

## Научно-практическая конференция «Онкоурология» 01.10.2021

Подготовка гистологических образцов рака предстательной железы к молекулярно-генетическому исследованию на мутации в генах репарации путём гомологичной рекомбинации (HRR): опыт практикующей лаборатории

Андреева Юлия Юрьевна, д.м.н., профессор кафедры патологической анатомии РМАНПО, врач-патологоанатом высшей категории.

Лекция при поддержке компании АстраЗенека

Представлена только информация в рамках зарегистрированных в РФ показаний  
Мнение лектора не всегда может совпадать с точкой зрения компании АстраЗенека

Место для указания номера одобрения презентации (идентификационного номера/ID#) [размер шрифта – не менее 10]

### Сохраняется потребность в улучшении стандартной терапии метастатического кастрационно-резистентного рака предстательной железы (мКРРПЖ)

- для лечения мКРРПЖ доступны несколько вариантов лечения
- оптимальная терапевтическая последовательность нечетко определена
- результаты остаются низкими

**Рак предстательной железы является распространенным и сложным заболеванием**

второе по распространенности злокачественным новообразованием у мужчин:

**> 1 300 000**

случаев диагностировано во мире в 2018 году<sup>1</sup>

пятая по значимости причина онкологической смертности у мужчин в мире: в 2018 году было зарегистрировано

**358 989**

случаев смерти от этого заболевания<sup>2</sup>

**Метастатический рак предстательной железы представляет собой серьезную клиническую проблему**

у ~ 40% пациентов с раком предстательной железы развивается метастатическое заболевание<sup>3,4</sup>

Распространенный рак предстательной железы

**неизлечим,**

стабильно прогрессирует и часто приводит к летальному исходу<sup>5</sup>

5-летняя выживаемость у мужчин с метастатическим заболеванием составляет ~ 30%<sup>6</sup>

**Возможность улучшения стандартной терапии мКРРПЖ**

Несмотря на достижение ответа на исходную андрогенную депривационную терапию (АДТ), в большинстве случаев **распространенный рак предстательной железы становится кастрационно-резистентным<sup>4</sup>**

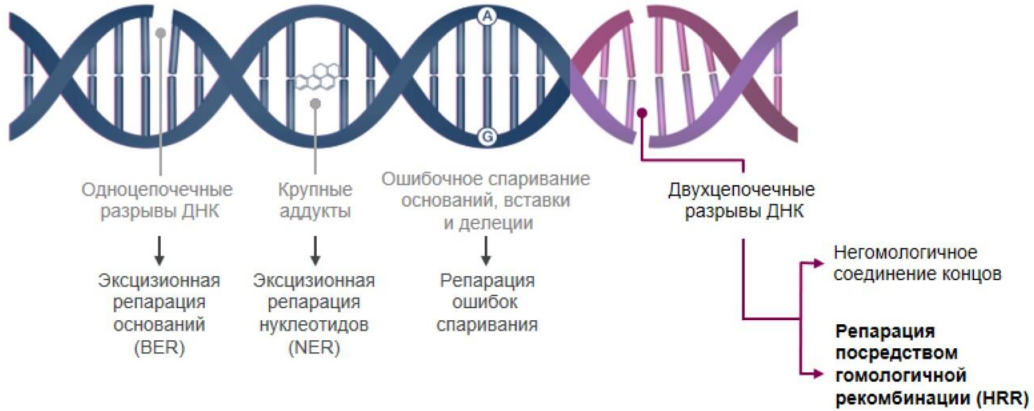
Несмотря на значимые успехи лечения мКРРПЖ, **медиана общей выживаемости** в условиях терапии первой линии составляет всего ~ 3 года<sup>7,8</sup>

АДТ = андрогенная депривационная терапия; мКРРПЖ = метастатический кастрационно-резистентный рак предстательной железы

1. World Cancer Research Fund. Prostate Cancer Statistics. Available at: <https://www.wcrf.org/dietandcancer/cancer-trends/prostate-cancer-statistics/> Accessed April 2020; 2. Bray F et al. *CA Cancer J Clin.* 2018;68:394–424; 3. Sciarra A et al. *Eur Urol.* 2014;65:905–906; 4. Beltran H et al. *Eur Urol.* 2011;60:279–90; 5. Sartor O et al. *N Engl J Med.* 2018;378:645–657; 6. Prostate Cancer Survival. Cancer Research UK website. Available at: <https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/prostate-cancer/survival>. Accessed April 2020; 7. Ryan CJ et al. *Lancet Oncol.* 2015;16:152–160; 8. Beer TM et al. *Eur Urol.* 2017;71:151–154.



