



MSI-High instability in NR21, Bat26, NR24 and Mono-27

# ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΙΚΡΟΔΟΡΥΦΟΡΙΚΗΣ ΑΣΤΑΘΕΙΑΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΑ ΣΥΜΠΑΓΗ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΑ

Σφακιανάκη Μ.<sup>1</sup> Τζαρδή Μ.<sup>2</sup>, Τσαντάκη Κ.<sup>1</sup>, Κουτουλάκη Χ.<sup>1</sup>, Βογιατζόγλου Κ.<sup>1</sup>, Τρυπάκη Μ.<sup>1</sup>, Μεσσαριτάκης Ι.<sup>1</sup>, Μαυρουδής Δ.<sup>1</sup>, Σουγκλάκος Ι.<sup>1</sup>  
1. Εργαστήριο Μεταφραστικής Ογκολογίας, Ιατρική Σχολή, Παν/μιο Κρήτης, 2. Παθολογοανατομικό Εργαστήριο, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ηρακλείου

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα γονίδια επιδιόρθωσης DNA (MMR) είναι υπεύθυνα για την διόρθωση του άστοχου ζευγαρώματος των νουκλεοτιδικών βάσεων και των μικρών εισαγωγών ή διαγραφών κατά τον διπλασιασμό του DNA. Οι γαμετικές μεταλλάξεις των MMR θεωρούνται βασική γενετική διαταραχή στους ασθενείς με κληρονομικό καρκίνο παχέος εντέρου χωρίς πολυποδίαση/ΗΝΡCC ή σύνδρομο Lynch. Το 15% των σποραδικών καρκινωμάτων του παχέος εντέρου εμφανίζουν MSI-High. Ωστόσο, το MSI έχει παρατηρηθεί και σε άλλες μορφές καρκίνου όπως ενδομητρίου, στομάχου και ωοθηκών.

**ΣΚΟΠΟΣ:** Η συσχέτιση και η εύρεση της βέλτιστης μεθόδου μεταξύ της μοριακής ανάλυσης του status των γονιδίων της Μικροδορυφορικής Αστάθειας (MSI-High, MSI-Low και MSS) και της ανοσοϊστοχημικής ανάλυσης της έκφρασης των πρωτεϊνών της οικογένειας MMR.

## ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Σε παραφινωποιημένους ιστούς από χειρουργικά παρασκευάσματα 241 ασθενών με διαφορετικά νεοπλάσματα μελετήσαμε ανοσοϊστοχημικά την έκφραση των MLH1/MSH2/MSH6/PMS2 και συγκρίναμε τα αποτελέσματα με την μοριακή ανάλυση της μικροδορυφορικής αστάθειας (MSI) όλων των δειγμάτων που ολοκληρώθηκε με τη μεθοδολογία fragment analysis. Αρχικά έγινε εκχύλιση του DNA τόσο από τον καρκινικό ιστό του ασθενή όσο και από τον φυσιολογικό βλεννογόνο του. Μετά ακολούθησε η τεχνική της multiplex PCR παρουσία σημασμένων εκκινητών με φθοριούχα μόρια με βάση το πρωτόκολλο MSI Analysis System Version 1.2 (Promega). Τέλος, η χαρτογράφηση των πέντε μικροδορυφορικών δεικτών οι οποίοι επιλέχθηκαν με βάση τη κοινή συμφωνία του 1997 στη Bethesda, έγινε με την μέθοδο της τριχοειδούς ανάλυσης στον αυτόματο αναλυτή 3130 DNA Sequencer. Όγκοι MSI-H θεωρούνται όταν παρατηρείται αστάθεια τουλάχιστον 2/5 μικροδορυφορικών δεικτών, MSI-L 1/5 και MSS (stable) 0/5.

## ΣΚΟΠΟΣ

Η συσχέτιση και η εύρεση της βέλτιστης μεθόδου μεταξύ της μοριακής ανάλυσης του status των γονιδίων της Μικροδορυφορικής Αστάθειας (MSI-High, MSI-Low και MSS) και της ανοσοϊστοχημικής ανάλυσης της έκφρασης των πρωτεϊνών της οικογένειας MMR.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Παρά το γεγονός της ουσιαστικής συμφωνίας μεταξύ των δύο μεθόδων θεωρούμε ότι για την ασφαλή διερεύνηση των ασθενών είναι απαραίτητες και οι δύο μέθοδοι.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

30 ασθενείς (12.4%) με MSI-High και 211 (87,2%) ανιχνεύθηκαν μοριακά ενώ 21 ασθενείς (8,7%) και 209 (86,4%) ανιχνεύθηκαν ανοσοϊστοχημικά, ποσοστά συγκρίσιμα σύμφωνα με τη βιβλιογραφία. Με βάση το συντελεστή συμφωνίας των δύο μεθόδων αναδείχθηκε ουσιαστική συμφωνία (Kappa = 0.658 with p < 0.000).

