

Современные стратегии клинико-диагностического сопровождения в онкогинекологии

 РеалБест



Рак шейки матки (РШМ)

- Занимает 2 место среди онкозаболеваний по частоте встречаемости и 3 место по смертности у женщин
- Ежегодно около 500 тыс. новых случаев РШМ в мире, из них около 250 тыс. случаев заканчивается летально (данные ВОЗ)
- Россия (2010): 22,7 тыс. новых случаев (15,9 на 100 тыс. населения), летальный исход – 11,9 тыс. (8,3 на 100 тыс.)
- Более 99% случаев заболевания РШМ вызваны ВПЧ (более 95% - ВПЧ высокого онкогенного риска)
- Инфицированность ВПЧ в 300 раз повышает вероятность развития РШМ; у женщин до 29 лет заболеваемость выросла в 2 раза

Актуальность диагностики папилломавирусной инфекции (ПВИ)

- Общий рост инфицированности и заболеваемости

Одна из наиболее распространённых инфекций, передаваемых половым путём – 55-65%

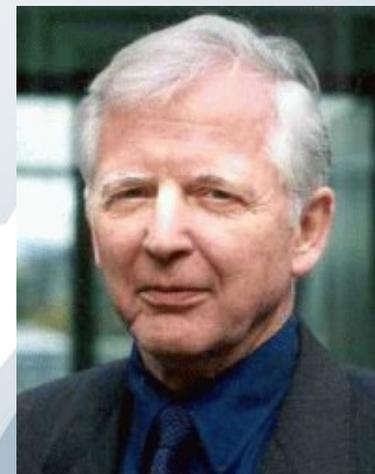
- Возможность передачи от матери плоду/новорожденному (около 30% случаев)

Вирус папилломы человека (ВПЧ, Human papillomavirus, HPV)

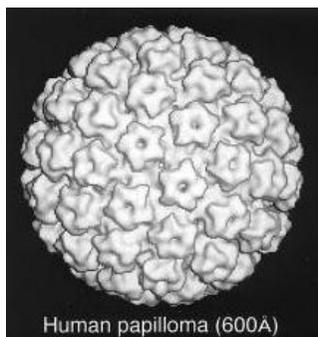
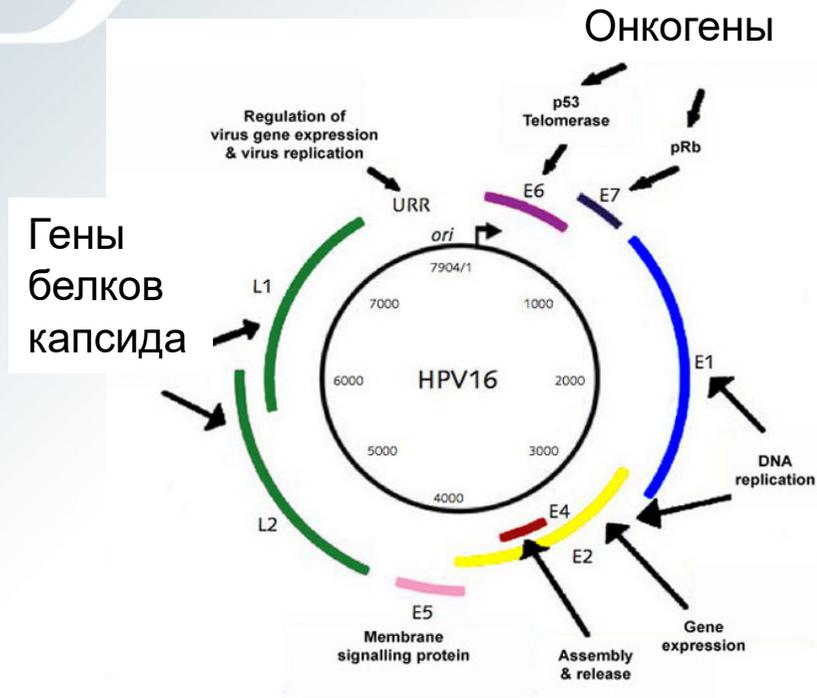
- ДНК-содержащие вирусы семейства *Papillomaviridae*
- Передача только от человека к человеку
- Известно около 400 типов (более 40 могут вызывать поражения аногенитального тракта)
- Пути передачи: половой, трансплацентарный, перинатальный, контактно-бытовой
- Инфицирование является онкогенным фактором



Харальд Цур Хаузен – Нобелевская премия по физиологии и медицине за 2008 г.



