

Молекулярно-генетическая диагностика при раке яичников

Демидова И.А.

Лаборатория молекулярной
биологии ГБУЗ «МГОб №62 ДЗМ»

Выборочные факты о раке яичников (РЯ):

- РЯ лидирует по показателям смертности среди гинекологических онкологических заболеваний
- Наиболее частым гистологическим типом является серозная аденокарцинома высокой степени злокачественности

Генетические нарушения при РЯ

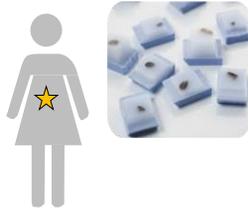
- От 10 до 15% приходится на наследственные формы РЯ, обусловленных нарушениями опухолевые супрессоров *BRCA1*(chr17q21) и *BRCA2*(chr13q12) Носительство наследственных патогенных вариантов *BRCA1* повышает риск развития РЯ до 60% (45-60%), а для *BRCA2* - до 11-35% соответственно
- Доказано участие в патогенезе РЯ и других генов системы гомологичной рекомбинации

Наследственные и соматические мутации

СОМАТИЧЕСКИЕ

Спорадические мутации

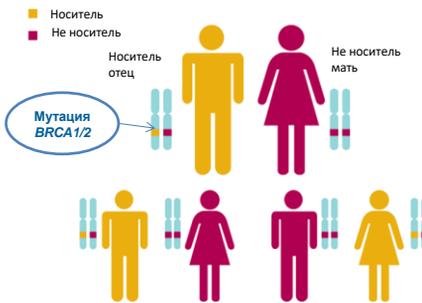
- ✓ Происходят в соматической клетке
- ✓ Не передаются по наследству
- ✓ Обуславливают 90% всех злокачественных новообразований



НАСЛЕДСТВЕННЫЕ

Герминальные мутации

- ✓ Происходят в половых клетках
- ✓ Передаются по наследству
- ✓ Обуславливают наследственные онкологические синдромы



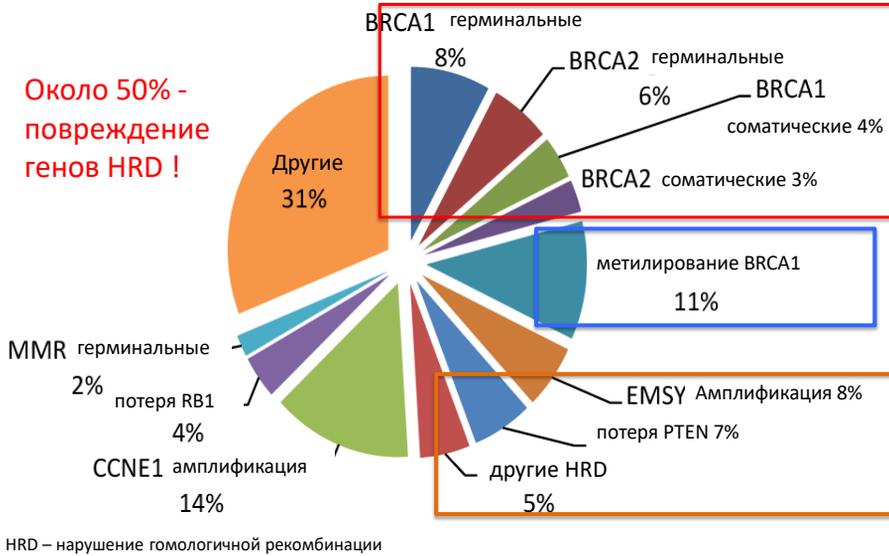
Levy-Lahad E, Friedlan E. Cancer risks among BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. British Journal of Cancer 2007; 96(1):11-15.

Что такое гомологичная рекомбинация и что происходит в клетках, дефицитных по BRCA?



