

УДК 575.155: 616-006.

КЛИНИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ С МИКРОСАТЕЛЛИТНОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТЬЮ У ПАЦИЕНТОВ РАЗЛИЧНОГО ВОЗРАСТА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

¹Хаммад В.А., ²Хаммад Е.В., ³Полторацкий А.Н., ⁴Фадеева П.А.

¹ *Российский университет дружбы народов, Москва*

² *Лечебно-Реабилитационный Центр Минздрава РФ, Москва*

³ *Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург*

⁴ *Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург*

В статье авторами представлен обзор литературы, посвященный клиническим и молекулярным особенностям злокачественных новообразований (ЗНО) с микросателлитной нестабильностью (МСН) различного возраста. МСН можно обнаружить у онкологических пациентов любого возраста, поскольку она возникает в ответ на нарушения в Системе Репарации Неспаренных Оснований ДНК (DNA mismatch repair; MMR), которая присутствует в клетках нашего организма на протяжении всей жизни. При всех вышеописанных злокачественных новообразованиях, ключевую роль в возникновении МСН играют 2 механизма: эпигенетическая инактивация и герминальные мутации генов MMR. Для первого механизма риски значительно возрастают по мере старения организма и преимущественно вызываются гиперметилированием промотора MLH1, в то время как опухоли, связанные с наследственными нарушениями MMR проявляются на более раннем этапе жизни. Так же, стоит отметить, женский пол является неблагоприятным прогностическим фактором развития ЗНО с МСН в любом возрасте.

Ключевые слова: микросателлитная нестабильность, злокачественные новообразования, возраст, старение.

CLINICAL AND MOLECULAR PECULIARITIES OF MALIGNANT NEW-FORMATIONS WITH MICROSATELLITE INSTABILITY IN PATIENTS OF VARIOUS AGE (REVIEW OF LITERATURE)

Hammad V.A. ¹, Hammad E.V. ², Poltorackij A.N. ³, Fadeeva P.A. ⁴

¹ *RUDN University, Moscow*

² *Treatment and Rehabilitation Center, Ministry of Health of Russia, Moscow*

³ *N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, St Petersburg*

⁴ *Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg*

The authors present a review of the literature on the clinical and molecular features of malignant neoplasms with microsatellite instability (MSI) of different ages. MSI can be found in cancer patients of any age, as it occurs in response to disturbances in the Unpaired DNA Base Repair System (DNA mismatch repair; MMR), which is present in the cells of our body throughout life. For all the malignancies described above, two mechanisms play a key role in the emergence of MSI: epigenetic inactivation and germinal mutations of the MMR genes. For the first mechanism, the risks increase significantly with the aging of the organism and are predominantly caused by hyper-methylation of the MLH1 promoter, while tumors associated with

hereditary MMR disorders appear at an earlier stage of life. Also, it is worth noting that the female sex is an unfavorable prognostic factor for the development of malignant neoplasms with MSI at any age.

Key words: microsatellite instability, malignant neoplasms, age, aging.

Микросателлитная нестабильность (МСН) - это особый фенотип злокачественных новообразований, при котором в клетках опухоли наблюдается повышенная мутантная нагрузка, вызванная скоплением большого количества фреймшифт-мутаций (от англ. frame - рамка + shift: - сдвиг, перемещение) [1,2]. МСН можно обнаружить у онкологических пациентов любого возраста, поскольку она возникает в ответ на нарушения в Системе Репарации Неспаренных Оснований ДНК (DNA mismatch repair; MMR), которая присутствует в клетках нашего организма на протяжении всей жизни.

MMR представляет взаимосвязанный клеточный процесс, в который вовлекаются гены, кодирующие белки MutS и MutL (MLH1, MLH3, MSH2, MSH6, MSH3 и PMS2). Основная задача MMR заключается в распознавании и устранении несоответствий в микросателлитах (коротких tandemно-повторяющихся фрагментах ДНК длиной от 2 до 6 нуклеотидов), которые разбросаны по всему геному и встречаются, в частности, в локусах генов, участвующих в канцерогенезе. Несогласия могут возникать в процессе репликации ДНК в S-фазу клеточного цикла, при генетических рекомбинациях или под воздействием физических и химических повреждающих факторов и устраняются таким образом, чтобы мишенью для репарации служила только вновь синтезированная цепь ДНК, не вовлекая при этом родительскую цепь. Нарушения в Системе Репарации Неспаренных Оснований ДНК вызываются мутациями или гиперметилированием промоторных участков (эпигенетическим «выключением») 4 генов: MLH1, MSH2, MSH6 и PMS2. Значительно чаще таким изменениям подвергаются гены MLH1 и MSH2, аномалии в которых детектируются в большинстве образцов опухолевой ткани с аномально функционирующей MMR (dMMR) и установленной МСН. В клетках с аномально функционирующей MMR (dMMR cells) происходят инсерции (вставки) или делеции (выпадения) нуклеотидов в микросателлитных участках, что, в конечном итоге, приводит к накоплению фрейм-шифт мутаций и возникновению опухолей с МСН.