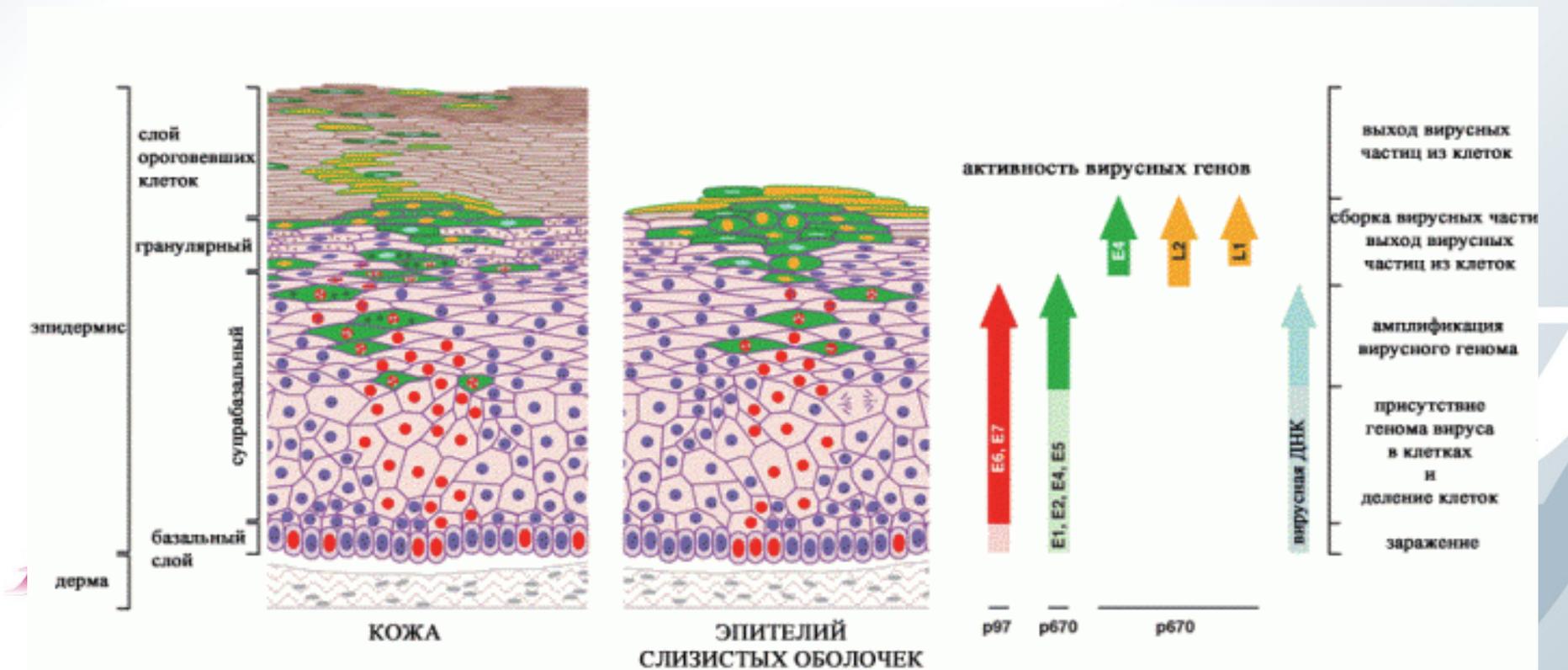
ВПЧ: организация генома



- Двухцепочечная кольцевая ДНК.
- Кодировывает 8 генов: «ранние» (E) и «поздние» (L) в зависимости от времени экспрессии.
- Ранние белки (E) регулируют жизненный цикл вируса. Белки E6 и E7 отвечают за онкогенные свойства, их избыток оказывает трансформирующее воздействие. Белок E2 контролирует репликацию ДНК и наработку белков E6 и E7.
- Поздние гены L1 и L2 кодируют структурные белки капсида.

ВПЧ: инфицирование организма

- Мишени – эпителиальные клетки кожи и слизистых оболочек
- Инфицирование базального слоя эпителия через микроразрывы (достаточно единичных вирусных частиц)
- Проникновение в клетки путём рецепторно-опосредованного эндоцитоза; инфицированные стволовые клетки (10 – 200 копий вируса на клетку) – постоянный источник вируса



