

## Клинико-anamnestические и молекулярно-генетические критерии синдрома Линча

А.В. Семьянихина<sup>1</sup>, Н.И. Поспехова<sup>1</sup>, М.Г. Филиппова<sup>1</sup>, Д.А. Головина<sup>1</sup>, А.О. Расулов<sup>2</sup>, Л.Н. Любченко<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24;

<sup>2</sup>НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России; Россия, 105425 Москва, 3-я Парковая ул., 51, стр. 1;

<sup>3</sup>ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет); Россия, 119991 Москва, ул. Трубецкая, 8—2

**Контакты:** Александра Владимировна Семьянихина alexandra\_silina@mail.ru

Синдром Линча (СЛ) — самый частый наследственный онкологический синдром, ассоциированный с высоким риском развития рака толстой кишки, злокачественных новообразований верхних отделов желудочно-кишечного тракта, мочевыделительной системы, головного мозга, женской репродуктивной системы. В составе СЛ диагностируется единственно известная форма наследственного рака тела матки. Этиологическим фактором развития СЛ являются герминальные мутации в генах системы репарации неправильно спаренных оснований ДНК (DNA mismatch repair (MMR)). Картирование данных генов, а также открытие феномена микросателлитной нестабильности (microsatellite instability, MSI) расширило наши представления о патогенезе линч-ассоциированных опухолей и стало основой для молекулярных скрининговых исследований. Превышая в диагностической точности все разработанные ранее клинические критерии и рекомендации, MSI-тестирование наряду с оценкой экспрессии MMR-белков при иммуногистохимическом исследовании уверенно занимает лидирующее место в ранней диагностике СЛ. В данной статье приведен краткий обзор литературы, отражающий основные эволюционные этапы развития клинико-anamnestических и молекулярно-генетических критериев СЛ, а также собственные данные, демонстрирующие точность амстердамских критериев, рекомендаций Бетезда и MSI-диагностики при определении показаний для MMR-генотипирования у больных с формально-генетическим диагнозом рака толстой кишки в составе СЛ.

**Ключевые слова:** рак толстой кишки, синдром Линча, амстердамские критерии, рекомендации Бетезда, микросателлитная нестабильность

**Для цитирования:** Семьянихина А.В., Поспехова Н.И., Филиппова М.Г. и др. Клинико-anamnestические и молекулярно-генетические критерии синдрома Линча. Успехи молекулярной онкологии 2019;6(4):38–46.

DOI: 10.17650/2313-805X-2019-6-4-38-46

### Clinical, anamnestic, molecular and genetic criteria for Lynch syndrome

A.V. Semyanikhina<sup>1</sup>, N.I. Pospekhova<sup>1</sup>, M.G. Filippova<sup>1</sup>, D.A. Golovina<sup>1</sup>, A.O. Rasulov<sup>2</sup>, L.N. Lyubchenko<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia;

<sup>2</sup>N.A. Lopatkin Research Institute of Urology and Interventional Radiology — branch of National Medical Research Radiological Center, Ministry of Health of the Russia; Build. 1, 51 3<sup>rd</sup> Parkovaya St., Moscow 105425, Russia;

<sup>3</sup>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Ministry of Health of Russia; 8—2 Trubetskaya St., Moscow 119991, Russia

Lynch syndrome is the most common cancer-prone syndrome associated with a high risk of colorectal cancer (CRC), neoplasms of the upper gastrointestinal system, the urinary tract, the female reproductive system, brain tumours and others. The only known form of hereditary endometrial cancer is also diagnosed as part of Lynch syndrome. One or more pathogenic germline mutations in one of the mismatch repair (MMR) genes are the cause of Lynch syndrome. Mapping of MMR genes and the discovery of microsatellite instability (MSI) have given rise to the possibility of using these clue characteristics of the pathogenic process for the elaboration of a screening test for Lynch syndrome. Being highly accurate and superior to all previously developed clinical criteria and guidelines, MSI-testing along with the assessment of the expression patterns of MMR proteins by immunohistochemistry has taken the leading role in the early diagnosis of Lynch syndrome. This article focuses on a brief review about the main evolutionary stages of clinical, anamnestic, molecular and genetic criteria for Lynch syndrome together with the results of our own research on the accuracy of the Amsterdam criteria, the Bethesda guidelines and MSI-diagnostics in the determination of the indications for MMR-genotyping in colorectal cancer patients suspected for Lynch syndrome.

**Key words:** colorectal cancer, Lynch syndrome, the Amsterdam criteria, the Bethesda guidelines, microsatellite instability

**For citation:** Semyanikhina A.V., Pospekhova N.I., Filippova M.G. et al. Clinical, anamnestic, molecular and genetic criteria for Lynch syndrome. Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology 2019;6(4):38–46. (In Russ.).

## Введение

Наследственная синдромальная патология в структуре злокачественных новообразований (ЗНО) толстой кишки регистрируется в 5–10 % случаев, при этом самым частым ее вариантом является синдром Линча (СЛ), один из наиболее изученных наследственных синдромов, на долю которого приходится до 3 %, т. е. подавляющее большинство случаев генетически обусловленных форм колоректального рака [1–3]. СЛ — самый частый наследственный синдром<sup>1</sup>, обуславливающий высокий риск онкологических заболеваний, с частотой аллельного носительства патологических вариантов в генах системы репарации неспаренных оснований ДНК (DNA mismatch repair (MMR)) 1:400 в общей популяции. Являясь реже диагностируемым состоянием, СЛ уступает в распространенности лишь наследственному раку молочной железы и/или яичников, где герминальные BRCA-мутации определяются у 1 на 500–1000 человек [1, 4, 5]. Продолжительное время СЛ был синонимичной номенклатурной единицей с наследственным неполипозным раком толстой кишки для дифференциального отличия от истинных полипозных вариантов наследственного колоректального рака. В настоящее время СЛ определяется как самостоятельная нозологическая форма, диагностическим критериям которой не противоречит наличие у пациента олигополипозного поражения желудочно-кишечного тракта. Генетическая и фенотипическая гетерогенность СЛ, обусловленная в первую очередь молекулярной природой данного заболевания, определяет выраженный клинический перекрест с другой синдромальной опухолевой патологией толстой кишки прежде всего с рецессивно-наследуемыми полипозными состояниями, такими как *MUTYH*- и *NTHL1*-ассоциированный полипоз, синдром биаллельной инактивации MMR-генов, а также некоторыми моногенными заболеваниями (*POLE/POLD1*-ассоциированный синдром, синдром Коудена и др.).

