



И.А. Демидова¹, М.Л. Филипенко², А.С. Цуканов³, Е.Н. Имянитов⁴

Микросателлитная нестабильность: нюансы лабораторной диагностики (позиция Межрегиональной организации молекулярных генетиков в онкологии и онкогематологии)

¹ГБУЗ «МГОБ № 62 ДЗМ», Москва

²ИХБФМ СО РАН, г. Новосибирск

³ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России, Москва

⁴ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Микросателлитной нестабильностью (microsatellite instability, MSI) называется феномен накопления мутаций (делеций и инсерций) в коротких повторяющихся последовательностях ДНК. Наиболее частой причиной MSI является дефект системы репарации неспаренных оснований ДНК (mismatch repair deficiency, dMMR). Анализ MSI/dMMR используется при диагностике синдрома Линча, а также для отбора пациентов на терапию ингибиторами контрольных точек иммунного ответа. Тестирование MSI подразумевает анализ длины нескольких информативных микросателлитных маркеров при помощи ПЦР или NGS, а выявление dMMR основывается на иммуногистохимическом анализе экспрессии белков MLH1, MSH2, MSH6 и PMS2. Эти методы можно считать взаимозаменяемыми в случае колоректального рака, поэтому при анализе карцином толстой кишки выбор между тестированием MSI и dMMR может определяться организационными и экономическими предпочтениями. Карциномы с низкой пролиферативной активностью, в т. ч. ассоциированные с синдромом Линча, могут демонстрировать dMMR в отсутствие MSI, при этом они отличаются низкой мутационной нагрузкой и отсутствием чувствительности к иммунотерапии. Процедуры выявления микросателлитной нестабильности в неколо-ректальных опухолях остаются недостаточно стандартизованными и нуждаются в дальнейшем совершенствовании.

Ключевые слова: микросателлитная нестабильность; система репарации неспаренных оснований ДНК; молекулярно-генетический анализ; иммуногистохимический анализ

Для цитирования: Демидова И.А., Филипенко М.Л., Цуканов А.С., Имянитов Е.Н. Микросателлитная нестабильность: нюансы лабораторной диагностики (позиция Межрегиональной организа-

ции молекулярных генетиков в онкологии и онкогематологии). Вопросы онкологии. 2023;69(2):174–179. doi: 10.37469/0507-3758-2023-69-2-174-179

Феномен микросателлитной нестабильности (microsatellite instability, MSI), ассоциирующийся с особым гипермутабельным фенотипом опухоли, получил свое название из-за характерного накопления большого количества нарушений в коротких мономорфных последовательностях ДНК (микросателлитах). В основе этого явления лежит дефект системы репарации ошибочно спаренных оснований ДНК (dMMR, mismatch repair deficiency) [1].

Микросателлиты, или короткие tandemные повторы (short tandem repeats — STRs), представляют собой гомополимеры с единицей повтора от 1 до 6 нуклеотидов, которые весьма распространены как в кодирующей, так и в некодирующей частях генома. Большинство STR чрезвычайно вариабельны, поэтому их анализ широко используется в криминалистике для идентификации личности [2]. Тем не менее, существуют так называемые консервативные квазимономорфные последовательности, отличающиеся крайне малым аллельным разнообразием и используемые для оценки MSI (см. ниже). Особенностью любых микросателлитов является их высокая подверженность ошибкам во время репликации ДНК в результате «проскальзывания» ДНК-полимеразы, что приводит к появлению гомополимеров разной длины [3]. Опасность повреждения микросателлитов в кодирующих регионах заключается в риске возникновения сдвига рамки считывания, в некодирующих — с возникновением альтернативного сайта сплайсинга. Значительная часть мутаций STR, расположенных в интронах и межгенных последовательностях, не оказывает какого-либо влияния на фенотип. Нормально функционирующая система MMR легко устраняет эти дефекты, однако ее повреждение

приводит к накоплению нарушений и дальнейшей злокачественной трансформации клетки [4].