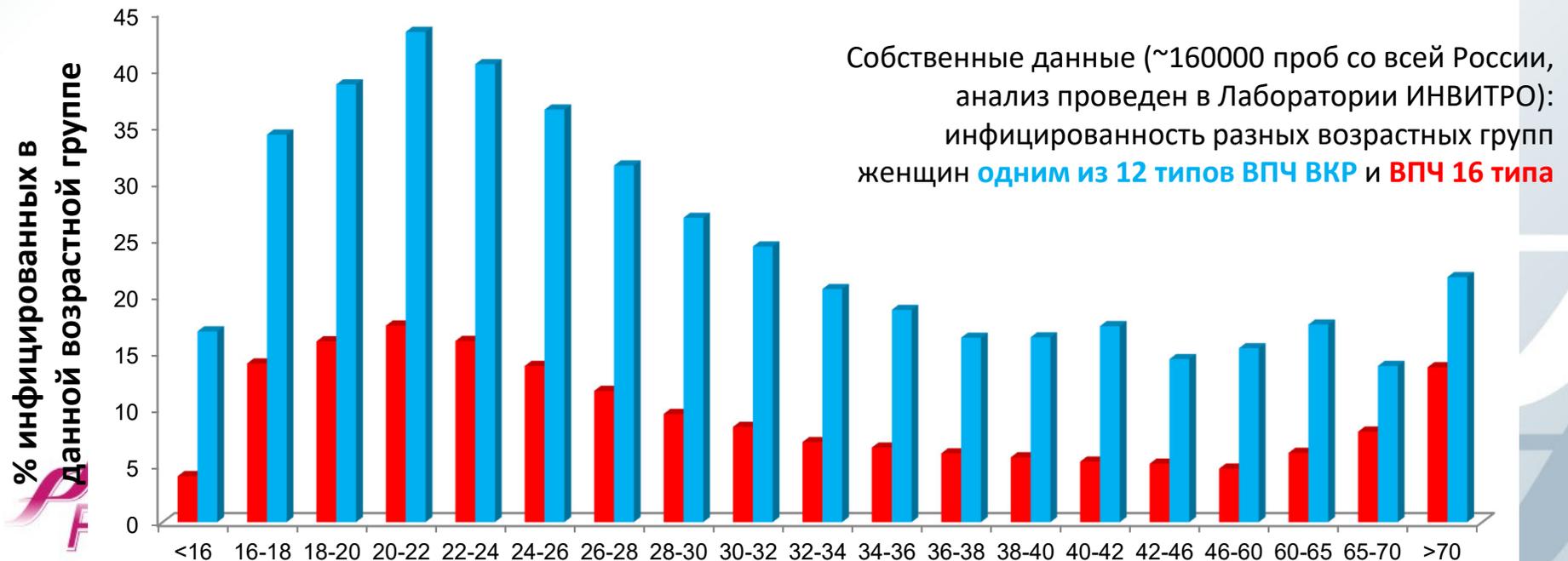
ВПЧ: инфицированность населения

- Риск передачи при однократном незащищённом контакте – **60-80%**
- В течение первых 4-6 лет половой жизни инфицируется около **80%** женщин
- До 80% людей, живущих в мире, контактировали с ВПЧ в своей жизни как минимум раз
- Молодые женщины до 30 лет высоко инфицированы онкогенными типами ВПЧ
- Инфицированность в позднем возрасте сильно различается в различных странах, но в целом снижена по сравнению с молодым возрастом

ВПЧ-инфекция – одна из самых распространенных инфекций, передающихся половым путем

Вероятность инфицирования при однократном незащищенном контакте – до 60%

- В первые 4–6 лет половой жизни ~80% женщин инфицируется ВПЧ ВКР, **однако у 90% в течение 9-15 месяцев происходит спонтанная элиминация вируса**
- Молодые женщины (до 26-30) лет наиболее высоко инфицированы ВПЧ ВКР, **но именно у них предраковые поражения шейки матки обнаруживаются редко**
- Инфицированность в позднем возрасте сильно различается в разных странах, **однако в целом снижена по сравнению с молодым возрастом**



ВПЧ: варианты воздействия на эпителий

ВПЧ могут оказывать на эпителий **продуктивное** или **трансформирующее** воздействие:

- При продуктивном воздействии возникают доброкачественные новообразования - папилломы и кондиломы кожи и слизистых оболочек
- Результат трансформирующего воздействия - дисплазии различных степеней, развитие которых приводит к раку

Доброкачественные нарушения

- Амплификация ДНК вируса отдельно от генома клетки-хозяина
- Нароботка капсидных белков в верхних слоях эпителия
- Сборка вирусных частиц и их выход на поверхность кожи

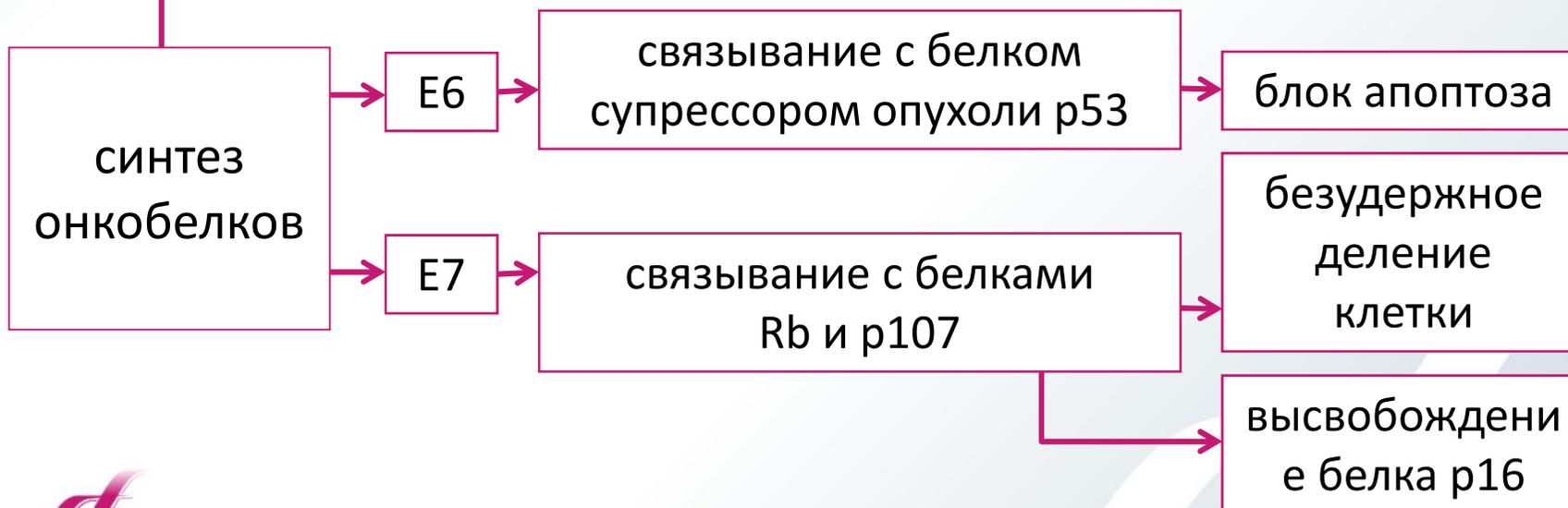
Злокачественные нарушения

- Интеграция в геном клетки-хозяина (потеря части вирусного генома)
- Активная наработка онкобелков E6 и E7
- Малигнизация клетки