## REFERENCES

- Abdel-Rahman, W.M. Genomic instability and carcinogenesis: An update. *Current genomics* 2008, 9, 535-541
- Li, K.; Luo, H.; Huang, L.; Luo, H.; Zhu, X. Microsatellite instability: A review of what the oncologist should know. *Cancer cell international* 2020, 20, 16.
- McCarthy, A.J.; Capo-Chichi, J.M.; Spence, T.; Grenier, S.; Stockley, T.; Kamel-Reid, S.; Serra, S.; Sabatini, P.; Chetty, R. Heterogenous loss of mismatch repair (mrr) protein expression: A challenge for immunohistochemical interpretation and microsatellite
- Chao, E.C.; Lipkin, S.M. Molecular models for the tissue specificity of DNA mismatch repair-deficient carcinogenesis. *Nucleic acids research* 2006, 34, 840-852.

## CONTACT

Μ. Σφακιανάκη  
Εργαστήριο Μεταφραστικής  
Ογκολογίας, Ιατρική Σχολή,  
Παν/μιο Κρήτης  
mimasf19@gmail.com  
2810394578

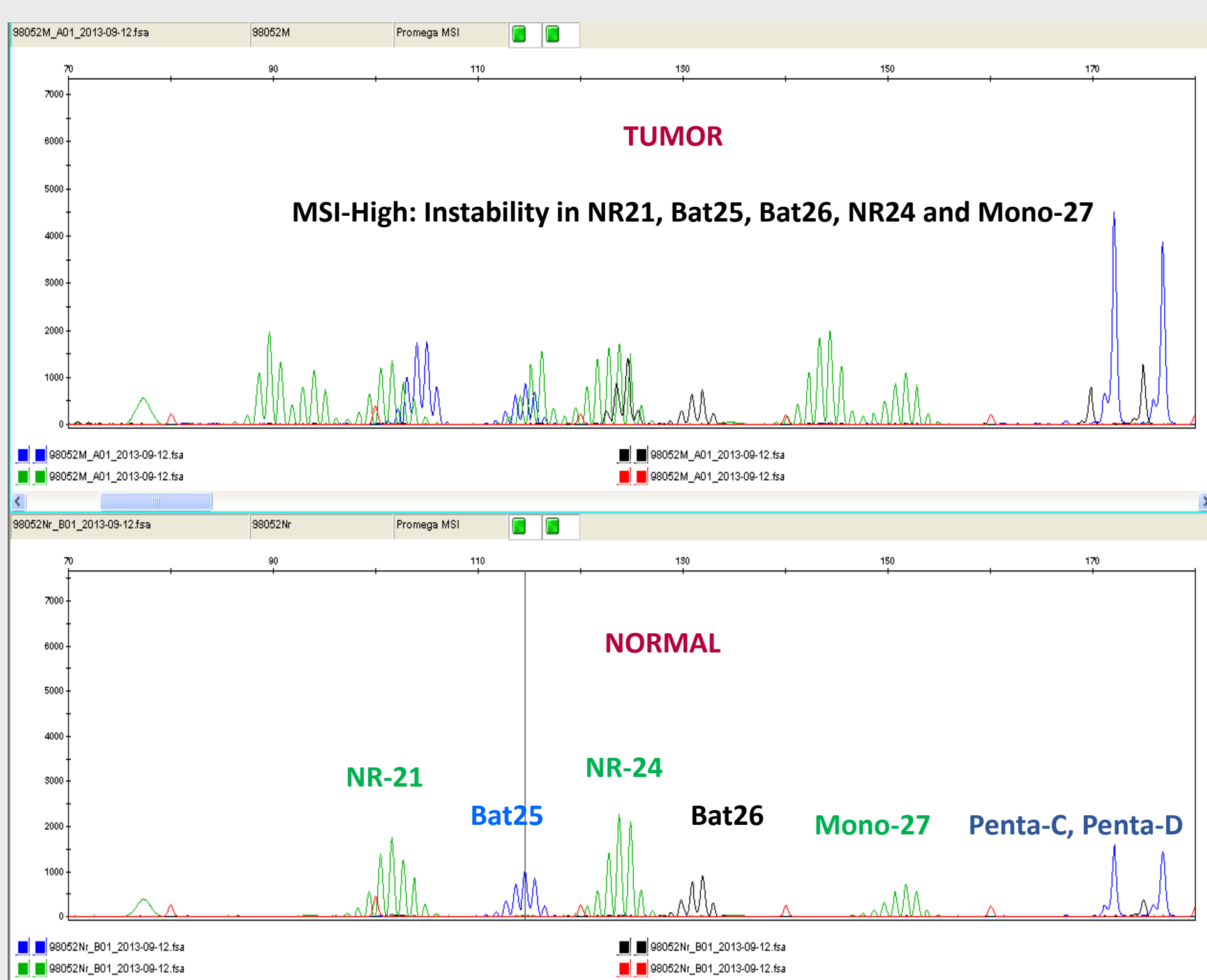


Fig 1. Χαρτογράφηση καρκινικού DNA από ασθενή με MSI-H διάγνωση.

