

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В ДИАГНОСТИКЕ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Первушин В.В.¹, Касенкова В.Д.¹, Пахомова Ж.В.¹

¹ ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева», Орел, Россия, e-mail: info@oreluniver.ru

Аннотация. Статья посвящена актуальной на сегодняшний день проблеме – диагностике онкологических заболеваний. Внимание в работе акцентировано на применении онкогенетических исследований онкофокус и онкопрофиль. Приведен актуальный перечень молекулярно-генетических исследований, финансируемых из средств территориального фонда обязательного медицинского страхования (ТФОМС). Кроме того, проанализированы актуальные статистические данные применения NGS методики в Орловском областном онкологическом диспансере.

Ключевые слова: онкогенетические исследования, онкофокус, онкопрофиль, диагностика раковых заболеваний, скрининг методом NGS.

MOLECULAR GENETIC METHODS IN THE DIAGNOSIS OF ONCOLOGICAL DISEASES

Pervushin V.V.¹, Kasenkova V.D.¹, Pakhomova Zh.V.¹

¹Federal State Budgetary Educational Establishment of Higher Education "Orel State University named after I.S.Turgenev", Orel, Russia, e-mail: info@oreluniver.ru

Abstract. The article is devoted to an urgent problem today – the diagnosis of oncological diseases. The main attention in the work is focused on the application of oncogenetic researches of oncofocus and oncoprofile. An up-to-date list of molecular genetic studies paid for at the expense of the Territorial Compulsory Medical Insurance Fund (TFOMS) is given. In addition, the current NGS method statistical data from the Orel regional Oncological dispensary were analyzed.

Keywords: ontogenetic analysis, oncofocus, oncoprofile, cancer diagnostics, screening by NGS method.

На сегодняшний день онкология является одной из ведущих причин человеческой смертности в мире. Лишь в странах с развивающейся экономикой данное заболевание уступает свои позиции инсульту и ишемической болезни сердца (ИБС).

Одним из первых упоминаний об опухолях является Древнеегипетский папирус Эдвина Смита (приблизительно 1600 год до н.э.). В нём указано о неизлечимом уплотнении в груди женщины, спустя недолгое время скончавшейся от данного недуга. В XXVIII веке английский врач Потт установил тот факт, что дымоходная сажа – это ведущий фактор в развитии рака кожи мошонки у трубочистов (введен термин «канцерогенез»). Таким образом, человечество уже несколько тысячелетий борется с различными проявлениями неопластических (опухолевых) трансформаций в своем организме. И лишь научно-технологические достижения XX и XXI веков сделали возможной не только раннюю диагностику и успешное излечение пациентов с подобным диагнозом, но и предотвращение развития заболевания как такового.

Онкогенетика – это отрасль современной медицины, в основе которой лежит применение молекулярно-генетических методов исследования человеческого генома с целью

своевременной профилактики, ранней диагностики и эффективного лечения онкологических заболеваний. Именно врачами данного профиля в клиническую практику был введен термин наследственный онкологический синдром (НОС). НОС может быть охарактеризован как заболевание, возникшее в результате нарушения структуры или регуляции генетического аппарата и приводящее к повышению риска развития онкологии. Генетические нарушения передаются как правило из поколения в поколение. Приблизительно в 20% случаев они возникают *de novo*. При НОС в семьях могут наблюдаться определённые онкологические паттерны или закономерности, которые включают наличие нескольких близких членов семьи с одним и тем же типом онкологического заболевания, развитие рака в раннем возрасте или наличие двух или более видов новообразований у одного и того же человека. Примерами НОС являются синдром наследственного рака молочной железы и рака яичников (НВОС), синдром Линча (LS), синдром Ли-Фраумени (LSF). Своевременно диагностированный НОС позволяет как врачу, так и пациенту не только превентивно принять меры по выявлению и прогнозу возможного онкологического заболевания, но также рассмотреть различные репродуктивные решения с целью предотвращения передачи патологического генетического варианта потомкам [1].

Для диагностики НОС в онкогенетической практике применяются следующие виды исследований: Онкофокус и Онкопрофиль.

Что такое исследование Онкофокус? Это анализ генов, наиболее часто вовлечённых в канцерогенез с помощью метода NGS (секвенирование нового поколения). Нарушения в этих генах приводят к развитию опухоли и используется в качестве диагностических, прогностических и предиктивных маркеров онкологического заболевания. Панель Онкофокус включает 52 гена. Данное исследование показано пациентам с установленным диагнозом онкологического заболевания для подбора терапии, мониторинга и коррекции терапии в случае рецидива [2].