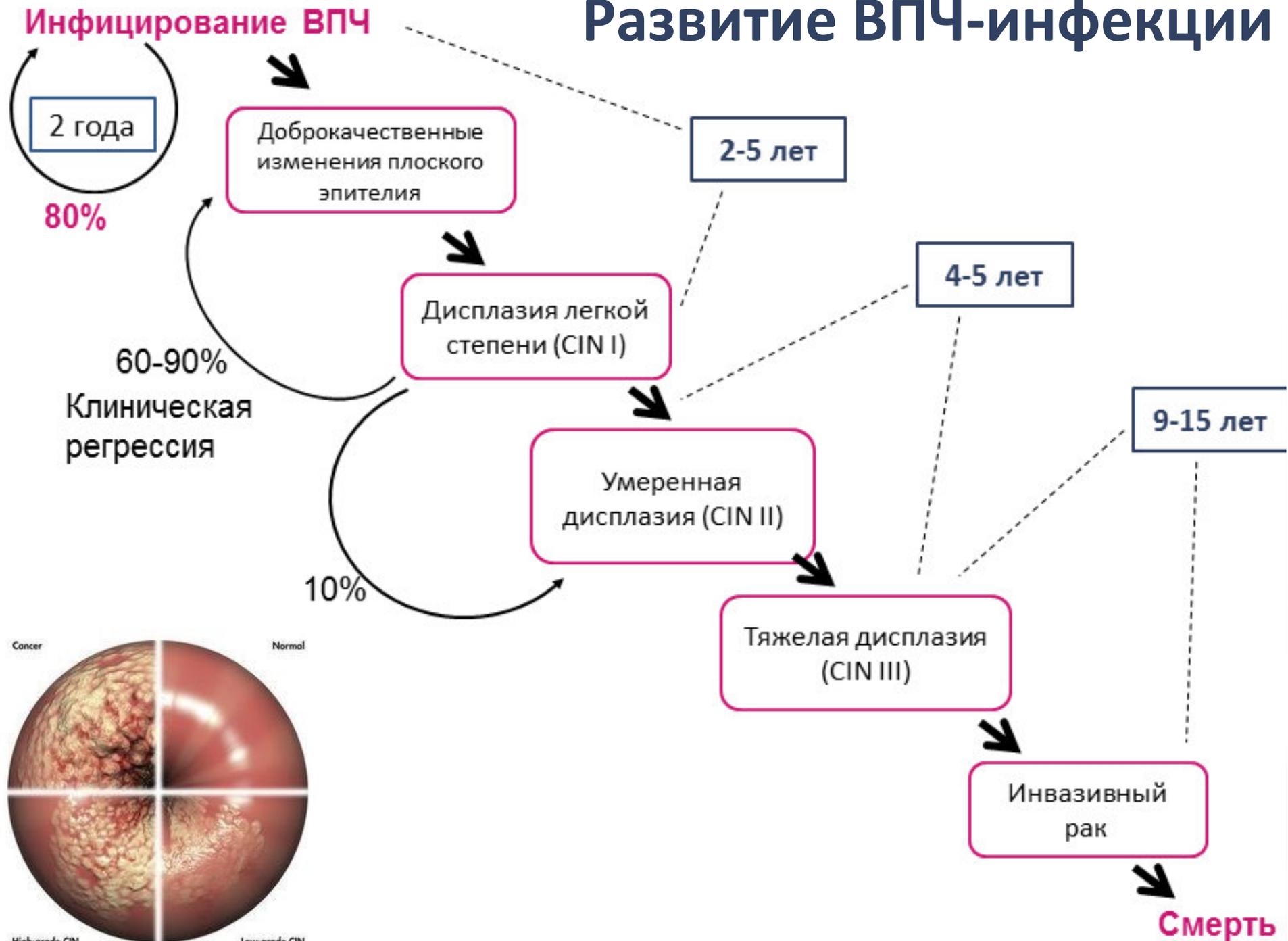
ВПЧ: интеграция ДНК в геном клетки-хозяина

нарушение, частичная делеция гена E2

- утрата контроля над экспрессией генов E6, E7
- повышение стабильности мРНК E6, E7



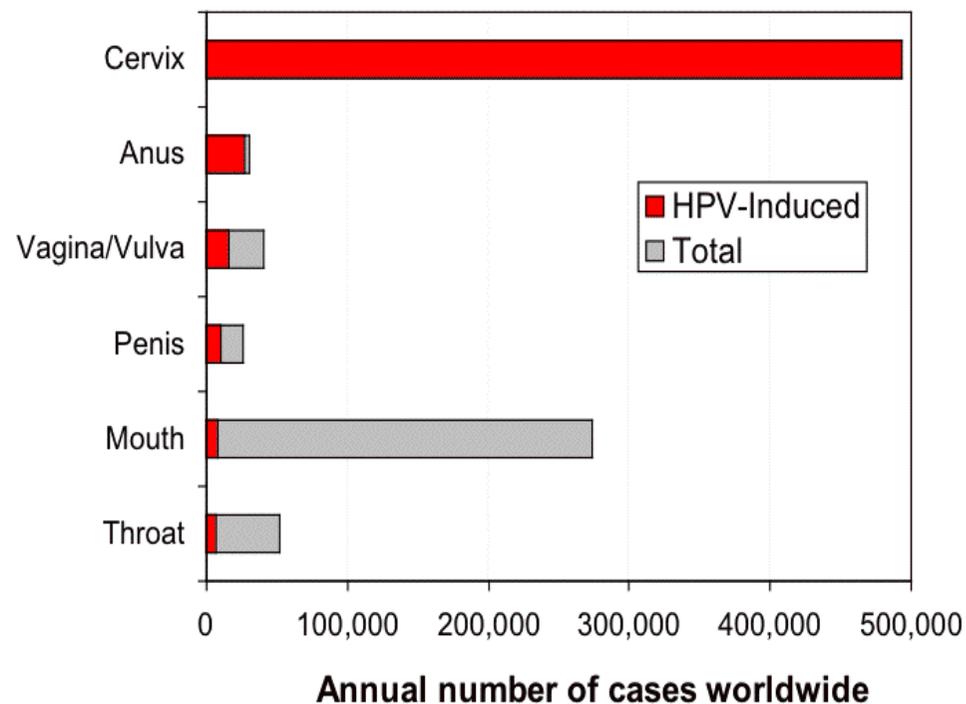
Развитие ВПЧ-инфекции



ВПЧ: онкогенный потенциал

Дисплазии различных степеней; раковые заболевания

- Рак шейки матки: 90-100%
- Рак аногенитальных обл. : 90%
- Рак влагалища и вульвы – 40%
- Рак полового члена – 40%
- Рак ротовой полости и горла – 3-12%