## Мутации генов репарации ДНК могут привести к генетической нестабильности и стимулировать рост опухоли<sup>1,2</sup>



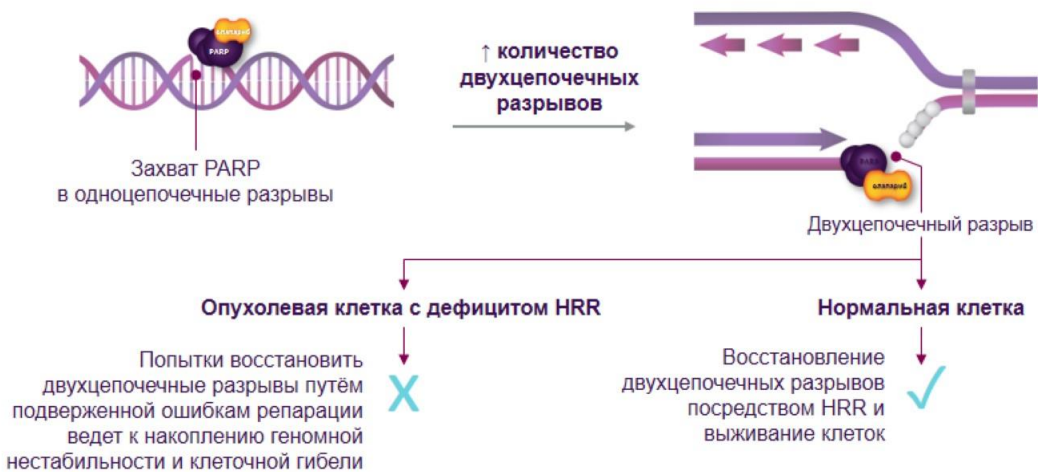
Репарация посредством гомологичной рекомбинации является ключевым механизмом репарации двухцепочечных разрывов ДНК<sup>1,2</sup>

BER = эксцизионная репарация оснований; HRR = репарация посредством гомологичной рекомбинации; NER = эксцизионная репарация нуклеотидов; NHEJ = негомологичное соединение концов

1. Lord CJ and Ashworth A. Nature. 2012;481:287-293; 2. Roy R et al. Nat Rev Cancer. 2012;12:68-78



## При воздействии олапариба на опухолевые клетки с дефицитом HRR репарация двухцепочечных разрывов возможна исключительно через подверженные ошибкам сигнальные пути с внесением ошибок, что в конечном итоге приводит к клеточной гибели<sup>1</sup>



Dulaney C. et al. Poly(ADP-ribose) polymerase activity and inhibition in cancer. Semin Cell Dev Biol. 2017 Mar;83:144-153.



## Приблизительно у 28% пациентов, участвовавших в скрининге для PROfound, были выявлены мутации генов HRR<sup>1,2</sup>

Получение ткани из первичной опухоли или метастазов практически не влияло на выявляемость мутаций HRR

	% мутаций генов HRR
Все пациенты	27,9
<b>Все первичные опухоли</b>	<b>27,2</b>
Архивный образец первичной опухоли	27,1
Свежий образец первичной опухоли	28,9
<b>Все метастатические опухоли</b>	<b>31,8</b>
Архивный образец метастаза	33,2
Свежий образец метастаза	29,5

