

<https://doi.org/10.25557/2073-7998.2023.08.52-62>

Происхождение множественных опухолей у пациентки с первичной аденокарциномой эндометрия

Мирлина Е.Д.¹, Шахматова А.Д.¹, Хмелькова Д.Н.², Киль Ю.В.¹, Емельянова С.С.¹, Бутрович Г.М.¹, Гринькова Е.Я.¹,
Миронова И.В.², Каймонов В.С.², Поляцкин И.Л.³, Артемьева А.С.³, Гуляев А.В.^{3,4}, Вострюхина О.А.¹, Вербенко В.Н.¹

- 1 – ФГБУ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова
Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»
188300, Ленинградская обл., г. Гатчина, мкр. Орлова роща, д. 1
- 2 – Центр генетики и репродуктивной медицины Генетико
119333, г. Москва, ул. Губкина, д. 3, корп.1
- 3 – ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова
197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, д. 68
- 4 – ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова»
191015, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41

Количество публикаций с описанием первично-множественных опухолей растет, тем не менее сообщения о синхронно-метахронных неоплазмах встречаются крайне редко. Более того, генетический анализ таких опухолей и возможных путей их прогрессии в литературе практически отсутствует. Целью данного исследования было установление независимости происхождения множественных опухолей у пациентки с синдромом Линча. Ретроспективный анализ материала предусматривал как изучение морфологических особенностей опухолей, так и выявление мутационных повреждений в исследуемых генах путем полноэкзомного секвенирования ДНК, выделенной из имеющихся в наличии парафиновых блоков. Совокупность гистологических типов и установленных мутационных профилей неоплазм подтверждает их независимое происхождение. Таким образом, в статье представлен новый случай первично-множественных опухолей и предположены возможные пути их формирования с участием врожденного нарушения системы коррекции неспаренных оснований.

Ключевые слова: первично-множественные опухоли, синдром Линча, первичная аденокарцинома эндометрия, коррекция неспаренных оснований, молекулярно-генетические подтипы колоректальных раков.

Для цитирования: Мирлина Е.Д., Шахматова А.Д., Хмелькова Д.Н., Киль Ю.В., Емельянова С.С., Бутрович Г.М., Гринькова Е.Я., Миронова И.В., Каймонов В.С., Поляцкин И.Л., Артемьева А.С., Гуляев А.В., Вострюхина О.А., Вербенко В.Н. Происхождение множественных опухолей у пациентки с первичной аденокарциномой эндометрия. *Медицинская генетика* 2023; 22(8): 52-62.

Автор для корреспонденции: Вербенко Валерий Николаевич; e-mail: verbenko_vn@pnpi.nrcki.ru

Финансирование. Исследование проведено в рамках темы «Изучение молекулярных и клеточных компонентов патогенеза социально-значимых заболеваний для разработки методов ранней диагностики и лечения», регистрационный номер № 121060200125-2.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 01.08.2023

Genesis of multiple tumors in a patient with a primary endometrial adenocarcinoma

Mirlina E.D.¹, Shakhmatova A.D.¹, Khmelkova D.N.², Kil Yu. V.¹, Emelyanova S.S.¹, Butrovich G.M.¹, Grinkova E.Y.¹, Mironova I.V.²,
Kaimonov V.S.², Polyatskin I.L.³, Artemyeva A.S.³, Gulyaev A.V.^{3,4}, Vostrukhina O.A.¹, Verbenko V.N.¹

- 1 – Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of National Research Centre Kurchatov Institute
1, mkr. Orlova roshcha, Gatchina, Leningradskaya Oblast, 188300, Russian Federation
- 2 – Centre of Genetics and Reproductive Medicine Genetico
3, bldg.1, Gubkina st., Moscow, 119333, Russian Federation
- 3 – N.N. Petrov National Medical Research Centre of Oncology
68, Leningradskaya st., Pesochny, Saint Petersburg, 197758, Russian Federation
- 4 – North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov
14, Kirochnaya st., St. Petersburg, 191015, Russian Federation

The number of cases with the description of primary multiple tumors is growing, however, reports of synchronous-metachronous neoplasms are extremely rare. Moreover, there is practically no genetic analysis of such tumors and possible ways of their progression in the literature. The purpose of this study was to establish the independence of the origin of multiple tumors in a patient with Lynch syndrome. A retrospective analysis of the material included both the study of the morphological features of tumors and the detection of

mutational damage in the studied genes by whole exome sequencing of DNA isolated from available paraffin blocks. The combination of histological types and established mutational profiles of neoplasms confirms their independent origin. Thus, a new case of primary multiple tumors is presented and possible ways of their formation with the participation of congenital disorders of the DNA mismatch repair system are suggested.

Keywords: primary multiple tumors, Lynch syndrome, primary endometrial adenocarcinoma, DNA mismatch repair, molecular genetic subtypes of colorectal cancers.

For citation: Mirlina E.D., Shakhmatova A.D., Khmelkova D.N., Kil Yu. V., Emelyanova S.S., Butrovich G.M., Grinkova E.Y., Mironova I.V., Kaimonov V.S., Polyatskin I.L., Artemyeva A.S., Gulyaev A.V., Vostrukhina O.A., Verbenko V.N. Genesis of multiple tumors in a patient with a primary endometrial adenocarcinoma. *Medical genetics [Medicinskaya genetika]* 2023; 22(8): 52-62. (In Russ.)

Corresponding author: Valery N. Verbenko; **e-mail:** verbenko_vn@pnpi.nrcki.ru

Funding. The study was funding by research work No. 121060200125-2 "Study of molecular and cellular components of the pathogenesis of socially significant diseases for the development of methods of early diagnosis and treatment".