Система репарации ошибочно спаренных оснований представляет из себя уникальный механизм, направленный на устранение определенных нарушений репликации ДНК, таких как встраивание некоплементарных нуклеотидов и возникновение коротких (1–4 нуклеотида) делеций или инсерций. В норме число таких дефектов невелико (1 на 10^9 – 10^{10} п.н.) и вполне эффективно контролируется высокоточными полимеразами ϵ и δ , а также комплексом белков MMR, среди которых наибольшее значение имеют MLH1 (mutL homologue 1), MSH2 (mutS homologue 2), MSH6 (mutS homologue 6) и PMS2 (postmeiotic segregation increased 2). [5]. Участники MMR образуют гетеродимерные комплексы, каждый из которых включается в процесс репарации на определенном этапе. Гетеродимеры MutSa (MSH2-MSH6) или MutS β (MSH2-MSH3) первыми определяют дефект, причем MutSa распознает неверно спаренные нуклеотиды и инсерции/делеции (Indels) размером не более 2 п.н., а MutS β выявляет более длинные Indels. После фиксации этих комплексов рекрутируется комплекс MutLa, состоящий из белков MLH1 и PMS2 (возможно, еще и MutLb, в который входят MLH1 и PMS1). Взаимодействие субъединиц MutS и MutL активирует экзонуклеазу I (EXO I), которая вырезает дефект. Далее высокоточная полимеразы δ достраивает верную последовательность [6]. Неэффективная работа системы белков MMR связана либо с мутациями в соответствующих генах (наследственными или соматическими), либо с эпигенетическими событиями, приводящими к нарушению экспрессии протеина. Герминальные патогенные варианты *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* и *PMS2* характерны для синдрома Линча и не являются предметом обсуждения в данном контексте [7]. Соматические мутации в генах MMR довольно редки. Как правило, в спорадических опухолях основной причиной dMMR является гиперметилирование промотера гена *MLH1*, характерное для так называемого CIMP-фенотипа колоректального рака (CpG Island Methylation Phenotype), для которого характерно тотальное нарушение метилирования генома. Существенно, что в основе данного механизма злокачественной трансформации лежит биаллельная инактивация гена *MLH1* [8].

Гипермутированные опухоли, возникающие в результате MSI, отличаются крайне высокой мутационной нагрузкой, выражающейся в накоплении большого количества неоантигенов — возможных мишеней для иммунной системы. Оценка степени иммуногенности конкретных неоантигенов довольно сложна и требует отдельного обсуждения. Тем не менее, их общее

количество в опухолях с MSI в 10–50 раз превышает таковое при микросателлит-стабильных опухолях, что проявляется в исключительной клинической эффективности иммуноонкологических препаратов [6, 9–11].

Широкое применение тестирования MSI для спорадических опухолей (вне контекста наследственного синдрома Линча) началось после одобрения FDA в 2017 г. применения пембролизумаба при любых злокачественных новообразованиях с признаками дефицита репарации неспаренных оснований [12]. Клинические рекомендации МЗ РФ в редакции 2020 г. также предписывают выполнение этого исследования при самых разнообразных опухолевых заболеваниях [13], что сделало этот тест одним из самых часто назначаемых в рутинной клинической практике. В большинстве случаев российские клинические рекомендации не регламентируют использование конкретного метода исследования, поэтому нам кажется необходимым внести некоторые пояснения, позволяющие определить оптимальное место применения каждой из методик и возможные сложности тестирования.

В настоящее время самыми распространенными методами тестирования являются иммуногистохимический (ИГХ) анализ — окрашивание основных белков-участников системы MMR, и молекулярно-генетический тест — мультиплексная ПЦР с последующим электрофоретическим анализом длины амплифицируемых фрагментов, содержащих выбранные микросателлитные последовательности. Отдельно стоит обсудить метод высокопроизводительного секвенирования, получающий все более широкое распространение.

