

Для цитирования: Пашков Д.В., Венина А.Р., Иванцов А.О., Янус Г.А., Раскин Г.А., Имянитов Е.Н., Кубрина С.Е., Микушина А.Д., Манихас Г.М., Пономарева Е.В., Дзидзава И.И., Иевлева А.Г. Рак толстой кишки с микросателлитной нестабильностью у пожилых больных: роль иммунодефицита и клинические особенности. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(1): 31–39. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-1-31-39.

For citation: Pashkov D.V., Venina A.R., Ivantsov A.O., Yanus G.A., Raskin G.A., Imyanitov E.N., Kubrina S.E., Mikushina A.D., Manikhas G.M., Ponomareva E.V., Dzidzava I.I., Iyevleva A.G. Microsatellite-unstable colorectal cancer in elderly patients: clinical features and the role of immunodeficiency. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(1): 31–39. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-1-31-39.

## РАК ТОЛСТОЙ КИШКИ С МИКРОСАТЕЛЛИТНОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТЬЮ У ПОЖИЛЫХ БОЛЬНЫХ: РОЛЬ ИММУНОДЕФИЦИТА И КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ

Д.В. Пашков<sup>1,2</sup>, А.Р. Венина<sup>3</sup>, А.О. Иванцов<sup>3</sup>, Г.А. Янус<sup>3</sup>, Г.А. Раскин<sup>1,4</sup>,  
Е.Н. Имянитов<sup>3,5</sup>, С.Е. Кубрина<sup>6</sup>, А.Д. Микушина<sup>3</sup>, Г.М. Манихас<sup>7</sup>,  
Е.В. Пономарева<sup>8</sup>, И.И. Дзидзава<sup>2</sup>, А.Г. Иевлева<sup>3,5</sup>

ООО «Лечебно-диагностический центр Медицинский институт им. Березина Сергея»,  
г. Санкт-Петербург, Россия<sup>1</sup>

Россия, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, 197758, ул. К. Маркса, 43. E-mail: ku46spb@mail.ru<sup>1</sup>

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ, г. Санкт-Петербург, Россия<sup>2</sup>

Россия, 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6<sup>2</sup>

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия<sup>3</sup>

Россия, пос. Песочный, 197758, ул. Ленинградская, 68<sup>3</sup>

ФГБУ «РНЦРХТ им. акад. А.М. Гранова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия<sup>4</sup>

Россия, пос. Песочный, 197758, ул. Ленинградская, 70<sup>4</sup>

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет»  
Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия<sup>5</sup>

Россия, г. Санкт-Петербург, 194100, ул. Литовская, 2<sup>4</sup>

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург, Россия<sup>6</sup>

Россия, г. Санкт-Петербург, 199034, Университетская наб., 79<sup>6</sup>

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет  
им. акад. И. П. Павлова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия<sup>7</sup>

Россия, г. Санкт-Петербург, 197022, ул. Льва Толстого, 68<sup>7</sup>

СПб ГБУЗ «Городской клинический онкологический диспансер», г. Санкт-Петербург, Россия<sup>8</sup>

Россия, 198255, г. Санкт-Петербург, пр. Ветеранов, 56<sup>8</sup>

### Аннотация

**Актуальность.** Опухоли с феноменом микросателлитной нестабильности (microsatellite instability, MSI) представляют собой отдельную категорию рака толстой кишки (РТК). Подобные новообразования составляют до 20 % карцином этой локализации и характеризуются своеобразными молекулярными и клиническими проявлениями, в том числе высокой иммуногенностью и чувствительностью к иммунотерапии. Микросателлитная нестабильность встречается у двух разных групп пациентов – молодых больных с синдромом Линча и у пациентов старше 70 лет с ненаследственным РТК. Мы предполагаем, что развитие спорадических MSI-положительных опухолей у пожилых пациентов может способствовать сопутствующее старению снижению иммунной защиты. **Целью исследования** стало изучение различных клинико-морфологических характеристик у пожилых больных с MSI-положительным РТК. **Материал и методы.** Микросателлитная нестабильность и мутация V600E в гене BRAF оценивались методами, основанными на ПЦР, в группе из 384 больных РТК старше 65 лет. Сравнительный анализ клинических и патоморфологических особенностей выполнен у 23 пациентов с MSI-положительными опухолями и 34 больных MSI-негативным РТК. **Результаты.** В группе больных РТК с MSI-положительным фенотипом преобладают случаи локализации рака в правой половине ободочной кишки, низкая степень дифференцировки и наличие муцинозного компонента в опухоли ( $p < 0,0001$ ,  $p = 0,005$  и  $p = 0,0001$  соответственно). У пациентов с MSI-положительным РТК, содержащим мутацию BRAF, значительно чаще встречается резус-отрицательный фенотип эритроцитов (53,3 % vs 11,8 %,  $p = 0,004$ ). У больных с MSI-положительными карциномами отмечено увеличение частоты лейкоцитоза ( $p = 0,009$ ) и лимфопении

( $p=0,014$ ) в периферической крови в предоперационном периоде. **Заключение.** Повышенная частота резус-негативного фенотипа эритроцитов и изменения в формуле белой крови у пожилых больных РТК с MSI-позитивным фенотипом могут свидетельствовать о роли нарушений иммунной системы в развитии микросателлит-нестабильных карцином.

