

Научно-практическая конференция
«Рак лёгкого»
Санкт-Петербург
10 ноября 2017

Подбор материала
для генетического исследования



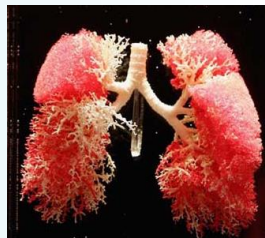
К.м.н. Иванцов Александр Олегович
НМИЦ онкологии им. Н.Н. ПЕТРОВА, Санкт-Петербург

Архивные ткани
(сравнение тканей свежезамороженных
и заключённых в парафин)

	Ткани заклѳенные в парафин	Свеже замороженные ткани
Морфология	Высокое качество	Низкое качество
Микродиссекция	Точная	Менее точная
ДНК	Деградирует, но м.б. исследовано	Хорошая сохранность
РНК	Деградирует, но м.б. исследовано	Хорошая сохранность

Преаналитический этап молекулярного анализа

1. Время тепловой ишемии
Для ткани лёгкого 30-60 мин

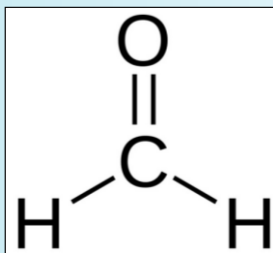


2. Время до фиксации формалином
Оптимально 30 минут
В реальности до 4 часов



Преаналитический этап молекулярного анализа

Фиксация тканей формалином



- Температура: +20°C
- Соотношение формалин/ткань 10:1
- Время фиксации: > 6-8 часов
для образца толщиной 3 мм

NB! Нет стандарта
(пятница и праздники
удваивают время фиксации)

Декальцинация



Материал после
декальцинации
либо фиксации в
растворах тяжёлых
металлов (Zn^{+2} и т.д.)

Иванцов А.О., из личного архива, 2017, НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова

Преаналитический этап молекулярного анализа

Длительная проводка тканей приводит
к лучшему качеству РНК



ARTICLE

Factors in Tissue Handling and Processing That Impact RNA
Obtained From Formalin-fixed, Paraffin-embedded Tissue

Joon-Yong Chung, Till Braunschweig, Reginald Williams, Natalie Guerrero, Karl M. Hoffr,
Mijung Kwon, Young K. Song, Steven K. Libutti, and Stephen M. Hewitt

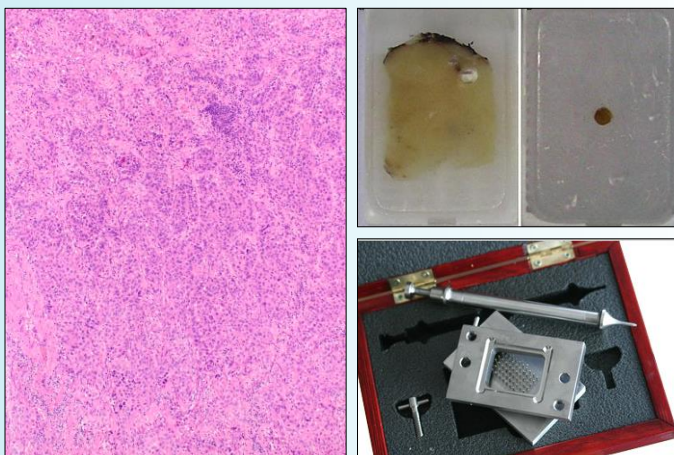
Chung JY et al. J Histochem Cytochem. 2008, Nov;56(11):1033-42.

Типы микродиссекции

	Ручная микродиссекция	Лазерная захватывающая микродиссекция
Минимальный размер образца	50-100мкм	<1мкм
Спектр использования	Крупные клеточные поля (>10 ⁴ клеток)	Мелкие поля (<50 клеток), единичные клетки
Оборудование	Игла, скальпель	Микроманипулятор
Стоимость	Низкая	Высокая
Преимущества	Простота, скорость	Высокая точность, низкий риск контаминации

Ручная микродиссекция

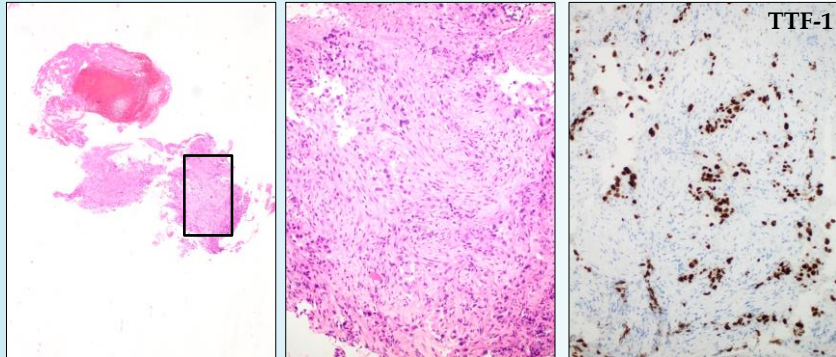
Соотношение опухолевых и неопухолевых элементов в исходном блоке 10% ? 50% ? 80% ?