Иммуногистохимический метод получил большую популярность благодаря своей общедоступности. Он совместим с возможностями обычной морфологической лаборатории. Существенно, что во многих странах он дешевле ПЦР-анализа, поэтому многие рекомендации называют его предпочтительным из экономических соображений. Рекомендуется обязательное применение 4 антител к упомянутым ранее важнейшим белкам системы MMR (MLH1, MSH2, PMS2 и MSH6) (параллельное или последовательное). Классическим признаком дефицита MMR (mismatch repair deficiency, dMMR) является парное выпадение экспрессии белков, участвующих в формировании одного комплекса (MLH1/PMS2 или MSH2/MSH6). Однако существуют определенные особенности, связанные с возможностью альтернативной гетеродимеризации некоторых протеинов: если дефекты MLH1 и MSH2 сопровождаются облигатным протеолизом их партнеров PMS2 и MSH6, то последние, при их повреждении, могут заменяться

в комплексах MutS и MutL другими партнерами: MSH3, PMS1 или MLH3. В такой ситуации не происходит типичного выпадения экспрессии парами, может определяться отсутствие экспрессии только PMS2 или MSH6 [14]. Случаи изолированной потери PMS2 и MSH6 более характерны для рака эндометрия с dMMR, чем для колоректальных опухолей (15 % и 7 % для MSH6, 13 % и 4 % для PMS2) [15]. Сложности в интерпретации результатов ИГХ могут быть связаны также с истинной внутриопухолевой гетерогенностью, в ряде случаев объясняемой неравномерным метилированием промотера *MLH1* или возникновением дополнительных субклональных соматических вариантов со сдвигом рамки считывания, приводящих к экспрессии протеина в части клеток [16]. Отдельно стоит рассмотреть феномен «ложнопозитивного» окрашивания белков MMR, которые утратили свою функцию вследствие миссенс-мутации, но при этом продолжают экспрессироваться [17].

Наиболее распространенный молекулярно-генетический метод диагностики микросателлитной нестабильности — мультиплексная ПЦР с последующим фрагментным анализом, выявляющим отличия в числе повторов в STR между опухолевыми и нормальными клетками. С 1997 г. использовалась т.н. панель Bethesda, которая включала 2 мононуклеотидных маркера (BAT25 и BAT26), а также 3 динуклеотидных маркера (D2S123, D5S346, D17S250), длины которых сравнивали в образцах ДНК из опухолевой и нормальной ткани. С 2004 г. широкое распространение получила более совершенная панель, включающая 5 квазимономорфных мононуклеотидных маркеров (BAT25, BAT26, NR21, NR24 и NR27) и не требующая исследования ДНК нормальной ткани в качестве контроля.

Но даже оптимизированный набор из 5 микросателлитов, описанный выше, к сожалению, не является универсальным для злокачественных новообразований разной тканевой принадлежности. В первую очередь это связано с феноменом уникального распределения нестабильных STR в геноме при различных опухолях с MSI [18]. Таким образом, панель, адаптированная для колоректального рака, может оказаться менее информативной для других нозологий, таких как рак желудка, эндометриоидный рак, глиомы и т. д. Исследования, направленные на подбор оптимального количества маркеров, обеспечивающих максимальную чувствительность и специфичность определения MSI, показали, что для большинства опухолей ЖКТ достаточно исследовать от 1 до 7 индивидуальных маркеров, тогда как для многих других разновидностей опухолей может оказаться целесообразным расширение данной панели [19]. Считается, что инактивация

белков системы MMR сопровождается выраженной микросателлитной нестабильностью только в опухолях с высоким индексом пролиферации. В то же время новообразования, возникающие на фоне синдрома Линча или в результате соматической инактивации генов MMR, для которых характерна низкая скорость деления клеток, могут демонстрировать dMMR в отсутствие MSI, при этом они отличаются низкой мутационной нагрузкой и отсутствием чувствительности к иммунотерапии [20–24]. Действительно, зависимость между совокупным количеством мутаций и выраженностью ответа опухоли на ингибиторы контрольных точек иммунного ответа отмечается даже для MSI-позитивных опухолей [25], при этом dMMR-карциномы с сохранным статусом микросателлитов демонстрируют, в целом, заметно меньшее количество изменений нуклеотидной последовательности по сравнению с микросателлит-нестабильными неоплазмами [23].

