали согласно Международной классификации TNM 8-й редакции (2018 г.). Для импорта, контроля качества полученных данных, поиска дифференциально экспрессируемых генов использовался пакет Limma. С целью идентификации сигнальных путей и молекулярных функций за счёт анализа обогащения сигнальных путей использован пакет ClusterProfiler. В качестве баз данных для обогащения генов использовались базы данных Gene Ontology: Molecular Function (GO: MF), KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes), mirTarBase для анализа генов, которые регулируются с помощью миРНК (малые интерферирующие РНК). Значимость полученных данных экспрессии оценивали по критерию p -value < 0.05 . Для всех вычислений и пакетов использовался язык программирования R версии 4.2.2.

Результаты

Все пациенты были разделены в группы с следующими критериями, такими как – диагноз по TNM, наличие поражённых лимфатических узлов, степень дифференцировки опухоли, прожитый срок, стадия заболевания.

На основе этих данных пациенты были отнесены в 2 группы с «хорошим» прогнозом и «плохим» прогнозом. 14 образцов имели «хороший» прогноз и 23 «плохой» прогноз.

Данные с микрочипового анализатора первым этапом проходили дополнительную нормализацию. Следующим этапом делали поправку на множественное тестирование с помощью метода FDR (False Discovery Rate) и фиксировали вероятность её совершить на уровне значимости. P -value (< 0.05). Для процедуры поиска дифференциально экспрессируемых генов использовали метод Moderated t -statistics, который реализован в пакете limma.

Далее нами были построены диаграммы размаха для каждого маркера как указано на Рис. 2.

На основе диаграммы размаха (Рис. 2) были выбраны наиболее различающиеся гены в образцах с прогрессированием и без.

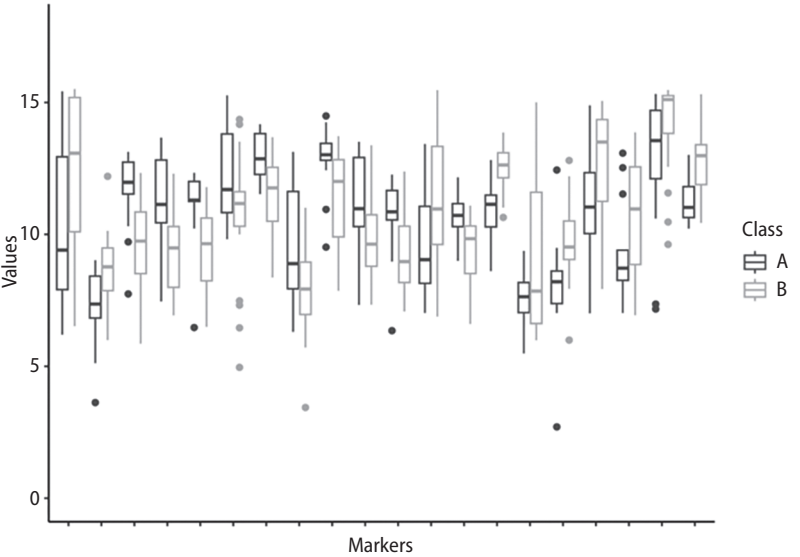
Таким образом отобраны топ-10 генов повышенной экспрессии – (*REG1B*; *DEFA6*; *SYNE4*; *HULC*; *CXCL11*; *DUOXA2*; *C4BPA*; *REG1A*; *GZMB*) и топ-10 генов пониженной экспрессии – (*COL17A1*; *KLK11*; *DMKN*; *CYP3A5*; *DSG3*; *AGR3*; *TFF2*; *ZDHHC11*).

На следующем этапе нами была построена бинарная диагностическая модель, классифицирующая образец как с прогрессированием или без для различных комбинаций, наиболее различающихся по профилю экспрессии генов как указано на Рис. 3. На основании диаграммы размаха, были отобраны следующие маркеры: Marker9 (GZMB), Marker5 (CXCL11), Marker3 (SYNE4), Marker20 (MIR4432HG), Marker19 (ZDHHC11), Marker11 (COL17A1), Marker13 (ZDHHC11B), Marker17 (AGR3).

Рисунок 1. Анализ дифференциальной экспрессии генов в образцах с прогрессирующим и без прошедшие по критерию P-value (<0.05). GENE_SYMBOL – Наименование гена. ProbeName – Наименование зонда на микрочипе. ENSEMBL_ID – Идентификатор базы данных Ensembl. CHROMOSOMAL_LOCATION – Геномные координаты. logFC – Логарифм меры изменения экспрессии, значения с минусом – означают низкую экспрессию гена, значения с плюсом – высокую экспрессию. P. Value – Вероятность ошибки при отклонении нулевой гипотезы.