**Ключевые слова:** рак толстой кишки, микросателлитная нестабильность, мутация, резус-фактор.

## MICROSATELLITE-UNSTABLE COLORECTAL CANCER IN ELDERLY PATIENTS: CLINICAL FEATURES AND THE ROLE OF IMMUNODEFICIENCY

D.V. Pashkov<sup>1,2</sup>, A.R. Venina<sup>3</sup>, A.O. Ivantsov<sup>3</sup>, G.A. Yanus<sup>3</sup>, G.A. Raskin<sup>1,4</sup>,  
E.N. Imyanitov<sup>3,5</sup>, S.E. Kubrina<sup>6</sup>, A.D. Mikushina<sup>3</sup>, G.M. Manikhas<sup>7</sup>,  
E.V. Ponomareva<sup>8</sup>, I.I. Dzidzava<sup>2</sup>, A.G. Iyevleva<sup>3,5</sup>

Medical Institute N. A. Berezin Sergey, St.-Petersburg, Russia<sup>1</sup>  
43, K. Marksa str., Pesochny, 197758, St.-Petersburg, Russia. E-mail: ku46spb@mail.ru<sup>1</sup>  
S.M. Kirov's Military Medical Academy, St.-Petersburg, Russia<sup>2</sup>  
6, Akademika Lebedeva str., 194044, St.-Petersburg, Russia<sup>2</sup>  
N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, St.-Petersburg, Russia<sup>3</sup>  
68, Leningradskaya str., Pesochny, 197758, St.-Petersburg, Russia<sup>3</sup>  
A.M. Granov Russian Research Center of Radiology and Surgical Technologies, St.-Petersburg, Russia<sup>4</sup>  
70, Leningradskaya str., Pesochny, 197758, St.-Petersburg, Russia<sup>4</sup>  
Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, St.-Petersburg, Russia<sup>5</sup>  
2, Litovskaya str., 194100, St.-Petersburg, Russia<sup>5</sup>  
Saint-Petersburg State University, St.-Petersburg, Russia<sup>6</sup>  
7-9, Universitetskaya emb., 199034, St.-Petersburg, Russia<sup>6</sup>  
Saint-Petersburg Pavlov State Medical University, St.-Petersburg, Russia<sup>7</sup>  
6-8, L. Tolstoy str., 197022, St.-Petersburg, Russia<sup>7</sup>  
Saint-Petersburg City Clinical Oncology Centre, St.-Petersburg, Russia<sup>8</sup>  
65, Veteranov pr., 198255, St.-Petersburg, Russia<sup>8</sup>

### Abstract

**Background.** Tumors demonstrating the phenomenon of microsatellite instability (MSI) represent a special category of colorectal cancer (CRC). Such neoplasms account for up to 20 % of CRC and are characterized by specific molecular and clinical manifestations, including high immunogenicity and sensitivity to immunotherapy. MSI phenotype occurs in two different groups of patients: young individuals with Lynch syndrome and patients older than 70 years with non-hereditary CRC. We assume that the development of sporadic MSI-positive tumors in elderly patients may be associated with age-dependent decrease in immune defense. **The aim of the study** was to investigate clinical and morphological characteristics in elderly patients with MSI-positive colorectal cancer. **Material and Methods.** MSI status and mutations in the BRAF gene were tested in a group of 384 CRC patients older than 65 years by PCR-based techniques. A comparative analysis of clinico-pathological features was further conducted in the groups of 23 MSI-positive and 34 MSI-negative CRC cases. **Results.** MSI-positive phenotype was associated with the proximal tumor location, low degree of differentiation and the presence of the mucinous component in the tumor ( $p<0.0001$ ,  $p=0.005$ , and  $p=0.0001$ , respectively). Patients with MSI-positive CRC containing BRAF mutations showed a significant prevalence of RhD-negative erythrocyte phenotype (53.3 % vs 11.8 %,  $p=0.004$ ). In patients with MSI-positive carcinomas, the increased frequency of preoperative leukocytosis ( $p=0.009$ ) and lymphopenia ( $p=0.014$ ) was observed. **Conclusion.** The increased occurrence of Rh-negative erythrocyte phenotype and white blood formula changes in elderly patients with MSI-positive CRC may indicate the role of immune system disorders in the development of microsatellite-unstable carcinomas.

**Key words:** colorectal cancer, microsatellite instability, mutation, Rhesus antigen.

## Введение

Утрата одного из компонентов системы репарации неспаренных оснований ДНК (mismatch repair – MMR) – ключевое звено патогенеза опухолей с феноменом микросателлитной нестабильности (microsatellite instability, MSI; high level microsatellite instability, MSI-H). Следствием дефекта системы репарации является накопление трансформированными клетками тысяч мутаций в микросателлитных повторах и других участках генома.

Феномен MSI-H встречается у 7–20 % пациентов с карциномами толстой кишки [1–4] и характерен для двух разных категорий пациентов. К первой группе относятся больные с наследственным неполипозным раком толстой кишки (hereditary non-polyposis colorectal cancer, HNPCC, синдром Линча). Пациенты этой группы являются гетерозиготными носителями мутации в одном из генов репарации неспаренных оснований ДНК и имеют почти фатальный риск онкологического заболевания, характеризующийся развитием карцином в возрасте 30–50 лет. Мутация BRAF в таких опухолях почти никогда не встречается. Вторая группа – пациенты в возрасте старше 70 лет с ненаследственными опухолями. Эти опухоли характеризуются соматической инактивацией генов MMR чаще гена MLH1 посредством метилирования и более чем в половине случаев содержат мутации в гене BRAF [4–11].

К известным особенностям MSI-H опухолей относятся преобладание пациентов женского пола, локализация в проксимальных отделах ободочной кишки, выраженная лимфоцитарная инфильтрация в опухоли, преобладание низкодифференцированных карцином, наличие слизееобразования и/или перстневидно-клеточного компонента, меньшая частота мутаций в генах KRAS и p53, благоприятный клинический прогноз, меньший метастатический потенциал, меньшая чувствительность к химиотерапии [4–6, 12–22].

Опухоли толстой кишки с фенотипом MSI-H содержат тысячи мутаций и отличаются высокой иммуногенностью [23, 24]. Считается, что старение практически всегда сопровождается иммунодефицитом [25]. Можно предположить, что сопутствующий старению иммунодефицит приводит к утрате способности сдерживать рост даже высокоиммуногенных новообразований. Особенности иммунитета у пожилых могут послужить причиной более частого развития MSI-H карцином толстой кишки у пациентов старшей возрастной группы. Не исключено, что опухоли с подобным патогенезом распознаются и устраняются иммунной системой у людей молодого возраста, а наличие иммунодефицита в группе больных старше 70 лет не позволяет сдерживать рост и распространение MSI-H карцином.