Согласно различным научным данным, МСН регистрируется в 15% всех случаев колоректального рака (КРР): 3% ассоциированы с синдромом Линча, т.е. вызываются герминальными мутациями генов MMR; 12% возникают спорадически, чаще всего путём гиперметилирования промоторной области гена MLH1. Доказано, что спорадические опухоли с МСН, вызванные гиперметилированием гена MLH1, наблюдаются чаще у пациентов старше 50 лет, локализуются преимущественно в проксимальных отделах

(правой половине) толстой кишки, а также отмечаются менее благоприятным прогнозом и большей склонностью к метастазированию, чем злокачественные новообразования (ЗНО), ассоциированные с синдромом Линча [3,4,5]. В исследовании Jenny N. Poynter et al были изучены 2 возрастные группы пациентов с установленной МСН [6]. В первую группу были включены 215 больных КРР, которым на момент установления диагноза было более 50 лет, а вторую группу составили 69 больных КРР младше 50 лет. Все образцы опухолевой ткани были исследованы на наличие герминальных мутаций в генах MMR, а также прошли иммуногистохимический анализ и ПЦР диагностику уровня метилирования гена MLH1. В первой группе частота встречаемости герминальных мутаций генов MMR (8.6%) была значительно меньше чем гиперметилирование промоторной области гена MLH1 (63%). Во второй группе наблюдались прямо противоположные результаты: в 32 образцах (39%) опухолевой ткани с МСН были обнаружены мутации в генах MMR и всего в 7 образцах (14%) причиной МСН служило гиперметилирование промотора MLH1. В другом исследовании, которое включало изучение 230 образцов КРР, Yiu R et al изучали частоту встречаемости МСН у 3 групп пациентов: 1) <45 лет, 2) 60-70 лет, 3) >87 лет [7]. Обнаружилось, что данный фенотип КРР был более характерен для 3-й группы (33%) чем для 1-й (21%) и 2-й группы (15%) соответственно. Также в ходе изучения образцов опухолевой ткани было установлено, что инактивация гена MLH1 была ассоциирована с пожилым возрастом (наблюдалось преимущественно в 3-й группе с частотой 83%; 24/29 образцов КРР с МСН), а также с локализацией опухоли в проксимальных отделах толстой кишки (25/29 образцов КРР с МСН; 86%). У пациентов младше 45 лет, для опухолей с МСН была более характерна дистальная локализация (62%) и инактивация гена MSH2 (44%).

Довольно любопытным является исследование, проведенное H Yamamoto et al, в котором МСН изучалась в 511 образцах КРР [8]. Частота встречаемости МСН в данном исследовании составила 12%, при этом гиперметилирование гена MLH1 обнаружилось в 26 из 56 (46.4%) всех опухолей с детектированной МСН. Также выяснилось, что опухоли с МСН, вызванные гиперметилированием MLH1 (тип а), обнаруживались у пациентов, которые были в среднем на 18 лет старше больных КРР с отсутствием данных за аномальное метилирование гена MLH1 (тип б). Таким образом, для КРР типа (а) дебют заболевания приходился приблизительно на 70.8 лет, в то время как тип (б) диагностировался у пациентов 52.9 лет. Вдобавок, было отмечено, что КРР с МСН и гиперметилированием промоторной области MLH1 встречался в 2 раза чаще у пациентов женского пола, чем мужского, подтверждая предыдущие научные данные о том, что КРР с

МСН и гиперметилированием MLH1 встречается преимущественно у пациентов более позднего возраста и ассоциируется с женским полом [9,10].

Несмотря на то, что микросателлитную нестабильность исследуют преимущественно у пациентов с колоректальным раком, все больше научных работ подтверждают её наличие при ЗНО различной локализации. Так, например, Kollin J Pritchard et al из Вашингтонского университета (г.Сиэтл, США) в 2016 г. опубликовали статью в журнале Nature, где подробно описали использование системы MOSAIC и The Cancer Genome Atlas для изучения частоты встречаемости МСН при 18 различных видах рака, а также выделили наиболее прогностически значимые локусы для определения данного фенотипа ЗНО [17]. Проанализировав 5,930 опухолевых экзомов (на сегодняшний день это самое большое исследование МСН в мире), им удалось установить, что МСН встречается при 14 видах рака и обнаруживается, преимущественно, при раке эндометрия (30%), раке толстой кишки (19%) и раке желудка (19%).