GENE_SYMBOL	ProbeName	ENSEMBL_ID	CHROMOSOMAL_LOCATION	logFC	P.Value
REG1B	A_23_P389500	ENST00000305089	chr2:79312234-79312175	2,196992575	0,025068703
DEFA6	A_24_P363711	ENST00000297436	chr8:6783376-6782402	1,910011481	0,017827351
SYNE4	A_23_P350074	ENST00000465425	chr19:36494273-36494214	1,707252256	1,12585E-05
HULC	A_22_P00002090	ENST00000503668	chr6:8653917-8653976	1,70485926	0,04863976
CXCL11	A_23_P125278	ENST00000306621	chr4:76955674-76955615	1,587502125	0,006102478
DUOXA2	A_33_P3250443	ENST00000491993	chr15:45410227-45410286	1,51336021	0,04116715
C4BPA	A_23_P97541	ENST00000367070	chr1:207318066-207318125	1,494241116	0,023427604
REG1A	A_23_P90743	ENST00000233735	chr2:79350451-79350510	1,488164284	0,03313017
GZMB	A_23_P117602	ENST00000382542	chr14:25100295-25100236	1,470195582	0,00020261
	A_33_P3229672		chr2:154277068-154277009	1,41657513	0,003576897
COL17A1	A_23_P501010	ENST00000433822	chr10:105791142-105791083	-1,990331934	0,000508656
KLK11	A_23_P101505		chr19:51525685-51525626	-1,850147379	0,001181276
	A_33_P3345643	ENST00000522356	chr5:711383-711324	-1,691762817	0,001336761
DMKN	A_23_P320261		chr19:35988194-35988135	-1,577118201	0,026985477
CYP3A5	A_23_P8801		chr7:99245958-99245899	-1,543868402	0,000551696
DSG3	A_33_P3348747	ENST00000257189	chr18:29058356-29058415	-1,529255699	0,021492437
AGR3	A_23_P42811	ENST00000486448	chr7:16913467-16913408	-1,518573506	0,007427154
TFF2	A_23_P57364	ENST00000475297	chr21:43767646-43766648	-1,443321013	0,007574905
ZDHHC11	A_33_P3344204	ENST00000283441	chr5:795933-795874	-1,442175409	0,003243208
	A_22_P00001981	ENST00000457668	chr2:60579920-60579861	-1,427491154	0,000684565

Рисунок 2. Class A – экспрессия гена в тканях с прогрессирующим, Class B – экспрессия гена в тканях без прогрессирования. С помощью которых определили наиболее различающиеся по уровню экспрессии гены в образцах опухолевой ткани с прогрессирующим и без.



Далее были отобраны случайные комбинации генов, и ранжированные по критерию чувствительности и специфичности. На Рис. 4 продемонстрированы параметры чувствительности и специфичности для комбинаций генов ранжированные по критерию Юдена. Для получения данных о роли дифференциально экспрессируемых генов в биологических процессах, молекулярных функциях и сигнальных путях мы использовали GO (англ.: Gene Ontology), WikiPathways, KEGG (англ.: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) анализ, а также mirTarBase анализ для генов, которые регулируются с помощью малых интерферирующих (микроРНК). Низкоэкспрессирующие гены в основном затрагивают пути репликации ДНК и клеточного цикла, тогда как высокоэкспрессируемые гены – метаболические пути.

По базе данных WikiPathways низкоэкспрессируемые гены относятся к путям клеточного цикла, сигналинга интерферона 2 типа, генам участвующим в развитии ретинобластомы, генам ответственным за механизмы уклонения от иммунного ответа, а также онкогены и онкосупрессоры при злокачественных новообразованиях. Следующим этапом мы подобрали комбинацию маркеров, которая хорошо будет классифицировать образцы с прогрессией и без, и оценили её диагностический потенциал с помощью кривых ROC (Receiver Operative Curve), чувствительности и специфичности. Рис. 5. Оценив полученные данные мы выявили что самая лучшая комбинация, продемонстрировавшая наибольшую чувствительность и специфичность в прогнозировании течения колоректального рака состоит из генов Marker19 (ZDHHC11), Marker20 (MIR4432HG), Marker9 (GZMB).