Этиологическим фактором развития опухолей в составе СЛ является снижение эффективности работы системы репарации неправильно спаренных оснований, обусловленный в подавляющем большинстве случаев герминальными мутациями в генах *MLH1/MSH2* (70–85 %), реже в генах *MSH6*, *PMS2* и *EPCAM* [4–6]. Наследуемые эпимутации в гене *MLH1*, нарушения, вклад которых в развитие данной синдромальной патологии подтвержден относительно недавно, также ассоциированы с развитием СЛ, однако остаются крайне редко и/или гиподиагностируемыми молекулярными изменениями [7]. Геномная нестабильность, реализуемая через недостаточность репаративных механизмов при СЛ, проявляется микросателлитной нестабильностью (microsatellite instability, MSI) — ведущим диагностическим скрининго-

вым маркером, тестирование которого включено во все международные диагностические стандарты для всех вновь диагностированных случаев рака толстой кишки (РТК) [8–10].

Основными клиническими проявлениями СЛ являются РТК и рак тела матки у женщин, кумулятивные риски которых на протяжении жизни достигают 80 и 60 % соответственно [11]. Другие реже манифестирующие опухоли — ЗНО вышеразположенных отделов пищеварительного тракта, органов мочевыделительной системы, гепатобилиарной системы, кожи, яичников у женщин и др. [11]. Риски развития опухолей указанных локализаций зависят от генотипа пациента. Так, больные-носители патологического *MSH2*-генотипа характеризуются как большей вероятностью онкологической патологии мочеполовой системы, так и в целом более широким спектром вторых первичных опухолей [11].

Линч-ассоциированный колоректальный рак как основная форма онкологических заболеваний, наблюдаемых при СЛ, характеризуется определенными клинико-морфологическими чертами, позволяющими в ряде случаев уже на додиагностическом этапе если не предположить наследственный характер заболевания, то усомниться в отсутствии вклада нарушений MMR-системы в патогенезе этой опухоли у данного больного. Молодой возраст манифестации заболевания, правосторонняя локализация опухолевого поражения, муцинозный, перстневидноклеточный, медуллярный гистотип низкой степени дифференцировки, кроноподобная лимфоидная реакция, а также первично-множественные опухоли толстой кишки определяют MMR-дефицитный фенотип, обусловленный у молодых больных в подавляющем большинстве случаев герминальными мутациями, у пациентов старшей возрастной группы — соматическими изменениями в генах системы репарации неправильно спаренных оснований [9, 12, 13]. Возрастная граница РТК в составе СЛ является крайне относительным понятием, как и спектр ЗНО, ассоциированных с СЛ, который, как показано в недавних исследованиях, может включать практически любую нозологическую опухолевую единицу [14].

Для дифференциации больных с формально-генетическим диагнозом СЛ в 1990-е годы последовательно разработаны и внедрены в практику клинические критерии Амстердам I и Амстердам II, соответствие которым являлось прямым показанием для ДНК-диагностики генов MMR-системы [15, 16]. Консенсусные клинические критерии для диагностики СЛ были впервые представлены в 1991 г. и обозначены как амстердамские критерии [8]. Так называемые критерии «3-2-1» подразумевали наличие не менее 3 родственников с колоректальным раком,

<sup>1</sup>На сегодняшний день описано около 200 наследственных онкологических синдромов, ответственных за 5–10 % всех случаев злокачественных опухолей различных локализаций [1].

не менее чем в 2 пораженных поколениях, не менее чем с 1 больным членом семьи в возрасте моложе 50 лет. Расширение спектра опухолей, ассоциированных с СЛ, привело к пересмотру исходного варианта, и в 1999 г. представлены дополненные амстердамские критерии (табл. 1) [9].

С открытием патогенетического «фундамента», характеризующего генотип опухолей в составе СЛ — микросателлитной нестабильности, рекомендации Бетезда, опирающиеся на анамнестические и клинкоморфологические данные больных, вводят MSI-тестирование как обязательное диагностическое исследование для последующей молекулярно-генетической диагностики [17, 18]. Картирование генов MMR-системы, а также внедрение в клиническую практику тестирования позволили оптимизировать скрининговую

программу, направленную на селективный отбор больных для последующего ДНК-генотипирования через определение MSI-статуса в образце опухолевой ткани. Показания для выполнения данного исследования и определяют рекомендации Бетезда (см. табл. 1), учитывающие помимо семейной истории клинические данные пациента и гистологические особенности опухоли (так называемый линчподобный, или MSI-High-подобный, фенотип) [10, 11].

