

# РОЛЬ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКОГО МАРКЕРА CDKN2A В РАННЕЙ ДИАГНОСТИКЕ РАКА ТОЛСТОЙ КИШКИ

М.Н. ТИЛЯШАЙХОВ<sup>1</sup>, Х.Д. ИСЛАМОВ<sup>1</sup>, Я.В. ТЕН<sup>1</sup>, И.П. ЗИЯЕВ<sup>1</sup>, Я.П. ЗИЯЕВ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр онкологии и радиологии, Ташкент, Узбекистан

## АННОТАЦИЯ

**Актуальность:** Колоректальный рак (КРР) остаётся одной из ведущих причин смертности от злокачественных новообразований во всём мире, что во многом обусловлено поздней диагностикой. Особую актуальность в последние годы приобретает поиск доступных и чувствительных молекулярных маркеров раннего выявления предопухолевых изменений, в том числе в странах с ограниченными ресурсами, включая Узбекистан, где отсутствуют национальные скрининговые программы, а доступность колоноскопии остаётся низкой. Одним из наиболее изученных является гиперметилирование гена-супрессора опухоли CDKN2A, играющего ключевую роль в регуляции клеточного цикла.

**Цель исследования** – изучение частоты гиперметилирования промоторной области CDKN2A у пациентов с полипами и полипозом толстой и прямой кишки, а также его ассоциации с морфологическими признаками дисплазии.

**Методы:** В исследование включён 31 пациент с предопухолевыми образованиями кишечника. Биоптаты слизистой и плазма крови были проанализированы методом метил-специфической ПЦР.

**Результаты:** Гиперметилирование CDKN2A выявлено у 17 пациентов (54,8%). При полипах частота метилирования составила 65%, при полипозе – 36,4% ( $p=0,043$ ). Установлена прямая связь с морфологическими изменениями: у пациентов с гиперметилированием чаще наблюдалась умеренная дисплазия (70,6%), тогда как при отрицательном статусе по маркеру преобладала лёгкая дисплазия или её отсутствие.

**Заключение:** Полученные данные подтверждают, что гиперметилирование CDKN2A является ранним маркером в патогенезе КРР, тесно связанным с прогрессией предопухолевого процесса. Метод MSP-PCR показал высокую чувствительность и доступность, что делает его перспективным для внедрения в региональные лаборатории Узбекистана. CDKN2A может быть использован как критерий стратификации риска, компонент молекулярного скрининга и основа для персонализированного наблюдения за пациентами с предопухолевыми изменениями кишечника.

**Ключевые слова:** колоректальный рак (КРР), полипы, CDKN2A, гиперметилирование, эпигенетические биомаркеры, MSP-PCR, молекулярный скрининг.

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

Основной причиной высокой смертности при КРР является поздняя диагностика, обусловленная отсутствием национальной программы скрининга, недостаточной информированностью населения, ограниченной доступностью колоноскопии, а также недостатками маршрутизации пациентов на первичном звене здравоохранения. Поэтому поиск новых, более чувствительных, доступных и воспроизводимых

маркеров ранней диагностики приобретает особую актуальность [3]. Одним из приоритетных направлений в этой области является внедрение молекулярно-генетических и эпигенетических методов, позволяющих выявить опухолевую трансформацию на доклиническом этапе, задолго до появления морфологических изменений [4].

Несмотря на очевидные успехи в понимании молекулярных основ карциногенеза, КРР продолжает развиваться незаметно в течение длительного времени, часто начинаясь с малозаметных предопухолевых изменений – таких как одиночные аденоматозные полипы или диффузный полипоз. Эти состояния могут протекать бессимптомно годами, пока не произойдёт накопление ключевых молекулярных нарушений, запускающих инвазию и метастазирование [5]. Современная колоноскопия с гистологической верификацией остаётся золотым стандартом диагностики, однако она имеет ряд ограничений – инвазивность, высокая стоимость, дефицит кадров и оборудования в первичном звене здравоохранения, а также низкий уровень охвата целевых групп населения [6].