**Целью исследования** явился сравнительный анализ клинико-патологических особенностей

нескольких групп больных колоректальным раком для выявления косвенных признаков иммунодефицита у пожилых пациентов с MSI-H-опухолями.

## Материал и методы

В исследование включены 384 больных раком ободочной и прямой кишки, в возрасте старше 65 лет, получавшие лечение в Санкт-Петербургском городском клиническом онкологическом диспансере в 2013–15 гг. Опухолевая ДНК, выделенная из архивного патоморфологического материала, протестирована на наличие феномена микросателлитной нестабильности с использованием моноклеотидного маркера BAT26 и в некоторых случаях дополнительных маркеров BAT25, BAT40, CAT25, NR22, NR27 по описанным ранее протоколам [26]. Во всех случаях с микросателлитной нестабильностью выполнен анализ мутации V600E в гене BRAF с использованием аллель-специфической ПЦР [26]. После генетического тестирования на основе данных историй болезни проанализированы клинико-морфологические характеристики больных с микросателлитной нестабильностью (MSI-H, n=23) в сравнении с контрольной группой пациентов без микросателлитной нестабильности (MSS, microsatellite stable, микросателлит-стабильные, MSI-негативные опухоли, n=34). Сравнивали локализацию и стадию опухолевого процесса, особенности анамнеза жизни (первично-множественный характер новообразований, наличие в анамнезе аппендэктомии), группу крови и резус-принадлежность, формулу крови и ее динамику в периоперационном периоде, послеоперационные осложнения, особенности клинического течения, морфологические характеристики опухоли (слизееобразование, степень дифференцировки). Мутации BRAF в MSI-позитивных случаях свидетельствуют о спорадическом характере опухоли, поэтому все сравнения выполнены также для подгруппы больных РТК с фенотипом MSI-H/BRAF+ (n=15).

Для оценки интра- и перитуморальной инфильтрации цитотоксическими лимфоцитами использовалось иммуногистохимическое исследование с антителами к CD8 (DAKO, разведение 1:100, клон DK25) с применением системы детекции DAKO EnVision FLEX. Количество CD8+ клеток подсчитывалось в 1 мм<sup>2</sup> ткани.

Для сравнения частот изучаемых параметров в разных группах использовался точный тест Фишера. Сравнительная оценка количественных переменных в группах выполнялась при помощи t-критерия (в случае нормального распределения) или U-критерия Манна – Уитни.

## Результаты

В группе из 384 больных РТК старше 65 лет феномен микросателлитной нестабильности выявлен у 28 (7,3 %) пациентов. Мутация BRAF V600E,

Таблица / Table

**Сравнение групп MSI-H/BRAF+, MSI-H/BRAF- и MSS опухолей толстой кишки  
Comparison of MSI-H/BRAF+, MSI-H/BRAF- and MSS colon tumors**

Признак (переменная)/ Sign (variable)	Варианты/ Variants	Группа 1/ Group1	Группа 2/ Group 2	Группа 3/ Group3	Группа 1 vs группа 3/ Group 1 vs group 3	Группа 2 vs группа 3/ Group 2 vs group 3	Группы 1+2 vs группа 3/ Group 1+2 vs group 3
		MSI-H/ BRAF+ n=15	MSI-H/ BRAF- n=8	MSS n=34	p	p	p
Пол пациента/ Patient gender	Муж/Male	2 (13,3 %)	4 (50 %)	14 (41,2 %)	0.097	0.706	0.273
	Жен/Female	13 (86,7 %)	4 (50 %)	20 (58,8 %)			
Аппендэктомия в анамнезе/ History of appendectomy	Да/Yes	6 (40 %)	1 (12,5 %)	5 (14,7 %)	0.069	1.0	0.194
	Нет/No	9 (60 %)	7 (87,5 %)	29 (85,3 %)			
Антиген D эритроцитов/ RBC Antigen D	RhD+	7 (46,7 %)	7 (87,5 %)	30 (88,2 %)	<b>0.004*</b>	1.0	<b>0.024*</b>
	RhD-	8 (53,3 %)	1 (12,5 %)	4 (11,8 %)			
Наличие первично- множественных опухолей/ Presence of multiple- primary tumors	ЖКТ/ Gastrointestinal tract	5 (33,3 %)	1 (12,5 %)	2 (5,9 %)	0.089 (есть vs нет/ yes vs no)	1.0 (есть vs нет/ yes vs no)	0.145 (есть vs нет/ yes vs no)
	не ЖКТ/ Non- gastrointestinal tract	2 (13,3 %)	1 (12,5 %)	5 (14,7 %)			
	Нет/No	8 (53,4 %)	6 (75 %)	27 (79,4 %)			
Наличие анемии/ Presence of anemia	Да/Yes	14 (93,3 %)	6 (75 %)	19 (55,9 %)	<b>0.018*</b>	0.439	<b>0.020*</b>
	Нет/No	1 (6,7 %)	2 (25 %)	15 (44,1 %)			
Локализация опухоли/ Tumor localization	Проксималь- ная/Proximal	15 (100 %)	5 (62,5 %)	5 (14,7 %)	<b>&lt;0.0001**</b>	<b>0.012*</b>	<b>&lt;0,0001**</b>
	Дистальная/ Distal	0 (0 %)	3 (37,5 %)	29 (85,3 %)			
Клинический вариант опухолево- го процесса/ Clinical type of tumor	Токсико- анемическая/ Toxicoanemic.	10 (66,7 %)	4 (50,0 %)	6 (17,6 %)	<b>0.002*</b> (токсико- анемич. vs иное/ toxicoanemic. vs others)	0.076 (токсико- анемич. vs иное/ toxicoanemic. vs others)	<b>0.002*</b> (токсико- анемич. vs иное/ toxicoanemic. vs others)
	Энтеро- колитическая/ Enterocolitis	1 (6,7 %)	2 (25,0 %)	14 (41,2 %)			
	Диспепсиче- ская/ Dyspepsia	1 (6,7 %)	1 (12,5 %)	0 (0 %)			
	Обтурацион- ный/ Obstructive	1 (6,7 %)	1 (12,5 %)	8 (23,5 %)			
	Атипичный/ Atypical	2 (13,3 %)	0 (0 %)	6 (17,6 %)			
Местно- распространённый рак/ Locally advanced cancer	Да/Yes	8 (53,3 %)	5 (62,5 %)	26 (76,5 %)	0.177	0.412	0.150
	Нет/No	7 (46,7 %)	3 (37,5 %)	8 (23,5 %)			