Несмотря на высокую специфичность критериев Амстердам, особенно I пересмотра, а также крайне высокую специфичность рекомендаций Бетезда, точность данных диагностических критериев крайне низкая, что не позволяет применять их как надежный скрининговый метод отбора больных с СЛ. В ряде исследований показано, что половина больных с мо-

**Таблица 1.** Клинические критерии Амстердам I, Амстердам II и рекомендации Бетезда

**Table 1.** Amsterdam I, Amsterdam II clinical criteria and the Bethesda guidelines

Клинические критерии/ рекомендации Clinical criteria/guidelines	Описание Description
Амстердам I Amsterdam I	1. Три родственника с РТК 2. Один член семьи с РТК является родственником I степени родства по отношению к двум другим с РТК 3. Накопление случаев РТК более чем в 1 поколении 4. Не менее 1 родственника с РТК в возрасте до 50 лет 5. Семейный аденоматозный полипоз должен быть исключен 1. At least three relatives with CRC 2. One relative with CRC is a first-degree relative of the other two relatives with CRC 3. At least two successive generations with CRC 4. At least 1 relative diagnosed before the age of 50 5. Familial adenomatous polyposis should be excluded
Амстердам II Amsterdam II	1. Три родственника со ЗНО из спектра СЛ 2. Один член семьи со ЗНО из спектра СЛ является родственником I степени родства по отношению к двум другим со ЗНО из спектра СЛ 3. Накопление случаев ЗНО из спектра СЛ более чем в 1 поколении 4. Не менее 1 родственника со ЗНО из спектра СЛ в возрасте до 50 лет 5. Семейный аденоматозный полипоз должен быть исключен 1. At least three relatives with a MT from the SL spectrum 2. One relative with a MT from the SL spectrum is a first-degree relative of the other two relatives with a MT from the SL spectrum 3. At least two successive generations with a MT from the SL spectrum 4. At least 1 relative with a MT from the SL spectrum diagnosed before the age of 50 5. Familial adenomatous polyposis should be excluded
Бетезда Bethesda	1. РТК у пациента в возрасте до 50 лет 2. Синхронный или метакронный первично-множественный РТК или другие ЗНО из спектра СЛ 3. MSI-High-ассоциированные морфологические черты опухоли у пациента моложе 60 лет 4. Не менее 1 родственника I степени родства со ЗНО из спектра СЛ в возрасте до 50 лет 5. РТК у больного при наличии 2 и более родственников I или II степени родства со ЗНО из спектра СЛ 1. CRC diagnosed in a patient who is less than 50 years of age 2. Presence of synchronous or metachronous multiple primary CRC or other MT from the LS spectrum 3. MSI-High-associated morphological characteristics of the tumor in a patient under 60 years of age 4. At least 1 relative with a MT from the LS spectrum diagnosed under the age of 50 years 5. CRC in a patient with at least 2 first- or second-degree relatives with a MT from the LS spectrum

**Примечание.** РТК — рак толстой кишки; ЗНО — злокачественное новообразование; СЛ — синдром Линча; MSI-High — высокий уровень микросателлитной нестабильности.

**Note.** CRC — colorectal cancer; MT — malignant tumour; LS — Lynch syndrome; MSI-High — high level of microsatellite instability.

лекулярно-верифицированным СЛ не будет соответствовать критериям Амстердам II, а специфичность рекомендаций Бетезда обратно пропорциональна их чувствительности [5, 19–22]. Аналитические математические модели, такие как MMRpro [23], PREMM [24, 25], MMR predict [26], также не показали высокой скрининговой эффективности, будучи ориентированными на определение группы риска, нежели чем на всю популяцию больных с СЛ. В связи с этим диагностические критерии при СЛ закономерно эволюционировали от клиничко-анамнестического подхода до определения опухолеассоциированных маркеров с последующим генотипированием генов MMR-системы [27].

На сегодняшний день представлены 2 самостоятельные методики, независимо выступающие как скрининговые диагностические тесты при СЛ: определение MSI-статуса с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) и иммуногистохимическое (ИГХ) исследование для оценки экспрессии MMR-белков [27, 28].

MSI-тестирование, основанное на детекции длинны как минимум 5 микросателлитных повторов в опухолевой ДНК, является регламентированным и высокоточным методом, особенно при применении панели однонуклеотидных маркеров, одобренных NIH (BAT25, BAT26, NR21, NR24, NR27) [17]. При наличии 2 и более нестабильных маркеров опухоль считается микросателлитно-нестабильной с высоким уровнем данного показателя и обозначается как MSI-High. Один нестабильный маркер относит образец к РТК с низким уровнем микросателлитной нестабильности — MSI-Low. Статус MSI-High влечет за собой необходимость применения ряда дополнительных диагностических тестов, таких как оценка *BRAF*-генотипа и определение гиперметилирования промоторной области гена *MLH1*, особенно у больных старшей возрастной группы [21]. При отсутствии соматических мутаций в гене *BRAF* и/или аномального метилирования в гене *MLH1* выполняется последующее молекулярно-генетическое исследование на предмет наличия герминальных мутаций в генах MMR-системы [9].

Число исследуемых MMR-белков при ИГХ-диагностике варьирует в различных исследовательских центрах. При этом оценка статуса как минимум 2 маркеров — *MLH1* и *MSH2* — является обязательной, в большинстве случаев она дополняется белками *PMS2* и *MLH6*, образующими гетеродимеры с 2 вышеуказанными белками [29]. Чувствительность ИГХ-исследования в таком случае составляет 83 %, специфичность — 89 % [30]. По аналогии с ПЦР-тестированием при изолированной утрате экспрессии гена *MLH1* рекомендуется оценка *BRAF*-генотипа и статуса метилирования промоторной области гена *MLH1*. Весомым преимуществом ИГХ-исследования перед ПЦР-методом является сужение диагностического поиска за счет определения утраты экспрессии конкретного белкового маркера,

что невозможно оценить с помощью ПЦР-методики. Внедрение технологий секвенирования нового поколения (next generation sequencing, NGS) с возможностью применения в ДНК-диагностике наследственных заболеваний таргетных панелей, изучения клинического экзоста или полноэкзонного/полногеномного секвенирования, однако, нивелирует данную разницу. В целом определение статуса MSI или оценка MMR-экспрессии позволяют не пропустить более 90 % больных с СЛ, что значительно превосходит в точности и эффективности все клинические критерии.