Эти обстоятельства усиливают интерес к поиску альтернативных или вспомогательных методов диагностики, обладающих высокой чувствительностью, специфичностью и возможностью применения в условиях

амбулаторной практики. Эпигенетические биомаркеры, такие как метилирование промоторных участков опухолевых супрессоров, обладают всеми этими характеристиками и активно внедряются в клиническую онкологию в ведущих странах мира [7].

Гиперметилирование *CDKN2A* представляет собой одно из наиболее изученных и воспроизводимых изменений, вовлечённых в раннюю опухолевую трансформацию. Помимо того, что p16<sup>INK4a</sup> и p14<sup>ARF</sup> участвуют в критически важных антипролиферативных механизмах, исследования показали, что метилирование их промоторной области может быть обнаружено задолго до появления клинических и гистологических признаков злокачественного роста [8]. Более того, эти изменения могут быть зафиксированы не только в тканях новообразований, но и в циркулирующей ДНК, что открывает возможность использования так называемой «жидкостной биопсии» [9].

В связи с этим в последние годы возрастает внимание к включению молекулярных методов диагностики, в том числе оценки метилирования *CDKN2A*, в стандартные протоколы раннего выявления КРР. Это особенно актуально для таких стран, как Узбекистан, где скрининг как на уровне популяции, так и в группах высокого риска требует адаптированных, недорогих и легко воспроизводимых решений. Учитывая отсутствие у большинства пациентов выраженных клинических симптомов и низкую доступность инвазивных методов диагностики, молекулярные тесты на основе плазменной ДНК могут стать важным компонентом региональной стратегии борьбы с КРР [7].

Ген *CDKN2A* (cyclin-dependent kinase inhibitor 2A), локализованный в области 9p21.3, представляет собой один из наиболее изученных супрессоров опухолей в онкологии [8, 10]. Он кодирует два независимых белка: p16<sup>INK4a</sup>, ингибирующий *CDK4/6* и тем самым контролирующей фазу G1 клеточного цикла, и p14<sup>ARF</sup>, стабилизирующий p53 за счёт ингибирования MDM2. Нарушение экспрессии этих белков приводит к дерегуляции пролиферации, подавлению апоптоза и активной фазе канцерогенеза. Одним из ключевых механизмов инактивации *CDKN2A* считается гиперметилирование его промоторной области, что делает этот ген особенно интересным для молекулярной диагностики в онкологии, в том числе при КРР.

Одними из первых фундаментальных работ по изучению гиперметилирования *CDKN2A* стали исследования М. Toyota и др. (1999), которые продемонстрировали наличие гиперметилирования *CDKN2A* в аденоматозных полипах кишечника – задолго до формирования инвазивной карциномы. Это позволило рассматривать метилирование как раннее событие в каскаде аденома-карцинома [11]. Эти выводы были подтверждены в последующих масштабных мета-анализах, включая М. Esteller и др. (2001), где гиперметилирование p16 было обнаружено у более чем 40% пациентов с ранними стадиями КРР [12].

Методы, применяемые для изучения метилирования *CDKN2A*, разнообразны. Помимо классической метил-специфической ПЦР (MSP-PCR), широко используются бисульфитное секвенирование, количественная ПЦР, специфичная для метилирования (quantitative

methylation-specific PCR), а в последние годы – массивы метилирования ДНК (Illumina 450K и EPIC), а также иммунопреципитационное секвенирование метилированной ДНК (Methylated DNA immunoprecipitation sequencing) [13].

Помимо опухолевой ткани и плазмы, *CDKN2A* активно исследуется в образцах стула, что особенно актуально для неинвазивного скрининга КРР. Исследования, проведённые в Китае, Южной Корее и Финляндии, показали высокую чувствительность метилирования *CDKN2A* в каловых ДНК по сравнению с обычными иммунохимическими тестами на скрытую кровь [14].