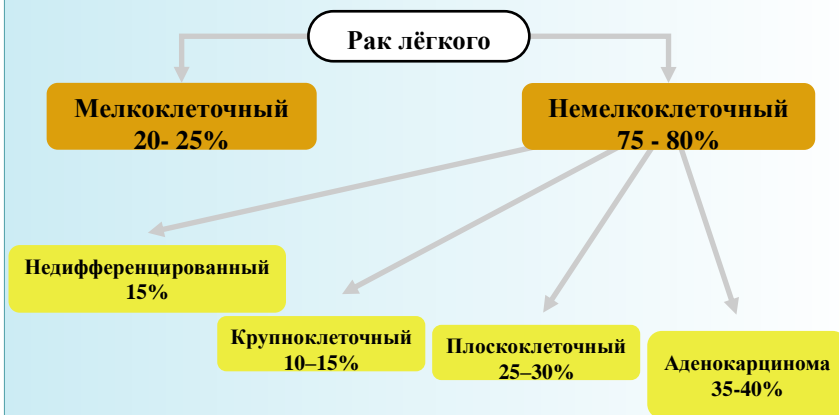
Иванцов А.О., из личного архива, 2017, НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова

Ручная микродиссекция

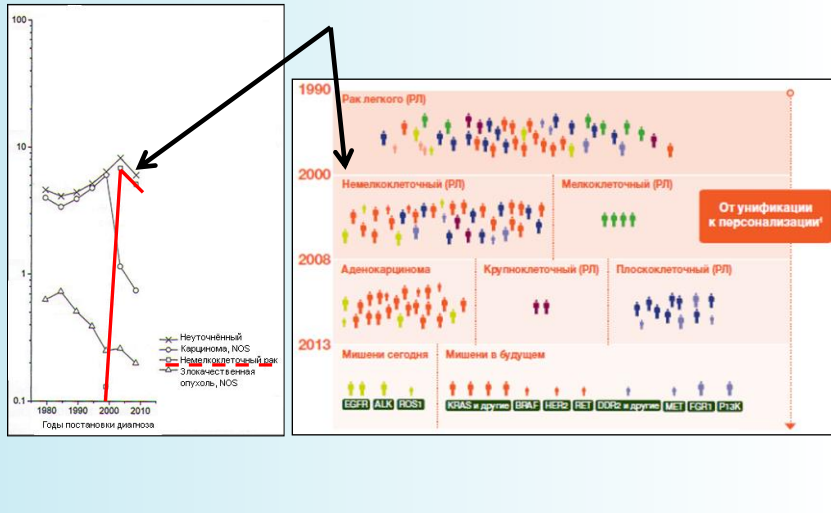
Соотношение опухолевых и неопухолевых элементов в исходном блоке 10%? 50%? 80%?



Гистологические типы рака лёгкого



Немелкоклеточный рак лёгкого

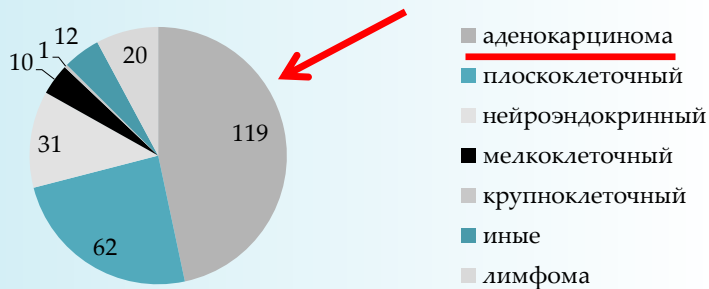


WHO classification of tumours of the lung, pleura, thymus and heart, IARC Press, 2015
Martin Reck et al., Lancet 2013; 382: 709–19.

Гистологические типы рака лёгкого

(патологоанатомический архив НИИ онкологии им. Н.Н.Петрова 2016г.)