Решением скринингового этапа при диагностике СЛ в ближайшие годы может стать комплексная синхронная оценка дефицита в MMR-системе, а также сопутствующих соматических нарушений с помощью технологий NGS. Разработанные на сегодняшний день тестовые платформы, такие как SINGH, MSI sensor, приближают чувствительность и специфичность данного скринингового метода к 96–100 % [31, 32]. Оценивая состояние множественного количества локусов кандидатов, данные платформы позволяют изучить соматический профиль генов MAPK-киназного пути, токсичности и др., широко варьируя в выборе маркеров, в зависимости от потребностей лаборатории-заказчика.

Цель нашего экспериментального исследования, дополняющего представленный аналитический обзор, — оценка точности клинических критериев Амстердам I и Амстердам II у больных РТК с формально-генетическим диагнозом СЛ при клиническом соответствии рекомендациям Бетезда.

### Материалы и методы

В исследование включены 117 пациентов (57 (48,7 %) мужчин и 60 (51,3 %) женщин) с формально-генетическим диагнозом наследственного РТК в составе СЛ, которые проходили обследование и/или находились на лечении в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина с 1972 по 2018 г. Медико-генетическое консультирование проведено в Медико-генетическом центре НИИ клинической онкологии им. Н.Н. Трапезникова на базе научно-консультативного отделения НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина. Все больные клинически соответствовали пересмотренным рекомендациям Бетезда, семейный аденоматозный полипоз исключен по клиничко-анамнестическим данным.

ДНК-генотипирование на предмет наличия герминальных мутаций в генах *MLH1* (экзоны 1–19; RefSeq ENST00000231790.2) и *MSH2* (экзоны 1–16, RefSeq ENST00000233146.2) в объеме оценки первичной структуры кодирующей части и сайтов-сплайсинга выполнено всем пациентам исследуемой группы. Статус MSI в образце опухолевой ткани с применением стандартной панели однонуклеотидных маркеров (BAT25, BAT26, NR21, NR24, NR27) оценен у 28 больных с молекулярно-верифицированным СЛ,



а также у 10 пациентов с СЛ с помощью ИГХ-метода (оценка экспрессии MLH1, MSH2, MSH6, PMS2). Двум больным MSI-тестирование не выполнено в связи с отсутствием биологического материала. Все молекулярно-генетические исследования проведены на базе лаборатории клинической онкогенетики НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с применением программы математической обработки данных IBM SPSS Statistics (версия 22.0, SPSS, Inc., Chicago, IL, США), а также компьютерной программы Microsoft Excel. Соответствие критериям Амстердам оценивали с помощью анализа клиничко-анамнестических данных больных. Чувствительность диагностических критериев определяли как долю истинно положительных диагнозов среди больных, соответствующих критериям; специфичность — как долю истинно отрицательных диагнозов среди больных, не соответствующих критериям. Точность метода определяли по отношению числа истинно положительных и истинно отрицательных диагнозов к общему числу окончательных диагнозов.

### Результаты

В представленном исследовании при анализе основных клинических характеристик группы пациентов средний возраст на момент манифестации РТК составил  $41,8 \pm 1,2$  года. У 43 (36,8 %) больных колоректальный рак диагностирован в составе первично-множественных ЗНО. В среднем у каждого пациента диагностировано 3 (2–7) ЗНО. Временной интервал до манифестации последующей первичной опухоли составил  $3,6 \pm 1,5$  (0–26) года. Самыми частыми вторыми ЗНО были синхронный или метакронный РТК

(51 % ( $n = 43$ )) и рак тела матки (12 % ( $n = 10$ )). Частота вторых первичных опухолей представлена на рис. 1.

Отягощенный онкологический семейный анамнез отмечен у 105 (89,7 %) пациентов. При анализе родословных:

- число родственников со ЗНО в среднем составило 3 (1–12) человека;
- число пораженных поколений — 2,5 (1–4);
- наличие родственников I степени родства с любым ЗНО независимо от возраста выявлено у 81 (77,1 %) больного, у 32 (39,5 %) из них диагностирован РТК в возрасте до 50 лет;
- наличие родственников II степени родства со ЗНО выявлено у 80 (76,2 %) больных;
- наличие родственников III степени родства со ЗНО выявлено у 32 (30,5 %) больных;
- среднее число родственников I степени родства со ЗНО в среднем составило 2 (0–6);
- среднее число родственников II степени родства со ЗНО — 2 (0–5);
- среднее число родственников III степени родства со ЗНО — 1 (0–2).

На рис. 2 представлен спектр ЗНО в семейном анамнезе больных с формально-генетическим диагнозом СЛ.

При оценке первичной структуры кодирующей части генов *MLH1* и *MSH2* патогенные клинически значимые герминальные мутации выявлены у 30 больных (25,6 %); в гене *MLH1* — у 17 (56,6 %), в гене *MSH2* — у 13 (43,4 %).