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

Accepted: 01.08.2023

Введение

Первично-множественные опухоли (ПМО) — две и более первичные опухоли, возникающие синхронно или метастазно в одной или нескольких тканях и органах у одного и того же человека [1]. В зависимости от определения заболеваемость ПМО колеблется от 2,4% до 17% [2]. Случаи развития у пациентов трех и более опухолей встречаются в клинической практике редко, и их частота составляет всего 0,5% среди всех видов рака [3]. Наследственная форма неполипозного колоректального рака, известная как синдром Линча, ассоциируется с повышенным риском развития множественных опухолей, в первую очередь в кишечнике, а также в эндометрии, яичниках, желудке и т.д. Кроме того, данные литературы указывают и на умеренный риск рака молочной железы [4]. Пациенты с синдромом Линча часто несут герминальные мутации в генах коррекции неспаренных оснований ДНК (КНО) *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *MLH3*, *PMS2* или делецию в 3'-конце гена *EPCAM* [5].

Эндометриальная аденокарцинома является наиболее распространенной формой гинекологического рака в развитых странах [6]. Приблизительно 2–5% всех случаев рака эндометрия связаны с наследственной предрасположенностью, в частности, с синдромом Линча [7]. Гетерозиготные мутации в гене *MSH6* обычно связывают с развитием синдрома Линча 5 типа [8], который проявляется колоректальными и/или внекишечными опухолями, в особенности, дебютом рака эндометрия в середине взрослой жизни [8–11].

Генетические пути развития множественных опухолей представляют особый интерес из-за их разнообразия и, как следствие, разной чувствительности развивающихся неоплазм к терапевтическим препаратам.

Целью данного исследования было установление независимости происхождения множественных опухолей у пациентки с синдромом Линча. Ретроспективный анализ материала предусматривал как изучение морфологических особенностей опухолей, так и выявление мутационных повреждений в исследуемых генах путем полноэкзомного секвенирования ДНК, выделенной из имеющихся в наличии парафиновых блоков. Полученные результаты подтвердили независимое происхождение множественных опухолей. Таким образом, в статье представлен новый случай первично-множественных опухолей и предположены возможные пути их формирования.

Методы

Парафиновые блоки аденокарцином поперечно-ободочной кишки, нисходящего отдела ободочной кишки, слепой кишки, прямой кишки и левой молочной железы пациентки были предоставлены патологоанатомической лабораторией Национального медицинского исследовательского центра онкологии им. Н.Н. Петрова. ДНК была выделена с помощью набора GeneJET FFPE DNA Purification Kit (Thermo Scientific, Massachusetts, USA). Далее ДНК была фрагментирована ультразвуком на установке Covaris ME220 (Covaris, Massachusetts, USA) до средних размеров 180–280 п.н. Библиотека ДНК была приготовлена с помощью набора SureSelect Human All Exon V7 (Agilent Technologies, California, USA). Полноэкзомное секвенирование ДНК (ПЭС) было проведено компанией «Генетико» (Москва) на секвенаторе The Illumina NovaSeq 6000 Platform (Illumina Inc., California, USA).

Для подтверждения обнаруженных мутаций проводилось секвенирование по Сэнгеру («Евроген», Москва). Наличие мутаций в гене *KRAS* также дополнительно проверялось методом RT-PCR с применением набора Real-time-PCR-*KRAS*-7M («БиоЛинк», Новосибирск) на амплификаторе BioRad CFX96. Маркеры BAT26 и BAT40 использовались для предварительной оценки микросателлитной нестабильности генома (МНГ). В опухоли молочной железы оценивались иммуногистохимические маркеры E-cadherin, PR, ER, Her2 (ERBB2) и маркер пролиферации Ki 67.

Результаты

Рассмотрен уникальный случай синдрома Линча, клиническими проявлениями которого были множественные опухоли, последовательно возникавшие в течение 30 лет жизни пациентки, точнее, 7 синхронно-метахронных неоплазм, выявленных в возрасте от 49 до 79 лет (табл. 1, рис. 1). Первой была обнаружена опухоль эндометрия (1986 г.). Билатеральные аденокарциномы молочных желез диагностированы через 14 и 28 лет после удаления первичной опухоли (2000 г. и 2014 г.), по две опухоли кишечника в каждом случае были обнаружены в 2004 и 2016 годах. Пациентка успешно перенесла 7 операций по удалению онкологических новообразований и в возрасте 84 лет скончалась от коронавирусной

инфекции. Семейный анамнез был отягощен: родители пациентки умерли в возрасте 52 лет: отец от рака толстого кишечника, мать — от рака молочной железы.

Ранее нами было установлено наличие у пациентки до этого неописанной наследственной патогенной мутации в гене *MSH6* (Gly162Ter) системы КНО [12]. Наследование варианта гена *MSH6* ближайшими родственниками и соответствие мутации критериям Амстердам II подтвердили, что пациентка является носителем синдрома Линча. Для анализа мутационных профилей неоплазм был использован метод ПЭС ДНК, выделенной из 5 опухолей и прилегающих тканей.

Биоинформационный анализ данных ПЭС выявил 16 нонсенс-мутаций и 12 миссенс-мутаций в материале пяти доступных опухолей (табл. 2). Частота обнаруженных мутаций в популяции была определена в базах данных Ensembl Project, gnomAD, ClinVar и др. (табл. 2). 12 мутаций охарактеризованы в базах данных как патогенные, 1 — как вероятно патогенная, 3 — как ассоциированные с канцерогенезом.

Потенциальную патогенность еще 12 найденных мутаций можно предположить на основании того, что они соответствуют «очень сильному» критерию PVS1: вызывают терминацию белковой цепи и такие же клинически подтвержденные патогенные мутации известны с локализацией с 3'-стороны по отношению к об-суждаемым мутациям [14].