Исследование Онкопрофиль, в отличие от исследования Онкофокус, включает в себя расширенный спектр генов, нарушения в которых обуславливают как «взрослые», так и ювенильные формы рака, а также позволяют определить генетические варианты, ассоциированные с наследственными онкологическими синдромами. Панель Онкопрофиль включает в себя 161 ген. Проведение исследования показано пациентам с установленным диагнозом онкологического заболевания для молекулярного профилирования опухоли, подбора терапии, выявления неблагоприятного прогноза, мониторинга и коррекции терапии в случае рецидива, подтверждения и/или диагностики наследственного онкологического синдрома. Следует сказать, что для интерпретации результатов исследования Онкопрофиль,

определения окончательного диагноза и дальнейшего подбора терапии требуется консультация врача-генетика, врача-онколога/химиотерапевта.

Как именно работает секвенирование следующего поколения (NGS)? Метод позволяет осуществить одновременное прочтение сотен миллионов коротких последовательностей ДНК и одновременно обнаружить все типы нарушений, а именно: анализ полной кодирующей последовательности гена, «горячие точки» мутагенеза (SNV/InDels), нарушения числа копий гена (CNV), хромосомные перестройки. Последующая биоинформатическая обработка данных позволяет найти отличия в последовательности ДНК опухоли от референсной геномной последовательности («золотого стандарта»). Преимуществами данного метода является высокая чувствительность и специфичность метода, быстрая оборачиваемость теста, сокращение времени на исследование, минимальные требования к количеству и качеству образцов, одновременное обнаружение всех типов мутаций, включая структурные перестройки [4].

Таким образом, благодаря массовому внедрению методов исследования, базирующихся на NGS-технологии, врачи-онкологи более точно и эффективно могут диагностировать и лечить различные онкологии.

В соответствии со структурой общей заболеваемости от злокачественных новообразований (ЗНО), в 2021 году в РФ чаще всего диагностируются следующие:

- 1 место – рак молочной железы (13%);
- 2 место – колоректальный рак (13%);
- 3 место – рак легких, трахеи и бронхов (12%).

Рак молочной железы (РМЖ) диагностируется примерно у каждой десятой женщины, причем инвазивная протоковая карцинома – это наиболее популярный его вид. Методом NGS анализируются изменения в генах ERBB2 (этиологический фактор РМЖ примерно в 20% случаев), BRCA1 (примерно 15-20%) и BRCA2 (до 10% случаев РМЖ) [1, 5].

Колоректальный рак (КРР) по локализации чаще всего поражает сигмовидную и прямую кишку, а гистологически в 95% случаев представлен аденокарциномами. Диагностика КРР на основе NGS-технологии включает в себя тестирование мутаций в генах KRAS, BRAF, NRAS и ERBB2, а также включает тестирование микросателлитной нестабильности (MSI) [3].

Немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) составляет до 85% всех случаев бронхолегочного рака. Основными подтипами НМРЛ являются аденокарцинома, плоскоклеточный и крупноклеточный раки. Наиболее популярные биомаркеры прогрессирующего или метастатического немелкоклеточного рака – это мутации в генах EGFR, KRAS и BRAF, а также амплификация (10 и более копий) гена MET [1].

На основании полученных данных пациенту с определенным раковым заболеванием будет назначен эффективный таргетный метод лечения (мишенью данной терапии является конкретный белок опухолевой клетки, реализация которого должна быть заблокирована). Например, в случае диагностирования у пациента любого подтипа РМЖ с подтвержденной мутацией в генах BRCA1/BRCA2 в качестве таргетной терапии могут быть назначены препараты олапариб и талазопариб. В случае же выявления других биомаркеров данные препараты будут неэффективны в лечении рака молочной железы.

В Орловской области, как и во многих других субъектах РФ, территориальным фондом обязательного медицинского страхования (ТФОМС) финансируются NGS исследования на следующие биомаркеры:

- KRAS, NRAS и V600 BRAF мутации в биопсийном материале при подтвержденном колоректальном раке;
- EGFR и V600 BRAF мутации в биопсийном материале при подтвержденном немелкоклеточном раке легкого;
- BRCA1/BRCA2 мутации в образце крови при подтвержденном раке молочной железы.

