

Диагностика молекулярно-генетических подтипов колоректального рака с использованием иммуногистохимических методов исследования

Д.С. Швороб, Т.И. Шевченко, Р.Б. Кондратюк

ГОО ВПО Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького, Донецк

Колоректальный рак занимает третье место в структуре заболеваемости среди всех злокачественных новообразований и включает в себя спорадические и наследственно детерминированные случаи. Секвенирование генома опухоли выявило многочисленные варианты мутаций, которые определяют путь прогрессирования колоректального рака. В зависимости от имеющегося молекулярно-генетического подтипа опухоли сильно варьируют течение и прогноз заболевания, меняется тактика лечения. В данной работе представлены актуальные сведения о возможных путях онкогенеза колоректального рака и созданная на их основе классификация фенотипических моделей. В вопросе определения индивидуальных характеристик опухоли предлагается использовать иммуногистохимический метод исследования. Даны разъяснения по панели Bethesda, используемой для определения микросателлитной нестабильности, маркерам для определения синдрома Линча, а также перечню иммуногистохимических маркеров для определения фенотипической модели колоректального рака.

Ключевые слова: колоректальный рак, фенотипические модели, согласованные молекулярные подтипы (CMS), иммуногистохимия, панель Bethesda, синдром Линча

Для корреспонденции: Данил Сергеевич Швороб. E-mail: mcshady@mail.ru

Для цитирования: Швороб Д.С., Шевченко Т.И., Кондратюк Р.Б. Диагностика молекулярно-генетических подтипов колоректального рака с использованием иммуногистохимических методов исследования. Клини. эксп. морфология. 2021;10(3):14–20. DOI: 10.31088/CEM2021.10.3.14-20.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 08.04.2021. Получена после рецензирования 12.05.2021. Принята в печать 15.06.2021.

Diagnosis of molecular subtypes of colorectal cancer using immunohistochemistry

D.S. Shvorob, T.I. Shevchenko, R.B. Kondratyuk

M. Gorky Donetsk National Medical University, Donetsk

Colorectal cancer ranks third in the morbidity structure among all malignant tumors and includes sporadic and hereditary neoplasms. Cancer genome sequencing has revealed numerous mutation variants that determine the ways colorectal carcinoma progresses. The course, prognosis, and management strategy of the disease vary greatly depending on the subtype of a molecular tumor. This literature review discusses the latest data on the variants of colorectal cancer oncogenesis and presents the phenotypic model classification based on them. Immunohistochemistry (IHC) is suggested for determining the individual tumor characteristics. The article also clarifies the Bethesda panel used to detect microsatellite instability, markers for Lynch syndrome, and a list of IHC markers for determining the phenotypic model of colorectal carcinoma.

Keywords: colorectal cancer, phenotypic models, consensus molecular subtypes (CMS), immunohistochemistry, Bethesda panel, Lynch syndrome

Corresponding author: Danil S. Shvorob. E-mail: mcshady@mail.ru

For citation: Shvorob D.S., Shevchenko T.I., Kondratyuk R.B. Diagnosis of molecular subtypes of colorectal cancer using immunohistochemistry. Clin. exp. morphology. 2021;10(3):14–20. DOI: 10.31088/CEM2021.10.3.14-20 (In Russ.).

Funding. The study was carried out within the framework of state budget funding.

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

Received 08.04.2021. **Received in revised form** 12.05.2021. **Accepted** 15.06.2021.

Введение

Колоректальный рак – это злокачественное новообразование, инвазивно растущее за пределы слизистой оболочки толстой кишки. В структуре заболеваемости среди всех злокачественных новообразований данная патология занимает ведущую роль, являясь третьим по распространенности видом рака у мужчин (уступает раку легкого и раку предстательной железы) и вторым по частоте у женщин (после рака молочной железы). По данным Всемирной организации здравоохранения, за 2019 год было зафиксировано 1,8 миллиона случаев заболевания колоректальным раком и 880 тысяч смертей. Данная патология в соотношении 3:2 чаще встречается у мужчин, а средний возраст пациентов составляет 62 года. Около 90% всех случаев спорадические, в то время как оставшаяся часть наследственно детерминирована, встречается у людей среднего возраста и связана с такими состояниями, как семейный аденоматозный полипоз, язвенный колит, болезнь Крона и синдром Линча [1, 2].

Этиология

Колоректальный рак – полиэтиологическое заболевание. К предрасполагающим факторам развития относят особенности рациона питания и образа жизни человека. В частности, животные жиры, мясо и микронутриенты, а также сидячий образ жизни, курение и употребление алкоголя увеличивают риск развития рака толстой кишки. Напротив, повышенное потребление фруктов, овощей, цельнозерновых продуктов, кальция и витамина D, а также физические упражнения, способствуя ускорению перистальтики кишечника, нормализуют стул и защищают от развития колоректального рака [3, 4].