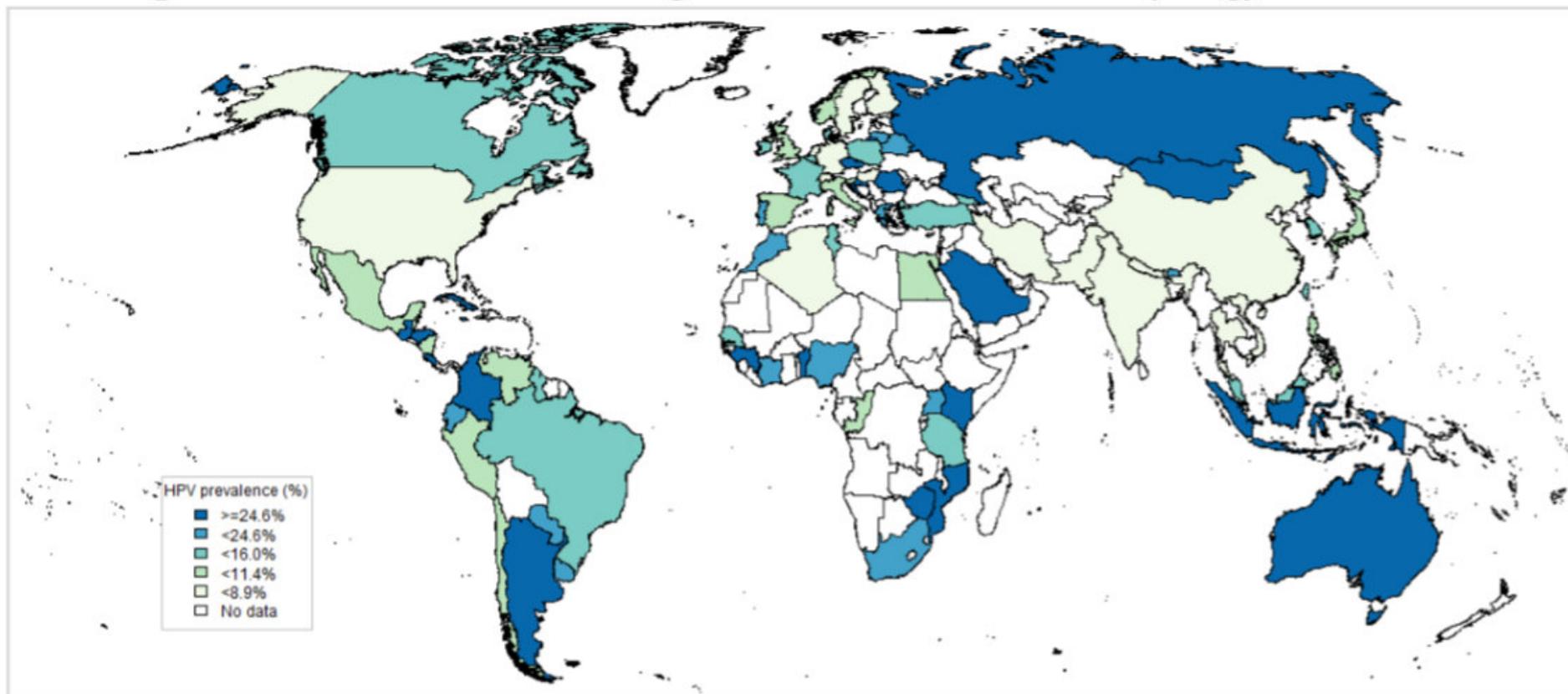


А также: рак груди, легких, толстой кишки, прямой кишки, предстательной железы и пищевода

ВПЧ-инфекция – одна из самых распространенных инфекций, передающихся половым путем