Наиболее часто мутации затрагивали гены **BRCA2, ATM и CDK12**



<sup>1</sup>Пациенты с мутациями нескольких генов учитываются по более чем одному гену.  
<sup>2</sup>У 28 пациентов (21 пациент в когорте А и семь пациентов в когорте В) были мутации более чем одного гена. Четыре пациента были ошибочно отнесены к когорте В (один с мутацией гена BRCA2 [олапариб], один с мутациями генов BRCA2 + CDK12 [контроль] и два пациента с мутациями гена ATM [олапариб каждый]). HRR = репарация посредством гомологичной рекомбинации; HRRm = мутация генов репарации посредством гомологичной рекомбинации. 1. de Boro J, et al. Annals Oncol. 2019;30(suppl5):v325-v355 (abst 847PD) associated poster. 2. Abida W et al. JCO Precis Oncol. 2017;doi:10.1200/PJ.17.00029

## Секвенирование следующего поколения (NGS) опухолевой ткани в исследовании PROfound

• NGS ткани в настоящее время считается золотым стандартом анализа опухолей, но при раке предстательной железы осложняется частотой неудач

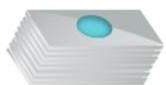
• В исследовании PROfound изучали влияние различных факторов на частоту успешного анализа ткани, включая:

Способы получения материала	<ul style="list-style-type: none"> <li>Толстоигольная биопсия имела более низкую частоту успеха по сравнению с материалом, полученным при простатэктомии, и являлась самым распространенным способом получения образцов в исследовании</li> <li>Небольшие размеры образцов ткани, едва достигающие необходимого минимального объема, могут являться фактором, ограничивающим успешное выполнение анализа</li> </ul>
Возраст образца	<ul style="list-style-type: none"> <li>У более старых образцов отмечалась более низкая частота успешного выполнения анализа, причем большинство образцов являлось архивным материалом диагностической биопсии или резекции опухоли</li> <li>Успешное выполнение теста было возможно при использовании как архивных (56,9%), так свежих образцов (63,9%)</li> </ul>
Исследуемая ткань	<ul style="list-style-type: none"> <li>Большинство образцов были получены из первичных опухолей; но частота успешного анализа была выше у образцов, полученных из метастазов, чем у образцов первичной опухоли, что может быть связано с более высокой клеточностью и количеством опухоли и тем, что большинство образцов первичной опухоли являлись архивным материалом</li> </ul>

• В исследовании PROfound распространенные причины неудачи анализа заключались в том, что образцы не соответствовали патоморфологическим требованиям или обеспечивали недостаточное количества ДНК после выделения

• Это подчеркивает особую важность отбора высококачественных образцов и оптимизации получения материала для повышения успеха HRR-тестирования





## Гистологический материал: особенности

У пациента с мКРРПЖ может быть несколько видов гистологического материала:

- Операционный материал (простатэктомия)
- Биопсийный материал, полученный при диагнозе (архивный)
- Материал из первичного очага, полученный при ребиопсии (свежий)
- Материал из метастаза, полученный при ребиопсии (свежий)

Для тестирования пригодны  
любые операционные  
образцы и биоптаты,  
полученные менее 5 лет назад

Операционный материал и свежий  
биоптат предпочтительны для  
отправки (по сравнению с архивным  
биопсийным материалом)

Мутации генов, участвующих в репарации ДНК путем гомологичной рекомбинации (HRR). Электронный ресурс. URL: <http://cancergenome.ru/mutations/HRR/>. Доступ 06.10.20

## ОПЫТ ТЕСТИРОВАНИЯ HRR

- Для теста лаборатории требуется 2 типа биоматериала - кровь и блоки. Кровь - на случай, если блоки плохие.
- В лаборатории МГНЦ было проведено **333** теста HRR
- Из 333 – в 4 случаях врач не смог предоставить блоки и прислал только кровь
- В **57** (17%) случаях - блоки были неудовлетворительного качества и по нему не удалось провести анализ.
- Из 57 непригодных случаев:
  - 1 - блок срезан
  - 3 - блоки без опухолевой ткани
  - **52** - мало ДНК, либо она деградирована

Андреева Ю.Ю. ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. 2021 (Из личного архива)