К предрасполагающим состояниям относят различные синдромы полипоза толстой кишки – семейный аденоматозный полипоз, синдром Линча, ювенильный полипоз и синдром Пейтца–Егерса, а также воспалительные заболевания кишечника, такие как язвенный колит и болезнь Крона [5]. С риском возникновения колоректального рака также связано состояние после радиотерапии области малого таза пациентов с опухолями других локализаций – шейки матки, мочевого пузыря, предстательной железы [6]. Состояние после холецистэктомии также коррелирует с увеличением частоты развития рака толстой кишки, в среднем в 1,7 раза, что, вероятно, связано с постоянным, а не порционным поступлением в просвет кишечника желчных кислот и нейтральных жиров [7].

К предраковым состояниям относят любое изменение в слизистой оболочке толстой кишки, морфологически сопровождающееся дисплазией и характеризующееся как неопластическая пролиферация эпителия. Дисплазия инициируется серией мутаций в онкогенах и генах-супрессорах, регулирующих пролиферацию, дифференцировку и гибель клеток, что в некоторых случаях может привести к появлению злокачественного новообразования [8, 9].

Варианты развития колоректального рака

Секвенирование генома опухоли выявило многочисленные мутации, которые участвуют в прогрессировании колоректального рака. По их числу новообразования разделяют на типичные – около 60 мутаций и гипермутабельные – около 700 мутаций. Подавляющее число гипермутабельных опухолей обладает высокой степенью микросателлитной нестабильности (MSI-H). Сегодня известно три пути развития колоректального рака. Первый – путь хромосомной нестабильности (CIN), на который приходится до 80% всех случаев. CIN характеризуется дисфункцией генов, контролирующих процесс деления, в частности *APC*, *TP53*, *KRAS*. В результате наблюдается быстрое деление клеток с потерей целых хромосом или их частей, что приводит к кариотипической изменчивости и грубым хромосомным аномалиям. Второй – путь микросателлитной нестабильности (MSI), на него приходится около 15% всех случаев, из них 85% спорадические, а оставшиеся 15% наследственно приобретенные и проявляющиеся в совокупности синдрома Линча. Микросателлиты – это нуклеотидные последовательности, которые встречаются в некодирующих областях ДНК и склонны к ошибкам репликации. Ферменты репарации ошибочно спаренных нуклеотидов (MMR) в норме такие ошибки исправляют. MSI характеризуется дефектной репарацией ДНК из-за аномалии генов *MMR*. MSI спорадические опухоли характеризуются мутацией *APC* и *BRAF*, гена – регулятора роста клеток *TGF- β* и проапоптотического гена *BAX*, в то же время демонстрируя парадоксально низкую частоту мутаций *TP53* и *KRAS*. Наследственно детерминированные опухоли, ассоциированные с синдромом Линча, зачастую содержат мутации β -катенина и не имеют мутаций *APC* и *BRAF*. Третий – путь гиперметилирования CpG-островков в промоторе генов (CIMP), который встречается примерно в 10% всех случаев. CpG-островки содержатся в промоторах половины всех генов, и их метилирование может привести к потере функции гена. Таким образом, гиперметилирование промотора гена-супрессора опухоли приводит к подавлению транскрипции и может явиться решающим этапом в онкогенезе. CIMP-положительные опухоли часто связаны с *BRAF* или *KRAS* мутациями, но имеют низкую частоту мутаций *TP53* [10–12].

Фенотипические модели опухолей

Первоначально считалось, что пути прогрессирования колоректального рака исключают друг друга, однако обнаруженные некоторые общие механизмы в каждом из трех путей позволяют разделить механизм онкогенеза на подгруппы, в зависимости от наличия либо отсутствия в нем CIN, MSI и CIMP. Например, большинство MSI опухолей CIMP положительно, а треть CIMP опухолей микросателлитно стабильна (MSS). Большинство MSS опухолей CIN положительно, и только 10% CIN опухолей имеет микросателлитную

нестабильность. Понимание сложного взаимодействия между различными генетическими моделями прогрессирования колоректального рака позволяет классифицировать опухоли на основании молекулярных фенотипов, что обладает важным терапевтическим и прогностическим значением [13, 14].

Выделяют следующие основные фенотипические модели колоректального рака с клинико-морфологическими особенностями.

1. MSI⁺/CIN⁻ опухоли встречаются у мужчин пожилого возраста, локализируются в области восходящей ободочной кишки и печеночного угла, часто имеют низкую дифференцировку, обладают муцинозным компонентом и выраженной лимфогистиоцитарной инфильтрацией. В этом варианте практически не встречается фибриноидный некроз. Около 80% таких опухолей CINP⁺, в них наблюдаются гиперметилирование промотора *MLH1* и мутация *BRAF*. Остальные 20% CINP⁻, с неизменным геном *BRAF* (дикий тип) и связаны с синдромом Линча.