Инфицированность населения заметно (в разы) отличается в разных странах

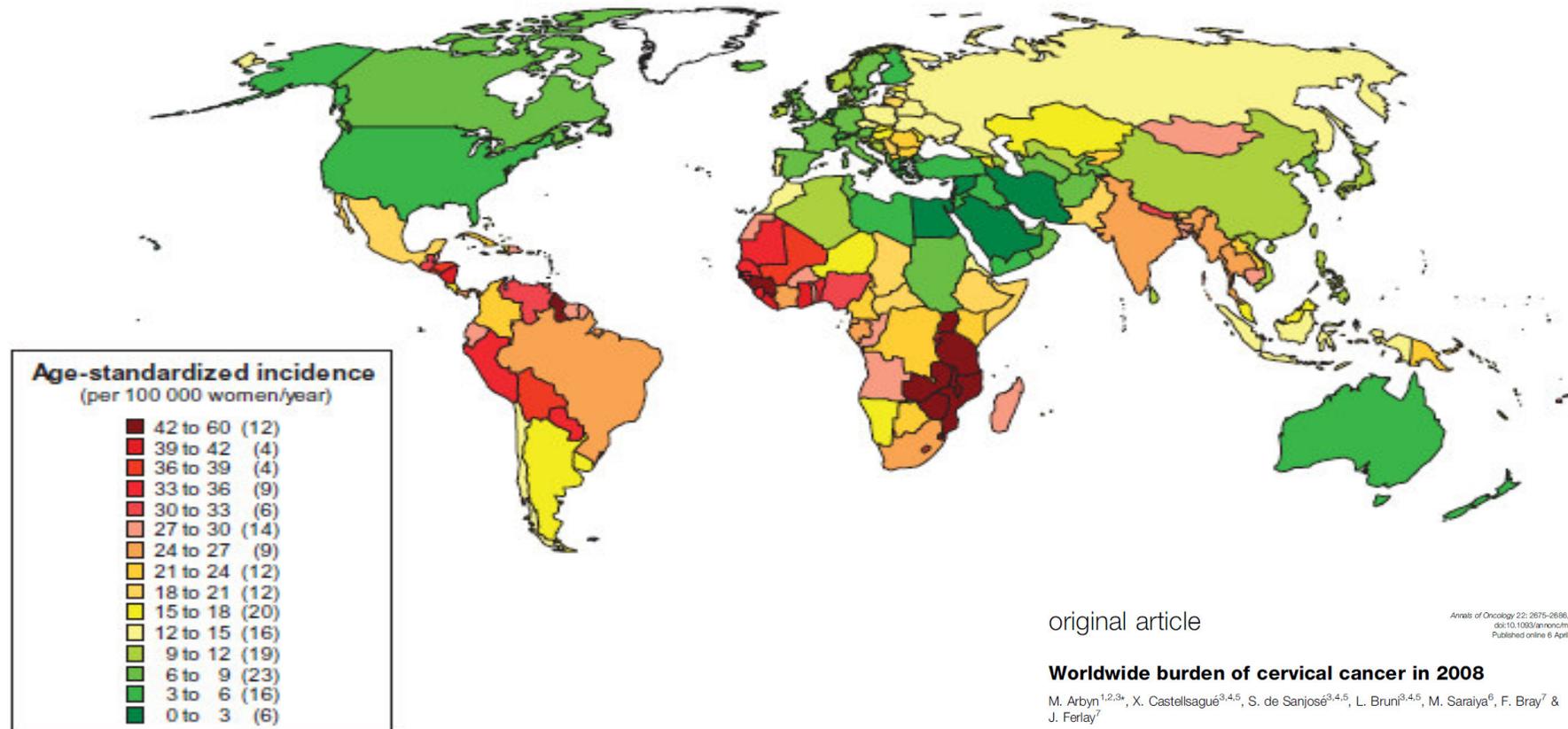
Figure 26: Prevalence of HPV among women with normal cervical cytology in the World



Data updated at 15 dic. 2014 (data as of 31 oct. 2014).

The samples for HPV testing come from cervical specimens (fresh / fixed biopsies or exfoliated cells) [Data sources](#): See references in Section 9.

Заболееваемость РШМ существенно (в десятки раз) отличается в разных странах мира и не всегда коррелирует с распространенностью ВПЧ-инфекции



original article

Annals of Oncology 22: 2675-2686, 2011
doi:10.1093/annonc/mdr015
Published online 6 April 2011

Worldwide burden of cervical cancer in 2008

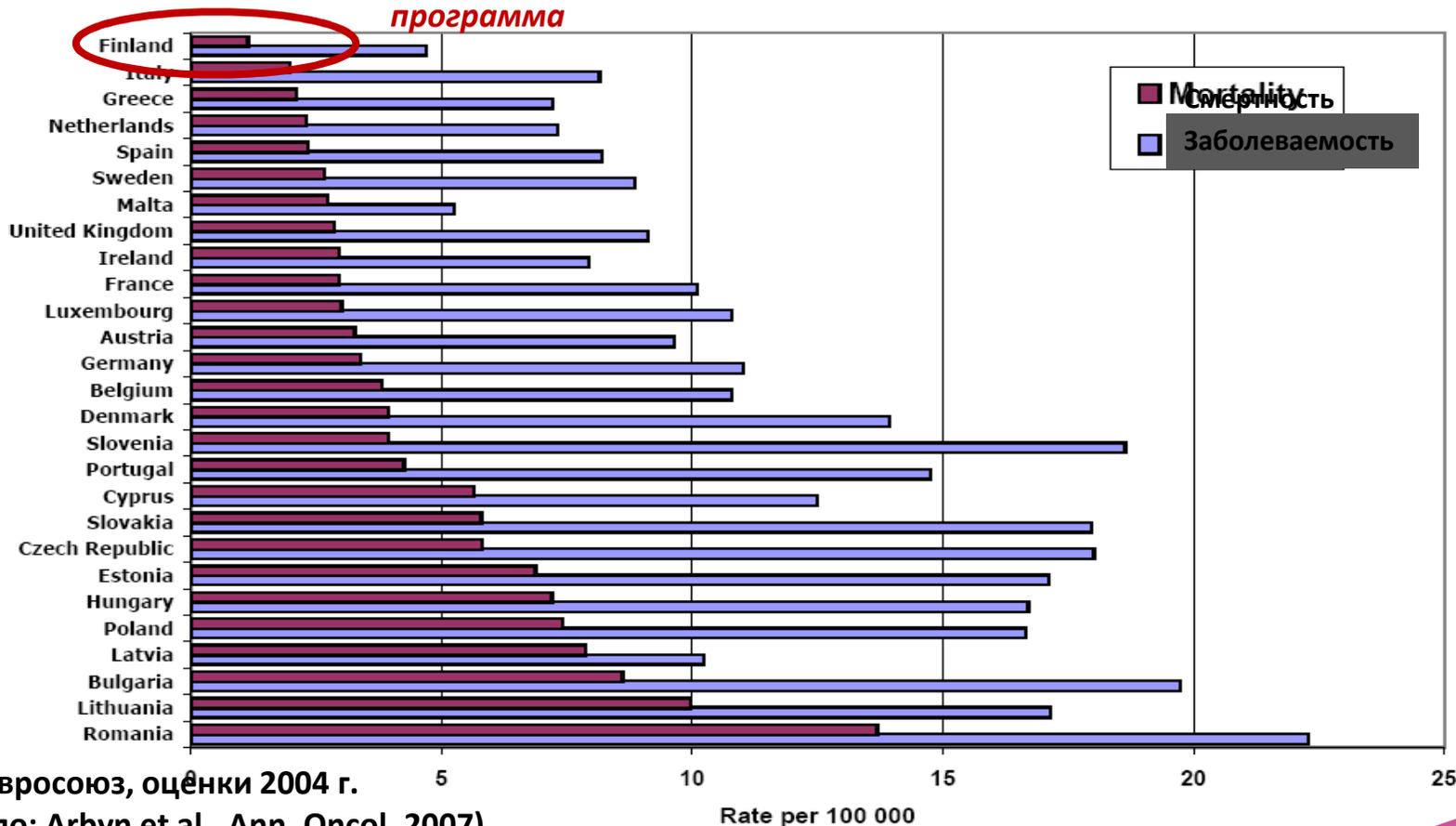
M. Arbyn^{1,2,3*}, X. Castellsague^{3,4,5}, S. de Sanjosé^{3,4,5}, L. Brunj^{3,4,5}, M. Saraiya⁶, F. Bray⁷ & J. Ferlay⁷