Рисунок 3

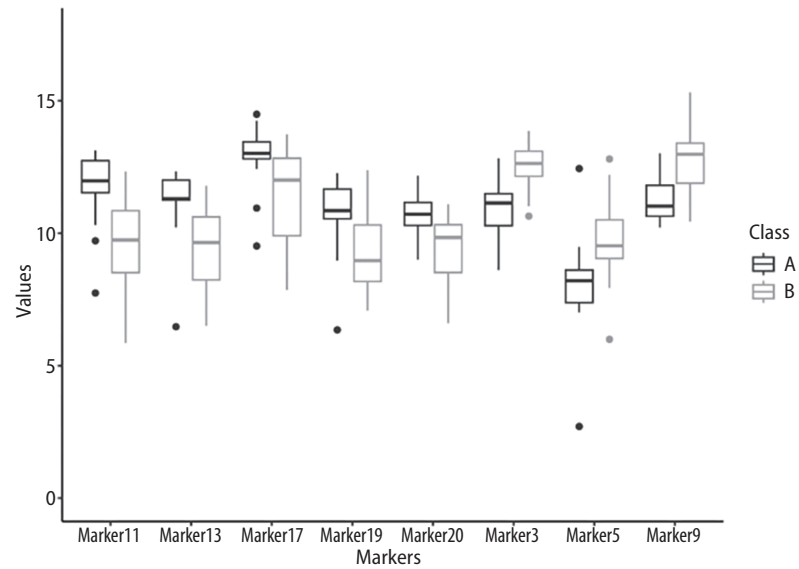
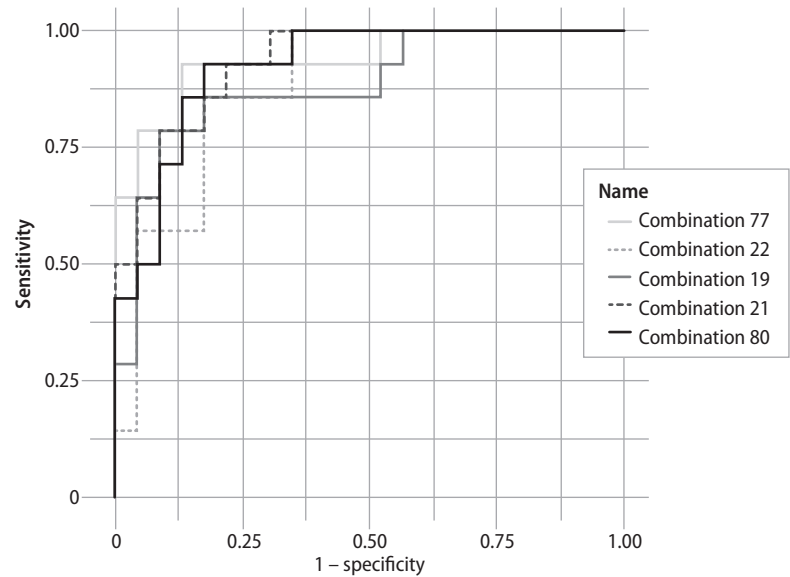


Рисунок 4. Параметры чувствительности и специфичности (SE – чувствительность, SE_B – чувствительность по Class B, SP_A – специфичность по Class A, SP – специфичность, #Markers – количество (комбинация) маркеров, Youden – критерий Юдена)

SE	SE_B	SP_A	SP	#Markers	Youden
93	17	7	83	3	0,76
86	13	14	87	2	0,73
86	17	14	83	2	0,69
86	17	14	83	2	0,69
86	17	14	83	3	0,69
79	13	21	87	1	0,66
50	9	50	91	2	0,41
50	13	50	87	3	0,37
43	9	57	91	2	0,34
50	17	50	83	3	0,33
50	17	50	83	4	0,33
43	13	57	87	2	0,3
43	13	57	87	3	0,3
43	17	57	83	3	0,26

Рисунок 5. ROC-кривая для изучаемых комбинаций генов оценки риска прогрессирования. (specificity – специфичность, sensitivity – чувствительность). Для количественной оценки информативности используется сравнительный анализ площадей под ROC-кривыми (Area under ROC curve – AUC) (Коэффициент площади кривой, лежащий в интервале 0.9–1, следует рассматривать как показатель наивысшей информативности диагностического метода, в интервале 0.8–0.9 – хорошая информативность, в интервале 0.7–0.8 – удовлетворительная, в интервале 0.6–0.7 – посредственная информативность, и ниже – бесполезная классификация).



Обсуждение

Данные экспрессионного профиля, полученные при сравнении групп с «хорошим» и «плохим» прогнозом, существенно отличались.