2. MSI⁻/CIN⁺ опухоли составляют около 80% всех случаев колоректального рака, гистологически представляя собой умеренно дифференцированную аденокарциному с изъязвлением, очагами фибриноидного некроза. Некоторые синдромы полипоза толстой кишки, такие как семейный аденоматозный полипоз и MutYH-ассоциированный полипоз, также развиваются по этому пути. В группе MSI⁻/CIN⁺ опухолей выделяют две подгруппы. Первая подгруппа имеет мутации *TP53* и неизмененные *KRAS* и *P13KCA* (дикий тип), локализуется чаще в левой половине толстой кишки и встречается у пациентов мужского пола. Вторая подгруппа опухолей имеет мутации *KRAS*, *P13KCA* и неизмененный *TP53*, характеризуется высокой или умеренной дифференцировкой, крайне медленным инвазивным ростом, но не показывает связи с локализацией или полом пациента.

3. MSI⁻/CIN⁻ – небольшая группа микросателлитно стабильных опухолей, имеющих мутации *KRAS* и *P13KCA* и низкую частоту мутаций *TP53*. Эти новообразования не демонстрируют какой-либо четкой закономерности с локализацией, полом пациента или степенью дифференцировки, поэтому прогностическое значение данного пути пока неясно.

4. Опухоли с мутациями *NRAS* тоже не демонстрируют какой-либо четкой закономерности с локализацией, полом пациента или степенью дифференцировки, и прогностическое значение их также пока неясно.

5. Небольшая группа микросателлитно стабильных опухолей, в которой не обнаружены мутации *BRAF*, *TP53*, *KRAS*, *P13KCA* или *NRAS*. Это тоже, по-видимому, плохо охарактеризованная группа и, вероятно, неоднородная.

Согласованные молекулярные подтипы опухоли

Вопрос стратификации колоректального рака, учитывающий прогностические и терапевтические особенности фенотипических видов опухоли, долго оставался нерешенным. Наибольший прогресс в фенотипической

классификации опухоли был достигнут в 2015 году международным экспертным консорциумом онкологов и патологоанатомов, которые на основании множества предварительных разнородных исследований описали четыре согласованных молекулярных подтипа (CMS) [15–17].

1. CMS1 (MSI-иммунный) подтип составляет 14% случаев колоректального рака и характеризуется MSI⁺, CINP⁺, частыми мутациями гена *BRAF* и сильным иммунным ответом, то есть приравнивается к спорадической группе микросателлитно нестабильных опухолей. У пациентов с подтипом CMS1 крайне низка общая выживаемость.

Большую часть опухолей, описанных как CIN⁺ тип колоректального рака, эксперты разделили на три подкатегории.

2. CMS2 (канонический) подтип составляет 37%, характеризуется мутацией в генах-супрессорах (*APC*, *TP53*), увеличением числа копий онкогенов и приравнивается к первой подгруппе MSI⁻/CIN⁺ опухолей. У пациентов с подтипом CMS2 лучшие показатели общей выживаемости по сравнению с имеющими другие подтипы.

3. CMS3 (метаболический) подтип составляет 13%, характеризуется частыми мутациями в генах *KRAS*, *P13KCA* и приравнивается ко второй подгруппе MSI⁻/CIN⁺ опухолей.

4. CMS4 (мезенхимальный) подтип составляет 23% и характеризуется повышенной экспрессией генов, отвечающих за эпителиально-мезенхимальную трансформацию, инвазию и ангиогенез. У пациентов с подтипом CMS4 часты метастатические поражения, худшая общая и безрецидивная выживаемость.

Оставшиеся 13% случаев колоректального рака обладают смешанными признаками и, вероятно, находятся в состоянии переходного фенотипа.

Иммуногистохимия

Постоянное совершенствование схем терапии колоректального рака, а также глубокое понимание путей канцерогенеза сделали подход к лечению каждого конкретного случая индивидуальным. Наличие того или иного подтипа, по-видимому, определяет ответ опухоли на цитотоксические и таргетированные терапевтические препараты, поэтому в настоящее время следует не только правильно идентифицировать первичный очаг в случае метастазирования, но и предоставлять точную оценку индивидуальных характеристик опухоли, способных повлиять на исход лечения. Использование иммуногистохимического (ИГХ) метода диагностики позволяет решить эту задачу наиболее точно. Далее приведен перечень ИГХ маркеров и указана целесообразность их применения.