Таблица 1. Гистологическое описание образцов опухолей

Table 1. Histological description of tumor tissue samples

Год	Тип опухоли	Стадия	Лечение
1986*	Высокодифференцированная слабосекретирующая аденокарцинома эндометрия без инвазии миометрия на фоне секреторно трансформированной атипичной гиперплазии эндометрия и распространенного внутреннего эндометриоза	pT1N0M0	Комплексное
2000*	Инвазивный протоковый рак правой молочной железы, врастающий в жировую клетчатку	pT1N0M0	Комплексное
2004	Умеренно дифференцированная аденокарцинома прямой кишки, глубоко инфильтрирующая мышечный слой кишки	pT3N0M0	БПЭ (брюшно-промежностная экстирпация)
2004	Муцинозная аденокарцинома поперечно-ободочной кишки, врастающая в жировую клетчатку	pT3N0M0	Резекция
2014	Билатеральная метахронная инвазивная дольковая, аденокарцинома левой молочной железы, G3	pT1N0M0	Мастэктомия
2016	Аденокарцинома нисходящего отдела ободочной кишки, врастающая в подслизистый слой кишки, G1	pT1N0M0	Резекция
2016	Умеренно дифференцированная аденокарцинома слепой кишки с инвазией в мышечный слой	pT2N0M0	Гемиколэктомия

Примечание. Символ * означает отсутствие материала для ПЭС.

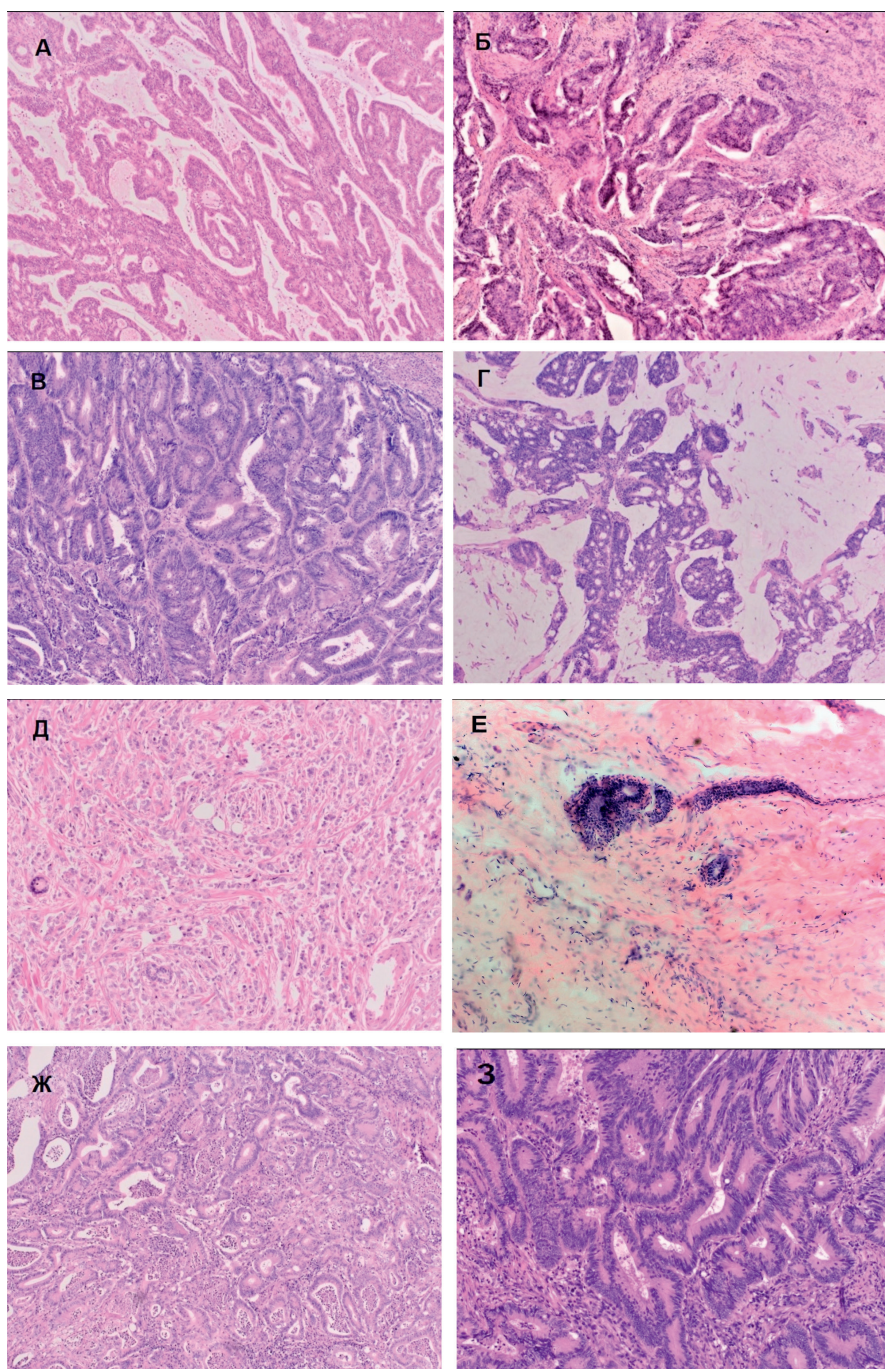


Рис. 1. Микрофотографии опухолей (окрашивание гематоксилин-эозином). А. Аденокарцинома эндометрия. Б. Инвазивный рак правой молочной железы. В. Аденокарцинома прямой кишки. Г. Муцинозная аденокарцинома поперечно-ободочной кишки. Д. Дольковая аденокарцинома левой молочной железы. Е. Прилегающая ткань. Ж. Аденокарцинома нисходящего отдела ободочной кишки. З. Аденокарцинома слепой кишки.

Fig. 1. Photomicrographs of tumor tissues (hematoxylin-eosin staining). А. Endometrial adenocarcinoma. Б. Right breast invasive cancer. В. Adenocarcinoma of the rectum. Г. Mucinous adenocarcinoma of the transverse colon. Д. Lobular adenocarcinoma of the left breast. Е. Adjacent tissue. Ж. Adenocarcinoma of the descending colon. З. Adenocarcinoma of the caecum.