Результаты лечения зависят от подхода к морфологическим исследованиям



Источник изображения <https://www.istockphoto.com/it/immagine/idrante-acqua>

Доставка материала

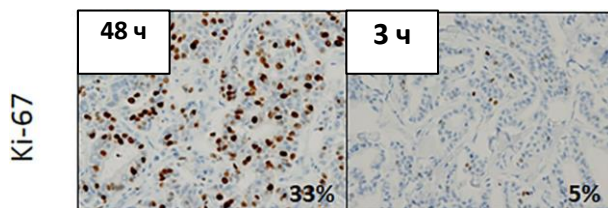


- Пропись 10% нейтрального формалина с рН 7,0 – 7,6 :

Формалин (40% формальдегид)	100 мл
Двузамещенный фосфат натрия, безводный	6,5 г
Однозамещенный фосфат натрия, моногидрат	4,0 г
Дистиллированная вода	900 мл

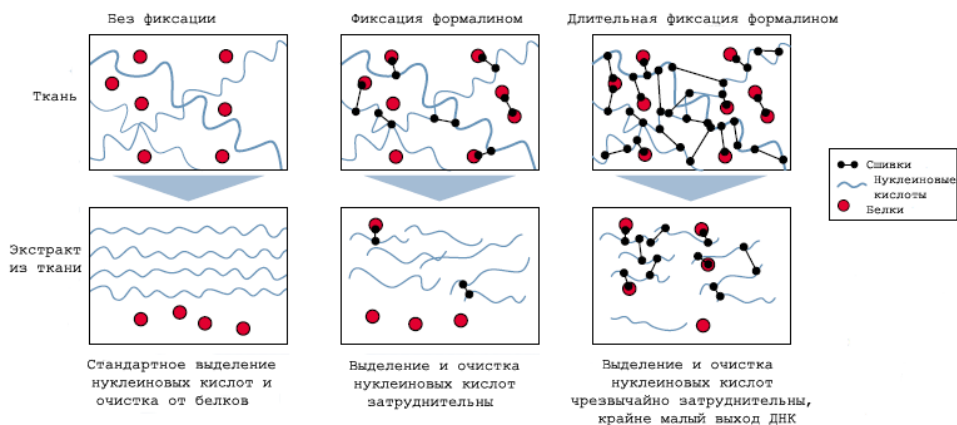


- Оптимальное время фиксации для операционного материала
  - – 12- 24 ч, биопсийного - 6-8 ч.
  - - Чем короче период воздействия формалина на нуклеиновые кислоты, тем выше их сохранность.
- При увеличении времени фиксации(более 1-3-х суток)
  - ДНК претерпевает необратимые изменения.



Nobuyuki Arima et al. J Clin Pathol doi:10.1136/clinpath-2015-203174 Effect of insufficient fixation on Ki-67 immunohistochemistry (IHC) in human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)-positive cancer.

## Эффекты фиксации формалином на нуклеиновые кислоты и белки.



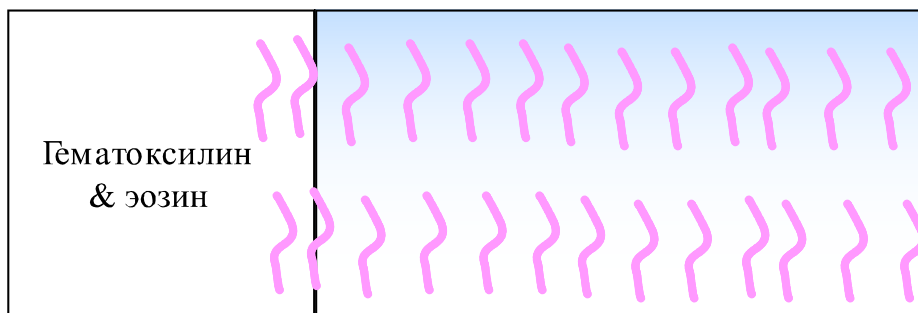
Govender P, Naidoo R (2016) Do Antigen Retrieval Techniques Improve DNA Yield from Formalin Fixed Paraffin Embedded Tissue? Adv Tech Biol Med 4: 176