Определение MSI

Наиболее важным в прогностическом плане следует считать определение микросателлитной неста-

бильности и ее степени. Для выявления MSI используют панель Bethesda, состоящую из пяти маркеров: двух мононуклеотидных, таких как BAT25 и BAT26, и трех динуклеотидных – D5S346, D2S123 и D17S250. Если все маркеры показывают экспрессию, опухоль считается микросателлитно стабильной (MSS). Если не экспрессируется один маркер, опухоль считается имеющей низкий уровень микросателлитной нестабильности (MSI-L), если экспрессия теряется для двух и более маркеров, то у новообразования высокий уровень (MSI-H). Из-за дефектной репарации ДНК опухоли MSI-H демонстрируют высокую частоту мутаций (гипермутабельные), что приводит к более быстрому прогрессированию опухоли от доброкачественной клональной пролиферации до инвазивной карциномы [18–20].

Скрининг и синдром Линча

Для достоверного увеличения 5-летней выживаемости следует использовать программы скрининга, направленные на раннее выявление поврежденных белков, способных к инициации онкогенеза. В связи с этим огромное внимание должно уделяться синдрому Линча, так как при его наличии колоректальный рак развивается в более молодом возрасте, примерно в 50 лет, что на 15 лет раньше, чем в общей популяции. Развитие рака на месте полипов при синдроме Линча также происходит намного быстрее (35 месяцев), чем при спорадическом колоректальном раке (10–15 лет). Скрининг проводят с выявлением экспрессии четырех белков MMR (MLH1, MSH2, MSH6 и PMS2). В большинстве случаев для скрининга достаточно провести окрашивание на MSH6 и PMS2, так как эти белки функционально действуют в димерах MLH1/PMS2 и MSH2/MSH6, соответственно. Следовательно, если функция MLH1, MSH2 нарушена, MSH6 и PMS2 окрашиваться не будут. На практике же многие предпочитают исследовать все четыре белка, чтобы немедленно оценить их экспрессию. Сохранная экспрессия всех четырех маркеров позволяет с большой вероятностью говорить о спорадическом колоректальном раке. Если все четыре маркера не окрашиваются, а по панели Bethesda доказано, что опухоль MSI-H, диагноз «синдром Линча» наиболее вероятен [21–23].

ИГХ маркеры колоректального рака

В качестве методов диагностики ИГХ исследование проводится с целью определения чувствительности к препаратам таргетной терапии и поиска первичного очага, в случае обнаружения метастазов [24]. Главными ИГХ маркерами колоректального рака являются CK7/CK20, GPA33, CDH17, CDX2, виллин и β-катенин. Прогностически обоснованным остается поиск мутаций в генах *TP53*, *BRAF* и *KRAS*. Для определения первичного очага, в случае метастатической формы колоректального рака, используются CEA и SATB2. Заметим, что следует учитывать не только наличие или отсут-

ствие реакции, но и локализацию окрашивания. Неправильная локализация окраски того или иного маркера свидетельствует о ложной реакции, по которой нельзя делать выводы относительно опухоли.

1. Цитокератины (cytokeratins, CK) – это члены семейства промежуточных филаментов, представляющие собой белки, экспрессируемые эпителиальными клетками. Идентифицировано 20 видов этих белков, различные паттерны которых экспрессируются в разных органах. Паттерн CK7/CK20⁺ экспрессируется слизистой оболочкой толстой кишки. Конкретно CK7 ограничен железистыми клетками и при колоректальном раке обычно имеет отрицательную экспрессию. Тем не менее это может варьировать, в зависимости от подтипа и агрессивности новообразования. Повышенная экспрессия CK7 встречается в опухолях низкой дифференцировки, а также при микросателлитно нестабильном колоректальном раке с мутацией *BRAF*. CK20 экспрессируют эпителиальные клетки кишечных крипт, его содержание постепенно увеличивается от дна крипты, где он отсутствует, до верхушки. При колоректальном раке CK20 дает сильную экспрессию, однако может вообще отсутствовать в низкодифференцированных и микросателлитно нестабильных опухолях. Оба маркера имеют цитоплазматическое окрашивание [25, 26].

GPA33 – это ген, кодирующий мембранный белок и экспрессирующийся в 95% случаев колоректального рака. Антитела к *GPA33*, используемые в терапии, были предложены в качестве эффективного средства лечения опухолей, экспрессирующих этот белок. В высоко- и умереннодифференцированных опухолях наблюдается мембранная экспрессия, в низкодифференцированных и муцинозных опухолях – цитоплазматическая [27, 28].

CDH17 – это кадгерин, участвующий в адгезии и пролиферации клеток и экспрессируемый в бокаловидных клетках толстой кишки. Наблюдается прямая связь между силой экспрессии этого белка и инвазивным или метастатическим потенциалом колоректального рака. Маркер имеет мембранное окрашивание [29, 30].

CDX2 – это фактор транскрипции, кодируемый одноименным геном. Его работа важна для эмбрионального и пожизненного сохранения клеточного фенотипа толстой кишки и подавления онкогенеза. Низкая экспрессия *CDX2* коррелирует с наличием MSI и CIMP опухолей и низкой выживаемостью, а высокая экспрессия – со слабой клеточной атипией и отсутствием метастазов. Маркер имеет ядерное окрашивание [31, 32].