Таблица 2. Соматические патогенные мутации, выявленные ПЭС

Table 2. Somatic pathogenic mutations identified by whole exome sequencing

Рак	муцинозная аденокарцинома поперечно-ободочной кишки	умеренно дифференцированная аденокарцинома прямой кишки	дольковая аденокарцинома левой молочной железы	аденокарцинома слепой кишки	аденокарцинома нисходящего отдела ободочной кишки	частота мутаций		примечание
Год	2004	2004	2014	2016	2016	Ensembl Project	gnomAD	
Ген/маркер	мутация							
<i>MSH6</i>	c.3261del, p.Phe1088Serfs Ter2		-		-	0	0	CV: патогенная, TOPMED: вероятно патогенная
<i>MSH6</i>		c.3261dup, p.Phe1088Leufs Ter5	-	c.3261dup, p.Phe1088Leufs Ter5	-	0	3,21 e ⁻⁵	gA: патогенная
<i>MSH6</i>	-	-	-	c.741dup, p.Arg248Thrfs Ter8	-	SNP	0	GP: патогенная, CV: патогенная
<i>TGFB2</i>	c.458del, p.Lys153Serfs Ter35	-	-	c.458del, p.Lys153Serfs Ter35	-	0	0	gA: AG>A Lys153Asnfs Ter35 3,99 e ⁻⁶ , CV: p.Arg495Ter патогенная
<i>ZNRF3</i>	c.733C>T, p.Arg245Ter	-	-	-	-	0	3,19 e ⁻⁵	TCGA: патогенная
<i>ZNRF3</i>	-	-	-	c.536C>T, p.Pro179Leu	-	0	0	TCGA: ассоциирована с колоректальной аденокарциномой
<i>RNF43</i>	c.394C>T, p.Arg132Ter	-	-	-	-	SNP	0	EP: патогенная
<i>RNF43</i>	-	-	-	c.180del, Lys60AsnfsTer2	-	0	0	CGAN: p.Arg117Ter патогенная
<i>APC</i>	-	c.438C>T, p.Arg1450Ter	-	-	-	SNP	0	CV: патогенная
<i>PIK3CA</i>	c.2176G>A, p.Glu726Lys	-	-	-	-	SNP	0	CV и GP: патогенная
<i>PIK3CA</i>	-	-	-	-	c.3166G>A, p.Asp1056Asn	0	0	[13]: ассоциирована с раком молочной железы
<i>EGFR</i>	-	-	-	-	c.2257C>T, p.Pro753Ser	0	7,95e ⁻⁶	gA: вероятно патогенная, CV: вероятно патогенная
<i>KRAS*</i>	-	c.38G>A, p.Gly13Asp	-	-	-	SNP	0	EP: патогенная
<i>KRAS*</i>					c.35G>A, p.Gly12Asp	SNP	4,01 e ⁻⁶	EP: патогенная, gA: патогенная
<i>ARID1A</i>	c.5548del, p.Asp1850Thrfs Ter33	c.5548del, p.Asp1850Thrfs Ter33	-	-	-	0	0	EP и CV: p.W1844Ter патогенная

Продолжение табл. 2 см. на стр. 57

Таблица 2. Соматические патогенные мутации, выявленные ПЭС**Table 2.** Somatic pathogenic mutations identified by whole exome sequencing

Рак	муцинозная аденокарцинома поперечно-ободочной кишки	умеренно дифференцированная аденокарцинома прямой кишки	дольковая аденокарцинома левой молочной железы	аденокарцинома слепой кишки	аденокарцинома нисходящего отдела ободочной кишки	частота мутаций		примечание
Год	2004	2004	2014	2016	2016			
Ген/маркер	мутация					Ensembl Project	gnomAD	
<i>ARID1A</i>	-	-	-	c.5503C>T, p.Gln1835Ter	-	0	0	EP и CV: p.Trp1844Ter патогенная
<i>BLM</i>	c.1544del, p.Asn-515Metfs Ter16	c.1544del, p.Asn-515Metfs Ter16	-	-	-	0	0	gA: p.Asp542ThrfsTer2 патогенная
<i>BLM</i>	-	c.1214del, p.Phe405Serfs Ter7	-	-	-	0	0	gA: p.Tyr430Ter патогенная
<i>BLM</i>				c.1213_1214del, p.Phe405Profs Ter13	-	0	0	gA: p.Tyr430Ter патогенная
<i>FBXW7</i>	-	c.1394G>A, p.Arg465His	-	-	-	0	0	gA: p.Arg465Cys патогенная
<i>TP53</i>	-	c.817C>T, p.Arg273Cys	-	-	-	0	1,20 e ⁻⁵	CV: патогенная/вероятно патогенная
<i>TP53</i>	-	-	-	c.359A>G, p.Lys-120Arg	-	0	0	CV: синдром Ли-Фраумени
<i>TP53</i>	-	-	-	-	c.3G>A, p.Met1?	SNP	7.97e ⁻⁶	EP: патогенная, CV: неопределенное значение
<i>CTNNB1</i>	-	-	-	-	c.1148G>A, p.Trp383Ter	0	0	CV: p.Cys381fs патогенная, CV: p.Leu385fs патогенная
<i>BRCA2</i>	-	-	c.462C>T, p.Gln155Ter	-	-	0	0	EP: p.Lys157Ter - патогенная
<i>CDH1</i>	-	-	c.49-1G>C	-	-	0	0	CV: c.49-2A>C – патогенная, <i>in silico</i> предсказан эффект от замены консервативного нуклеотида
<i>CDH1</i>					c.2218C>T, p.Pro740Ser	SNP	0	CV: патогенная
<i>NFI</i>	c.3574G>T, p.Glu1192Ter	-	-	-	-	0	0	CV: p.Arg1276Ter патогенная

Примечание. Серый цвет - проводилось секвенирование по Сэнгеру ПЦР-фрагментов ДНК из опухолей для подтверждения мутаций, обнаруженных ПЭС. * - мутации подтверждены методом RT-PCR. CGAN – Cancer Genome Atlas Network, CV – ClinVar, EP – Ensembl Project, gA – gnomAD, TCGA – Pan Cancer Atlas, TOPMED – Trans-Omics for Precision Medicine, SNP – однонуклеотидный полиморфизм.