# Источники variability результатов иммуногистохимического исследования.



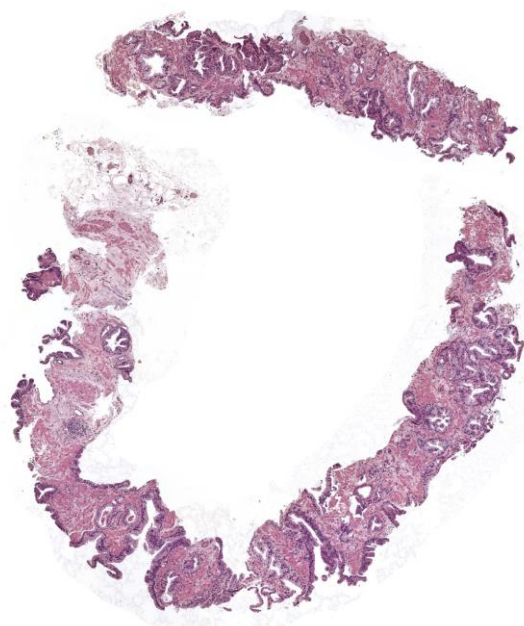
Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG, et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *J Clin Oncol.* 2013;31(31):3997-4013. doi:10.1200/JCO.2013.50.9984

# Работа лаборанта (не зарезай блоки!)



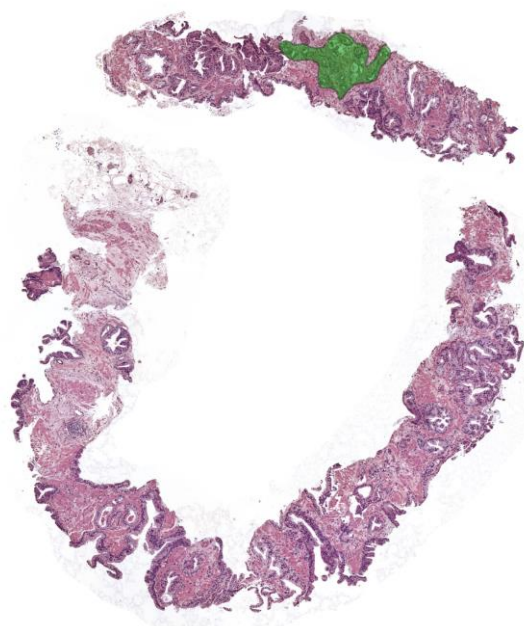
Андреева Ю.Ю. ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. 2021 (Из личного архива)

Работа патологоанатома  
(биопсии)



Андреева Ю.Ю. ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. 2021 (Из личного архива)

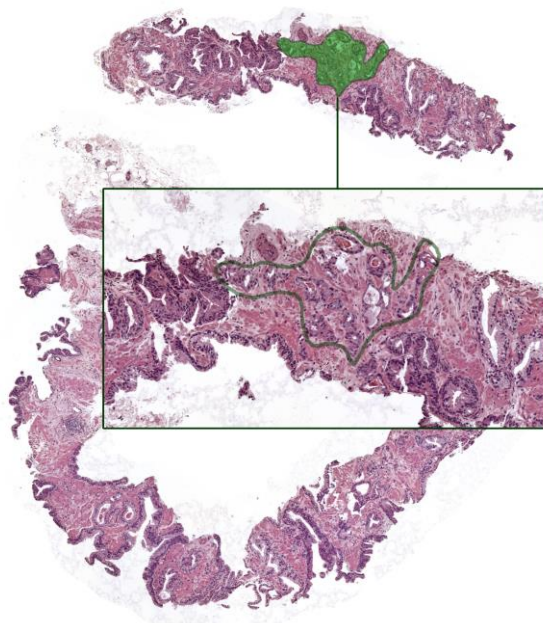
Работа патологоанатома  
(биопсии)



Андреева Ю.Ю. ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. 2021 (Из личного архива)