Отягощенный онкологический семейный анамнез зарегистрирован у 28 (93,3 %) больных с СЛ. Отсутствие онкологической нагруженности отмечено у 1 пациента с патологическим *MLH1*-генотипом и у 1 боль-

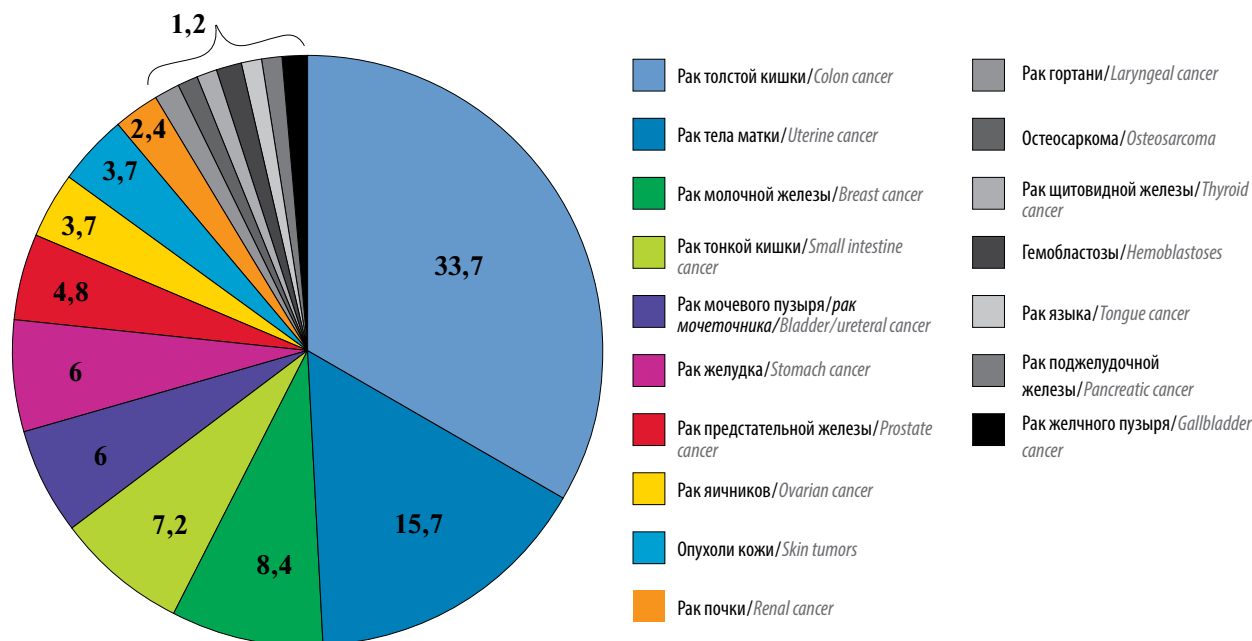


Рис. 1. Частота вторых первичных опухолей у больных с формально-генетическим диагнозом синдрома Линча, %  
Fig. 1. Frequency of secondary primary tumors in patients with formal genetic diagnosis of Lynch syndrome, %

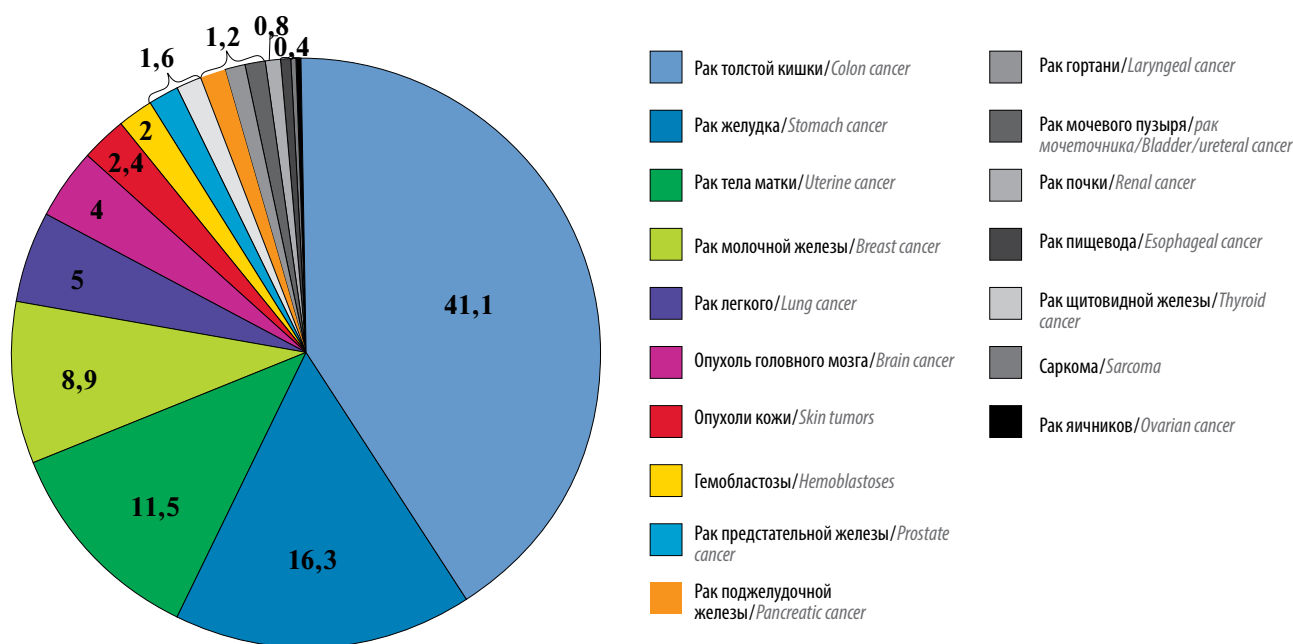


Рис. 2. Спектр злокачественных новообразований в семейном анамнезе больных с формально-генетическим диагнозом синдрома Линча, %  
Fig. 2. Spectrum of malignant tumors in family history of patients with formal genetic diagnosis of Lynch syndrome, %

ного с герминальной мутацией в гене *MSH2*. При анализе родословных:

- наличие родственников I степени родства со ЗНО выявлено у 27 (96,4 %) больных, у 15 (55,5 %) из них диагностирован РТК в возрасте до 50 лет;
- наличие родственников II степени родства со ЗНО выявлено у 24 (85,7 %) больных;
- наличие родственников III степени родства со ЗНО выявлено у 9 (32,1 %) больных;
- число пораженных поколений в среднем составило 2,7 (2–4);
- среднее число родственников со ЗНО в родословной – 4,1 (0–12);
- среднее число родственников I степени родства со ЗНО в родословной – 1,6 (0–5);
- среднее число родственников II степени родства со ЗНО в родословной – 2,4 (0–5);
- среднее число родственников III степени родства со ЗНО в родословной – 1,4 (0–2).