БУЗ ОО «Орловский онкологический диспансер» за 2022 год продемонстрировал следующие показатели применения молекулярно-генетических исследований (рис. 1):

- Из 87 материалов, представленных на определение мутаций в генах KRAS, выявлены положительные результаты в 23 случаях или 26,4%;
- Из 90 материалов, представленных на определение мутаций в генах BRCA1,2, выявлены положительные результаты в 7 случаях или 3,9%;
- Из 152 материалов, представленных на определение мутаций в генах BRAF, выявлены положительные результаты в 30 случаях или 13,2%;
- Из 30 материалов, представленных на определение мутаций в генах C-KIT, выявлены положительные результаты в 1 случае или 3,3%;
- Из 6 материалов, представленных на определение микросателлитной нестабильности MSI, выявлены положительные результаты в 2 случаях или 33,3%.

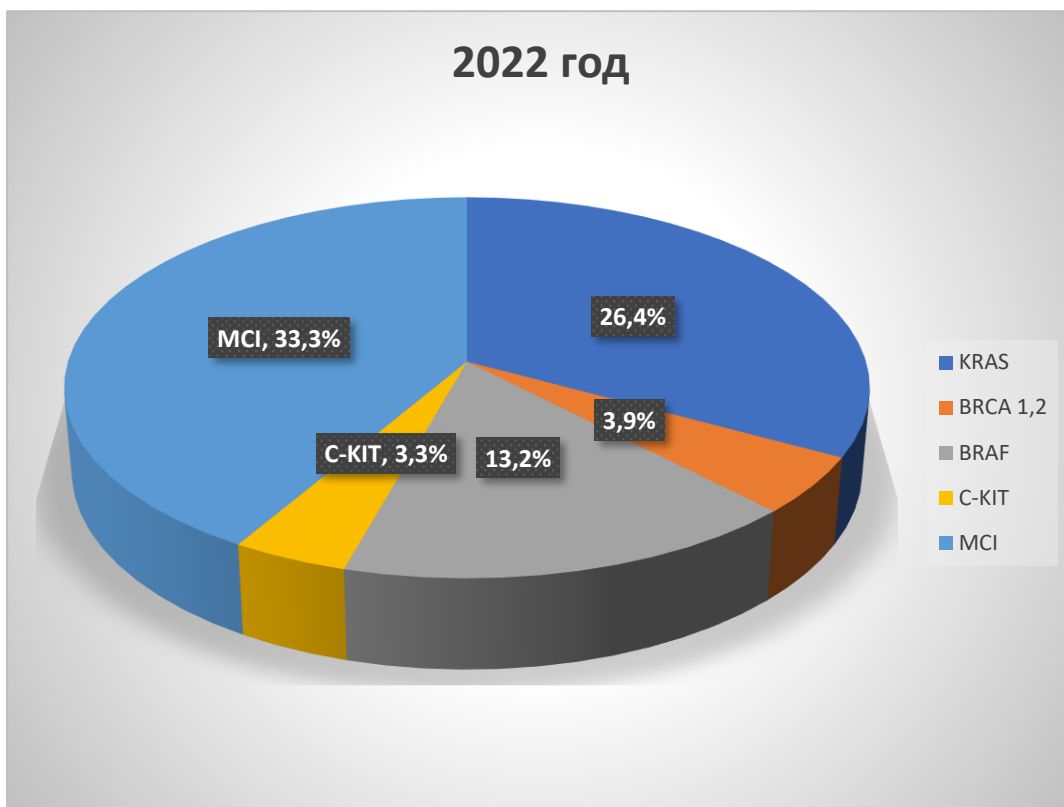


Рисунок 1. Молекулярно-генетические исследования за 2022 год.

В 2021 году обозначенные показатели существенно отличались от данных текущего года (рис. 2):

- Из 53 материалов, представленных на определение мутаций в генах KRAS, выявлены положительные результаты в 17 случаях или 32%;
- Из 62 материалов, представленных на определение мутаций в генах BRCA1,2, в генах BRCA1 выявлены положительные результаты в 5 случаях или 8,1%, в генах BRCA2 выявлены положительные результаты в 2 случаях или 3,2%;
- Из 96 материалов, представленных на определение мутаций в генах BRAF, выявлены положительные результаты в 6 случаях или 6,25%;
- Из 16 материалов, представленных на обнаружение признаков микросателлитной нестабильности, выявлены положительные результаты в 1 случае или 6,3%.