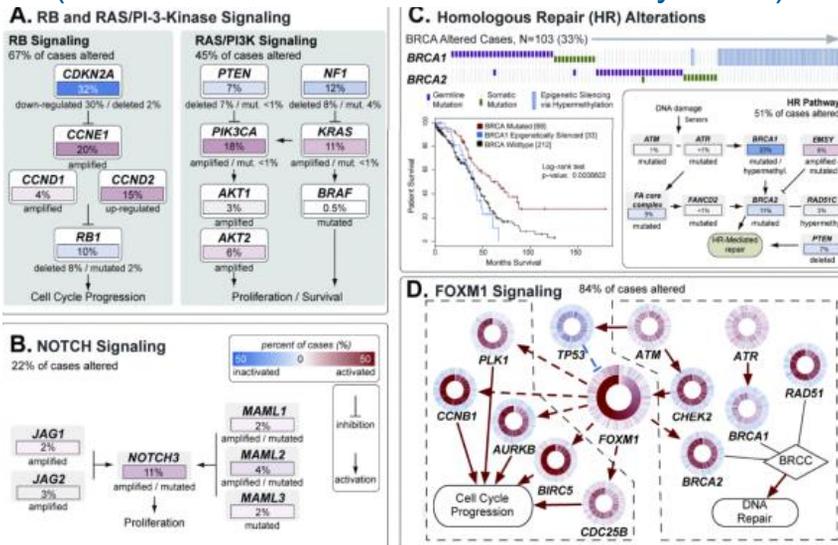
Lee J-m et al Ann Oncol 2014

Молекулярные подтипы серозного рака яичников (без учета мутаций TP53)



Levine D. The Cancer Genome Atlas, Molecular profiling of serous ovarian cancer, 2011. From *PARP inhibitors in ovarian cancer* doi: 10.5772/52888

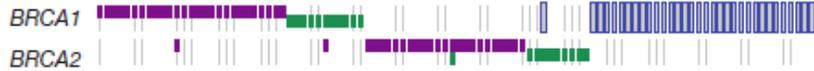
Данные TCGA (Атлас генома злокачественных опухолей)



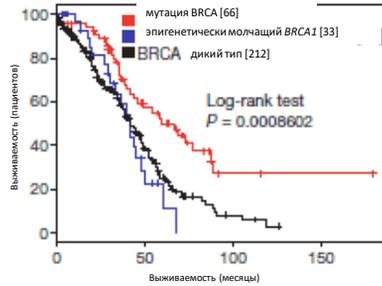
Данные TCGA (Атлас генома злокачественных опухолей)

Альтерации гомологичной рекомбинации

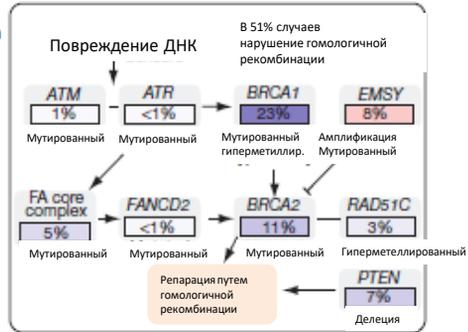
Случаи BRCA альтерации, N = 103 (33%)



Герминальные мутации Соматические мутации Эпигенетическое подавление экспрессии путем гиперметилирования



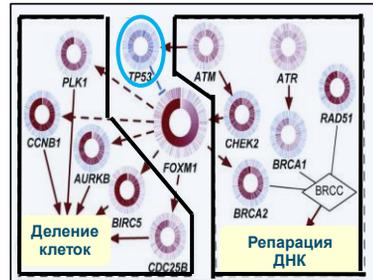
Nature. ; 474(7353):609–615.



Серозный рак яичников высокой степени злокачественности: патогенез

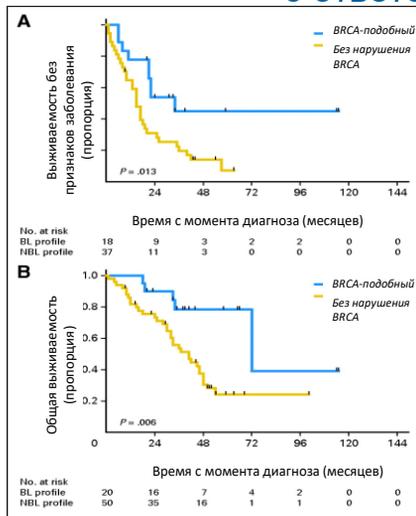


Нарушение репарации ДНК – и другие генетические нарушения при серозной карциноме яичника высокой степени злокачественности ведут к повреждению основного пути пролиферации – через ген FOXM1 (до 87%)



The Cancer Genome Atlas Research Network. Nature 2011;474:609–615

Каким образом дефицит BRCA связан с ответом на ХТ?