Среди генов высокоэкспрессированных в образцах с «плохим» прогнозом и показавших наибольшую чувствительность и специфичность при анализе ROC кривых по критерию p -value < 0.05 выявлены комбинация следующих маркеров – Marker19 (ZDHC11), Marker20 (MIR4432HG), Marker9 (GZMB).

Ген ZDHC11 и одноимённый кодируемый геном белок по функциям относится к трансферазам, ацилтрансферазам. Задействованный в таком биологическом процессе, как альтернативный сплайсинг. Локализован в мембране. Экспрессия гена ZDHC11 увеличенная в образцах с «плохим» прогнозом может играть роль в росте пролиферативной активности клеток и влиять на микроокружение опухоли [12], а также доказано его значение в профилировании интерферон-зависимого иммунного ответа посредством активации ключевого регулятора его транскрипции – гена STING1. В свою очередь кодируемый им белок играет роль в передаче сигналов апоптоза. Так же по данным Tang F. и соавт. экспрессия ZDHC11 может играть роль в регуляции прогрессирования опухолевых клеток и моделировании иммунного микроокружения при глиобластоме [13], а так же участвовать в регуляции онкогенной сети MYC-miR-150-MYB

[14]. Murakami Y. и соавт. в своей работе показали роль экспрессии мРНК ZDHC11, как способствующего регулятора в пролиферации клеток колоректального рака [15].

Экспрессия гена MIR4432HG отвечающего за синтез микроРНК, так же показавшего высокую чувствительность в отношении «плохого» прогноза на момент написания данной работы не описана в литературе с точки зрения его участия в патогенетических путях канцерогенеза и требует дальнейшего изучения.

Ген GZMB кодирует белки-гранзимы, которые представляют собой семейство сериновых протеаз и выполняют свою функцию в организме человека как интегральные цитолитические эффекторы во время программируемой клеточной смерти раковых и патоген-инфицированных клеток. Секретируемые преимущественно цитотоксическими Т-лимфоцитами и натуральными киллерами, гранзимы осуществляют инициацию апоптоза по каспазозависимым и каспазозависимым путям. Данные природные свойства делают гранзимы одними из наиболее перспективных человеческих ферментов для использования при разработке целевых терапевтических стратегий в лечении различных видов рака [16]. По данным Rączek S. и соавт. сниженный экспрессионный паттерн GZMB был выявлен у пациентов с колоректальным раком и отдалёнными метастазами [17].

Выводы

Полученные результаты свидетельствуют о связи отдалённых результатов и генетического профиля опухоли, конкретно с экспрессией генов ZDHC11, MIR4432HG, GZMB. Данные гены задействованы в процессах иммунного ответа, некоторые отвечают за ферментативные процессы, важные для нормаль-

ного функционирования сигнальных путей клеточной гибели. Дальнейшее изучение генов данной группы, а также увеличение выборки позволит создать тест систему на основе экспрессионного профиля, позволяющую прогнозировать течение и, возможно, ответ на лечение пациентов с колоректальным раком.

Литература | References

1. Kaprin A.D., Starinsky V.V., Shakhzadova A.O. [The state of oncological care for the population of Russia in 2022]. Moscow. P. A. Herzen Moscow Oncology Research Institute – branch of the Federal State Budgetary Institution «NMITs of Radiology» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 2022. – ill. – 239 p. (in Russ.)
Под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, А. О. Шахзадовой Состояние онкологической помощи населению России в 2022 году. – М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2022. – илл. – 239 с
2. Wang C.T., Zhou J.L., Lin G.L. et al. [Advances in three-dimensional tumor models for colorectal cancer]. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*. 2023 Jun 23;45(6):464–470. Chinese. doi: 10.3760/cma.j.cn112152–20220928–00661.
3. Uejima C., Saito H., Tada Y. et al. The Combination of Prognostic Nutritional Indicator and Serum Carcinoembryonic Antigen is Useful in Predicting Postoperative Recurrence in Stage II Colorectal Cancer. *Yonago Acta Med*. 2021 May 20;64(2):176–183. doi: 10.33160/yam.2021.05.009.
4. Zhou Y.Y., Li N., Lu B. et al. [Value of fecal immunochemical test in colorectal cancer screening]. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*. 2023 Nov 23;45(11):911–918. Chinese. doi: 10.3760/cma.j.cn112152–20230418–00176.
5. Lyalyukova E.A., Amanatidis L.A., Kononova G.M., Ovsyannikova S. Yu. Colorectal cancer screening: how the problem is solved in Russia and the world. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2022;(9):183–189. (In Russ.) doi: 10.31146/1682–8658-ecg-205–9–183–189.
Лялюкова Е. А., Аманатидис Л. А., Коновалова Г. М., Овсянникова С. Ю. Скрининг колоректального рака: как решается проблема в России и мире. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2022;(9):183–189. doi: 10.31146/1682–8658-ecg-205–9–183–189.
6. Fedyanin M. Yu., Mamedli Z. Z., Gordeev S. S. et al. Malignant neoplasm of the colon. Clinical recommenda-