Метастатический рак/ Metastatic cancer	Да/Yes	1 (6,7 %)	0 (0 %)	5 (14,7 %)	0.652	0.564	0.385
	Нет/No	14 (93,3 %)	8 (100 %)	29 (85,3 %)			
Степень дифференцировки/ Differentiation grade	G1	2 (13,3 %)	2 (25 %)	13 (38,2 %)	<b>0.022*</b> (G1+2 vs 3)	<b>0.031*</b> (G1+2 vs 3)	<b>0.005*</b> (G1+2 vs 3)
	G2	6 (40 %)	2 (25 %)	17 (50 %)			
	G3	7 (46,7 %)	4 (50 %)	4 (11,8 %)			
Слизеобразование в опухоли/ Mucus in the tumor	Да/Yes	6 (40 %)	6 (75 %)	2 (5,9 %)	<b>0.007*</b>	<b>0.0001**</b>	<b>0.0001**</b>
	Нет/No	9 (60 %)	2 (25 %)	32 (94,1 %)			
Лихорадка после операции/ Fever after surgery	Да/Yes	8 (53,3 %)	3 (37,5 %)	13 (38,2 %)	0.363	1.0	0.587
	Нет/No	7 (46,7 %)	5 (62,5 %)	21 (70,6 %)			
Уровень лейкоцитов до операции/ White blood cell count before surgery	Норма/Norm	9 (60 %)	5 (62,5 %)	31 (91,2 %)	<b>0.016*</b> (норма vs иное/ normal vs others)	0.072 (норма vs иное/ normal vs others)	<b>0.009*</b> (норма vs иное/ normal vs others)
	Лейкопения/ Leukopenia	1 (7,7 %)	1 (12,5 %)	1 (2,9 %)			
	Лейкоцитоз/ Leukocytosis	5 (33,3 %)	2 (25 %)	2 (5,9 %)			
Уровень лейкоцитов после операции/ White blood cell count after surgery	Норма/Norm	2 (13,3 %)	2 (25 %)	3 (8,8 %)	0.635	0.237	0.423
	Лейкоцитоз/ Leukocytosis	13 (86,7 %)	6 (75 %)	31 (91,2 %)			
Уровень лимфоцитов до операции/ White blood cell count before surgery	Норма/Norm	11 (73,3 %)	6 (75 %)	28 (82,4 %)	<b>0.026*</b> (лимфопения vs иное/ lymphopenia vs others)	0.088 (лимфопения vs иное/ lymphopenia vs others)	<b>0.014*</b> (лимфопения vs иное/ lymphopenia vs others)
	Лимфопения/ Leukopenia	4 (26,7 %)	2 (25 %)	1 (2,9 %)			
	Лимфоцитоз/ Leukocytosis	0 (0 %)	0 (0 %)	5 (14,7 %)			
Уровень лимфоцитов после операции/ White blood cell count after surgery	Лимфопения/ Leukopenia	15 (100 %)	8 (100 %)	33 (97,1 %)	1.0	1.0	1.0
	Норма/Norm	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (2,9 %)			
Осложнения после операции/ Complications after surgery	Да/Yes	2 (15,4 %)	2 (25 %)	3 (8,8 %)	0.635	0.237	0.423
	Нет/No	13 (86,7 %)	6 (75 %)	31 (91,2 %)			

Примечание: \* – статистически значимые различия; \*\* – различия, сохраняющие достоверность при применении поправки на множественные сравнения.

Notes: \* – statistically significant differences; \*\* – differences that remain valid when applying the correction for multiple comparisons.

характерная для спорадических MSI-положительных опухолей, обнаружена в 17 (60,7 %) из этих 28 случаев. Средний возраст больных РТК с MSI-H ( $76,9 \pm 1,17$  года) и больных РТК с фенотипом MSI-H/BRAF+ ( $78,8 \pm 1,23$  года) достоверно выше, чем в группе с микросателлит-стабильными карциномами ( $74,2 \pm 0,3$  года) ( $p=0,021$  и  $p=0,0013$  соответственно). Среди пациентов с MSI-H/BRAF+ карциномами доля женщин оказалась выше (13/15, 86,6 %), чем в группе MSI-негативных новообразований (180/297, 60,6 %) ( $p=0,055$ ).

В более подробный анализ клинико-морфологических параметров вошли 23 случая РТК с микросателлитной нестабильностью, включая 15 наблюдений MSI-H/BRAF+, а также 34 больных РТК без фенотипа MSI (таблица). Статистически значимые различия между группами наблюдались по признакам локализации новообразования, степени дифференцировки опухоли и наличия в опухоли муцинозного компонента. Так, у всех пациентов с MSI-H/BRAF+ карциномами опухоль локализовалась в проксимальных отделах

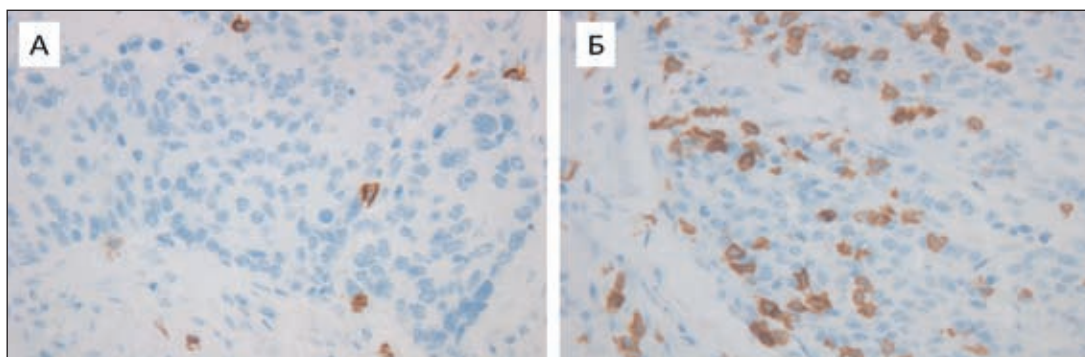


Рис. 1. Примеры иммуногистохимического окрашивания с антителами к CD8,  $\times 400$ .