Виллин – это связывающий актин белок цитоскелета, участвующий в поддержании микроворсинок в эпителиальных клетках. Его апикальная экспрессия сохранена практически во всех случаях колоректального рака, кроме низкодифференцированных микросателлитно нестабильных форм. Маркер имеет мембранное окрашивание [31, 33].

β -катенин – это многофункциональный белок, участвующий как в клеточной адгезии, так и во внутриклеточной передаче сигналов, способствуя пролиферации клетки. Его экспрессия обычно остается высокой в большинстве типов колоректального рака. Маркер имеет мембранное и цитоплазматическое окрашивание [34, 35].

TP53 – это ген-супрессор опухолей, отвечающий за репарацию и регуляцию транскрипции. Его мутация встречается наиболее часто в злокачественных новообразованиях. Мутации в *TP53* приводят к синдрому Ли–Фраумени и раку, включая ранний колоректальный. Увеличение экспрессии *TP53* прямо коррелирует с увеличением пролиферативных и инвазивных признаков опухоли. Кроме того, *TP53* часто сверхэкспрессируется при дисплазии эпителия крипт, вызванной язвенным колитом [36, 37].

BRAF – это киназа сигнального пути MAPK/ERK. Мутация *BRAF* встречается примерно в 10% случаев колоректального рака и почти всегда обнаруживается в СМП положительных опухолях. Отсутствие окрашивания указывает на мутацию *BRAF*, которая обычно включает синдром Линча. Маркер имеет ядерное, цитоплазматическое и мембранозное окрашивание [38, 39].

PIK3CA – это киназа, часто мутирующая при проксимальном раке толстой кишки, наряду с мутацией *KRAS*. Приобретение соматических мутаций в этом гене может снизить показатели выживаемости при лекарственно устойчивых колоректальных опухолях, которые также содержат мутации *KRAS*. Маркер имеет цитоплазматическое и мембранозное окрашивание [37, 40].

Карциноэмбриональный антиген (carcinoembryonic antigen, CEA) включает в себя большой класс белков, экспрессирующихся в аденокарциномах. Подвид CEA, САМ5, является биомаркером колоректального рака и обладает высокой чувствительностью при его метастатической форме, что делает его крайне полезным. Маркер имеет цитоплазматическое и мембранозное окрашивание [41, 42].

SATB2 – это фактор транскрипции, участвующий в ремоделировании хроматина. Потеря экспрессии *SATB2* при колоректальном раке коррелирует с потерей дифференцировки и увеличением инвазивного потенциала. *SATB2* может быть полезным маркером для первичного и метастатического колоректального рака из-за его высокой специфичности. Маркер имеет ядерное окрашивание [25, 33].

Методы лечения колоректального рака

Предоставление информации об индивидуальных характеристиках опухоли на основе иммуногистохимического исследования позволяет определить ее ответ на цитотоксические и таргетные терапевтические препараты, выбрав тактику лечения. Хирургическая резекция кишки показана на ранних стадиях новообразования, достоверно увеличивая 5-летнюю выжива-

емость. Следует заметить, что в отличие от карцином других локализаций инвазия в собственную пластинку слизистой оболочки толстой кишки не дает возможности к метастазированию, следовательно, такая внутрислизистая карцинома толстой кишки классифицируется как *carcinoma in situ* (Cis) или аденома с тяжелой дисплазией. Данная классификация крайне важна, так как при Cis для выздоровления достаточно резекции участка кишки. Хирургическое вмешательство также применимо в случае наличия изолированного метастаза в печени или в легком, после резекции которого выживаемость увеличивается. Неоадьювантную терапию проводят пациентам с опухолью на поздних стадиях. Адьювантная терапия на основе фторурацила является стандартной практикой, однако при MSI-H опухолях данный препарат неэффективен и, возможно, вреден. В этом случае рекомендуется добавлять иринотекан или оксалиплатин. При неэффективности фторурацила пациентам часто назначают цетуксимаб и панитумумаб, входящие в основу анти-EGFR терапии. Анти-EGFR терапия показала свою эффективность при отсутствии мутаций гена *KRAS* и *PIK3CA* (дикий тип). Некоторые исследователи также утверждают, что мутации генов *BRAF*, *NRAS* делают неэффективной анти-EGFR терапию. Радиотерапия часто используется в сочетании с химиотерапией на поздних стадиях заболевания и направлена на уменьшение опухолевой прогрессии [43–45].