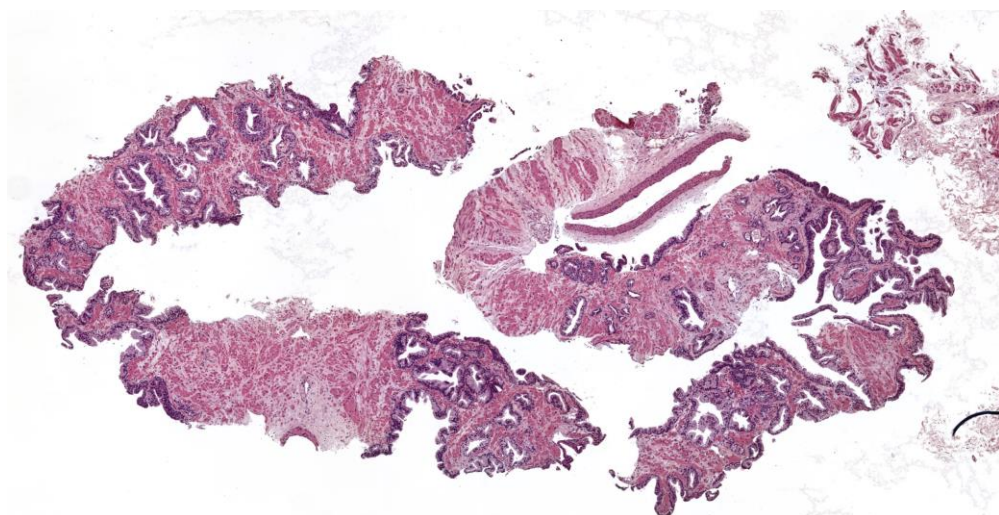


## Работа патологоанатома (биопсии)



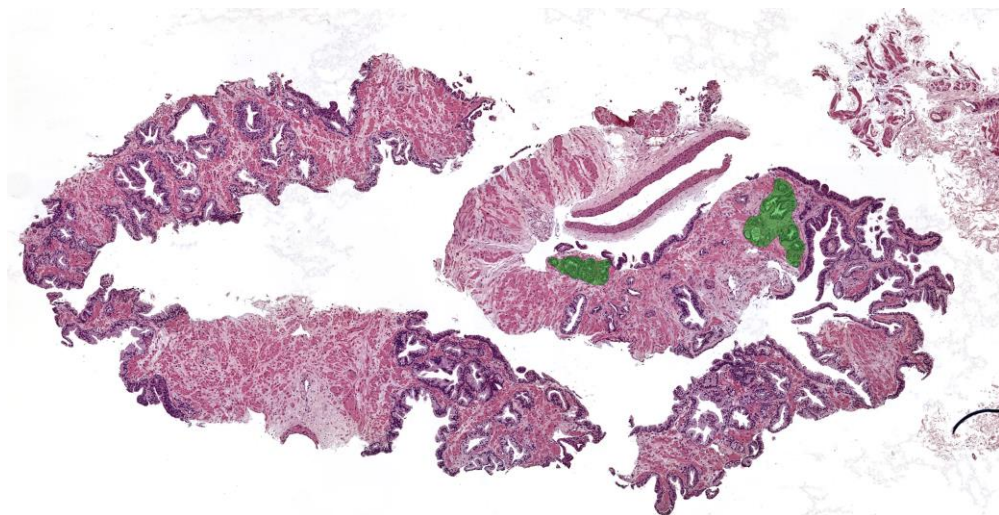
Андреева Ю.Ю. ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. 2021 (Из личного архива)