А: микросателлит-стабильная опухоль, Б: опухоль с фенотипом MSI-H/BRAF+.

Fig. 1. Immunohistochemical staining with antibodies to CD8,  $\times 400$ .

A: microsatellite-stable tumor, B: tumor with the MSI-H/BRAF+ phenotype.

ободочной кишки (слепая кишка – 5, восходящая – 7, поперечно-ободочная – 3). В контрольной группе (MSS) опухоль в 16,2 % случаев располагалась в правой половине ободочной кишки и в 83,8 % – в левой половине ободочной кишки, 53 % пациентов этой группы составили больные раком сигмовидной кишки ( $p < 0,0001$ ). Особенности локализации определили различия в клинических вариантах течения опухолевого процесса. У больных в группе MSI-H преобладали случаи токсико-анемического рака ободочной кишки. У пациентов с MSS опухолями, наряду с токсико-анемическими проявлениями, с равной частотой встречались энтеро-колитический, обтурационный и другие клинические варианты РТК. В соответствии с этим исходная анемия (анемия при поступлении) среди больных РТК с фенотипом MSI-H/BRAF+ отмечена у 93,3 %, в контрольной группе – у 55,9 % ( $p = 0,018$ ). MSI-положительный статус опухоли чаще сопровождался низкой степенью ее дифференцировки и присутствием муцинозного компонента ( $p = 0,005$  и  $p = 0,0001$  соответственно).

Интересно, что в группах больных РТК MSI-H/BRAF+ и MSS значительно отличалась частота резус-положительного и резус-отрицательного фенотипа эритроцитов. В группе MSI-H/BRAF+ резус-негативный (RhD-) фенотип встретился у 8 (53,3 %) пациентов из 15, тогда как в контрольной группе распределение больных по резус-принадлежности крови не отличалось от популяционного – 30 пациентов имели резус-положительный фенотип, 4 пациента – негативный ( $p = 0,004$ ). Также у больных с MSI-H карциномами отмечено увеличение частоты дооперационных отклонений уровня лейкоцитов (за счет лейкоцитоза или лейкопении,  $p = 0,009$ ) и лимфоцитов (за счет лимфопении,  $p = 0,014$ ) периферической крови. Среднее относительное содержание лимфоцитов при поступлении в клинику в группе MSI-H/BRAF+ случаев составило  $25,39 \pm 9,3$ , в контрольной группе –  $30,78 \pm 7,94$  ( $p = 0,044$ ).

В послеоперационном периоде динамика показателей белой крови в MSI-H и MSS группах была

сопоставима. У большинства пациентов в ответ на хирургическое вмешательство развивались лейкоцитоз и лимфопения. Степень повышения уровня лейкоцитов и выраженность лимфопении в сравниваемых категориях пациентов не отличались.

В 14 MSI-H/BRAF+ и 28 микросателлит-стабильных карциномах оценена инфильтрация опухолевой ткани цитотоксическими CD8-позитивными лимфоцитами. В то время как количество перитуморальных CD8+ клеток не отличалось в двух группах (средние значения составили  $128,6 \pm 32,8$  и  $150,3 \pm 28,4$  клеток на  $1 \text{ мм}^2$ ,  $p = 0,621$ ), то уровень внутриопухолевых лимфоцитов оказался значительно выше в MSI-H карциномах ( $256,4 \pm 47,8$  vs  $27,9 \pm 8,4$  клеток на  $1 \text{ мм}^2$ ,  $p = 0,0003$ ) (рис. 1).

### Обсуждение

Объектом настоящего исследования стала одна из категорий MSI-положительного рака толстой кишки, а именно спорадические карциномы пожилых (старше 65 лет) пациентов. В анализ включены как новообразования, содержащие мутации BRAF, которые служат дополнительным критерием наследственного характера заболевания, так и BRAF-негативные случаи. Большинство из выявленных ассоциаций оказались справедливы для обеих анализируемых MSI-положительных подгрупп и уже были описаны в литературе ранее. К таким известным свойствам MSI-H РТК относятся преимущественная локализация опухоли в проксимальных отделах толстой кишки, преобладание низкодифференцированных форм, наличие слизееобразования в опухоли и выраженная лимфоцитарная инфильтрация. Помимо этого, в ходе исследования обнаружена повышенная частота отклонений формулы крови на момент установки диагноза среди больных с MSI-H карциномами. Мы предполагаем, что в механизме развития лейкоцитоза и лимфопении в исследуемой группе может играть роль стимуляция неспецифического иммунного ответа на фоне имеющейся высокоиммуногенной опухоли. Уста-

новленное преобладание в клинической картине MSI-H/BRAF+ карцином токсико-анемического синдрома, вероятно, связано с преимущественной локализацией этих опухолей в проксимальных участках толстой кишки. Известно, что у больных раком правой половины ободочной кишки анемия встречается достаточно часто.