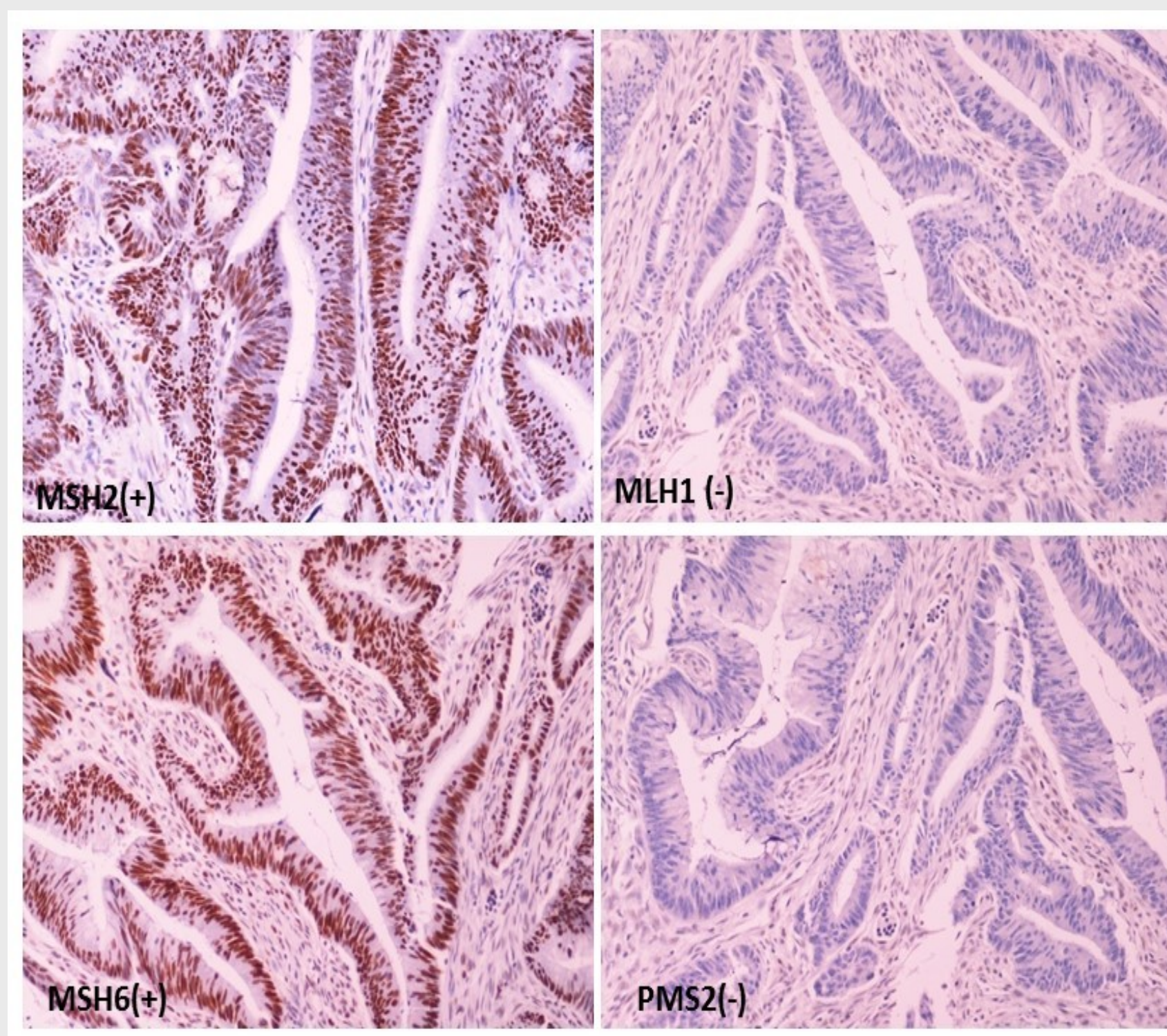


Fig 2. Ανοσοϊστοχημική χρώση σε ασθενή με MSI-High διάγνωση.