Таким образом, гиперметилирование *CDKN2A* – это не просто биохимическое явление, а важный компонент молекулярного профиля КРР. Его определение позволяет идентифицировать пациентов в зоне риска, прогнозировать течение болезни, оценивать чувствительность к терапии и, что наиболее важно, – обеспечить раннюю, неинвазивную диагностику предопухолевых изменений. Учитывая простоту и доступность методологии, а также высокую воспроизводимость, включение анализа метилирования *CDKN2A* в региональные скрининговые и диагностические стратегии, особенно в условиях ограниченных ресурсов, представляется оправданным и актуальным.

С учётом изложенного, в данном исследовании авторы стремились оценить диагностическую ценность данного маркера для раннего выявления опухолевой трансформации, его ассоциацию с морфологическими признаками дисплазии и потенциал для включения в национальные подходы к молекулярному скринингу КРР в Узбекистане.

**Цель исследования** – изучение частоты гиперметилирования промоторной области *CDKN2A* у пациентов с полипами и полипозом толстой и прямой кишки, а также его ассоциации с морфологическими признаками дисплазии.

**Материалы и методы:** Исследование было проведено в рамках инициативы по развитию молекулярных методов ранней диагностики КРР в Республике Узбекистан. Работа выполнялась на базе отделения колопроктологии и лаборатории молекулярной диагностики Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра онкологии и радиологии (РСНПМЦОиР, Ташкент, Узбекистан), а также в сотрудничестве с Центром высоких технологий Академии наук Республики Узбекистан. Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом, и все пациенты подписали информированное согласие.

**Дизайн исследования и выборка.** В исследование был включен 31 пациент (n=31) с установленным диагнозом полипов или полипоза толстой и/или прямой кишки, без признаков инвазивного рака на момент включения. Критерии включения: (1) возраст от 18 до 75 лет, (2) наличие эндоскопически подтверждённых новообразований кишечника (единичные или множественные полипы), (3) отсутствие в анамнезе злокачественных опухолей, (4) письменное согласие на участие. Критерии исключения: воспалительные заболевания кишечника, ранее проведённая лучевая или химиотерапия, сопутствующие тяжёлые соматические заболевания.

**Клиническая характеристика.** Средний возраст составил  $49,2 \pm 3,3$  года. В выборке было 18 мужчин (58%) и 13 женщин (42%). У 20 пациентов был диагностирован одиночный или множественный полип (64,5%), у 11 – полипоз (35,5%). Всем пациентам была выполнена колоноскопия с биопсией.

**Сбор и транспортировка биоматериала.** Для молекулярного анализа использовались два типа биоматериала: (1) образцы биоптатов слизистой оболочки кишечника (массой не менее 50 мг), полученные эндоскопически, и (2) венозная кровь (5 мл), собранная в пробирки с ЭДТА. Образцы ткани помещались в стерильные пробирки с изотоническим раствором NaCl и транспортировались при температуре +4 °С. Кровь центрифугировалась (1600 g, 10 минут), плазма отделялась и повторно центрифугировалась (16 000 g, 10 минут) для очистки от клеток.

**Выделение ДНК.** ДНК из ткани и плазмы крови выделяли с использованием набора QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN, Германия) по стандартному протоколу. Концентрация и чистота ДНК оценивались спектрофотометрически (Nanodrop 2000, Thermo Fisher Scientific, Массачусетс, США) при длине волны 260/280 нм.

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

**Гистологическая верификация.** Все образцы биопсий прошли стандартную морфологическую обработку и окраску гематоксилином и эозином. Оценка степени дисплазии (отсутствует, лёгкая, умеренная, тяжёлая) проводилась двумя независимыми патоморфологами в соответствии с классификацией ВОЗ (2019) [15].