Рак эндометрия с МСН встречается только при гистологически эндометриоидном типе опухолей, характеризуется высокой степенью злокачественности, глубоким поражением миометрия, наличием у пациенток метастатических поражений лимфатических узлов и более поздним возрастом начала заболевания [11]. Zauber N.P. et al провели довольно интересное исследование, изучив МСН у двух групп пациенток, находившихся на лечении в Медицинском Центре Святого Барнабаса (Нью Джерси, США) с диагнозом РЭ [12]. Первую и вторую группу составили пациентки, которые были на момент исследования младше (101 человек) и старше (112 человек) 50 лет соответственно. Оказалось, что среди более молодых пациенток МСН обнаружилась в 20.8% всех образцов опухолевой ткани и коррелировала с наличием синдрома Линча в семейном анамнезе. В группе пациенток старше 50 лет МСН обнаруживалась значительно чаще (35/112 образцов; 31.2%), причём только в 6 образцах (17.1%) отсутствовали данные за аномальный уровень метилирования генов MMR. Полученные данные свидетельствуют о том, что риск возникновения спорадической формы РЭ с МСН увеличивается по мере старения организма и возникает в ответ на эпигенетические нарушения в MMR, в то время как у молодых пациенток при развитии данной патологии важнейшую роль играет наследственный компонент. Другое исследование, проведённое Daiva K. et al в Институте Онкологии Вильнюсского Университета, включало 109 пациенток с диагнозом РЭ, у которых отсутствовали данные за онкологически отягощённый семейный анамнез [13]. В ходе исследования обнаружилось, что средний возраст пациенток с МСН составил 65.7 лет (возрастной диапазон: 53 -80 лет). Данный фенотип детектировался в 2 раза чаще в тех

случаях, когда опухоль выходила за пределы матки, чем в ситуации, когда опухоль локализовалась только в её пределах. Глубокое поражение миометрия (>50%) также отмечалось преимущественно в образцах с установленной МСН, подтверждая тем самым постулат о том, что МСН является прогностически неблагоприятным маркером для РЭ в любом возрасте [11].

На сегодняшний день существуют довольно противоречивые данные о возрастных особенностях рака желудка (РЖ) с МСН. Учёные из Пусанского Национального Института (г.Сеул, Южная Корея) доказали, что риск развития РЖ с МСН увеличивается по мере старения организма [14]. Помимо этого, им удалось установить, что при таком фенотипе преобладает гистологически кишечный тип опухоли, который сопровождается перинеуральной и лимфоваскулярной инвазией, что указывает на агрессивное течение данного заболевания. Другая группа исследователей из Университета Хиросимы во главе с Sasao S провела изучение МСН в различных возрастных группах пациентов с РЖ. Выяснилось, что микросателлитная нестабильность встречалась почти в 2 раза чаще у пациентов младше 40 лет (15%) и была вызвана мутациями в гене MLH3. Важную роль также играл и пол пациентов. Так, у женщин до 40 лет МСН обнаружилась в 33% случаев, тогда как у мужчин аналогичной возрастной группы данный фенотип встречался гораздо реже и составил всего лишь 9% [15]. Наконец, Kanemitsu et al из Университета Кобе в Японии сравнили частоту встречаемости МСН в двух группах пациентов с РЖ [16]. В первую группу были включены лица с онкологически отягощённым семейным анамнезом, а вторую составили пациенты со спорадическими случаями РЖ. Выяснилось, что в первой группе доля образцов опухолей ткани с МСН была значительно выше и составила 33.3%, в то время как во второй группе данный фенотип обнаружился лишь в 5.4% всех образцов.

Заключение. Таким образом, опухоли с микросателлитной нестабильностью могут обнаружиться у пациентов в любом возрасте и будут различаться по ряду клинических, молекулярных и морфологических признаков. Стоит отметить, что при всех вышеописанных ЗНО, ключевую роль в возникновении МСН играют 2 механизма: эпигенетическая инактивация и герминальные мутации генов MMR. Для первого механизма риски значительно возрастают по мере старения организма и преимущественно вызываются гиперметилированием промотора MLH1, в то время как опухоли, связанные с наследственными нарушениями MMR проявляются на более раннем этапе жизни. В заключении, женский пол является неблагоприятным прогностическим фактором развития ЗНО с МСН в любом возрасте.