Интересной находкой является преобладание среди больных с MSI-H+/BRAF+ опухолями резус-отрицательного фенотипа эритроцитов. Известно, что располагающийся на мембране эритроцитов RhD-белок обладает высокой иммуногенностью, однако его биологическая роль до конца не ясна. Высказываются предположения, что мембранный белковый комплекс, в который входит RhD, участвует в формировании пространственной структуры эритроцитов, транспорте токсичных продуктов белкового обмена из тканей в почки и печень, поддержании содержания кислорода

в тканях [27–29]. В 2015 г. в крупном популяционном исследовании было продемонстрировано, что резус-отрицательные индивиды отличаются повышенной частотой аллергических, сердечно-сосудистых, гематологических, иммунологических (в том числе аутоиммунных), пищеварительных расстройств, ментальных и неврологических нарушений [30]. Возможно, что отсутствие антигенной нагрузки RhD в ходе онтогенеза делает иммунную систему резус-негативных пациентов менее восприимчивой к иммуногенному воздействию MSI-H опухолей. Повышенная частота резус-негативного фенотипа у пожилых пациентов с MSI-H РТК и активная неспецифическая иммунная реакция в виде повышения уровня лейкоцитов и развития лимфопении, таким образом, согласуются с предположением о роли иммунодефицита в развитии микросателлит-нестабильных карцином.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Hatch S.B., Lightfoot H.M.Jr., Garwacki C.P., Moore D.T., Calvo B.F., Woosley J.T., Sciarrotta J., Funkhouser W.K., Farber R.A. Microsatellite instability testing in colorectal carcinoma: choice of markers affects sensitivity of detection of mismatch repair-deficient tumors. *Clin Cancer Res.* 2005 Mar 15; 11(6): 2180–7.
- Morandi L., de Biase D., Visani M., Monzoni A., Tosi A., Brulatti M., Turchetti D., Baccarini P., Tallini G., Pession A. T([20]) repeat in the 3'-untranslated region of the MT1X gene: a marker with high sensitivity and specificity to detect microsatellite instability in colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis.* 2012 May; 27(5): 647–56. doi: 10.1007/s00384-011-1365-7.
- Piñol V., Castells A., Andreu M., Castells-Bel S., Alenda C., Llor X., Xicola R.M., Rodríguez-Moranta F., Payá A., Jover R., Bessa X.; Gastrointestinal Oncology Group of the Spanish Gastroenterological Association. Accuracy of revised Bethesda guidelines, microsatellite instability, and immunohistochemistry for the identification of patients with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *JAMA.* 2005 Apr 27; 293(16): 1986–94. doi: 10.1001/jama.293.16.1986.
- Vilar E., Gruber S.B. Microsatellite instability in colorectal cancer: the stable evidence. *Nat Rev Clin Oncol.* 2010 Mar; 7(3): 153–62. doi: 10.1038/nrclinonc.2009.237.
- Boland C.R., Goel A. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Gastroenterology.* 2010; 138(6): 2073–2087. doi: 10.1053/j.gastro.2009.12.064.
- Buecher B., Cacheux W., Rouleau E., Dieumegard B., Mitry E., Lièvre A. Role of microsatellite instability in the management of colorectal cancers. *Dig Liver Dis.* 2013 Jun; 45(6): 441–9. doi: 10.1016/j.dld.2012.10.006.
- Geiersbach K.B., Samowitz W.S. Microsatellite instability and colorectal cancer. *Pathol Lab Med.* 2011 Oct; 135(10): 1269–77. doi: 10.5858/arpa.2011-0035-RA.
- Heinimann K. Toward a molecular classification of colorectal cancer: the role of microsatellite instability status. *Front Oncol.* 2013 Oct 31; 3: 272. doi: 10.3389/fonc.2013.00272.
- Kane M.F., Loda M., Gaida G.M., Lipman J., Mishra R., Goldman H., Jessup J.M., Kolodner R. Methylation of the hMLH1 promoter correlates with lack of expression of hMLH1 in sporadic colon tumors and mismatch repair-defective human tumor cell lines. *Cancer Res.* 1997 Mar 1; 57(5): 808–11.
- Parsons M.T., Buchanan D.D., Thompson B., Young J.P., Spurdle A.B. Correlation of tumor BRAF mutations and MLH1 methylation with germline mismatch repair (MMR) gene mutation status: a literature review assessing utility of tumor features for MMR variant classification. *J Med Genet.* 2012 Mar; 49(3): 151–7. doi: 10.1136/jmedgenet-2011-100714.
- Vilar E., Tabernero J. Molecular dissection of microsatellite instable colorectal cancer. *Cancer Discov.* 2013; 3(5): 502–11. doi: 10.1158/2159-8290.CD-12-0471.
- Banerjee A., Bustin S.A., Dorudi S. The immunogenicity of colorectal cancers with high-degree microsatellite instability. *World J Surg Oncol.* 2005 May 12; 3:26.
- Bauer K., Nelius N., Reuschenbach M., Koch M., Weitz J., Steinert G., Kopitz J., Beckhove P., Tariverdian M., von Knebel Doeberitz M., Kloor M. T cell responses against microsatellite instability-induced frameshift peptides and influence of regulatory T cells in colorectal cancer. *Cancer Immunol Immunother.* 2013 Jan; 62(1): 27–37. doi: 10.1007/s00262-012-1303-8.
- Bustin S.A., Li S.R., Phillips S., Dorudi S. Expression of HLA class II in colorectal cancer: evidence for enhanced immunogenicity of microsatellite-Instability-positive tumours. *Tumour Biol.* 2001 Sep-Oct; 22(5): 294. doi: 10.1159/000050630.
- Deschoolmeester V., Baay M., Lardon F., Pauwels P., Peeters M. Immune Cells in Colorectal Cancer: Prognostic Relevance and Role of MSI. *Cancer Microenviron.* 2011 Dec; 4(3): 377–92. doi: 10.1007/s12307-011-0068-5.
- Drescher K.M., Sharma P., Watson P., Gatalica Z., Thibodeau S.N., Lynch H.T. Lymphocyte recruitment into the tumor site is altered in patients with MSI-H colon cancer. *Fam Cancer.* 2009; 8(3): 231–9. doi: 10.1007/s10689-009-9233-0.
- Jass J.R. Classification of colorectal cancer based on correlation of clinical, morphological and molecular features. *Histopathology.* 2007 Jan; 50(1): 113–30. doi: 10.1111/j.1365-2559.2006.02549.x.
- Kloor M., Michel S., von Knebel Doeberitz M. Immune evasion of microsatellite unstable colorectal cancers. *Int J Cancer.* 2010 Sep 1; 127(5): 1001–10. doi: 10.1002/ijc.25283.
- Malesci A., Laghi L., Bianchi P., Delconte G., Randolph A., Torri V., Carnaghi C., Doci R., Rosati R., Montorsi M., Roncalli M., Gennari L., Santoro A. Reduced likelihood of metastases in patients with microsatellite-unstable colorectal cancer. *Clin Cancer Res.* 2007; 13(13): 3831–9. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-0366.
- Michel S., Benner A., Tariverdian M., Wentzensen N., Hoefler P., Pommerenke T., Grabe N., von Knebel Doeberitz M., Kloor M. High density of FOXP3-positive T cells infiltrating colorectal cancers with microsatellite instability. *Br J Cancer.* 2008 Dec 2; 99(11): 1867–73. doi: 10.1038/sj.bjc.6604756.
- Ogino S., Noshio K., Irahara N., Meyerhardt J.A., Baba Y., Shima K., Glickman J.N., Ferrone C.R., Mino-Kenudson M., Tanaka N., Dranoff G., Giovannucci E.L., Fuchs C.S. Lymphocytic reaction to colorectal cancer is associated with longer survival, independent of lymph node count, microsatellite instability, and CpG island methylator phenotype. *Clin Cancer Res.* 2009 Oct 15; 15(20): 6412–20. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-09-1438.
- von Knebel Doeberitz M., Kloor M. Towards a vaccine to prevent cancer in Lynch syndrome patients. *Fam Cancer.* 2013 Jun; 12(2): 307–12. doi: 10.1007/s10689-013-9662-7.
- Mandal R., Samstein R.M., Lee K.W., Havel J.J., Wang H., Krishna C., Sabio E.Y., Makarov V., Kuo F., Blecua P., Ramaswamy A.T., Durham J.N., Bartlett B., Ma X., Srivastava R., Middha S., Zehir A., Hurhtman J.F., Morris L.G., Weinhold N., Riaz N., Le D.T., Diaz L.A.Jr., Chan T.A. Genetic diversity of tumors with mismatch repair deficiency influences anti-PD-1 immunotherapy response. *Science.* 2019 May 3; 364(6439): 485–491. doi: 10.1126/science.aau0447.
- Yuza K., Nagahashi M., Watanabe S., Takabe K., Wakai T. Hypermethylation and microsatellite instability in gastrointestinal cancers. *Oncotarget.* 2017 Dec 1; 8(67): 112103–112115. doi: 10.18632/oncotarget.22783.