Konstantinopoulos PA et al, J Clin Oncol. 2010 Aug 1;28(22):3555-61

У больных серозным раком яичников, дефицитным по BRCA (либо BRCA mut, либо обладавшим экспрессионным BRCA-подобным профилем) существенно повышается эффективность терапии препаратами платины, и, соответственно, выживаемость без прогрессирования (34 месяца в сравнении с 15 месяцами; log-rank $P < 0,013$) и общая выживаемость (72 месяца в сравнении с 41 месяцем; log-rank $P < 0,006$)

Ингибиторы PARP и «синтетическая летальность»

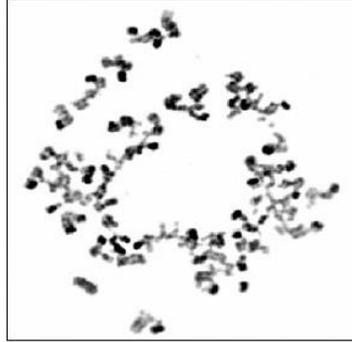


Lee J-m et al Ann Oncol 2014

Результат блокирования генов семейства PARP и «синтетическая летальность» в действии



Без лечения



+PARP-ингибитор

Ингибиторы PARP – поли-(АДФ-рибоза) полимераз

Nature Biotechnology 29, 373–374 (2011)

Особенности тестирования рака яичников в российской популяции и фаундерный эффект

Частота мутации с.5266dupC (*BRCA1*)



- **Фаундерный эффект** – эффект основателя характеризуется циркуляцией определенных генетических аномалий в закрытых этнических популяциях
- Более 75% всех определяемых мутаций *BRCA1*, ассоциированных с раком молочной железы и раком яичников у славян на территории РФ - с.5266dupC

Hamel N et al Eur J Hum Genet (2011) 19, 300–306, Gayther et al Am. J. Hum. Genet 1997, 60:1239-1242.

Частота встречаемости мутаций *BRCA1* и *BRCA2* в популяции

- Жители США – 1 на 400-500 человек
- Евреи Ашкенази – 1 на 40 человек
- Жители РФ -?

Популяционное исследование М. Анисименко и соавт. (Новосибирск), 2009:

- Исследовано 7914 неселектированных образцов ДНК на наличие мутации *BRCA1* с.5266dupC
- Частота встречаемости мутации составила 0,2% (1 на 500 человек)
- Частота встречаемости фаундерных мутаций *BRCA1*, *BRCA2* и *CHEK2* составила 0,6% (1 на 166 человек !)

Hamel N et al Eur J Hum Genet (2011) 19, 300–306, Gayther et al Am. J. Hum. Genet 1997, 60:1239-1242,
<http://www.rosencoweb.ru/library/congress/ru/2010/11/23/index.pdf> 29.08.2016

Данные крупнейшего российского исследования наследственного рака молочной железы/ рака яичников

Означает ли это, что достаточно тестировать только 5-6 основных мутаций основателя, как это делается традиционно в России?

А как быть с *BRCA2*, где фаундерный эффект отсутствует (15% всех больных с мутациями)?

А как быть с другими этническими популяциями (Северный Кавказ и Закавказье, народы Сибири азиатской расы)?

Что делать с соматическими мутациями в опухоли (5-6%)?

Особенности тестирования РЯ в российской популяции. Значение наследственного анамнеза

Частота фаундер мутаций у различных категорий больных раком яичников

Клинические переменные

Санкт-Петербург

Семейный анамнез

Имеется

1/9 (11.1%)

Не имеется

33/266 (12.4%)

Не информативны

2/15 (13.3%)

Suspitsin E. Hered Cancer Clin Pract 2009 Feb 25;7(1):5. doi: 10.1186/1897-4287-7-5

Методы тестирования

Метод	Достоинства	Недостатки	Целевая популяция
Секвенирование обоих генов по Сэнгеру	Выявление всех возможных мутаций	Трудоемкость, высокая затратность и длительность исследования	Любая
Целевое секвенирование по Сэнгеру	Выявление всех мутаций в пределах исследуемых участков	Средняя трудоемкость, затратность и длительность исследования	Популяция с эффектом основателя
Аллель-специфическая ПЦР	Простота и короткие сроки проведения исследования	Выявление только тех нарушений, для которых создана система	Популяция с эффектом основателя
Секвенирование следующего поколения	Выявление всех возможных нарушений	Пока- высокая цена исследования, необходимость клинической валидации	Любая
Метод MLPA	Выявление крупных делеций	Квалифицированный персонал и дорогостоящее оборудование	Любая

к.м.н. Демидова И.А., собственные данные

Насколько продуктивно использовать секвенирование следующего поколения?