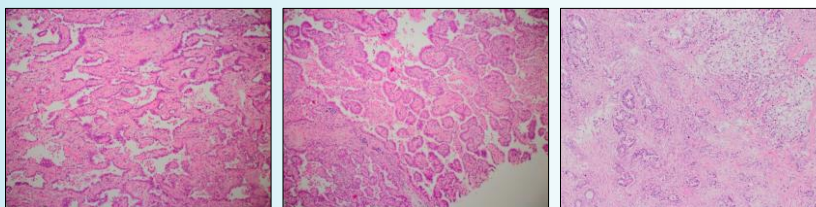
Исследования первичных злокачественных
опухолей лёгкого
(биопсийный, операционный,
консультативный материал)



Иванцов А.О., из личного архива, 2017, НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова

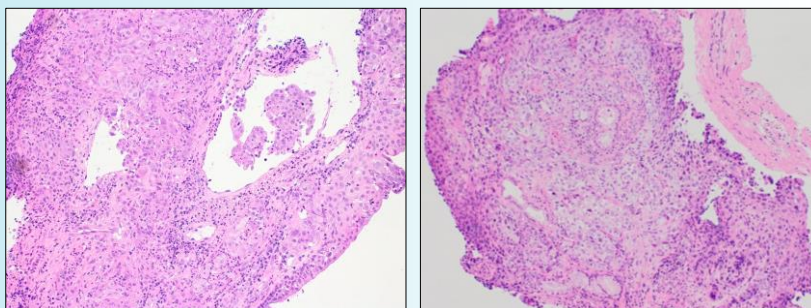
Руководство американского общества
клинической онкологии по молекулярному
тестированию больных раком лёгкого для
выбора ингибиторов EGFR и ALK, 2014.

Тест выполняют пациентам с аденокарциномой
лёгкого или смешанной опухолью, 1 из
компонентов которой – **аденокарцинома**



Leigh N., et al., J Clin Oncol. 2014 Nov 10;32(32):3673-9.
Иванцов А.О., из личного архива, 2017, НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова

- Необходимо проводить тест в материале малого объема (биопсия), если аденокарцинома не может быть полностью исключена.

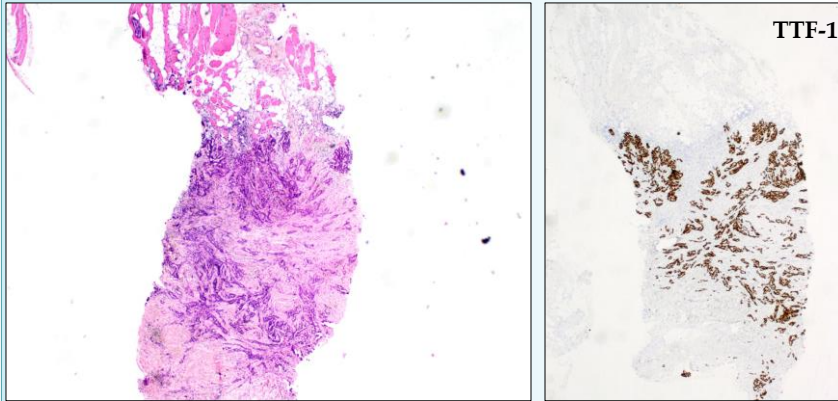


TTF-1 (+)
CK5/6 (-)
P63 (-)

TTF-1 (-)
CK5/6 (+)
P63 (+)

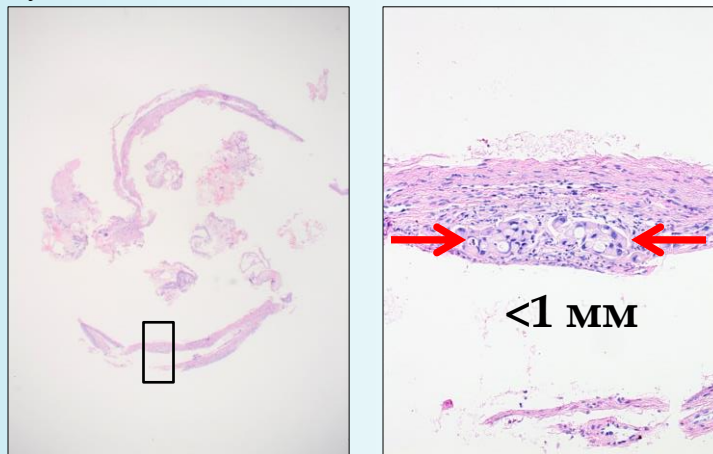
Иванцов А.О., из личного архива, 2017, НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова

- Материал из первичной опухоли и метастаза одинаково пригоден для исследования



Иванцов А.О., из личного архива, 2017, НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова

- EGFR тест выполняется в образце с содержанием опухолевых клеток $>50\%$, в тоже время чувствительность метода позволяет выявить мутацию в образце с 10% опухолевых клеток.