25. López-Otín C., Blasco M.A., Partridge L., Serrano M., Kroemer G. The hallmarks of aging. *Cell*. 2013 Jun 6; 153(6): 1194–217. doi: 10.1016/j.cell.2013.05.039.

26. Yanus G.A., Belyaeva A.V., Ivantsov A.O., Kuligina E.Sh., Suspitin E.N., Mitushkina N.V., Aleksakhina S.N., Iyevleva A.G., Zaitseva O.A., Yatsuk O.S., Gorodnova T.V., Strelkova T.N., Efremova S.A., Lepenchuk A.Y., Ochir-Garyayev A.N., Paneyah M.B., Matsko D.E., Togo A.V., Imyaninov E.N. Pattern of clinically relevant mutations in consecutive series of Russian colorectal cancer patients. *Med Oncol*. 2013; 30(3): 686. doi: 10.1007/s12032-013-0686-5.

27. Flegel W.A. Molecular genetics and clinical applications for RH. *Transfus Apher Sci*. 2011 Feb; 44(1): 81–91. doi: 10.1016/j.transci.2010.12.013.

28. Kustu S., Inwood W. Biological gas channels for NH<sub>3</sub> and CO<sub>2</sub>: evidence that Rh (Rhesus) proteins are CO<sub>2</sub> channels. *Transfus Clin Biol*. 2006 Mar-Apr; 13(1–2): 103–10. doi: 10.1016/j.traci.2006.03.001.

29. Van Kim C.L., Colin Y., Cartron J.P. Rh proteins: key structural and functional components of the red cell membrane. *Blood Rev*. 2006 Mar; 20(2): 93–110. doi: 10.1016/j.blre.2005.04.002.

30. Flegr J., Hoffmann R., Dammann M. Worse Health Status and Higher Incidence of Health Disorders in Rhesus Negative Subjects. *PLoS One*. 2015 Oct 23; 10(10): e0141362. doi: 10.1371/journal.pone.0141362.

Поступила/Received 14.08.2019  
Принята в печать/Accepted 12.11.2019

#### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Пашков Денис Валерьевич**, кандидат медицинских наук, заведующий хирургическим отделением, ООО «Лечебно-диагностический центр Медицинский институт имени Березина Сергея»; ассистент кафедры госпитальной хирургии, ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 5285-6801. ORCID: 0000-0002-5110-047X. ResearcherID (WOS): N-6822-2016. Author ID (Scopus): 57200752900.

**Венина Айгуль Рифовна**, лаборант-исследователь научной лаборатории молекулярной онкологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0001-6504-8636.

**Иванцов Александр Олегович**, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник научной лаборатории морфологии опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0001-6279-2312. ResearcherID (WOS): Q-9953-2016. Author ID (Scopus): 26025936100.

**Янус Григорий Аркадьевич**, кандидат медицинских наук, младший научный сотрудник научной лаборатории молекулярной онкологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0002-9844-4536.

**Раскин Григорий Александрович**, доктор медицинских наук, руководитель отдела патологической анатомии, ФГБУ «РНЦПХТ им. акад. А.М. Гранова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия).

**Имянитов Евгений Наумович**, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент Российской академии наук, заведующий научным отделом биологии опухолевого роста, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава РФ; руководитель кафедры медицинской генетики, ФГБОУ ВО СПбГПМУ (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0003-4529-7891.