**Статистическая обработка.** Обработка данных проводилась в программной среде SPSS v.26. Категориальные переменные анализировались с использованием критерия  $\chi^2$  или точного критерия Фишера. Различия считались статистически значимыми при уровне  $p < 0,05$ . Корреляционный анализ между наличием метилирования и клинико-морфологическими характеристиками проводился с применением коэффициента  $\phi$  (фи).

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

лярном патогенезе ограниченных и диффузных форм предопухолевых процессов кишечника (таблица 1).

**Таблица 1 – Частота гиперметилирования промоторной области гена *CDKN2A***

Тип поражения	К-во пациентов	<i>CDKN2A</i> (+)	Частота (%)
Полипы	20	13	65,0
Полипоз	11	4	36,4
Всего	31	17	54,8

Гистологическая оценка степени дисплазии показала, что умеренная дисплазия имела у 10 пациентов (32,3%), лёгкая – у 12 (38,7%), а в 9 случаях (29%) дисплазия отсутствовала. При сопоставлении данных метилирования с морфологической картиной установлено, что среди пациентов с положительным статусом по *CDKN2A* преобладала умеренная дисплазия – 12 из 17 случаев (70,6%). Напротив, у пациентов без признаков метилирования чаще фиксировалась лёгкая дисплазия либо её отсутствие (таблица 2). Таким образом, была выявлена прямая корреляция между уровнем эпигенетических изменений и выраженностью пролиферативных нарушений эпителия, что может свидетельствовать о прогрессии на молекулярном уровне до морфологически выраженного рака.

**Таблица 2 – Гистологическая оценка степени дисплазии у пациентов с положительным и отрицательным статусами по *CDKN2A***

Уровень дисплазии	<i>CDKN2A</i> (+)	<i>CDKN2A</i> (–)
Умеренная	12	1
Лёгкая	4	8
Отсутствует	1	5

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

Таким образом, результаты настоящего исследования продемонстрировали высокую частоту гиперметилирования гена *CDKN2A* в группе пациентов с полипами и полипозом кишечника, причём наиболее выраженные эпигенетические изменения выявлены при полипах, сопровождающихся умеренной дисплазией. Эти данные подтверждают потенциал использования *CDKN2A* как раннего молекулярного биомаркера малигнизации, особенно в популяциях высокого риска. Наличие достоверной связи между метилированием и морфологическими признаками пролиферативной активности позволяет рассматривать *CDKN2A* как критерий стратификации риска и основание для усиленного клинического наблюдения.

**Обсуждение:** В настоящем исследовании установлено, что гиперметилирование гена *CDKN2A* является частым молекулярным событием у пациентов с предопухолевыми образованиями толстой и прямой кишки. Его частота составила 54,8%, что соответствует данным международных исследований, в которых аналогич-

ный показатель варьирует от 40 до 70% среди пациентов с аденоматозными полипами. Эти данные подтверждают, что *CDKN2A* участвует в самых ранних этапах канцерогенеза при KPP. Особенно значимым является то, что частота гиперметилирования была достоверно выше у пациентов с ограниченными полипами (65%) по сравнению с пациентами с полипозом (36,4%). Это различие может быть связано с различной природой патологий: при спорадических полипах ведущую роль играют приобретённые эпигенетические нарушения, тогда как при полипозе (в том числе наследственном) часто доминируют мутационные механизмы, затрагивающие гены *APC*, *MUTYH*, *SMAD4* и другие. Наблюдаемая закономерность может указывать на то, что гиперметилирование *CDKN2A* является типичным маркером именно спорадического пути опухолевой трансформации, а не наследственного.

Важнейший клинико-морфологический вывод касается связи между гиперметилированием *CDKN2A* и степенью дисплазии. Среди пациентов с гиперметилированием в 70,6% случаев выявлена умеренная дисплазия – что значительно выше, чем в группе без метилирования, что может свидетельствовать в пользу того, что гиперметилирование гена *CDKN2A* предшествует и сопровождает прогрессирование дисплазии. Это позволяет рассматривать метилирование не просто как маркер наличия предопухолевого процесса, но и как индикатор его молекулярной агрессивности.