Кроме биологических особенностей существуют также проблемы интерпретации, особенно выраженные при оценке результатов исследования MSI при раке эндометрия. При этих опухолях почти в 50 % случаев нестабильность в микросателлитах представлена минимальным сдвигом в количестве повторов (в 1–3 нуклеотида) и может быть пропущена исследователем, особенно не имеющим достаточного опыта. При колоректальном раке такой тип MSI встречается не чаще, чем в 15 % случаев, и, как правило, сопровождается более выраженными изменениями в соседних маркерах. Риск пропустить столь незначительный сдвиг увеличивается в случаях исследования образца с содержанием опухолевой ткани 20 % и менее, при выраженной инфильтрации лимфоцитами, при сочетании инвазивного рака и атипической гиперплазии [15, 26]. В этой связи необходимо акцентировать внимание на правильном отборе образцов: оценивать содержание опухолевых клеток (оптимально — не менее 50 %); проводить макро или микродиссекцию для увеличения ее содержания в образце (менее 50 %), при невозможности оптимальной диссекции — отказаться от проведения исследования молекулярно-генетическим методом.

Отдельно стоит обсудить так называемый MSI-L (low) фенотип, проявляющийся изменением размера только одного маркера из стандартной панели. Этот термин отражает представления о MSI, сформировавшиеся в первые годы после открытия данного феномена, когда опухоли со множественными нарушениями микросателлитов классифицировались как MSI-H (high-level microsatellite instability), а карциномы с мутациями в единичных повторах расценивались как MSI-L. В настоящее время вместо термина MSI-H используется MSI, при этом общепризнанно, что

такого биологического феномена, как MSI-L, de facto не существует. Результаты экзомного секвенирования показывают, что MSI-L не отличается от MSS ни выраженностью мутационной нагрузки, ни средним количеством нестабильных STR [27]. Причиной возникновения дополнительных повторов в одном из маркеров чаще всего являются случайные мутационные события, а также технические особенности методов детекции MSI, например, неоптимальные условия ПЦР или присутствие в геноме редкого аллеля квазимономорфного маркера [28].

Высокопроизводительное секвенирование все чаще применяется для мультигенного тестирования опухолевой ткани с целью персонализации планируемого лечения. Использование данного метода для определения MSI мотивировано потенциальной возможностью сочетанного анализа молекулярных мишеней для таргетной терапии и статуса большого количества микросателлитных последовательностей. Особенностью большинства методик, применяемых для детекции микросателлитной нестабильности посредством секвенирования нового поколения (NGS), является преимущественное исследование кодирующих участков генов. Мутации, приводящие к нарушениям функции тех или иных белков, характеризуются определённой гистоспецифичностью, т. е. они могут наблюдаться с достаточно высокой частотой в одних разновидностях рака, но при этом отсутствовать в других типах опухолей [18, 22]. Большинство компьютерных алгоритмов, предназначенных для детекции MSI, основано либо на анализе экзомов, либо на использовании коммерческих диагностических NGS-панелей, содержащих несколько сотен генов и предназначенных преимущественно для агностического выбора таргетной терапии. Обработка данных может подразумевать как сопоставление длин микросателлитов в парных образцах «опухоль-норма», так и анализ «квазимономорфных» маркеров. В научной литературе представлено около двух десятков биоинформатических инструментов, позволяющих сделать вывод о присутствии или отсутствии микросателлитной нестабильности на основе результатов данных NGS [29-40].