Все пациенты, включенные в исследование, клинически соответствовали пересмотренным рекомендациям Бетезда, при этом молекулярной верификации генетического диагноза СЛ удалось достичь только у 30 (25,6 %) больных.

При оценке чувствительности и специфичности амстердамских критериев наиболее высокое значение точности (85 %) показано для критериев I пересмотра. Критерии Амстердам I, являясь крайне строгими, при специфичности 90 % не позволили отобрать для ДНК-диагностики 41 % больных с СЛ, критерии Амстердам II – 31 %. В табл. 2 представлена точность критериев Амстердам I и Амстердам II для пациентов, включенных в исследование.

При оценке статуса микросателлитной нестабильности наличие более одного нестабильного маркера (MSI-High) в образцах колоректального рака у больных с СЛ выявлено во всех исследованных случаях при наличии опухолевого материала у пациента. У 6 больных

Таблица 2. Точность критериев Амстердам I (КАI) и Амстердам II (КАII) для пациентов с формально-генетическим диагнозом синдрома Линча, включенных в исследование

Table 2. Accuracy of Amsterdam I (AI) and Amsterdam II (AII) criteria for patients with formal genetic diagnosis of Lynch syndrome included in the study

Критерии Criteria	Чувствительность, % Sensitivity, %	Специфичность, % Specificity, %	Точность, % Accuracy, %
Амстердам I Amsterdam I	КАI+/СЛ+ АI+/LS+ 59	КАI–/СЛ– АI–/LS– 90	85
Амстердам II Amsterdam II	КАII+/СЛ+ АII+/LS+ 69	КАII–/СЛ– АII–/LS– 75	75

нестабильный MMR-фенотип определен в образцах опухолей других линч-ассоциированных локализаций (рак яичников, рак тела матки, рак мочевого пузыря, рак тонкой кишки).

### Обсуждение

Основной целью настоящего исследования была оценка точности первых разработанных клинических рекомендаций, позволяющих идентифицировать больных с формально-генетическим диагнозом СЛ с последующим изучением вклада рекомендаций Бетезда и MSI-тестирования в скрининговый этап диагностики данного синдрома. Для достижения цели все больные, включенные в исследование, исходно соответствовали по клинико-анамнестическим данным пересмотренным рекомендациям Бетезда, что явилось основным критерием для ДНК-генотипирования на предмет наличия герминальных мутаций в генах *MLH1* и *MSH2*. Для всех молекулярно-верифицированных случаев СЛ выполнена MSI-диагностика на доступных для исследования образцах биологического материала.

Рекомендации Бетезда, разработанные для селективного отбора пациентов для последующей оценки статуса микросателлитной нестабильности в образце опухоли и при наличии высокого показателя — поиска герминальных мутаций в генах системы MMR, являются, безусловно, более чувствительными относительно амстердамских критериев отбора (65 % vs 50 % [16, 22]), однако значительно уступают последним по специфичности. Низкие значения точности для всех клинических критериев показаны и в нашем исследовании. Обладая достаточно высоким показателем специфичности (90 %), критерии Амстердам I показали ложноотрицательный результат у 41 % пациентов с СЛ, критерии Амстердам II — у 31 %.

На современном этапе, безусловно, применение только клинико-анамнестических данных больных РТК при определении показаний для ДНК-генотипирования в качестве инициального теста является оправданным только в случае отсутствия биологического опухолевого материала для проведения MSI-тестирования. Другой возможной причиной для отказа от скринингового исследования является высокий риск ложноотрицательного результата в связи с недостаточными качественно количественными характеристиками опухолевой ткани. С открытием молекулярной природы СЛ, микросателлитной нестабильности, как главного следствия, отражающего нарушения в системе репарации неправильно спаренных оснований, клинические критерии в качестве скринингового этапа при СЛ были практически полностью вытеснены исследованиями, основанными на изучении опухолеассоциированных маркеров. Являясь экономически оправданным, менее трудоемким, стандартизованным, доступным и, самое

главное, высокоточным диагностическим показателем, MSI-тестирование согласно большинству международных рекомендаций (NCCN, ASCO, ASMG и др.) выполняется всем пациентам с РТК в целях исключения СЛ [8–10]. Отсутствие назначения данного исследования может быть оправдано лишь для больных колоректальным раком возрастной категории старше 70 лет при наличии несоответствия пересмотренным рекомендациям Бетезда [8].

В нашей работе высокий уровень микросателлитной нестабильности (MSI-High) выявлен во всех исследованных образцах опухолевой ткани больных с СЛ с доступными для MSI-тестирования образцами биологического материала, в том числе у пациентов с «негативным» семейным анамнезом и при манифестации СЛ в возрасте старше 50 лет. Показана полная конкордантность между MSI-тестированием и определением экспрессионного профиля белков MMR-системы с помощью ИГХ-метода. Аналогичный высокий показатель совпадения результатов 2 указанных методов доказан и в других международных исследованиях (97,5 % и 98,3 % по данным исследований A.L. Schwark и соавт. и L. Moreira и соавт. [14, 33]).