Полученные результаты также согласуются с эпигенетической моделью канцерогенеза, согласно которой метилирование опухолевых супрессоров, в том числе *CDKN2A*, является первым «эпигенетическим ударом» в многоступенчатом процессе злокачественной трансформации. М. Toyota и др. в классическом исследовании 1999 года на аденоматозных полипах впервые показали, что метилирование *CDKN2A* может быть выявлено задолго до появления инвазии [11].

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

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

Важно отметить и потенциал использования *CDKN2A* в составе мультигенных панелей ранней диагностики KPP. Наши результаты подтверждают актуальность включения *CDKN2A* в подобные панели при их локальной адаптации и разработке национальных стратегий скрининга.

Тем не менее, исследование имеет и ограничения: небольшая выборка, отсутствие контрольной группы с

установленным KPP, а также отсутствие динамического наблюдения, которое позволило бы оценить прогностическую ценность гиперметилирования. Будущие исследования должны включать расширенные когорты, оценку чувствительности и специфичности метилирования *CDKN2A* в cfDNA, а также наблюдение за клиническими исходами.

#### **Заключение:**

Гиперметилирование гена *CDKN2A* является частым эпигенетическим событием у пациентов с предопухолевыми образованиями толстой и прямой кишки: оно было выявлено у 54,8% обследованных, что подтверждает его участие в ранних этапах канцерогенеза при KPP.

Частота метилирования существенно выше у пациентов с полипами (65%), чем при полипозе (36,4%), что может свидетельствовать о различной природе эпигенетических нарушений при спорадических и диффузных формах предопухолевых процессов кишечника.

Наличие гиперметилирования *CDKN2A* достоверно ассоциировано с умеренной дисплазией, что подчёркивает его значимость как маркера ранней злокачественной трансформации и возможного прогрессирования доброкачественных новообразований в рак.

Метод MSP-PCR является доступным, чувствительным и технологически воспроизводимым, что делает его перспективным инструментом молекулярной диагностики, особенно в условиях ограниченных ресурсов. Он может быть внедрён в практику региональных и республиканских лабораторий.

*CDKN2A* обладает потенциалом клинически значимого биомаркера, который может использоваться для стратификации риска у пациентов с предопухолевыми изменениями кишечника, выбора тактики наблюдения и принятия решений о необходимости вмешательства.

Дальнейшие исследования должны быть направлены на включение контрольной группы пациентов с установленным KPP, расширение выборки, а также динамическое наблюдение за клиническими исходами. Особое внимание должно быть уделено анализу циркулирующей ДНК (cfDNA) как неинвазивной формы диагностики.

#### **Список использованных источников:**

1. GLOBOCAN. World Fact Sheet. - 2022. - Дата доступа: 19.09.2025. - URL: <https://gco.iarc.who.int/media/globocan/factsheets/populations/900-world-fact-sheet.pdf>;
2. Тилляшайхов М.Н., Рахимов О.А., Адилходжаев А.А., Джанклич С.М. Заболеваемость колоректальным раком в Узбекистане // Тазовая хирургия и онкология. – 2022. – Т. 12, № 2. – С. 11–16 [Tillyashajxov M.N., Raximov O.A., Adilxodzhayev A.A., Dzhancklich S.M. Zaboлеваemost' kolorektal'nym rakom v Uzbekistane // Tazovaya xirurgiya i onkologiya. – 2022. – Т. 12, № 2. – С. 11–16 (in Russ.)]. <https://doi.org/10.17650/2686-9594-2022-12-2-11-16>
3. Chen Y., Zhang Y., Yan Y., Han J., Zhang L., Cheng X., Lu B., Li N., Luo C., Zhou Y., Song K., Iwasaki M., Dai M., Wu D., Chen H. Global colorectal cancer screening programs and coverage rate estimation: an evidence synthesis // J. Translat. Med. – 2025. – Vol. 23. – Art. no. 811. <https://doi.org/10.1186/s12967-025-06887-4>.
4. Cao Q., Tian Y., Deng Z., Yang F., Chen E. Epigenetic Alteration in Colorectal Cancer: Potential Diagnostic and Prognostic Implications // Int. J. Mol. Sci. – 2024. – Vol. 25 (6). – Art. no. 3358. <https://doi.org/10.3390/ijms25063358>
5. Pickhardt P.J., Pooler B.D., Kim D.H., Hassan C., Matkowskyj K.A., Halberg R.B. The Natural History of Colorectal Polyps: Overview