Таким образом, исследование MSI как при синдроме Линча, так и при спорадических опухолях, ставшее сейчас одним из наиболее востребованных, требует соблюдения определенных алгоритмов тестирования. Рекомендации, предложенные ESMO в 2019 г., позволяют использовать любой из упомянутых выше методов (ПЦР, ИГХ, NGS) в отношении карцином желудочно-кишечного тракта. В отношении других разновидностей новообразований предпочтительным считается применение либо NGS,

либо ИГХ [14]. Следует принять во внимание, что NGS-анализ пока не входит в минимальные стандарты молекулярно-генетического исследования опухолей, поэтому его использование исключительно для диагностики MSI может сталкиваться с трудностями. Как упоминалось выше, ИГХ заметно дешевле ПЦР в странах Европы и Северной Америки, однако некоторые другие регионы мира, включая нашу страну, отличаются лучшей ценовой доступностью молекулярно-генетического анализа. Многие специалисты допускают использование ПЦР с последующим гель-электрофорезом ДНК-фрагментов для всех разновидностей карцином при условии, что выполняющие анализ специалисты хорошо знакомы с особенностями детекции MSI в неколоректальных опухолях и используют методики, предусматривающие анализ расширенных панелей маркеров и уверенную детекцию минимальных изменений длины микросателлитов [22, 24].

Конфликт интересов.

Авторы заявляют об отсутствии в статье конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Richman S. Deficient mismatch repair: Read all about it (Review). *Int J Oncol.* 2015;47(4):1189–202. doi:10.3892/ijo.2015.3119.
2. Dumache R, Ciocan V, Muresan C, et al. Molecular DNA analysis in forensic identification. *Clin Lab.* 2016;62(1–2):245–8. doi:10.7754/clin.lab.2015.150414.
3. Bzymek M, Lovett ST. Instability of repetitive DNA sequences: the role of replication in multiple mechanisms. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98(15):8319–25. doi:10.1073/pnas.111008398.
4. Lin EI, Tseng LH, Gocke CD, et al. Mutational profiling of colorectal cancers with microsatellite instability, Oncotarget. 2015;6(39):42334–44. doi:10.18632/oncotarget.5997.
5. Jiricny J. Postreplicative mismatch repair. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2013;5(4):a012633. doi:10.1101/cshperspect.a012633.
6. Nebot-Bral L, Coutzac C, Kannouche PL, et al. Why is immunotherapy effective (or not) in patients with MSI/MMRD tumors? *Bull Cancer.* 2019;106(2):105–113. doi:10.1016/j.bulcan.2018.08.007.
7. Цуканов А.С., Демидова И.А., Цаур Г.А. и др. Диагностика синдрома Линча у онкологических пациентов: позиция Межрегиональной организации молекулярных генетиков в онкологии и онкогематологии. *Вопр. онкол.* [В печати]. [Tsukanov AS, Demidova IA, Tsaur GA, et al. Diagnosis of Lynch syndrome in cancer patients: the position of the Inter-regional organization of molecular geneticists in Oncology and Oncohematology. *Vopr Onkol.* [in print] (In Russ)].
8. Veigl ML, Kasturi L, Olechnowicz J, et al. Biallelic inactivation of hMLH1 by epigenetic gene silencing, a novel mechanism causing human MSI cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998;95(15):8698–702. doi:10.1073/pnas.95.15.8698.