**Кубрина Снежана Евгеньевна**, студент медицинского факультета, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет» (г. Санкт-Петербург, Россия).

**Микушина Анна Дмитриевна**, лаборант-исследователь научной лаборатории молекулярной онкологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия).

**Манихас Георгий Моисеевич**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой онкологии факультета последипломного обучения, ГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» (г. Санкт-Петербург, Россия).

**Пономарева Елена Васильевна**, заведующая патолого-анатомическим отделением, СПб ГБУЗ «Городской клинический онкологический диспансер» (г. Санкт-Петербург, Россия).

**Дзидзава Илья Игоревич**, доктор медицинских наук, заведующий кафедрой госпитальной хирургии, ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ (Санкт-Петербург, Россия), Researcher ID (WOS): Q-1992-2016. Author ID (Scopus): 8901380100.

**Иевлева Аглая Геннадиевна**, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник научной лаборатории молекулярной онкологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0001-5454-5186. Researcher ID (WOS): P-8305-2016. Author ID (Scopus): 6506417697.

#### ВКЛАД АВТОРОВ

**Пашков Денис Валерьевич**: концепция научной работы, статистическая обработка данных, составление черновика рукописи.

**Венина Айгуль Рифовна**: молекулярно-генетический анализ опухолей.

**Иванцов Александр Олегович**: морфологический и иммуногистохимический анализ материала.

**Янус Григорий Аркадьевич**: молекулярно-генетический анализ опухолей.

**Раскин Григорий Александрович**: морфологический и иммуногистохимический анализ материала.

**Имянитов Евгений Наумович**: концепция научной работы, статистическая обработка данных, составление черновика рукописи.

**Кубрина Снежана Евгеньевна**: молекулярно-генетический анализ опухолей.

**Микушина Анна Дмитриевна**: молекулярно-генетический анализ опухолей.

**Манихас Георгий Моисеевич**: сбор, обработка и анализ клинического материала, критический пересмотр рукописи.

**Пономарева Елена Васильевна**: сбор, обработка и анализ клинического материала, критический пересмотр рукописи.

**Дзидзава Илья Игоревич**: сбор, обработка и анализ клинического материала, критический пересмотр рукописи.

**Иевлева Аглая Геннадиевна**: концепция научной работы, статистическая обработка данных, составление черновика рукописи.



**Финансирование**

*Работа поддержана грантом Российского научного фонда №17-15-01384.*

**Конфликт интересов**

*Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.*

**ABOUT THE AUTHORS**

**Denis V. Pashkov**, MD, PhD, Head of Surgery Department, Medical Institute N.A. Berezin Sergey; assistant of the Surgery Department, S.M. Kirov's Military Medical Academy (St.-Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0002-5110-047X. Researcher ID (WOS): N-6822-2016. Author ID (Scopus): 57200752900.

**Ajgul R. Venina**, Laboratory Assistant, Laboratory of Molecular Oncology, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (Saint-Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0001-6504-8636.

**Alexandr O. Ivantsov**, MD, PhD, research fellow, Laboratory of Tumor Morphology, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (St.-Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0001-6279-2312. Researcher ID (WOS): Q-9953-2016. Author ID (Scopus): 26025936100.

**Grigory A. Yanus**, MD, PhD, research fellow, Laboratory of Molecular Oncology, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (St.-Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0002-9844-4536.

**Grigory A. Raskin**, MD, PhD, Head of Morphology Department, A.M. Granov Russian Research Center of Radiology and Surgical Technologies (St.-Petersburg, Russia).

**Evgeny N. Imyanitov**, MD, PhD, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Scientific Department of Tumor Growth Biology, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (St.-Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0003-4529-7891.

**Snezhana E. Kubrina**, Student, Saint-Petersburg State University (St.-Petersburg, Russia).

**Anna D. Mikushina**, Laboratory Assistant, Laboratory of Molecular Oncology, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (St.-Petersburg, Russia).

**Georgiy M. Manikhas**, MD, PhD, Professor, Head of the Postgraduate Education Faculty Oncology Department, Saint-Petersburg, Pavlov State Medical University (St.-Petersburg, Russia).

**Elena V. Ponomareva**, Head of the Pathological and Anatomical Department, Saint-Petersburg City Clinical Oncology Centre (St. Petersburg, Russia).

**Ия I. Dzidzava**, MD, PhD, Head of Surgery Department, S.M. Kirov's Military Medical Academy (St.-Petersburg, Russia). Researcher ID (WOS): Q-1992-2016. Author ID (Scopus): 8901380100.

**Aglaya G. Iyevleva**, MD, PhD, Research Fellow, Laboratory of Molecular Oncology, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (St.-Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0001-5454-5186. Researcher ID (WOS): P-8305-2016. Author ID (Scopus): 6506417697.

**AUTHOR CONTRIBUTION**

**Denis V. Pashkov**: study design, statistical data analysis, drafting of the manuscript.

**Ajgul R. Venina**: molecular-genetic analysis of tumors.

**Alexandr O. Ivantsov**: morphological and immunohistochemical analysis.

**Grigory A. Yanus**: molecular-genetic analysis of tumors.

**Grigory A. Raskin**: morphological and immunohistochemical analysis.

**Evgeny N. Imyanitov**: study design, statistical data analysis, drafting of the manuscript.

**Snezhana E. Kubrina**: molecular-genetic analysis of tumors.

**Anna D. Mikushina**: molecular-genetic analysis of tumors.

**Georgiy M. Manikhas**: collection, processing and analysis of clinical data, critical review of the manuscript.

**Elena V. Ponomareva**: collection, processing and analysis of clinical data, critical review of the manuscript.

**Ия I. Dzidzava**: collection, processing and analysis of clinical data, critical review of the manuscript.

**Aglaya G. Iyevleva**: study design, statistical data analysis, drafting of the manuscript.

**Funding**

*This work was supported by the grant of the Russian Science Foundation № 17-15-01384.*

**Conflict of interest**

*The authors declare that they have no conflict of interest.*