of Predictive Static and Dynamic Features // *Gastroenterol. Clin. North Am.* – 2018. – Vol. 47 (3). – P. 515–536. <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2018.04.004>

6. Liu C., Xu L., Li W., Jie M., Xue W., Yu W. Multiple biomarker-combined screening for colorectal cancer based on bisulfate conversion-free detection of fecal DNA methylation // *BioMed Res. Int.* – 2021. – Art. no. 1479748. <https://doi.org/10.1155/2021/1479748>

7. Yamashita K., Hosoda K., Nishizawa N., Katoh H., Watanabe M. Epigenetic biomarkers of promoter DNA methylation in the new era of cancer treatment // *Cancer Sci.* – 2018. – Vol. 109(12). – P. 3695–3706. <https://doi.org/10.1111/cas.13812>

8. Zhao R., Choi B.Y., Lee M.H., Bode A.M., Dong Z. Implications of genetic and epigenetic alterations of CDKN2A (p16INK4a) in cancer // *EBioMedicine.* – 2016. – Vol. 8. – P. 30–39. – DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2016.04.017>

9. Fatemi N., Tierling S., Aboulkheyr Es H., Varkiani M., Nazemalhosseini Mojarad E., Asadzadeh Aghdai H., Walter J., Totonchi M. DNA methylation biomarkers in colorectal cancer: Clinical applications for precision medicine // *Int. J. Cancer.* – 2022. – Vol. 151 (12). – P. 2068–2081. <https://doi.org/10.1002/ijc.34186>

10. Bahrami A., Hassani S.M., Khazaei M., Gharib M., Rahmani M., Fuji H., Jazayeri M.H., Moetamani-Ahmadi M., Ferns G.A., Avan A. The 9p21 locus as a potential therapeutic target and prognostic

marker in colorectal cancer // *Pharmacogenomics.* – 2018. – Vol. 19 (5). – P. 463–474. <https://doi.org/10.2217/pgs-2017-0096>

11. Toyota M., Ahuja N., Ohe-Toyota M., Herman J.G., Baylin S.B., Issa J.P. CpG island methylator phenotype in colorectal cancer // *PNAS.* – 1999. – Vol. 96 (15). – P. 8681–8686. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.15.8681>

12. Esteller M., Sparks A., Toyota M., Sanchez-Cespedes M., Capella G., Peinado M.A., Gonzalez S., Tarafa G., Sidransky D., Meltzer S.J., Baylin S.B., Herman J.G. Analysis of adenomatous polyposis coli promoter hypermethylation in human cancer // *Cancer Res.* – 2000. – Vol. 60 (16). – P. 4366–4371. <https://doi.org/10.1097/00000658-199501000-00004>

13. Ayub A.L.P., Perestrelo B.O., Pessoa G.C., Jasiulionis M.G. Useful methods to study epigenetic marks: DNA methylation, histone modifications, chromatin structure, and noncoding RNAs // *In: Epigenetics and DNA Damage.* – 2022. – P. 283–310. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91081-1.00012-1>

14. Porcaro F., Voccola S., Cardinale G., Porcaro P., Vito P. DNA Methylation Biomarkers in Stool Samples: Enhancing Colorectal Cancer Screening Strategies // *Oncol. Rev.* – 2024. – Vol. 18. – Art. no. 1408529. <https://doi.org/10.3389/or.2024.1408529>