- tions of the Ministry of Health of the Russian Federation. 2022. (in Russ.)
- Федянин М. Ю., Мамедли З. З., Гордеев С. С. и др. Злокачественное новообразование ободочной кишки. Клинические рекомендации Министерства здравоохранения Российской Федерации. 2022.
7. Mamedli Z.Z., Gordeev S.S., Fedyanin M. Yu. et al. Rectal cancer. Clinical guidelines of the Ministry of Health of the Russian Federation. 2022. (in Russ.)
Мамедли З. З., Гордеев С. С., Федянин М. Ю. и др. Рак прямой кишки. Клинические рекомендации Министерства здравоохранения Российской Федерации. 2022.
 8. Kulikov E. P., Sudakov A. I., Nikiforov A. A., Mertsalov S. A., Grigorenko V. A. Significance of gene polymorphisms in development of colorectal cancer. *I. P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*. 2020;28(2):127–134. (in Russ.) doi: 10.23888/PAVLOVJ2020282127–134.
Куликов Е. П., Судаков А. И., Никифоров А. А., и др. Значение полиморфизма генов в развитии колоректального рака. Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова. 2020;28(2):127–134. doi: 10.23888/PAVLOVJ2020282127–134.
 9. Mäki-Nevala S., Ukwattage S., Olkinuora A. et al. Somatic mutation profiles as molecular classifiers of ulcerative colitis-associated colorectal cancer. *Int J Cancer*. 2021 Jun 15;148(12):2997–3007. doi: 10.1002/ijc.33492.
 10. Fischer J., Walker L. C., Robinson B. A., Frizelle F. A., Church J. M., Eglinton T. W. Clinical implications of the genetics of sporadic colorectal cancer. *ANZ J Surg*. 2019 Oct;89(10):1224–1229. doi: 10.1111/ans.15074.
 11. Kulikov E. P., Mertsalov S. A., Shumskaya E. I., Piskunov R. O. Expression microarrays: possibilities of application in clinical oncology. *Science of the young (Eruditio Juvenium)*. 2023;11(2):229–240. doi: HMJ2023112229–240.
Куликов Е. П., Мерцалов С. А., Шумская Е. И., Пискунов Р. О. Экспрессионные микрочипы: возможности применения в клинической онкологии. Наука молодых (Eruditio Juvenium). 2023;11(2):229–240. doi: HMJ2023112229–240.
 12. Dzikiewicz-Krawczyk A., Kok K., Slezak-Prochazka I. et al. ZDHHC11 and ZDHHC11B are critical novel components of the oncogenic MYC-miR-150-MYB network in Burkitt lymphoma. *Leukemia*. 2017 Jun;31(6):1470–1473. doi: 10.1038/leu.2017.94.
 13. Tang F., Yang C., Li F. P., Yu D. H., Pan Z. Y., Wang Z. F., Li Z. Q. Palmitoyl transferases act as potential regulators of tumor-infiltrating immune cells and glioma progression. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2022 May 4;28:716–731. doi: 10.1016/j.omtn.2022.04.030.
 14. Dzikiewicz-Krawczyk A., Kok K., Slezak-Prochazka I. et al. ZDHHC11 and ZDHHC11B are critical novel components of the oncogenic MYC-miR-150-MYB network in Burkitt lymphoma. *Leukemia*. 2017 Jun;31(6):1470–1473. doi: 10.1038/leu.2017.94.
 15. Murakami Y., Konishi H., Fujiya M. et al. Testis-specific hnRNP is expressed in colorectal cancer cells and accelerates cell growth mediating ZDHHC11 mRNA stabilization. *Cancer Med*. 2022 Oct;11(19):3643–3656. doi: 10.1002/cam4.4738.
 16. Trapani J. A. Granzymes: a family of lymphocyte granule serine proteases. *Genome Biol*. 2001;2(12):REVIEWS3014. doi: 10.1186/gb-2001-2-12-reviews3014.
 17. Pączek Sara Marta Łukaszewicz-Zajac, Barbara Mroczko. «Granzymes – Their Role in Colorectal Cancer». *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(9):5277. doi: 10.3390/ijms23095277.