Figure 1. Geographic distribution of the world ASIR of cervical cancer, by country, estimated for 2008 (per 100 000 women-years). The counts in the legend correspond to the number of countries in each ASIR range. ASIR, age-standardised incidence rate.

Заболеваемость и смертность при РШМ – величины непостоянные и могут быть существенно снижены: **почему?**

- РШМ, как правило, развивается медленно
- Прогноз при медицинском вмешательстве на предраковой стадии хороший
- Поэтому при периодическом скрининге есть высокая вероятность вовремя выявить предраковую стадию и предотвратить развитие заболевания

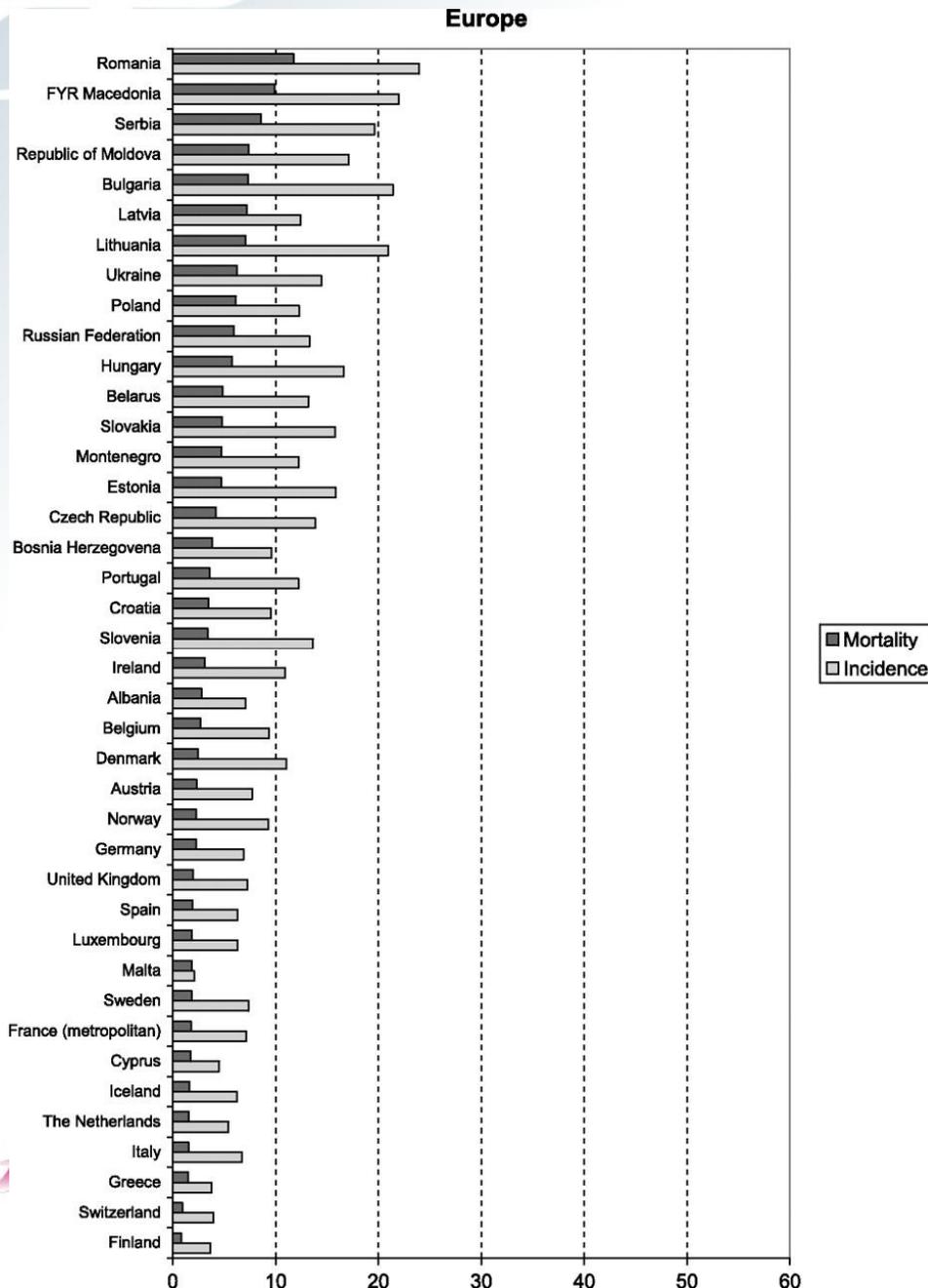
Относительно рано запущенная и успешно действующая скрининговая программа



Евросоюз, оценки 2004 г.