## Работа патологоанатома (биопсии)



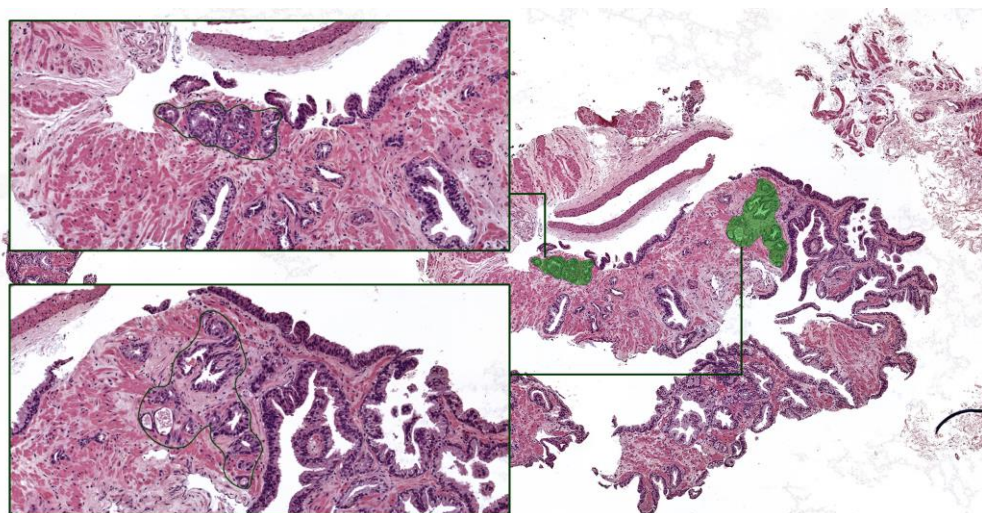
Андреева Ю.Ю. ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. 2021 (Из личного архива)

## Работа патологоанатома (биопсии)



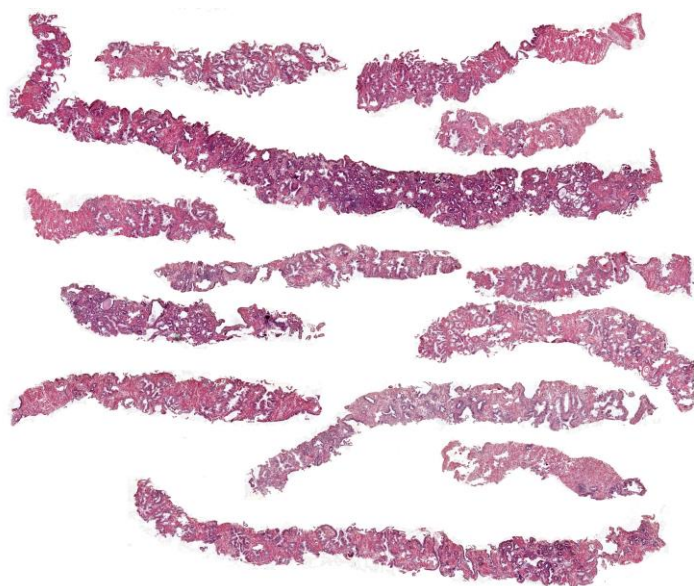
Андреева Ю.Ю. ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. 2021 (Из личного архива)

## Работа патологоанатома (биопсии)



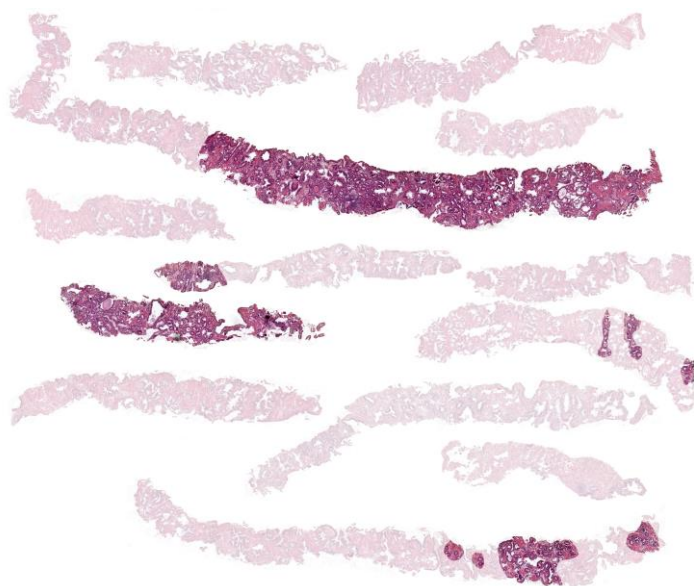
Андреева Ю.Ю. ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. 2021 (Из личного архива)