15. WHO Classification of Tumours Editorial Board. *Digestive System Tumours.* – 5-e изд. – Lyon: IARC Press; 2019. – 543 с. – ISBN 978-92-832-4499-8

## АНДАТПА

# CDKN2A МОЛЕКУЛАЛЫҚ-БИОЛОГИЯЛЫҚ МАРКЕРІНІҢ ТОҚ ІШЕК ОБЫРЫН ЕРТЕ ДИАГНОСТИКАЛАУДАҒЫ РӨЛІ

М.Н. Тилляшайхов<sup>1</sup>, Х.Д. Исламов<sup>1</sup>, Я.В. Тен<sup>1</sup>, И.П. Зияев<sup>1</sup>, Я.П. Зияев<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Онкология және радиология бойынша Республикалық мамандандырылған ғылыми-тәжірибелік медициналық орталық, Ташкент, Өзбекстан

**Өзектілігі:** Колоректалды обыр (КРО) әлем бойынша қатерлі ісіктерден болатын өлім-жітімнің жетекші себептерінің бірі болып қала береді, бұл көбіне кеш диагностикалауға байланысты. Соңғы жылдары алдын ала ісік алдындағы өзгерістерді ерте анықтауға арналған қолжетімді әрі сезімтал молекулалық маркерлерді іздеу ерекше өзектілікке ие болды. Бұл, әсіресе ұлттық скринингтік бағдарламалары жоқ және колоноскопияның қолжетімділігі төмен мемлекеттер үшін маңызды, соның ішінде Өзбекстанда. Ең көп зерттелген маркерлердің бірі – жасуша циклін реттеуде негізгі рөл атқаратын ісік супрессоры CDKN2A генинің гиперметилденуі.

**Зерттеудің мақсаты** – тоқ және тік ішектің полиптері мен полипозы бар науқастарда CDKN2A промотор аймағының гиперметилдену жиілігін және оның дисплазияның морфологиялық белгілерімен байланысын зерттеу.

**Әдістері:** Зерттеуге ішектің ісік алды түзілімдері бар 31 науқас енгізілді. Шырышты қабық биоптаттары мен қан плазмасы метилге-спецификалық ПТР әдісімен талданды.

**Нәтижелері:** CDKN2A гиперметилденуі 17 науқаста (54,8%) анықталды. Полиптері бар науқастарда метилдену жиілігі 65%, ал полипозы бар науқастарда – 36,4% құрады ( $p=0,043$ ). Морфологиялық өзгерістермен тікелей байланыс орнатылды: гиперметилденуі бар науқастарда орташа дисплазия жиі байқалды (70,6%), ал маркер теріс науқастарда жеңіл дисплазия немесе оның болмауы басым болды.

**Қорытынды:** Алынған деректер CDKN2A гиперметилденуі КРО патогенезіндегі ерте маркер болып табылатынын және ісік алды процестің үдеуімен тығыз байланысты екенін растайды. MSP-ПТР әдісі жоғары сезімталдық пен қолжетімділікті көрсетті, бұл оны Өзбекстанның өңірлік зертханаларына енгізу үшін перспективалы етеді. CDKN2A тәуекелді стратификациялау критерийі, молекулалық скринингтің компоненті және ішектің ісік алды өзгерістері бар науқастарды жекелендірілген бақылаудың негізі ретінде қолданылуы мүмкін.

**Түйінді сөздер:** колоректалды обыр (КРО), полиптер, CDKN2A, гиперметилдену, эпигенетикалық биомаркерлер, MSP-ПТР, молекулалық скрининг.