Рис. 2. Секвенирование ПЦР-фрагмента гена *TGFBR2* из аденокарциномы поперечно-ободочной кишки в двух направлениях. Стрелкой указано положение делеции. А. Последовательность содержит 10 А (норма). Б. Последовательность содержит 9 А (делеция). В. Последовательность содержит 10 Т (норма). Г. Последовательность содержит 9 Т (делеция).

Fig. 2. Sequencing of the PCR fragment of the *TGFBR2* gene from adenocarcinoma of the transverse colon in two directions. The arrow indicates the position of the deletion. A. The sequence contains 10 A (norm). Б. The sequence contains 9 A (deletion). В. The sequence contains 10 T (norm). Г. The sequence contains 9 T (deletion).

В трех опухолях из пяти были обнаружены мутации в генах *MSH6*, *TP53*, *ARID1A* и *BLM*; в двух опухолях были найдены мутации в генах *KRAS*, *TGFBR2*, *PIK3CA*, *CDH1*, *ZNRF3* и *RNF43*. Уникальные мутации, характеризующие особенности каждой опухоли, включают варианты *APC*, *FBXW7*, *CTNNB1*, *EGFR*, *NF1* и *BRCA2*. Ключевые мутации были подтверждены секвенированием по Сэнгеру. Мутации в гене *KRAS* были дополнительно подтверждены методом RT-PCR.

Появление соматической мутации в гене *MSH6* в дополнение к герминальной мутации в гене *MSH6* приводит к образованию гетерозиготного компаунда, вследствие чего можно ожидать снижение активности КНО, проявляющееся в МНГ. Ранее нами было показано, что использование маркеров МНГ BAT26 и BAT40 для экспресс-анализа обеспечивает высокую чувствительность [15]. В опухолях поперечно-ободочной, прямой и слепой кишки, но не в опухолях нисходящего отдела ободочной кишки и молочной железы, было обнаружено уменьшение длины микросателлитов в обоих использованных маркерах BAT26 и BAT40. Подтверждением сниженной активности КНО является, например, уменьшение длины последовательности из 10 аденинов в гене-мишени *TGFBR2* в аденокарциноме поперечно-ободочной кишки (рис. 2).

При анализе опухоли молочной железы индекс пролиферативной активности Ki-67 составил 80%, E-cadherin был негативным, статус HER2 был 1+, ER ~ 70% и PR ~ 40%. Следует отметить отсутствие экспрессии E-кадгерина, что согласуется с наличием нонсенс-мутации в гене *CDH1*.

Обсуждение

Известны случаи развития ПМО при различных наследственных опухолевых синдромах. В недавнем исследовании Цзян с соавт. [16] представлен чрезвычайно редкий случай, описывающий пациента — мужчину в возрасте 81 года с восемью ПМО: левосторонней аденокарциномой толстой кишки, аденокарциномой прямой кишки, аденокарциномой желудка, аденокарциномой ободочной кишки, пограничной опухолью слизистой оболочки носовой полости, плоскоклеточным раком кожи живота, аденокарциномой простаты, веретеноклеточной опухолью паха. Диагноз синдром Линча был подтвержден на основании родословной, герминальной мутации в гене *MSH2* и ряда других генов. ПЭС ДНК из опухолей выявило 41 мутацию в генах, ассоциирован-

ных с канцерогенезом, в частности, мутацию в гене *TP53*, биаллельную инактивацию гена *NF1* и делецию в экзоне 12 гена *MSH2*. Обнаружено также отсутствие экспрессии *CDKN2A*.

Другой случай описан Ан с соавт. [17] как синдром Линча с ранним началом у пациентки в возрасте 13 лет с аденокарциномой прямой кишки, новообразованиями в поперечно-ободочной кишке и восходящем отделе ободочной кишки. Генетическое тестирование выявило мутации в гене *KRAS* (с.35G>A, Gly12Asp), а также мутацию в сайте сплайсинга гена *MLH1* (с.678-1G>C), которая была также выявлена у матери, но не у отца.

К опухолевым синдромам с предрасположенностью к первичной множественности относят случаи не только синдрома Линча, но синдрома Ли-Фраумени. Так, в 2015 году Ли с соавт. [18] описали сорокапятилетнюю пациентку с девятью опухолями: нейробластомой, рабдомиосаркомой, раком молочной железы, легких, щитовидной железы, желудка, остеосаркомой, а также острым миелоидным лейкозом. Пациентка имела отягощенный семейный анамнез по раку молочной железы. В результате ПЭС были выявлены мутации в генах *TP53* (R273H), *BRCA2* (N372H), *CDH1* (L630V). Авторы высказали предположение, что определяющей развитие рака является герминальная мутация в гене *TP53*.

В 2018 году Аракава с соавт. [19] также описали случай девяти метахронных ПМО (три новообразования были расположены в пищеводе, два в желудке, два в толстой кишке, одно в предстательной железе и одно в наружном слуховом проходе). В этом исследовании продемонстрировано, что все новообразования были микросателлитно-стабильными, что исключало ошибки КНО ДНК как возможный фактор в этом случае. Статус p53 был положительным в опухолях пищевода, желудка и прямой кишки при первом лечении, но был отрицательным при раке пищевода во время второго и третьего курса лечения, при раке желудка при втором лечении и при раке толстой кишки, предстательной железы и наружного слухового прохода.