Список литературы

1. Stelloo E, Versluis MA, Nijman HW, de Bruyn M, Plat A, Osse EM, van Dijk RH, Nout RA, Creutzberg CL, de Bock GH, Smit VT, Bosse T, Hollema H. Microsatellite instability derived JAK1 frameshift mutations are associated with tumor immune evasion in endometrioid endometrial cancer // *Oncotarget*. 2016 Jun 28; 7(26): 39885–39893.
2. Tanaka J, Watanabe T, Kanazawa T, et al. Left-Sided microsatellite unstable colorectal cancers show less frequent methylation of hMLH1 and CpG island methylator phenotype than right-sided ones. *J Surg Oncol*. 2007 Dec 1;96(7):611–8.
3. Miyakura Y, Sugano K, Konishi F, et al. Extensive methylation of hMLH1 promoter region predominates in proximal colon cancer with microsatellite instability. *Gastroenterology*. 2001 Dec;121(6):1300–9.
4. Lind GE, Thorstensen L, Lovig T, et al. A CpG island hypermethylation profile of primary colorectal carcinomas and colon cancer cell lines. *Mol Cancer*. 2004 Oct 11;3:28.
5. Thibodeau SN, French AJ, Cunningham JM, Tester D, Burgart LJ, Roche PC, McDonnell SK, Schaid DJ, Vockley CW, Michels VV, Farr GH Jr, O'Connell MJ. Microsatellite instability in colorectal cancer: different mutator phenotypes and the principal involvement of hMLH1 // *Cancer Res*. 1998 Apr 15;58(8):1713-8.
6. Poynter JN, Siegmund KD, Weisenberger DJ, Long TI, Thibodeau SN, Lindor N, Young J, Jenkins MA, Hopper JL, Baron JA, Buchanan D, Casey G, Levine AJ, Le Marchand L, Gallinger S, Bapat B, Potter JD, Newcomb PA, Haile RW, Laird PW; Colon Cancer Family Registry Investigators. Molecular characterization of MSI-H colorectal cancer by MLH1 promoter methylation, immunohistochemistry and mismatch repair germline mutation screening // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2008 Nov; 17(11): 3208–3215.
7. [Yiu R](#), [Qiu H](#), [Lee SH](#), [García-Aguilar J](#). Mechanisms of microsatellite instability in colorectal cancer patients in different age groups. [Dis Colon Rectum](#). 2005 Nov;48(11):2061-9.
8. Malkhosyan SR, Yamamoto H, Piao Z, Perucho M. Late onset and high incidence of colon cancer of the mutator phenotype with hypermethylated hMLH1 gene in women. *Gastroenterology*. 2000 Aug;119(2):598.

9. Breivik J, Lothe RA, Meling GI, et al. Different genetic pathways to proximal and distal colorectal cancer influenced by sex-related factors. *Int J Cancer* 1997;74:664–669.
10. Thibodeau S, French AJ, Cunningham JM, et al. Microsatellite instability in colorectal cancer: different mutator phenotypes and the principal involvement of hMLH1. *Cancer Res* 1998;58:1713–1718.
11. An HJ, Kim KI, Kim JY, Shim JY, Kang H, Kim TH, Kim JK, Jeong JK, Lee SY, Kim SJ. Microsatellite instability in endometrioid type endometrial adenocarcinoma is associated with poor prognostic indicators// *Am J Surg Pathol*. 2007 Jun;31(6):846-53.
12. Zauber NP, Denehy TR, Taylor RR, Ongcapin EH, Marotta SP, Sabbath-Solitare M, Kulkarni R, Pradhan TS, Hermelin D, Bishop DT. Microsatellite instability and DNA methylation of endometrial tumors and clinical features in young women compared with older women // *Am J Surg Pathol*. 2007 Jun;31(6):846-53.
13. Kanopiene D, Vidugiriene J, Valuckas KP, Smailyte G, Uleckiene S, Bacher J. Endometrial cancer and microsatellite instability status// *Open Med (Wars)*. 2015; 10(1): 70–76.
14. Kim JY, Shin NR, Kim A, Lee HJ, Park WY, Kim JY, Lee CH, Huh GY, Park DY. Microsatellite instability status in gastric cancer: a reappraisal of its clinical significance and relationship with mucin phenotypes // *Korean J Pathol*. 2013 Feb; 47(1): 28–35.
15. Sasao S, Hiyama T, Tanaka S, Yoshihara M, Yasui W, Chayama K. Clinicopathologic and genetic characteristics of gastric cancer in young male and female patients // *Oncol Rep*. 2006 Jul;16(1):11-5.
16. Kanemitsu K, Kawasaki K, Nakamura M, Li D, Yasuda T, Kuroda D, Yokozaki H, Kamigaki T, Kuroda Y. MSI is frequently recognized among gastric cancer patients with a family history of cancer// *Hepatogastroenterology*. 2007 Dec;54(80):2410-4.
17. Gymrek M, Willems T, Guilmatre A, Zeng H, Markus B, Georgiev S, Daly MJ, Price AL, Pritchard JK, Sharp AJ⁶, Erlich Y. Abundant contribution of short tandem repeats to gene expression variation in humans // *Nature Genetics* volume48, pages22–29 (2016)