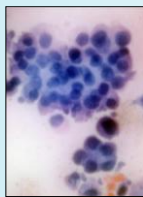
Иванцов А.О., из личного архива, 2017, НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова

Повторная биопсия опухоли при прогрессировании на фоне лекарственной терапии ИТК

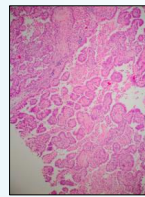
1. Биопсия
 2. цоДНК
- T790M

S.Novello et al. Metastatic non-small-cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines.
Ann.of Oncol.27 (supp 5): v1-27.2016

Молекулярный анализ архивных цитологических препаратов

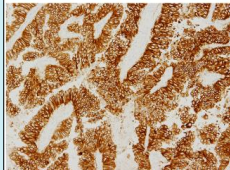
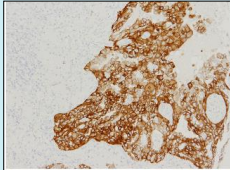
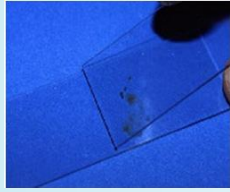


=



Mitiushkina N. et al. Cancer Cytopathol. 2013 Jul;121(7):370-6.

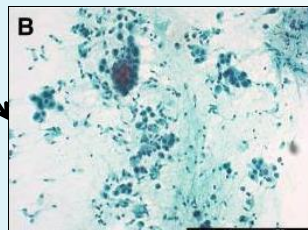
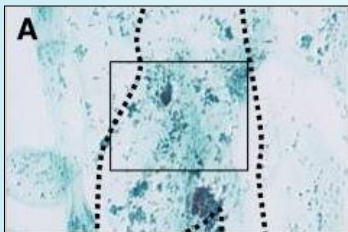
Мазки-отпечатки удалённой опухоли



Мазки-отпечатки могут быть использованы для определения EGFR.

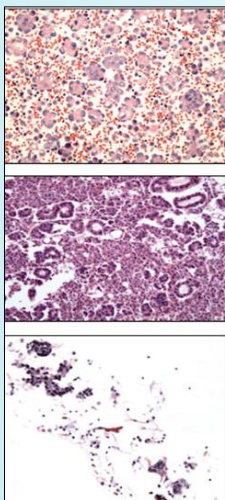
Kozu et al. Lung Cancer. 2011 Jul;73(1):45-50.

Микродиссекция цитологического препарата



Oshita et al. Br J Cancer 2006;95:1070-5

Цитологический клеточный блок



Адекватный блок для EGFR теста - >25% опухолевых клеток в блоке.

**Минимальное
необходимое число
опухолевых клеток для
EGFR теста - 40.**

Smouse et al. Cancer 2009 Feb 25;117(1):67-72.

Оптимальный набор для EGFR тестирования

1. **1 парафиновый блок**
с тканью опухоли + 1 стекло Г-Э

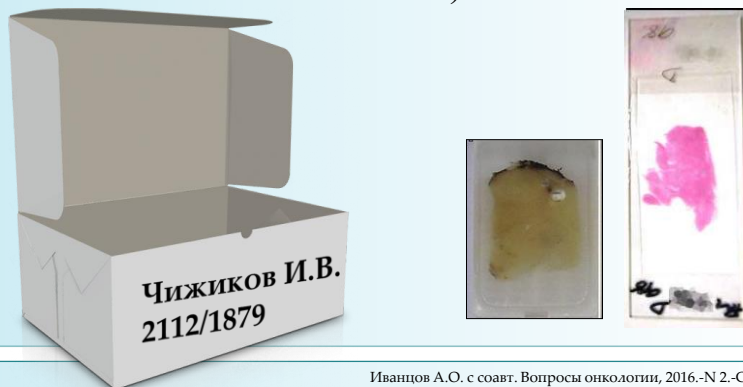
Либо

2. 5-10 неокрашенных срезов ткани опухоли на непокрытых, незаряженных стёклах (в зависимости от объёма материала), 3-5мкм толщиной, площадь опухоли >0,5 см² – 5 срезов, площадь опухоли <0,5см² – 10 срезов + 1 стекло Г-Э.

Иванцов А.О. с соавт. Вопросы онкологии, 2016.-N 2.-С.351-354.

Упаковка, маркировка, транспортировка

- Закрывающийся пластиковый пакет или контейнер, либо картонная коробка.
- Направление на тест с указанием номеров блоков (должен соответствовать номеру гистологического заключения).



Иванцов А.О. с соавт. Вопросы онкологии, 2016.-N 2.-С.351-354.

Благодарю за внимание