

Новые технологии молекулярно-генетического тестирования в онкологии – преимущества и недостатки

Никитин А.Г.

НИИ Пульмонологии ФМБА России

Сферы применения NGS

- Секвенирование de novo
- ChIP-Seq
- Метагеномика
- Анализ метилирования
- Ресеквенирование
- Таргетное ресеквенирование
- Транскриптомика

Сферы применения NGS

- Секвенирование de novo
- ChIP-Seq
- Метагеномика
- Анализ метилирования
- Ресеквенирование
- Таргетное ресеквенирование
- Транскриптомика

Эра геномики

- 2012 г., Exome Aggregation Consortium (*ExAC*)
 - 60 706 экзотов
- 2017 г., Genome Aggregation Database (*gnomAD*)
 - 123 136 экзотов, 15 496 геномов
- 2017 г., UK Biobank
 - 337 000 образцов
- 2018, Invitae
 - выполняет 1500 NGS-анализов в день

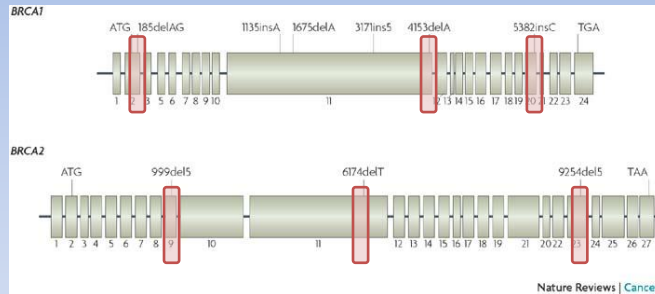
Эра геномики в РФ

- НИИ Педиатрии (НЦЗД) >5000 образцов (моногенные)
- Казанский онкопроект ~1500 образцов, ~500 контролей
- Научные проекты ~150-200 образцов

Наследственные онкосиндромы

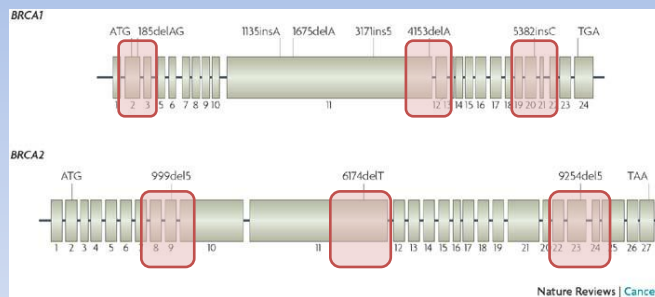
- Мутации и гены (секвенирование по Сэнгеру)
- Мультигенные панели (NGS)

ПЦР-анализ частых мутаций



- Диагностируются несколько частых мутаций из нескольких тысяч описанных в базах данных

Секвенирование регионов генов



- Диагностируются 2-3 «горячих» региона – примерно 20-30 мутаций из нескольких тысяч описанных в базах данных

Полногеномное секвенирование



- Диагностируются все мутации в генах панели

Задачи тестирования

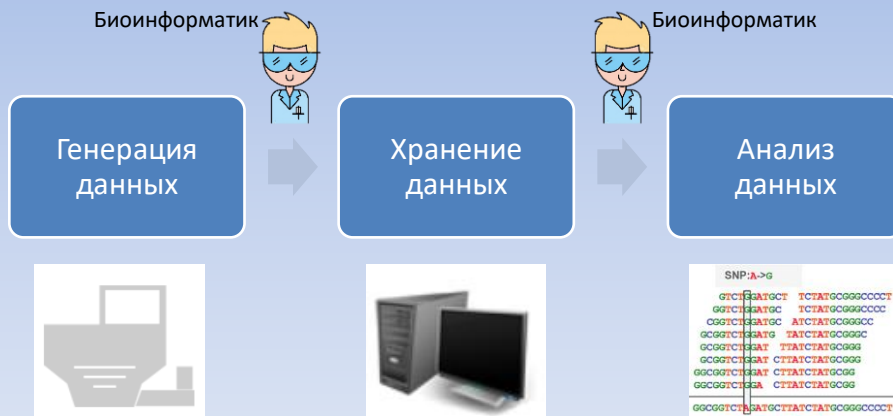
- Идентификация патогенных мутаций у пациентов с наличием ЗНО
- Управления рисками для родственников
- Популяционный скрининг (???)

Почему именно мультигенные панели?