Плюсы

- Использование таргетного ресеквенирования позволяет одновременно исследовать несколько генов с разной частотой встречаемости и пенетрантностью

Высокий/ Промежуточный риск	<i>BRCA1, BRCA2, CDH1, PALB2, PTEN, STK11, TP53</i>
Низкий/ Промежуточный риск	<i>CHEK2</i>

к.м.н. Демидова И.А. лаборатория МГОБ 62, собственные данные

Вопросы

- Что делать с вариантами неясного клинического значения и редкими вариантами?
- Как будет использовать врач и пациент информацию об определении мутаций в генах с низкой пенетрантностью?

Пока эти вопросы решаются, проект cancergenome.ru начал работу по определению мутаций *BRCA1/2* у больных раком яичников

- Ознакомиться с правилами отбора пациентов, подборки необходимого материала, заполнения анкет для этой группы пациентов можно на сайте www.cancergenome.ru
- На первом этапе определяются только фаундерные мутации, в дальнейшем – для больных с наследственным или семейным анамнезом, а также для больных неславянских этнических групп – проводится секвенирование следующего поколения

«Совершенствование молекулярно-генетической диагностики в Российской Федерации с целью повышения эффективности противоопухолевого лечения». Электронный ресурс www.cancergenome.ru доступно 24.05.2016

Тестирование мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* в рамках программы «Совершенствование молекулярно-генетической диагностики в Российской Федерации»

- В рамках программы проводится определение мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* у пациенток с **платиночувствительным рецидивом распространенного рака яичников**
- Для отправки гистологического материала на тестирования необходимо заполнить анкету и зарегистрировать заявку на сайте www.cancergenome.ru или по телефону горячей линии 8(800)100 68 38
- Отправка материала, тест на мутации, доставка ответа **осуществляются бесплатно**



RUS SCO

«Совершенствование молекулярно-генетической диагностики в Российской Федерации с целью повышения эффективности противоопухолевого лечения». Электронный ресурс www.cancergenome.ru доступно 24.05.2016

Тестирование мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* в рамках программы «Совершенствование молекулярно-генетической диагностики в Российской Федерации»

На молекулярно-генетическое исследование принимаются следующие виды материала:



Может быть отправлен **любой** из доступных видов биологического материала:

- **Отправлена только кровь** – могут быть выявлены только герминальные мутации;
- **Отправлен только парафиновый блок, содержащий опухолевую ткань** – могут быть выявлены герминальные и соматические без уточнения их происхождения;
- **Отправлена кровь** (или парафиновый блок, содержащий нормальную ткань) **и парафиновый блок, содержащий опухолевую ткань** – могут быть выявлены герминальные и соматические мутации с возможностью уточнения их происхождения.

«Совершенствование молекулярно-генетической диагностики в Российской Федерации с целью повышения эффективности противоопухолевого лечения». Электронный ресурс www.cancergenome.ru доступно 24.05.2016

RUS SCO

Первые результаты программы

- С мая 2016 года по январь 2017 было исследовано 1385 образцов пациенток с платиночувствительным рецидивом РЯ из всех субъектов РФ.
- После первого этапа тестирования (ПЦР) герминальные фаундерные мутации были обнаружены у 16,6% пациенток из славянской группы и у 11,8% - из других этнических групп. При этом самая частая славянская мутация с.5266dupC обнаруживалась у 11,4% славянок и у 6% больных других национальностей.
- Наиболее интересные результаты были получены для 148 славянских пациенток с семейным и личным анамнезом. В этой группе количество мутаций основателя приближалось к 20% (19,5%), а редкие мутации были выявлены у 17,5% больных. Таким образом, с помощью проведения второго этапа тестирования мутации *BRCA1/BRCA2* были обнаружены в целом у 37% пациенток
- Мутации генов *BRCA1/BRCA2* значительно чаще выявлялись у пациенток до 50 лет (31% vs 21%, $p < 0,01$),
- Результаты гистологического исследования показали, что образцы опухоли больных с мутациями *BRCA1/BRCA2* отличались более высокой степенью злокачественности по сравнению с образцами больных без мутаций (29,5% vs 19,5%, $p = 0,01$)

RUS  SCO

Спасибо за внимание!