9. Le DT, Durham JN, Smith KN, et al. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science*. 2017;357(6349):409-413. doi:10.1126/science.aan6733.
10. Overman MJ, McDermott R, Leach JL, et al. Nivolumab in patients with metastatic DNA mismatch repair-deficient or microsatellite instability-high colorectal cancer (Check-Mate 142): an open-label, multicentre, phase 2 study. *Lancet Oncol*. 2017;18(9):1182-1191. doi:10.1016/S1470-2045(17)30422-9.
11. Overman MJ, Lonardi S, Wong KYM, et al. Durable clinical benefit with nivolumab plus ipilimumab in DNA mismatch repair-deficient/microsatellite instability-high metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2018;36(8):773-779. doi:10.1200/JCO.2017.76.9901.
12. Lemery S, Keegan P, Pazdur R. First FDA approval agnostic of cancer site – when a biomarker defines the indication. *N Engl J Med*. 2017;377(15):1409-1412. doi:10.1056/NEJMp1709968.
13. Ministry of Health of the Russian Federation. Clinical Guidelines Rubricator. [Internet]. [cited 2022 Nov 6]. Available from: https://cr.minzdrav.gov.ru/clin_recomend.
14. Luchini C, Bibeau F, Ligtenberg MJL, et al. ESMO recommendations on microsatellite instability testing for immunotherapy in cancer, and its relationship with PD-1/PD-L1 expression and tumour mutational burden: a systematic review-based approach. *Ann Oncol*. 2019;30(8):1232-1243. doi:10.1093/annonc/mdz116.
15. Wu X, Snir O, Rottmann D, et al. Minimal microsatellite shift in microsatellite instability high endometrial cancer: a significant pitfall in diagnostic interpretation. *Mod Pathol*. 2019;32(5):650-658. doi:10.1038/s41379-018-0179-3.
16. Tachon G, Frouin E, Karayan-Tapon L, et al. Heterogeneity of mismatch repair defect in colorectal cancer and its implications in clinical practice. *Eur J Cancer*. 2018;95:112-116. doi:10.1016/j.ejca.2018.01.087.
17. Chen W, Hampel H, Pearlman R, et al. Unexpected expression of mismatch repair protein is more commonly seen with pathogenic missense than with other mutations in Lynch syndrome. *Hum Pathol*. 2020;103:34-41. doi:10.1016/j.humpath.2020.07.001.
18. Cortes-Ciriano I, Lee S, Park WY, et al. A molecular portrait of microsatellite instability across multiple cancers. *Nat Commun*. 2017;8:15180. doi:10.1038/ncomms15180.
19. Long DR, Waalkes A, Panicker VP, et al. Identifying Optimal Loci for the Molecular Diagnosis of Microsatellite Instability. *Clin Chem*. 2020;66(10):1310-1318. doi:10.1093/clinchem/hvaa177.
20. Karamurzin Y, Zeng Z, Stadler ZK, et al. Unusual DNA mismatch repair-deficient tumors in Lynch syndrome: a report of new cases and review of the literature. *Hum Pathol*. 2012;43(10):1677-87. doi:10.1016/j.humpath.2011.12.012.
21. Latham A, Srinivasan P, Kemel Y, et al. Microsatellite Instability Is Associated With the Presence of Lynch Syndrome Pan-Cancer. *J Clin Oncol*. 2019;37(4):286-295. doi:10.1200/JCO.18.00283. Erratum in: *J Clin Oncol*. 2019;37(11):942.
22. Shia J. The diversity of tumours with microsatellite instability: molecular mechanisms and impact upon microsatellite instability testing and mismatch repair protein immunohistochemistry. *Histopathology*. 2021;78(4):485-497. doi:10.1111/his.14271.
23. Jaffrelot M, Fares N, Brunac AC, et al. An unusual phenotype occurs in 15% of mismatch repair-deficient tumors and is associated with non-colorectal cancers and genetic syndromes. *Mod Pathol*. 2022;35(3):427-437. doi:10.1038/s41379-021-00918-3.