В представленном исследовании в диагностическую панель для определения статуса микросателлитной нестабильности включены 5 высокоинформативных, специфичных и патогномоничных однонуклеотидных маркеров для диагностики нарушений в системе репарации неправильно спаренных оснований: BAT25, BAT26, NR21, NR24, NR27. Изучение менее точных маркеров, в том числе динуклеотидных повторов, бесспорно, повышает вероятность диагностики микросателлитной нестабильности, однако снижает диагностическую точность в отношении СЛ. В связи с тем, что геномная нестабильность может быть ассоциирована с нарушениями в функционировании и в других репаративных системах, необходимо точно различать диагностические цели при назначении MSI-тестирования: исключение СЛ, определение стратегии адъювантного лечения у больных локализованным РТК или определение показаний для иммунотерапии у пациентов с диссеминированным РТК, для которых расширение диагностической панели маркеров является диагностически оправданным. У 6 больных с СЛ в нашем исследовании нестабильный MMR-фенотип определен в образцах опухолей других линч-ассоциированных локализаций (рак яичников, рак тела матки, рак мочевого пузыря и рак тонкой кишки), что подтверждает общность патогенетических путей развития ЗНО эпителиальной природы в составе СЛ. При этом маркеры, обладающие высокой специфичностью и успешно детектирующие MSI-High в опухолях толстой кишки, демонстрируют диагностическую эффективность и в опухолях других линч-ассоциированных локализаций.

## Заключение

Амстердамские критерии наряду с рекомендациями Бетезда эволюционно уступили свое место современным скрининговым подходам, основанным на определении биологических маркеров в опухоли, и закономерно могут рассматриваться как исторический этап в диагностике СЛ. Расширение знаний о данной синдромальной патологии, в том числе о спектре опухолевой патологии, возрастных и интервальных границах реализации патологического генотипа у больных с герминальными мутациями в генах MMR-системы, не позволяет ни одному клиническому критерию выступать независимым предиктивным маркером при СЛ. Внедрение технологий

NGS, с высокой специфичностью выявляющих нестабильность микросателлитных локусов, позволит повысить эффективность диагностики данных нарушений у больных с различными нозологическими формами онкологических заболеваний, так как маркерный ряд нестабильных повторов варьирует в достаточно широких диапазонах между различными опухолями. В связи с высокой стоимостью (на сегодняшний день) эти технологии в нашей стране не внедрены в клиническую практику, оставаясь нишей для клинических исследований и оставляя за ПЦР-тестированием MSI с применением стандартных панелей и ИГХ-диагностическим методом ведущее место в скрининге СЛ.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Nagy R., Sweet K., Eng C. Highly penetrant hereditary cancer syndromes. *Oncogene* 2004;23(38):6445–70. DOI: 10.1038/sj.onc.1207714.
2. Giardiello F.M., Allen J.I., Axilbund J.E. et al. Guidelines on genetic evaluation and management of Lynch syndrome: a consensus statement by the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer. *Gastroenterology* 2014;147(2):502–26. DOI: 10.1053/j.gastro.2014.04.001.
3. Lynch H.T., de la Chapelle A. Hereditary colorectal cancer. *N Engl J Med* 2003;348(10):919–32. DOI: 10.1056/NEJMra012242.
4. Hampel H., Frankel W.L., Martin E. et al. Screening for the Lynch syndrome (hereditary non-polyposis colorectal cancer). *N Engl J Med* 2005;352(18):1851–60. DOI: 10.1200/JCO.2008.17.5950.
5. Barnettson R.A., Tenesa A., Farrington S.M. et al. Identification and survival of carriers of mutations in DNA mismatch-repair genes in colon cancer. *N Engl J Med* 2006;354(26):2751–63. DOI: 10.1056/NEJMoa053493.
6. Engel C., Loeffler M., Steinke V. et al. Risks of less common cancers in proven mutation carriers with lynch syndrome. *J Clin Oncol* 2012;30(35):4409–15. DOI: 10.1200/JCO.2012.43.2278.
7. Hitchins M.P., Ward R.L. Constitutional (germline) MLH1 epimutation as an aetiological mechanism for hereditary non-polyposis colorectal cancer. *J Med Genet* 2009;46(12):793–802. DOI: 10.1136/jmg.2009.068122.
8. American Society of clinical oncology. Hereditary Colorectal Cancer Syndromes Endorsement of the Familial Risk—Colorectal Cancer ESMO Guideline Available at: [www.asco.org/endorsements/HereditaryCRC](http://www.asco.org/endorsements/HereditaryCRC).
9. National Comprehensive Cancer Network. Available at: [http://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/genetics\\_colon.pdf](http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/genetics_colon.pdf).
10. American College of Medical Genetics and Genomics. Available at: <https://www.acmg.net/>.
11. Kohlmann W., Gruber S.B. Lynch syndrome. *Gene Reviews at GeneTests: Medical Genetics Information Resource*. University of Washington, Seattle 1993–2014. Available at: <http://www.genetests.org>.
12. Jaspersen K.W., Tuohy T.M., Nekla-D.W. et al. Hereditary and familial colon cancer. *Gastroenterology* 2010;138(6):2044–58. DOI: 10.1053/j.gastro.2010.01.054.
13. Kastrinos F., Stoffel E.M. History, Genetics, and strategies for cancer prevention in Lynch syndrome. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014;12(5):715–27. DOI: 10.1016/j.cgh.2013.06.031.
14. Schwark A.L., Srinivasan P., Kemel Y. et al. Pan-cancer microsatellite instability to predict for presence of Lynch syndrome. *J Clin Oncol* 36(18 suppl):LBA1509.
15. Vasen H.F., Mecklin J.P., Watson P. et al. Surveillance in hereditary non-polyposis colorectal cancer: an international cooperative study of 165 families. The International Collaborative Group on HNPCC. *Dis Colon Rectum* 1993;36:1–4. DOI: 10.1007/BF02050292.
16. Vasen H.F., Watson P., Mecklin J.P., Lynch H.T. New clinical criteria for hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative group on HNPCC. *Gastroenterology* 1999;116:1453–6. DOI: 10.1016/S0016-5085(99)70510-X.
17. Boland C.R., Thibodeau S.N., Hamilton S.R. et al. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res* 1998;58:5248–57.
18. Umar A., Boland C.R., Terdiman J.P. et al. Revised Bethesda guidelines for hereditary non-polyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J Natl Cancer Inst* 2004;96:261–8. DOI: 10.1093/jnci/djh281.
19. Hampel H., Frankel W.L., Martin E. et al. Feasibility of screening for Lynch syndrome among patients with colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008;26(35):5783–8. DOI: 10.1200/JCO.2008.17.5950.
20. Vasen H.F. Clinical diagnosis and management of hereditary colorectal cancer syndromes. *J Clin Oncol* 2000;18(21 Suppl):81S–92S.
21. Raedle J., Trojan A., Brieger J. et al. Bethesda guidelines: relation to microsatellite instability and MLH1 promoter methylation in patients with colorectal cancer. *Ann Intern Med* 2001;135(8 Pt 1):566–76. DOI: 10.7326/0003-4819-135-8\_part\_1-200110160-00007.
22. Piñol V., Castells A., Andreu M. et al. Accuracy of revised Bethesda guidelines, microsatellite instability, and immunohistochemistry for the identification of patients with hereditary non-polyposis colorectal cancer. *JAMA* 2005;293(16):1986–94. DOI: 10.1001/jama.293.16.1986.
23. Chen S., Wang W., Lee S. et al. Prediction of germline mutations and cancer risk in the Lynch syndrome. *JAMA* 2006;296:1479–87. DOI: 10.1001/jama.296.12.1479.
24. Kastrinos F., Steyerberg E.W., Balmana J. et al. Comparison of the clinical prediction model PREMM1,2,6 and molecular testing for the systematic identification of Lynch syndrome in colorectal cancer. *Gut* 2013;62:272–9. DOI: 10.1136/gutjnl-2011-301265.