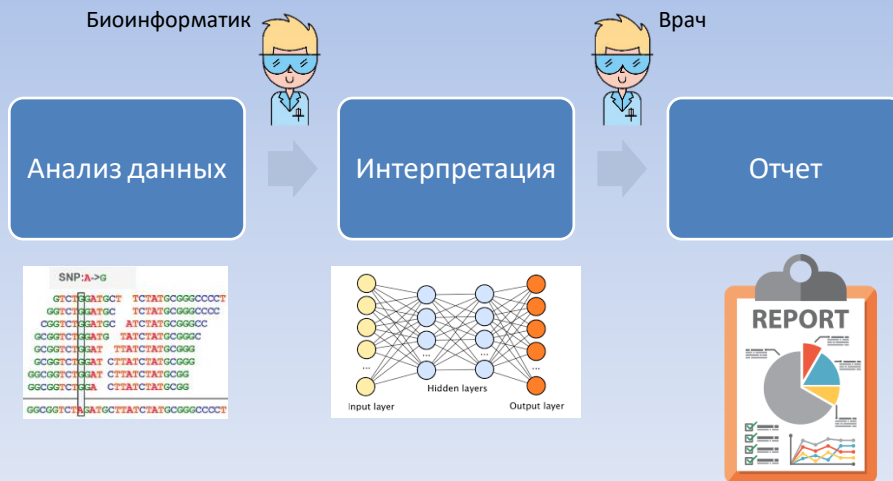
Рекомендации NCCN по генетическому тестированию колоректального рака

APC	ATM	AXIN2	BLM	BMP1A	CHEK2	EPCAM
GALNT12	GREM1	MLH1	MSH2	MSH6	MSH3	MUTYH
NTHL1	POLD1	POLE	PMS2	PTEN	SMAD4	STK11
TP53						

От образца до отчета



От образца до отчета



Текущие подходы

- Существующие методы обработки данных призваны решать научные, а не клинические задачи
- Быстрое развитие NGS приводит к устареванию методик еще до их массового распространения

Внедрение в практику

- Максимальная автоматизация
- Высокая скорость обработки
- Система поддержки принятия решений
- Развитые средства анализа вариантов

- Внутривлабораторные подходы устарели и не отвечают требованиям времени, так как в большинстве своем линейны и не масштабируемы

От образца до отчета



Уровни анализа данных NGS

- Первый уровень – сырые данные и файлы FASTQ
- Второй уровень – поиск вариантов и аннотация
- Третий уровень – интерпретация и принятие решений

Третий уровень – интерпретация и принятие решений

- Проблема баз данных:
 - Отсутствуют данные о встречаемости вариантов в популяции
 - Отсутствует доступ к платным базам данных зарубежных компаний (HGDM, CentoMD и др.)
 - Слабая применимость чужих данных к некоторым российским популяциям
 - Фрагментарные и разрозненные данные собственных исследований

Проблемы интерпретации

HGMD Professional,
CentoMD, ClinVar и др.

Частота в популяции

Предсказание эффекта

Популяционные частоты

- Частота варианта в общей популяции – ключевой критерий для клинической интерпретации
- Частота аллели выше ожидаемой для заболевания – аргумент в пользу непатогенности варианта

Популяционные частоты

- 2018 г., Российские геномы (Санкт-Петербург)
 - ~200 из запланированных 3000 геномов
- 2018 г., 2000 экзомов (НИИ ФХМ)
 - ~100 из запланированных 2000 экзомов

Информация о популяционных частотах в РФ отсутствует!

Российский онкопроект

- 1497 образцов с наследственными онкосиндромами
- 512 контролей без ЗНО
- Рак молочной железы
- Рак яичников
- Колоректальный рак
- Рак желудка
- Меланома
- Нейроэндокринные раки

Повышение надежности

- Объем выборки образцов не менее 500
- Строгие критерии отбора
- Собственная контрольная группа
- Семейный анамнез
- Справочная информация из баз данных

- Рост размера выборки с 200 до 1500 образцов позволил реклассифицировать 60% вариантов с неизвестной значимостью

Зачем нужна панель генов?

- 1497 образцов с наследственными онкосиндромами
- У пациентов с КРР наиболее частые мутации в генах синдрома Линча
- Но при этом встречались мутации в генах, не характерных для данной локализации - *CHEK2*, *CDKN2A*, *PDGFRA*, *BLM*, *RAD51C*, *SDHC*, *POLE*, *RET*, *ATM*, *RAD54L*, *PPM1D*, *CDKN2A*

Результаты Гордиева Марата, ГАУЗ РКОД МЗ РТ, 2017

Практический результат

- 1497 образцов с наследственными онкосиндромами
- 512 контролей без ЗНО
- ~60% пациентов имели патогенную мутацию
- 57 новых ранее неописанных мутаций
- 19 реклассифицированных мутаций

- Из прошедших добровольное обследование 40 родственников обнаружено:
РМЖ – два случая рака, стадия I
РЯ – один случай рака, стадия I

Спасибо за внимание!