24. Wang C, Zhang L, Vakiani E, et al. Detecting mismatch repair deficiency in solid neoplasms: immunohistochemistry, microsatellite instability, or both? *Mod Pathol*. 2022; 35(11):1515-1528. doi:10.1038/s41379-022-01109-4.
25. Mandal R, Samstein RM, Lee KW, et al. Genetic diversity of tumors with mismatch repair deficiency influences anti-PD-1 immunotherapy response. *Science*. 2019;364(6439):485-491. doi:10.1126/science.aau0447.
26. Smithgall MC, Remotti H, Hsiao SJ, et al. Investigation of discrepant mismatch repair immunohistochemistry and microsatellite instability polymerase chain reaction test results for gynecologic cancers using next-generation sequencing. *Hum Pathol*. 2022;119:41-50. doi:10.1016/j.humpath.2021.10.004.
27. Kim TM, Laird PW, Park PJ. The landscape of microsatellite instability in colorectal and endometrial cancer genomes. *Cell*. 2013;155(4):858-68. doi:10.1016/j.cell.2013.10.015.
28. Evrard C, Tachon G, Randrian V, et al. Microsatellite Instability: Diagnosis, Heterogeneity, Discordance, and Clinical Impact in Colorectal Cancer. *Cancers (Basel)*. 2019;11(10):1567. doi:10.3390/cancers11101567.
29. Niu B, Ye K, Zhang Q, et al. MSIsensor: microsatellite instability detection using paired tumor-normal sequence data. *Bioinformatics*. 2014;30(7):1015-6. doi:10.1093/bioinformatics/btt755.
30. Salipante SJ, Scroggins SM, Hampel HL, et al. Microsatellite instability detection by next generation sequencing. *Clin Chem*. 2014;60(9):1192-9. doi:10.1373/clinchem.2014.223677.
31. Huang MN, McPherson JR, Cutcutache I, et al. MSIsq: Software for Assessing Microsatellite Instability from Catalogs of Somatic Mutations. *Sci Rep*. 2015;5:13321. doi:10.1038/srep13321.
32. Hause RJ, Pritchard CC, Shendure J, et al. Classification and characterization of microsatellite instability across 18 cancer types. *Nat Med*. 2016;22(11):1342-1350. doi:10.1038/nm.4191. Erratum in: *Nat Med*. 2017;23(10):1241. Erratum in: *Nat Med*. 2018;24(4):525.
33. Kautto EA, Bonneville R, Miya J, et al. Performance evaluation for rapid detection of pan-cancer microsatellite instability with MANTIS. *Oncotarget*. 2017;8(5):7452-7463. doi:10.18632/oncotarget.13918.
34. Middha S, Zhang L, Nafa K, et al. Reliable Pan-Cancer Microsatellite Instability Assessment by Using Targeted Next-Generation Sequencing Data. *JCO Precis Oncol*. 2017;(1):1-17. doi:10.1200/PO.17.00084.
35. Vanderwalde A, Spetzler D, Xiao N, et al. Microsatellite instability status determined by next-generation sequencing and compared with PD-L1 and tumor mutational burden in 11,348 patients. *Cancer Med*. 2018;7(3):746-56. doi:10.1002/cam4.1372.
36. Wang C, Liang C. MSIsnpred: a python package for tumor microsatellite instability classification from tumor mutation annotation data using a support vector machine. *Sci Rep*. 2018;8(1):17546. doi:10.1038/s41598-018-35682-z.
37. Jia P, Yang X, Guo L, et al. MSIsensor-pro: fast, accurate, and matched-normal-sample-free detection of microsatellite instability. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2020;18(1):65-71. doi:10.1016/j.gpb.2020.02.001.
38. Pang J, Gindin T, Mansukhani M, et al. Microsatellite instability detection using a large next-generation sequencing cancer panel across diverse tumour types. *J Clin Pathol*. 2020;73(2):83-89. doi:10.1136/jclinpath-2019-206136.