25. Kastrinos F., Steyerberg E.W., Mercado R. et al. The PREMM1,2,6 model predicts risk of MLH1, MSH2, and MSH6 germline mutations based on cancer history. *Gastroenterology* 2011;140:73–81. DOI: 10.1053/j.gastro.2010.08.021.
26. Green R.C., Parfrey P.S., Woods M.O., Younghusband H.B. Prediction of Lynch syndrome in consecutive patients with colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst* 2009;101:331–40. DOI: 10.1093/jnci/djn499.
27. Cohen S.A., Pritchard C.C., Jarvik G.P. Lynch syndrome: from screening to diagnosis to treatment in the era of modern molecular oncology. *Annu Rev Genom Hum Genet* 2019;20:293–307. DOI: 10.1146/annurev-genom-083118-015406.
28. Tiwari A.K., Roy H.K., Lynch H.T. Lynch syndrome in the 21st century: clinical perspectives. *QJM* 2016;109(3):151–8. DOI: 10.1093/qjmed/hcv137.
29. Pearlman R., Markow M., Knight D. et al. Two-stain immunohistochemical screening for Lynch syndrome in colorectal cancer may fail to detect mismatch repair deficiency. *Mod Pathol* 2018;31:1891–900. DOI: 10.1038/s41379-018-0058-y.
30. Evaluation of Genomic Applications in Practice and Prevention (EGAPP) Working Group. Recommendations from the EGAPP Working Group: genetic testing strategies in newly diagnosed individuals with colorectal cancer aimed at reducing morbidity and mortality from Lynch syndrome in relatives. *Genet Med* 2009;11:35–41. DOI: 10.1097/GIM.0b013e31818fa2ff.
31. National Comprehensive Cancer Network. Available at: [https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls).
32. Salipante S.J., Scroggins S.M., Hampel H.L. et al. Microsatellite instability detection by next generation sequencing. *Clin Chem* 2014;60(9):1192–9.
33. Moreira L., Balaguer F., Lindor N. et al. Identification of Lynch syndrome among patients with colorectal cancer. *JAMA* 2012;308(15):1555–65.

#### Вклад авторов

А.В. Семьянихина: получение данных для анализа, анализ полученных данных (включая статистический), обзор публикаций по теме статьи, написание текста рукописи;

Н.И. Поспехова, Д.А. Головина: получение данных для анализа, анализ полученных данных;

М.Г. Филиппова: получение данных для анализа;

А.О. Расулов, Л.Н. Любченко: разработка дизайна исследования, анализ полученных данных.

#### Authors' contributions

A.V. Semyanikhina: obtaining data for analysis, analysis of the obtained data (including statistical), reviewing of publications of the article's theme, article writing;

N.I. Pospekhova, D.A. Golovina: obtaining data for analysis, analysis of the obtained data;

M.G. Filippova: obtaining data for analysis;

A.O. Rasulov, L.N. Lyubchenko: developing the research design, analysis of the obtained data.

#### ORCID авторов/ORCID of authors

А.В. Семьянихина/A.V. Semyanikhina: <https://orcid.org/0000-0001-8783-8874>

Н.И. Поспехова/N.I. Pospekhova: <https://orcid.org/0000-0001-5255-5065>

М.Г. Филиппова/M.G. Filippova: <https://orcid.org/0000-0001-9654-822X>

А.О. Расулов/A.O. Rasulov: <https://orcid.org/0000-0002-5565-615X>

Л.Н. Любченко/L.N. Lyubchenko: <https://orcid.org/0000-0003-4775-3299>

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

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

**Финансирование.** Исследование проведено без спонсорской поддержки.

**Financing.** The study was performed without external funding.

**Информированное согласие.** Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

**Informed consent.** All patients gave written informed consent to participate in the study.

**Статья поступила:** 23.10.2019. **Принята к публикации:** 28.10.2019.

**Article submitted:** 23.10.2019. **Accepted for publication:** 28.10.2019.