Другой пример, не относящийся к традиционным наследственным опухолевым синдромам, при которых возможно развитие ПМО, описали Чжао и соавт. [20]. Пациент мужского пола в возрасте 53 лет поступил с фиброзной дисплазией, остеосаркомой, гигантоклеточной опухолью кости и первичной менингиомой легких. Высокопроизводительное секвенирование выявило соматическую мутацию в гене, кодирующем гистон H3.3A (экзон 2, G35W) и наследственную мутацию в гене *BRCA2* (экзон 8, V220Ifs*4).

Хотя опухоли костей, связанные с мутациями в гене *BRCA2*, редко изучались, а возможная функция *BRCA2* гораздо менее определена, авторы считают, что наследственная мутация в гене *BRCA2* может быть основной причиной возникновения четырех новообразований в этом случае.

Первично-множественными считаются новообразования, возникающие в разных местах и/или относящиеся к разным гистологическим или морфологическим группам [1]. Это общие положения, врачу же в каждом конкретном случае необходимо решать вопрос о первичности второй (третьей) опухоли с учетом многих вариантов клинического течения заболевания, локализации, морфологических особенностей, регионарного метастазирования и т.д. По всей видимости, наиболее точный ответ на этот вопрос мог бы дать генетический анализ опухолевого материала [21], поскольку одинаковый мутационный профиль опухолей предполагает их моноклональную природу, и, следовательно, метастатический характер второй (третьей) карциномы, в то время как различные генетические повреждения, выявленные во множественных новообразованиях, свидетельствуют о независимости их инициации и развития.

В данной работе для определения первичной множественности новообразований использованы разные подходы, так как не весь материал был доступен для анализа (табл. 1). Так, эндометриальная аденокарцинома — это опухоль, отдаленная по времени и локализации от остальных неоплазм, имеющая специфичный гистологический тип, раннюю форму (стадия pT1N0M0) без инвазии в миометрий. Для морфолога высокодифференцированная карцинома эндометрия, как и ее метастаз, радикально отличаются от первичного колоректального рака и тем более карциномы молочной железы (<https://nii-onco.ru/diagnostika/kak-provoditsya-gistologicheskoe-issledovanie-vidy-metody-osobennosti/>).

Раки молочной железы гистологически различаются в правой и левой железе: инвазивный протоковый рак в одной и инвазивный дольковый рак — в другой. В проанализированной с помощью ПЭС опухоли левой молочной железы патогенез сводится к повреждению генов *BRCA2* и *CDH1*. Считается, что потеря Е-кадгерина (*CDH1*) является ранним событием в развитии инфильтрующей дольковой аденокарциномы [22] и активирует сигнальный путь WNT/b-катенин. Мутация в гене *BRCA2* связана с нарушением гомологичной рекомбинационной репарации двуниевых разрывов ДНК.

Для диагностики карцином молочной железы как первичного источника метастатического поражения желудочно-кишечного тракта имеют значение различия между метастазированием протоковых и дольковых раков. Если для первых характерно метастазирование в печень, легкие, головной мозг, то метастазы в костях, желудочно-кишечном тракте и внутренних гениталиях чаще развиваются при дольковых раках [23]. В рассматриваемом случае в правой молочной железе диагностирован протоковый рак, а в левой — дольковый. При этом выявленная в левой молочной железе патогенная мутация в гене *BRCA2* c.462C>T, p.Gln155Ter не встречается ни в одной из неоплазм кишечника. Поэтому с высокой степенью вероятности можно говорить о том, что опухоли молочной железы и кишечника являются независимыми друг от друга.

На основании полученных нами данных ПЭС для колоректальных опухолей можно предположить два молекулярных подтипа злокачественной трансформации. Первый начинается с дефицита КНО, обусловленного наследственной мутацией в гене *MSH6*. Появление гетерозиготного компаунда за счет соматической мутации в аллеле гена *MSH6* на фоне герминальной мутации в этом гене в соответствии с двухударной гипотезой Кнудсона [24] является причиной, определяющей подтип CMS1 (микросателлитно нестабильный) [25] опухолей поперечно-ободочной, прямой и слепой кишки.

Следует отметить, что иницирующие соматические мутации в гене *MSH6* в опухолях поперечно-ободочной, прямой и слепой кишки указывают на их независимое происхождение, поскольку в синхронных опухолях 2004 г. это разные мутации, приводящие к терминации: p.Phe1088Serfs Ter2 в опухоли поперечно-ободочной и p.Phe1088Leufs Ter5 в опухоли прямой кишки. Кроме того, неоплазма поперечно-ободочной кишки имеет особый, муцинозный гистологический тип в отличие от остальных кишечных новообразований. Опухоль слепой кишки с двумя мутациями в гене *MSH6* (p.Phe1088Leufs Ter5 и p.Arg248ThrfsTer8), приводящими к терминации, не может быть метастазом опухоли прямой кишки, так как в этих двух опухолях нет ни одной одинаковой мутации за исключением герминальной. В то же время формирование опухоли нисходящего отдела ободочной кишки (левосторонняя локализация) привело к каноническому подтипу CMS2 [25], опосредованному накоплением мутаций в генах *KRAS*, *EGFR*, *PIK3CA*, *TP53*, *CTNNB1* и *CDH1*, активирующими WNT-сигнальный путь.

Совокупность гистологических типов и установленных мутационных профилей неоплазм подтверждает их независимое происхождение. Таким образом, в статье представлен новый случай ПМО и предложены возможные пути их формирования с участием врожденного нарушения системы КНО. Такое нарушение КНО, определяемое герминальным вариантом гена *MSH6* у пациентки, привело к накоплению мутаций в онкогенах и генах-онкосупрессорах в течение длительного времени, свободного от клинических проявлений. Этот вывод требует постоянного наблюдения за такими пациентами далеко за пределами пятилетней ремиссии.