39. Ratovomanana T, Cohen R, Svrcek M, et al. Performance of Next-Generation Sequencing for the Detection of Microsatellite Instability in Colorectal Cancer With Deficient DNA Mismatch Repair. *Gastroenterology*. 2021;161(3):814-826.e7. doi:10.1053/j.gastro.2021.05.007.
40. Yu F, Makrigiorgos A, Leong KW, et al. Sensitive detection of microsatellite instability in tissues and liquid bi-

opsies: Recent developments and updates. *Comput Struct Biotechnol J*. 2021;19:4931-40. doi:10.1016/j.csbj.2021.08.037.

Поступила в редакцию 19.12.2022
 Прошла рецензирование 04.02.2023
 Принята в печать 16.02.2023

*I.A. Demidova¹, M.L. Filipenko², A.S. Tsukanov³,
 E.N. Imyanitov⁴*

Microsatellite instability: laboratory diagnostic nuances (position statement of the russian interregional organization of molecular geneticists in oncology and oncohematology)

- ¹Moscow City Oncology Hospital No. 62, Moscow, the Russian Federation
²Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the Siberian Branch of the RAS, Novosibirsk, the Russian Federation
³Ryzhikh National Medical Research Center for Coloproctology, Moscow, the Russian Federation
⁴N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, St. Petersburg, the Russian Federation

Microsatellite instability (MSI) is a phenomenon characterized by the accumulation of mutations (deletions and insertions) in short, repeated sequences of DNA. The most common cause of MSI is a defect in the mismatch repair deficiency sys-

tem (dMMR). MSI/dMMR analysis is used to diagnose Lynch syndrome and select patients for immune checkpoint inhibitor therapy. MSI testing involves analyzing the length of several informative microsatellite markers by PCR or NGS, while dMMR detection is based on immunohistochemical analysis of the expression of 4 proteins (MLH1, MSH2, MSH6 and PMS2). In the case of colorectal cancer, MSI and dMMR testing can be considered interchangeable, with the choice between them depending on managerial and financial considerations. Carcinomas with low proliferative activity, including those associated with Lynch syndrome, may demonstrate dMMR in the absence of MSI. These tumors are characterized by low mutational burden and lack of sensitivity to immunotherapy. The procedures for detecting microsatellite instability in non-colorectal tumors remain insufficiently standardized and require further refinement.

Keywords: microsatellite instability; mismatch repair system of DNA; molecular genetic analysis; immunohistochemical analysis

For citation: Demidova IA, Filipenko ML, Tsukanov AS, Imyanitov EN. Microsatellite instability: nuances of laboratory diagnosis (the position of the Russian Association of Molecular Geneticists in Oncology and Oncohematology). *Voprosy Onkologii*. 2023;69(2):174-179. doi: 10.37469/0507-3758-2023-69-2-174-179

Сведения об авторах

Демидова Ирина Анатольевна, канд. мед. наук, заведующая лабораторией молекулярной биологии, ГБУЗ «МГОБ № 62 ДЗМ», 143423, Московская область, Красногорский район, п/о Степановское, поселок Истра, 27, строения с 1 по 26; ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4971-9852>, dema-80@yandex.ru.

Филипенко Максим Леонидович, канд. биол. наук, гл. науч. сотр., заведующий лабораторией фармакогеномики, ИХБФМ СО РАН, 630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8; ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8950-5368>, max@niboch.nsc.ru.

Цуканов Алексей Сергеевич, д-р мед. наук, руководитель отдела лабораторной генетики, ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России, 123423, Москва, ул. Саляма Адилы д. 2; ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8571-7462>, tsukanov81@rambler.ru.

Имянитов Евгений Наумович, д-р мед. наук, проф., чл.-кор. РАН, заведующий научным отделом биологии опухолевого роста, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, 197758, Санкт-Петербург, п. Песочный, ул. Ленинградская, 68; ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4529-7891>, evgeny@imyanitov.spb.ru.

Demidova Irina Anatolievna, PhD (Med.), Head of the Laboratory of Molecular Biology, Moscow City Oncological Hospital № 62; Bld. 1-26, Istra, Stepanovskoye, Krasnogorsk district, Moscow, 143423, Russia, email: dema-80@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4971-9852>.

Filipenko Maxim Leonidovich, PhD (Bio.), Chief Researcher, Head of the Laboratory of Pharmacogenomics, ICBFM SB RAS, 8 Lavrentiev Ave, Novosibirsk, 630090, Russia, email: max@niboch.nsc.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8950-5368>.

Tsukanov Alexey Sergeevich, DSc (Med.), Head of the Department of Laboratory Genetics, Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology; 2 Salama Adilya St., Moscow, 123423, Russia, email: tsukanov81@rambler.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8571-7462>.

Imyanitov Evgeny Naumovich, DSc (Med.), Prof., Corresponding Member of the RAS, Head of the Research Division of Tumor Growth Biology, N.N. Petrov National Medical Research Centre of Oncology; 68 Leningradskaya Str., Pesochny, St. Petersburg, 197758, Russia, email: evgeny@imyanitov.spb.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4529-7891>.