Заключение

Можно с уверенностью говорить: примерно 70% случаев колоректального рака является спорадическими, CIN-положительными, микросателлитно стабильными опухолями, растущими медленно и встречающимися у пациентов пожилого возраста. Такие новообразования окрашиваются маркерами CK7-/CK20+, CDX2+. Около 15% опухолей микросателлитно нестабильно, часть их них наследственно детерминирована. MSI+ опухоли развиваются у пациентов среднего возраста и коррелируют с плохим прогнозом выживаемости. MSI-H часто имеют aberrантную экспрессию обычных маркеров карциномы толстой кишки и являются CK7+/CK20-, CDX2-. Это особенно важно при биопсии метастазов в отдаленные органы. Дополнительным исследованием в случае иммунопрофиля CK7+/CK20-, CDX2- должно быть иммуногистохимическое исследование по панели Bethesda, а также на экспрессию белков MMR, для исключения синдрома Линча.

Литература/References

1. Colorectum fact sheet. International Agency for Research on Cancer (IARC). Available from: http://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/10_8_9-Colorectum-fact-sheet.pdf (Accessed August 2020).
2. *Connell LC, Mota JM, Braghiroli MI, Hoff PM.* The rising incidence of younger patients with colorectal cancer: Questions

- about screening, biology, and treatment. *Curr Treat Options Oncol.* 2017;18(4):23. DOI: 10.1007/s11864-017-0463-3.
3. *Thanikachalam K, Khan G.* Colorectal cancer and nutrition. *Nutrients.* 2019;11(1):164. DOI: 10.3390/nu11010164.
 4. *Song M, Chan AT, Sun J.* Influence of the gut microbiome, diet, and environment on risk of colorectal cancer. *Gastroenterology.* 2020;158(2):322–40. DOI: 10.1053/j.gastro.2019.06.048.
 5. *Kidambi TD, Kohli DR, Samadder NJ, Singh A.* Hereditary polyposis syndromes. *Curr Treat Options Gastroenterol.* 2019;17(4):650–65. DOI: 10.1007/s11938-019-00251-4.
 6. *Hung H, You J, Chiang J, Hsieh P, Chiang S, Lai C et al.* Clinicopathological characteristics and outcomes of metachronous rectal cancer in patients with a history of cervical cancer with and without remote radiotherapy: Reports of 45 cases. *Medicine (Baltimore).* 2020;99(30):e21328. DOI: 10.1097/MD.0000000000021328.
 7. *Chen CH, Lin CL, Kao CH.* The effect of cholecystectomy on the risk of colorectal cancer in patients with gallbladder stones. *Cancers (Basel).* 2020;12(3):550. DOI: 10.3390/cancers12030550.
 8. *Murakami T, Sakamoto N, Nagahara A.* Endoscopic diagnosis of sessile serrated adenoma/polyp with and without dysplasia/carcinoma. *World J Gastroenterol.* 2018;24(29):3250–9. DOI: 10.3748/wjg.v24.i29.3250.
 9. *Conteduca V, Sansonno D, Russi S, Dammacco F.* Precancerous colorectal lesions (Review). *Int J Oncol.* 2013;43(4):973–84. DOI: 10.3892/ijo.2013.2041.
 10. *Mármol I, Sánchez-de-Diego C, PradillaDieste A, Cerrada E, Rodríguez Yoldi MJ.* Colorectal carcinoma: A general overview and future perspectives in colorectal cancer. *Int J Mol Sci.* 2017;18(1):197. DOI: 10.3390/ijms18010197.
 11. *Wielandt AM, Villarroel C, Hurtado C, Simian D, Zamorano D, Martínez M et al.* Characterization of patients with sporadic colorectal cancer following the new Consensus Molecular Subtypes (CMS). *Rev Med Chil.* 2017; 45(4):419–30. DOI: 10.4067/S0034-98872017000400001.
 12. *Hallajzadeh J, Maleki Dana P, Mobini M, Asemi Z, Mansournia MA, Sharifi M et al.* Targeting of oncogenic signaling pathways by berberine for treatment of colorectal cancer. *Med Oncol.* 2020;37(6):49. DOI: 10.1007/s12032-020-01367-9.
 13. *Domingo E, Ramamoorthy R, Oukrif D, Rosmarin D, Presz M, Wang H et al.* Use of multivariate analysis to suggest a new molecular classification of colorectal cancer. *J Pathol.* 2013;229(3):441–8. DOI: 10.1002/path.4139.
 14. *Sveen A, Bruun J, Eide PW, Eilertsen IA, Ramirez L, Murumägi A et al.* Colorectal cancer consensus molecular subtypes translated to preclinical models uncover potentially targetable cancer cell dependencies. *Clin Cancer Res.* 2018;24(4):794–806. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-1234.