Литература

- Vogt A., Schmid S., Heinimann K., et al. Multiple primary tumours: challenges and approaches, a review. *ESMO Open*. 2017;2(2):e000172.
- Copur M.S., Manapuram S. Multiple primary tumors over a lifetime. *Oncology*. 2019;33(7):629384.
- Markakis C., Marinis A., Dikeakos P., et al. Multiple synchronous primary neoplasms of the breast, colon and rectum after surgery for endometrial cancer: a case report. *Int. J. Surg. Case Rep*. 2013;4(5):493-495.
- Porkka N.K., Olkinuora A., Kuopio T., et al. P. Does breast carcinoma belong to the Lynch syndrome tumor spectrum? Somatic mutational profiles vs. ovarian and colorectal carcinomas. *Oncotarget*. 2020;11:1244-1256.
- Ligtenberg M., Kuiper R., Chan T., et al. Heritable somatic methylation and inactivation of *MSH2* in families with Lynch syndrome due to deletion of the 3' exons of *TACSTD1*. *Nat. Genet*. 2009;41:112-117.
- Dashti S.G., Chau R., Ouakrim D.A., et al. Female hormonal factors and the risk of endometrial cancer in Lynch syndrome. *JAMA*. 2015;314(1):61-71.
- Meyer L.A., Broaddus R.R., Lu K.H. Endometrial cancer and Lynch syndrome: clinical and pathologic considerations. *Cancer Control*. 2009;16(1):14-22.
- Miyaki M., Konishi M., Tanaka K., et al. Germline mutation of *MSH6* as the cause of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. (Letter) *Nature Genet*. 1997;17:271-272.
- Wagner A., Hendriks Y., Meijers-Heijboer E. J., et al. Atypical HNPCC owing to *MSH6* germline mutations: analysis of a large Dutch pedigree. *J. Med. Genet*. 2001;38:318-322.
- Wijnen J., de Leeuw W., Vasen H., et al. Familial endometrial cancer in female carriers of *MSH6* germline mutations. (Letter) *Nature Genet*. 1999;23:142-144.
- Castellsague E., Liu J., Vollenik A., et al. Characterization of a novel founder *MSH6* mutation causing Lynch syndrome in the French Canadian population. *Clin. Genet*. 2015;87:536-542.
- Vostriukhna O.A., Mirlina E.D., Khmelkova D.N., et al. An *MSH6* germline pathogenic variant p.Gly162Ter associated with Lynch syndrome. *Hum. Genome Var*. 2022;9:1-4.
- Karakas B., Colak D., Kaya N., et al. Prevalence of PIK3CA mutations and the SNP rs17849079 in Arab breast cancer patients. *Cancer Biol. Ther*. 2013;14(10):888-896.
- Рыжкова О.П., Кардымон О.Л., Прохорчук Е.Б., и др. Руководство по интерпретации данных последовательности ДНК человека, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) (редакция 2018, версия 2). Медицинская генетика. 2019;18(2):3-23.
- Вострухина О.А., Штам Т.А., Мохова Н.В., и др. Уровень нестабильности микросателлитов и мутации гена *p53* в карциноме желудочно-кишечного тракта человека. *Экологическая генетика*. 2004;2(4):22-28.
- Jiang J., Huang T., Lin X., et al. Long-term survival of a Lynch syndrome patient with eight primary tumors: a case report. *Front. Oncol*. 2022;12:896024.
- Ahn D.H., Rho J.H., Tchah H., et al. Early onset of colorectal cancer in a 13-year old girl with Lynch syndrome: case report. *Korean J. Pediatr*. 2016;59(1):40-42.
- Li X., Kang J., Pan Q., et al. Genetic analysis in a patient with nine primary malignant neoplasms: a rare case of Li-Fraumeni syndrome. *Oncol. Rep*. 2016;35:1519-1528.
- Arakawa K., Hata K., Yamamoto Y., et al. Nine primary malignant neoplasms-involving the esophagus, stomach, colon, rectum, prostate, and external ear canal-without microsatellite instability: a case report. *BMC Cancer*. 2018;18:24.
- Zhao Z., Sun K., Yan T., et al. Multiple primary tumors: a case report and review of the literature. *BMC Musculoskelet. Disord*. 2020;21(1):394.
- Giannini R.C., Lupi F., Louparkis F., et al. *KRAS* and *BRAF* genotyping of synchronous colorectal carcinomas. *Oncol. Lett*. 2014;7(5):1532-1536.
- Ciriello G., Gatza M.L., Beck A.H., et al. TCGA Research Network, Perou CM. Comprehensive molecular portraits of invasive lobular breast cancer. *Cell*. 2015;163:506-519.
- Павлова Н.В., Чурносков М.И., Должиков А.А., и др. Метастазы рака молочной железы, имитирующие первичную карциному желудка. Клиническое наблюдение и обзор особенностей диагностики. Научные ведомости белгородского государственного университета. Серия Медицина. Фармация. 2018;41(1):178-187.
- Knudson A.G. Jr. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1971;68:820-823.
- Кит О.И., Дженкова Е.А., Мирзоян Э.А., и др. Молекулярно-генетическая классификация подтипов колоректального рака: современное состояние проблемы. Южно-Российский онкологический журнал. 2021;2(2):50-56.