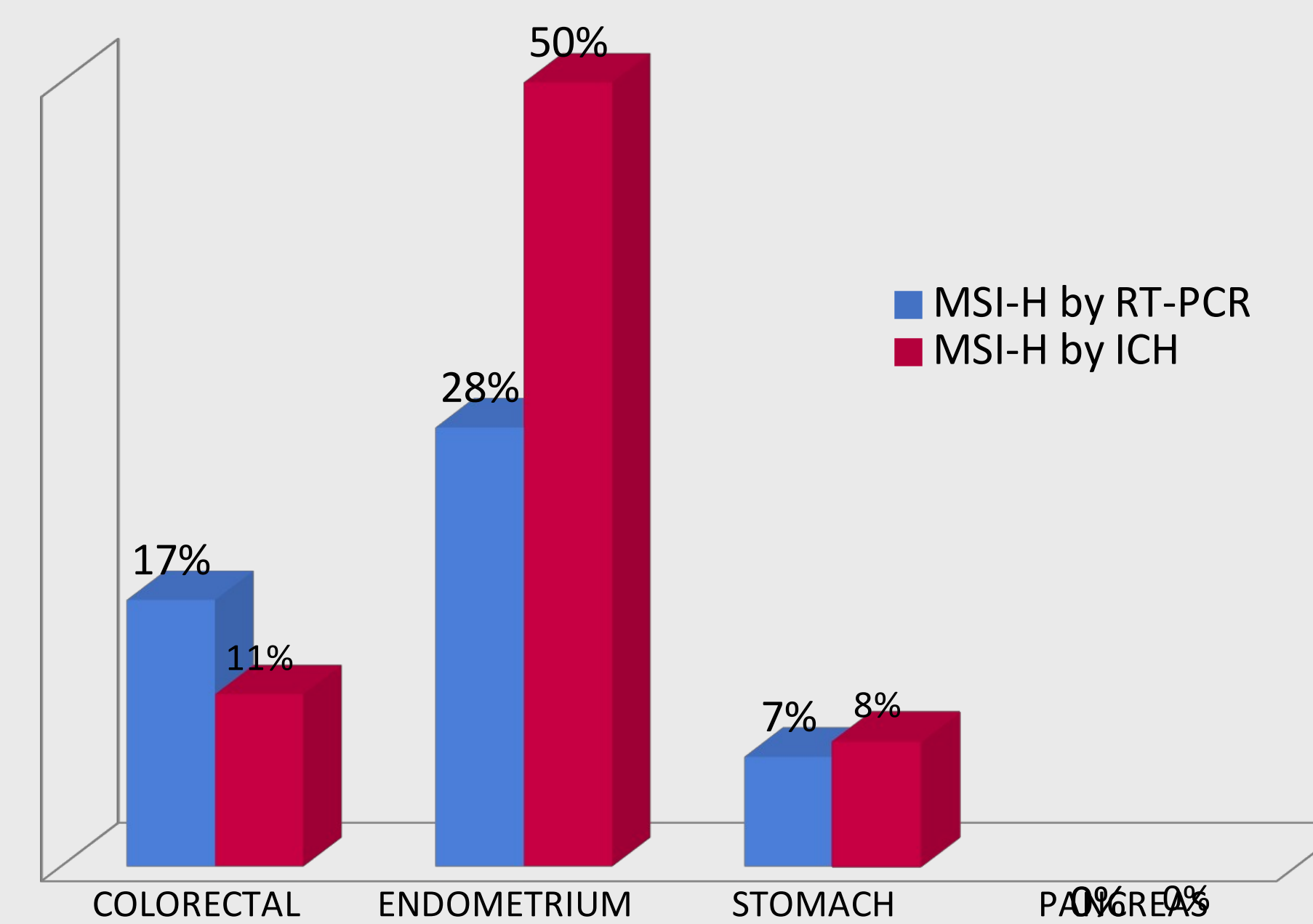


Fig 3. dMMR σε διαφορετικά νεοπλάσματα με τις δύο μεθόδους.

## MSI\_RTPCR\_Eval2 \* MSI\_IHC\_Eval Crosstabulation

		MSI_IHC_Eval		Total
		MSI-High	MSS	
MSI_RTPCR_Eval2	MSI-High	Count: 17	Count: 11	Count: 28
	% of Total	7,4%	4,8%	12,2%
MSS	Count	Count: 4	Count: 197	Count: 201
	% of Total	1,7%	86,0%	87,8%
Total	Count	Count: 21	Count: 208	Count: 229
	% of Total	9,2%	90,8%	100,0%

Fig 4. Συχέτιση του MSI Status με τις δύο μεθόδους.