Работа  
патологоанатома  
(биопсии)



Андреева Ю.Ю. ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. 2021 (Из личного архива)

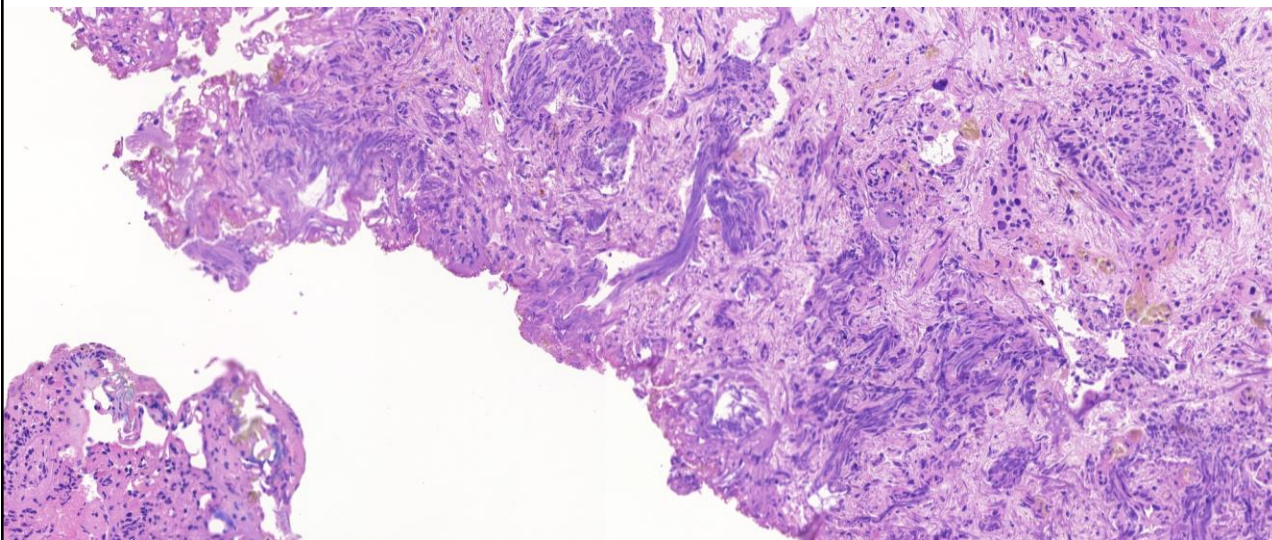
Работа  
патологоанатома  
(биопсии)



Андреева Ю.Ю. ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. 2021 (Из личного архива)



## Работа патологоанатома (ТУР, термическое повреждение)



Андреева Ю.Ю. ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. 2021 (Из личного архива)

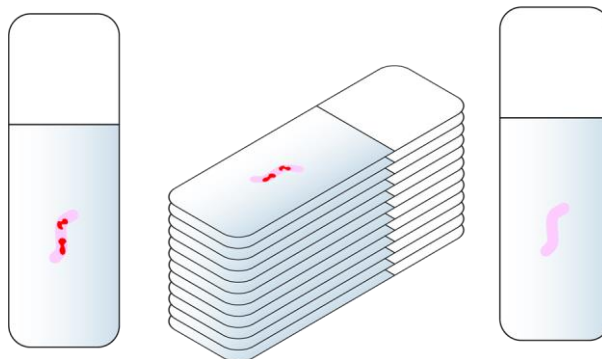
### Работа лаборанта и патологоанатома

Изготовление 15-20 срезов (минимум)

Первый и последний срезы – окрашивание гематоксилином и эозином

Контроль окрашенных срезов патологоанатомом

При отсутствии опухоли – подбор другого блока



Андреева Ю.Ю. ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. 2021 (Из личного архива)



## Контроль патологоанатома для улучшения результатов генетического тестирования



***Побеждает пациент!***