References

- Vogt A., Schmid S., Heinimann K., et al. Multiple primary tumours: challenges and approaches, a review. *ESMO Open*. 2017;2(2):e000172.
- Copur M.S., Manapuram S. Multiple primary tumors over a lifetime. *Oncology*. 2019;33(7):629384.
- Markakis C., Marinis A., Dikeakos P., et al. Multiple synchronous primary neoplasms of the breast, colon and rectum after surgery for endometrial cancer: a case report. *Int. J. Surg. Case Rep*. 2013;4(5):493-495.
- Porkka N.K., Olkinuora A., Kuopio T., et al. P. Does breast carcinoma belong to the Lynch syndrome tumor spectrum? Somatic mutational profiles vs. ovarian and colorectal carcinomas. *Oncotarget*. 2020;11:1244-1256.
- Ligtenberg M., Kuiper R., Chan T., et al. Heritable somatic methylation and inactivation of *MSH2* in families with Lynch syndrome due to deletion of the 3' exons of *TACSTD1*. *Nat. Genet*. 2009;41:112-117.
- Dashti S.G., Chau R., Ouakrim D.A., et al. Female hormonal factors and the risk of endometrial cancer in Lynch syndrome. *JAMA*. 2015;314(1):61-71.

7. Meyer L.A., Broadus R.R., Lu K.H. Endometrial cancer and Lynch syndrome: clinical and pathologic considerations. *Cancer Control*. 2009;16(1):14-22.
8. Miyaki M., Konishi M., Tanaka K., et al. Germline mutation of *MSH6* as the cause of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. (Letter) *Nature Genet*. 1997;17:271-272.
9. Wagner A., Hendriks Y., Meijers-Heijboer E. J., et al. Atypical HNPCC owing to *MSH6* germline mutations: analysis of a large Dutch pedigree. *J. Med. Genet*. 2001;38:318-322.
10. Wijnen J., de Leeuw W., Vasen H., et al. Familial endometrial cancer in female carriers of *MSH6* germline mutations. (Letter) *Nature Genet*. 1999;23:142-144.
11. Castellsague E., Liu J., Volenik A., et al. Characterization of a novel founder *MSH6* mutation causing Lynch syndrome in the French Canadian population. *Clin. Genet*. 2015;87:536-542.
12. Vostrukhina O.A., Mirlina E.D., Khmelkova D.N., et al. An *MSH6* germline pathogenic variant p.Gly162Ter associated with Lynch syndrome. *Hum. Genome Var*. 2022;9:1-4.
13. Karakas B., Colak D., Kaya N., et al. Prevalence of *PIK3CA* mutations and the SNP rs17849079 in Arab breast cancer patients. *Cancer Biol. Ther*. 2013;14(10):888-896.
14. Ryzhkova O.P., Kardymon O.L., Prohorchuk E.B., et al. Rukovodstvo po interpretatsii dannykh posledovatel'nosti DNK cheloveka, poluchennykh metodami massovogo parallel'nogo sekvenirovaniya (MPS) (redaktsiya 2018, versiya 2) [Guidelines for the interpretation of massive parallel sequencing variants (update 2018, v2)]. *Meditinskaya genetika [Medical Genetics]*. 2019;18(2):3-23. (In Russ.) <https://doi.org/10.25557/2073-7998.2019.02.3-23>
15. Vostrukhina O.A., Shtam T.A., Khmelkova D.N., et al. Uroven nestabilnosti mikrosatelлитov i mutatsii gena *p53* v kartsinomah jeludochno-kishechnogo trakta cheloveka [The level of instability of microsatellites and mutations of the *p53* gene in human gastrointestinal carcinoma]. *Ekologicheskaya genetika [Ecological Genetics]*. 2004;2(4):22-28. (In Russ.)
16. Jiang J., Huang T., Lin X., et al. Long-term survival of a Lynch syndrome patient with eight primary tumors: a case report. *Front. Oncol*. 2022;12:896024.
17. Ahn D.H., Rho J.H., Tchah H., et al. Early onset of colorectal cancer in a 13-year old girl with Lynch syndrome: case report. *Korean J. Pediatr*. 2016;59(1):40-42.
18. Li X., Kang J., Pan Q., et al. Genetic analysis in a patient with nine primary malignant neoplasms: a rare case of Li-Fraumeni syndrome. *Oncol. Rep*. 2016;35:1519-1528.
19. Arakawa K., Hata K., Yamamoto Y., et al. Nine primary malignant neoplasms-involving the esophagus, stomach, colon, rectum, prostate, and external ear canal-without microsatellite instability: a case report. *BMC Cancer*. 2018;18:24.
20. Zhao Z., Sun K., Yan T., et al. Multiple primary tumors: a case report and review of the literature. *BMC Musculoskelet. Disord*. 2020;21(1):394.
21. Giannini R.C., Lupi F., Louparkis F., et al. *KRAS* and *BRAF* genotyping of synchronous colorectal carcinomas. *Oncol. Lett*. 2014;7(5):1532-1536.
22. Ciriello G., Gatz M.L., Beck A.H., et al. TCGA Research Network, Perou CM. Comprehensive molecular portraits of invasive lobular breast cancer. *Cell*. 2015;163:506-519.
23. Pavlova N.V., Churnosov M.I., Dolzhikov A.A., et al. Metastasy rak molochnoy zhelezy simuliruuchshie pervichnuu karcinomu jeludka. Klinicheskoe nabludenie i obsor osobennostei diagnostiki [Metastases of breast carcinoma simulating the primary stomach cancer. A case report and review of diagnostic problems]. *Nauchnye vedomosti belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Meditsina. Farmatsiya [Scientific Bulletin of the Belgorod State University. Series Medicine. Pharmacy]*. 2018;41(1):178-187. (In Russ.)
24. Knudson A.G. Jr. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1971;68:820-823.
25. Kit O.I., Djenkova E.A., Mirzoyan E.A., et al. Molekulyarno-geneticheskaya klassifikatsiya podtipov kolorektalnogo raka: sovremennoe sostoyanie problemy [Molecular genetic classification of subtypes of colorectal cancer: current state of the problem] *Ūžno-Rossiiskij onkologičeskij žurnal [South Russian Journal of Cancer]*. 2021;2(2):50-56. (In Russ.)