 15. *Guinney J, Dienstmann R, Wang X, de Reyniès A, Schlicker A, Soneson C et al.* The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nat Med.* 2015;21(11):1350–6. DOI: 10.1038/nm.3967.
 16. *Müller MF, Ibrahim AE, Arends MJ.* Molecular pathological classification of colorectal cancer. *Virchows Arch.* 2016;469(2):125–34. DOI: 10.1007/s00428-016-1956-3.
 17. *Ten Hoorn S, Trinh A, de Jong J, Koens L, Vermeulen L.* Classification of colorectal cancer in molecular subtypes by Immunohistochemistry. *Methods Mol Biol.* 2018;1765:179–91. DOI: 10.1007/978-1-4939-7765-9_11.
 18. *Dietmaier W, Büttner R, Rüschoff J.* Microsatellite instability: Review of methods and applications. *Pathologe.* 2019;40(3):313–27. DOI: 10.1007/s00292-019-0610-7.
 19. *De'Angelis GL, Bottarelli L, Azzone C, De'Angelis N, Leandro G, Di Mario F et al.* Microsatellite instability in colorectal cancer. *Acta Biomed.* 2018;89(9-S):97–101. DOI: 10.23750/abm.v89i9-S.7960.
 20. *Lin A, Zhang J, Luo P.* Crosstalk between the MSI status and tumor microenvironment in colorectal cancer. *Front Immunol.* 2020;11:2039. DOI: 10.3389/fimmu.2020.02039.
 21. *Latham A, Srinivasan P, Kemel Y, Shia J, Bandlamudi C, Mandelker D et al.* Microsatellite instability is associated with the presence of Lynch syndrome pan-cancer. *J Clin Oncol.* 2019;37(4):286–95. DOI: 10.1200/JCO.18.00283.
 22. *Carethers JM.* High predictability for identifying Lynch syndrome via microsatellite instability testing or immunohistochemistry in all Lynch-associated tumor types. *Transl Cancer Res.* 2019;8(Suppl 6):S559–S563. DOI: 10.21037/tcr.2019.08.10.
 23. *Sinicropo FA.* Lynch syndrome-associated colorectal cancer. *N Engl J Med.* 2018;379(8):764–73. DOI: 10.1056/NEJMcpl714533.
 24. *Barbalan A, Nicolaescu AC, Magaran AV, Mercut R, Balasoiu M, Bancescu G et al.* Immunohistochemistry predictive markers for primary colorectal cancer tumors: Where are we and where are we going? *Rom J Morphol Embryol.* 2018;59(1):29–42. PMID: 29940609.
 25. *Lyn J, Wang Y, Wang F, Shen M, Zhou X.* Diagnostic value of SATB2, CK7 and CK20 in colorectal cancer. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi.* 2015;44(8):578–81. PMID: 26705182.
 26. *Mesa H, Manivel JC, Larson WS, Dachel SK, Reinink AR, Jessurun J.* Immunophenotypic comparison of neoplasms of the appendix, right colon, and left colon in search of a site-specific phenotypic signature. *Int J Surg Pathol.* 2020;28(1):20–30. DOI: 10.1177/1066896919859096.
 27. *Wong NACS, Adamczyk LA, Evans S, Cullen J, Oniscu A, Oien KA.* A33 shows similar sensitivity to but is more specific than CDX2 as an immunomarker of colorectal carcinoma. *Histopathology.* 2017;71(1):34–41. DOI: 10.1111/his.13194.
 28. *Wu Z, Guo HF, Xu H, Cheung NV.* Development of a tetravalent Anti-GPA33/Anti-CD3 bispecific antibody for colorectal cancers. *Mol Cancer Ther.* 2018;17(10):2164–75. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-18-0026.
 29. *Tian X, Han Z, Zhu Q, Tan J, Liu W, Wang Y et al.* Silencing of cadherin-17 enhances apoptosis and inhibits autophagy in colorectal cancer cells. *Biomed Pharmacother.* 2018;108:331–7. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.09.020.
 30. *Bartolomé RA, Barderas R, Torres S, Fernandez-Aceñero MJ, Mendes M, García-Foncillas J et al.* Cadherin-17 interacts with $\alpha 2\beta 1$ integrin to regulate cell proliferation and adhesion in colorectal cancer cells causing liver metastasis. *Oncogene.* 2014;33(13):1658–69. DOI: 10.1038/onc.2013.117.
 31. *Altintas S, Bayrak M, Altintas Y.* Prognostic value of CDX2 and Villin expression in advanced stage colorectal carcinoma. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2019;29(11):1057–61. DOI: 10.29271/jcsp.2019.11.1057.