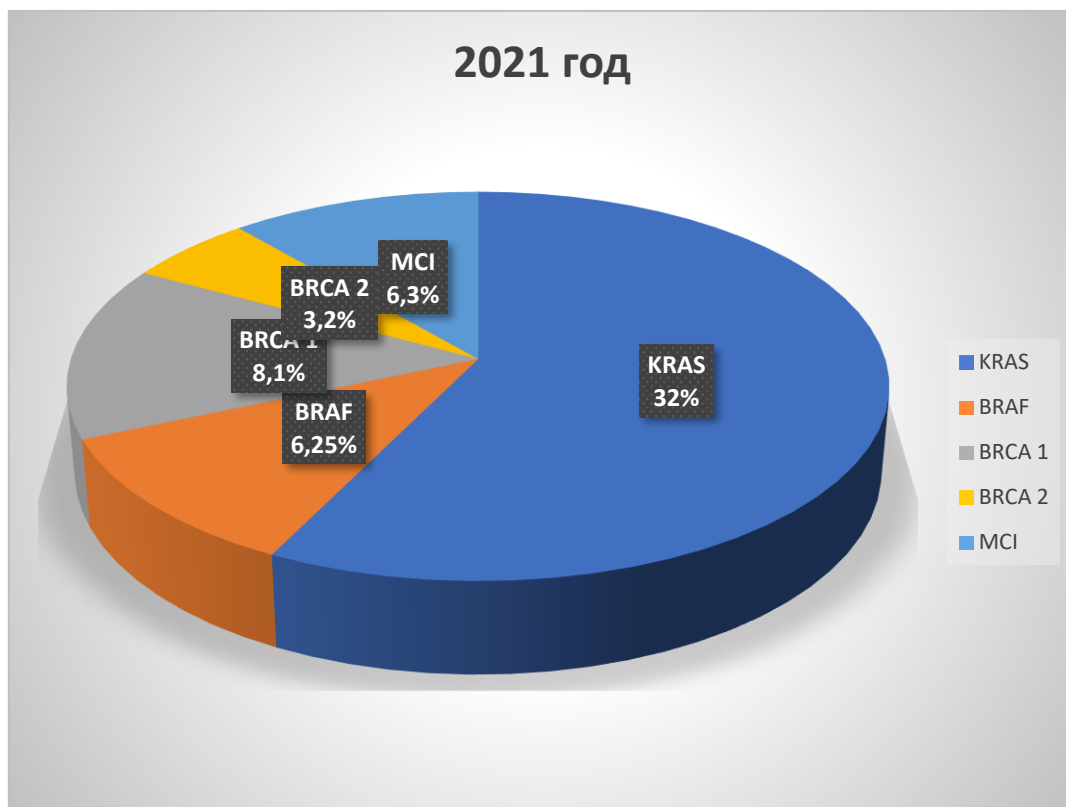


Рисунок 2. Молекулярно-генетические исследования за 2021 год.

Подводя итог нашего анализа, следует отметить, что в 2022 году в перечне финансируемых молекулярно-генетических исследований появился скрининг на мутации в гене С-КИТ. Помимо этого, в 2022 году прослеживалась тенденция к снижению мутаций в генах KRAS, но в тоже время возросло количество выявленных мутаций в генах BRAF и MCI.

Список литературы:

- 1) Наследственные онкологические синдромы: клинические и генетические аспекты, диагностика / [Шикеева А.А. и др.]; под общ. Ред. Исаевой Н.И. – Москва: Лайвбук, 2022, - 108 стр.
- 2) Состояние онкологической помощи населению России в 2019 году. Под редакцией А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. ISBN 978-5-85502-255-1
- 3) Первушин В.В., Саньков В.И. КОЛОНОСКОПИЯ КАК МЕТОД ПРОФИЛАКТИКИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА // Международный студенческий научный вестник. – 2021. – № 6. URL: <https://eduherald.ru/article/view?id=20758> (дата обращения: 20.12.2022)
- 4) Новикова Е.И., Снигирева Г.П. Секвенирование «Нового поколения» (NGS): применение для молекулярно-генетических исследований в онкологии // Вестник РНЦПР. 2016. №1. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/sekvenirovanie-novogo->

[pokoleniya-ngs-primenenie-dlya-molekulyarno-geneticheskikh-issledovaniy-v-onkologii](#)

(дата обращения: 20.12.2022).

- 5) Харченко В. П., Кешелава В. В., Шайхаев Г. О., Ходорович О. С. Онкогенетические аспекты рака молочной железы // Опухоли женской репродуктивной системы. 2007. №1. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/onkogeneticheskie-aspekty-raka-molochnoy-zhelezy> (дата обращения: 20.12.2022).