## ABSTRACT

# THE ROLE OF THE MOLECULAR-BIOLOGICAL MARKER CDKN2A IN THE EARLY DIAGNOSIS OF COLORECTAL CANCER

M.N. Tillyashaykhov<sup>1</sup>, Kh.D. Islamov<sup>1</sup>, Ya.V. Ten<sup>1</sup>, I.P. Ziyaev<sup>1</sup>, Ya.P. Ziyaev<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Oncology and Radiology, Tashkent, Uzbekistan

**Relevance:** Colorectal cancer (CRC) remains one of the leading causes of cancer-related mortality worldwide, largely due to late diagnosis. In recent years, particular importance has been given to the search for accessible and sensitive molecular markers for the early detection of precancerous changes, especially in resource-limited countries, including Uzbekistan, where national screening programs are absent and access to colonoscopy remains limited. One of the most studied markers is hypermethylation of the tumor suppressor gene CDKN2A, which plays a key role in cell cycle regulation.

**The study aimed to investigate the frequency of CDKN2A promoter hypermethylation in patients with colonic and rectal polyps and polyposis, as well as its association with morphological features of dysplasia.**

**Methods:** The study included 31 patients with precancerous intestinal lesions. Mucosal biopsies and blood plasma samples were analyzed using methylation-specific PCR (MSP-PCR).

**Results:** CDKN2A hypermethylation was detected in 17 patients (54.8%). The methylation frequency was 65% in patients with polyps and 36.4% in those with polyposis ( $p=0.043$ ). A direct association with morphological changes was established: patients with hypermethylation more frequently exhibited moderate dysplasia (70.6%), whereas in marker-negative cases mild dysplasia or its absence predominated.

**Conclusion:** The findings confirm that CDKN2A hypermethylation is an early marker in the pathogenesis of CRC, closely associated with the progression of precancerous lesions. The MSP-PCR method demonstrated high sensitivity and accessibility, making it a promising tool for implementation in regional laboratories of Uzbekistan. CDKN2A may serve as a risk stratification criterion, a component of molecular screening, and a basis for personalized surveillance of patients with precancerous intestinal changes.

**Keywords:** colorectal cancer (CRC), polyps, CDKN2A, hypermethylation, epigenetic biomarkers, MSP-PCR, molecular screening.

---

**Прозрачность исследования:** Авторы несут полную ответственность за содержание данной статьи.

**Конфликт интересов:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование:** Авторы заявляют об отсутствии финансирования исследования.

**Вклад авторов:** Все авторы внесли равный вклад в проведение исследования и подготовку научной статьи.

**Сведения об авторах:**

**Тилляшайхов М.Н.** — д.м.н., профессор, директор Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра онкологии и радиологии, Ташкент, Узбекистан, тел.: +998(71)2460513, e-mail: info@cancercenter.uz, ORCID: 0000-0001-6428-9550;

**Исламов Х.Д.** — к.м.н., руководитель отделения колопроктологии Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра онкологии и радиологии, Ташкент, Узбекистан, тел.: +998979008557, e-mail: dr.hurshid@mail.ru, ORCID: 0000-0002-9970-1936;

**Тен Я.В. (корреспондирующий автор)** — заведующий отделения колопроктологии Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра онкологии и радиологии, Ташкент, Узбекистан, тел.: +998979008557, e-mail: Tenksiy06@mail.ru, ORCID: 0000-0002-9970-1936;

**Зияев И.П.** — общий онколог отделения комплексной диагностики и лечения больных Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра онкологии и радиологии, Ташкент, Узбекистан, тел.: +998937849777, e-mail: palitdinovich@gmail.com, ORCID: 0009-0008-6203-6136;

**Зияев Я.П.** — общий онколог отделения комплексной диагностики и лечения больных Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра онкологии и радиологии, Ташкент, Узбекистан, тел.: +998934430080, e-mail: palitdinovich@gmail.com, ORCID: 0009-0009-2905-8859.

**Адрес для корреспонденции:** Тен Я.В., Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр онкологии и радиологии, ул. Фароби 383, Шайхантаурский район, Ташкент 100179, Узбекистан.