32. Slik K, Turkki R, Carpén O, Kurki S, Korkeila E, Sundström J et al. CDX2 loss with microsatellite stable phenotype predicts poor clinical outcome in stage II colorectal carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2019;43(11):1473–82. DOI: 10.1097/PAS.0000000000001356.
33. Li Z, Rock JB, Roth R, Lehman A, Marsh WL, Suarez A et al. Dual stain with SATB2 and CK20/Villin is useful to distinguish colorectal carcinomas from other tumors. *Am J Clin Pathol*. 2018;149(3):241–6. DOI: 10.1093/ajcp/aqx160.
34. Nazemalhosseini Mojarad E, Kashfi SM, Mirtalebi H, Almasi S, Chaleshi V, Kishani Farahani R et al. Prognostic significance of nuclear β -catenin expression in patients with colorectal cancer from Iran. *Iran Red Crescent Med J*. 2015;17(7):e22324. DOI: 10.5812/ircmj.22324v2.
35. Zhang S, Wang Z, Shan J, Yu X, Li L, Lei R et al. Nuclear expression and/or reduced membranous expression of beta-catenin correlate with poor prognosis in colorectal carcinoma: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(49):e5546. DOI: 10.1097/MD.0000000000005546.
36. Li C, Bu J, Liao Y, Zhang J, Han J, Zhang H et al. High expressions of CUL4A and TP53 in colorectal cancer predict poor survival. *Cell Physiol Biochem*. 2018;51(6):2829–42. DOI: 10.1159/000496013.
37. Rachmawati M, Yulianti H, Hernowo BS, Suryanti S, Wijaya I, Rahadiani N et al. The correlation of KRAS gene expression and P53 immunopositivity in colorectal adenocarcinoma. *Open Access Maced J Med Sci*. 2019;7(12):1940–5. DOI: 10.3889/oamjms.2019.549.
38. Barras D, Missiaglia E, Wirapati P, Sieber OM, Jorissen RN, Love C et al. BRAF V600E mutant colorectal cancer subtypes based on gene expression. *Clin Cancer Res*. 2017;23(1):104–15. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0140.
39. Cohen R, Cervera P, Svrcek M, Pellat A, Dreyer C, de Gramont A et al. BRAF-Mutated colorectal cancer: What is the optimal strategy for treatment? *Curr Treat Options Oncol*. 2017;18(2):9. DOI: 10.1007/s11864-017-0453-5.
40. Luo Q, Chen D, Fan X, Fu X, Ma T, Chen D. KRAS and PIK3CA bi-mutations predict a poor prognosis in colorectal cancer patients: A single-site report. *Transl Oncol*. 2020;13(12):100874. DOI: 10.1016/j.tranon.2020.100874.
41. Gonzalez-Exposito R, Semiannikova M, Griffiths B, Khan K, Barber LJ, Woolston A et al. CEA expression heterogeneity and plasticity confer resistance to the CEA-targeting bispecific immunotherapy antibody cibisatamab (CEA-TCB) in patient-derived colorectal cancer organoids. *J Immunother Cancer*. 2019;7(1):101. DOI: 10.1186/s40425-019-0575-3.
42. Mao J, Du P, Yang HT, Hu H, Wang SY, Wu X et al. Prognostic value of carbohydrate antigen 125 and carcino embryonic antigen expression in patients with colorectal carcinoma and its guiding significance for chemotherapy. *Medicine (Baltimore)*. 2020;99(14):e19420. DOI: 10.1097/MD.00000000000019420.
43. Yaeger R, Kotani D, Mondaca S, Parikh AR, Bando H, van Seventer EE et al. Response to anti-EGFR therapy in patients with BRAF non-V600-Mutant metastatic colorectal cancer. *Clin Cancer Res*. 2019;25(23):7089–97. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-19-2004.
44. Zhao B, Wang L, Qiu H, Zhang M, Sun L, Peng P et al. Mechanisms of resistance to anti-EGFR therapy in colorectal cancer. *Oncotarget*. 2017;8(3):3980–4000. DOI: 10.18632/oncotarget.14012.
45. Martinelli E, Ciardiello D, Martini G, Troiani T, Cardone C, Vitiello PP et al. Implementing anti-epidermal growth factor receptor (EGFR) therapy in metastatic colorectal cancer: Challenges and future perspectives. *Ann Oncol*. 2020;31(1):30–40. DOI: 10.1016/j.annonc.2019.10.007.

Информация об авторах

Данил Сергеевич Швороб – ординатор кафедры патологической анатомии ДонНМУ им. М. Горького.

Татьяна Ивановна Шевченко – доктор медицинских наук, профессор кафедры патологической анатомии ДонНМУ им. М. Горького.

Роман Борисович Кондратюк – кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой патологической анатомии ДонНМУ им. М. Горького.

Author information

Danil S. Shvorob – Resident, Pathological Anatomy Department, M. Gorky Donetsk National Medical University. <https://orcid.org/0000-0001-6578-0050>

Tatiana I. Shevchenko – Dr. Sci. (Med.), Professor, Pathological Anatomy Department, M. Gorky Donetsk National Medical University. <https://orcid.org/0000-0002-2073-9772>

Roman B. Kondratyuk – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Head of the Pathological Anatomy Department, M. Gorky Donetsk National Medical University. <https://orcid.org/0000-0001-5928-8799>