(по: Arbyn et al., Ann. Oncol. 2007)

РШМ: заболеваемость и смертность



Age-standardised rates of incidence of and mortality from cervical cancer (per 100 000 women-years) in Europe countries, estimates for 2008, ordered by continent and ranked by increasing mortality from bottom to top (direct standardisation using the world reference population). (*derived from Arbyn et al., Ann Oncol. 2011*).

ПВИ: особенности развития

- Спонтанное самоизлечение в течение 9 – 15 мес. более чем в 80% случаев
 - Выявление ВПЧ не является указанием на рак или его высокую вероятность!
 - Это тем более верно для наиболее инфицированной части населения (молодые женщины)!
- В 10% случаев – развитие внутриэпителиальной дисплазии (CIN) I, II или III степени
- Развитие предрака в 0.5% случаев; от инфицирования до развития предрака – около 20 лет
- Отсутствие жалоб, проявление только на стадии предрака или РШМ
- Отсутствие методов лечения на латентной стадии

ВПЧ: классификация генотипов по онкогенности

- Группа высокого онкогенного риска

ВПЧ 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82

- **Доказательство онкогенности представляет серьезную сложность!**
- **Состав групп постепенно меняется**
- Многие типы крайне редко обнаруживаются при раке в виде моно-инфекции

группа неустановленного онкогенного риска

все остальные ВПЧ

ВПЧ: выявляемость типов при РШМ

Тип	Карцинома ШМ*	Аденокарцинома ШМ*
ВПЧ16	54,38%	41,62%
ВПЧ18	11,27%	37,30%
ВПЧ31	3,82%	1,08%
ВПЧ33	2,06%	0,54%
ВПЧ35	1,27%	1,08%
ВПЧ39	0,82%	0,54%
ВПЧ45	5,21%	5,95%
ВПЧ51	0,75%	0,54%
ВПЧ52	2,25%	
ВПЧ56	1,09%	
ВПЧ58	1,72%	0,54%
ВПЧ59	1,05%	2,16%
ВПЧ66	0,19%	
ВПЧ68	0,37%	
ВПЧ73	0,49%	
ВПЧ82	0,26%	
ВПЧ26	0,22%	
ВПЧ53	0,04%	
ВПЧ6	0,07%	
ВПЧ11	0,07%	

- Возможно заражение разными типами в любых комбинациях
- Рак может быть связан с ВПЧ любого канцерогенного риска, но порядка 70% - это ВПЧ16+ВПЧ18
- Выявляемость разных типов ВПЧ у женщин с нормальной цитологией и при раке, а также у мужчин всегда различается
- Цифры могут варьировать в разных популяциях и географических зонах
- Генотипы низкого риска при РШМ практически всегда выявляются совместно с генотипами высокого риска

* - частота выявляемости ВПЧ данного типа в клетках опухолей шейки матки; *Munoz, N. et al. (2004)*

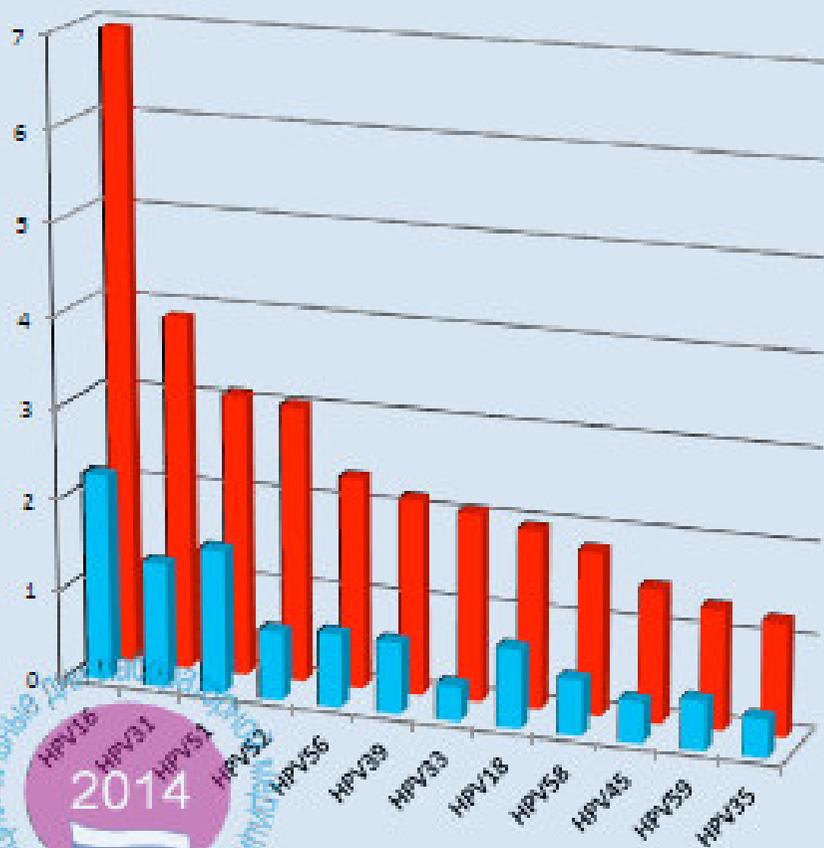
Результаты (2)

ВПЧ ВКР, встречаемость генотипов (весь массив)

Мужчины

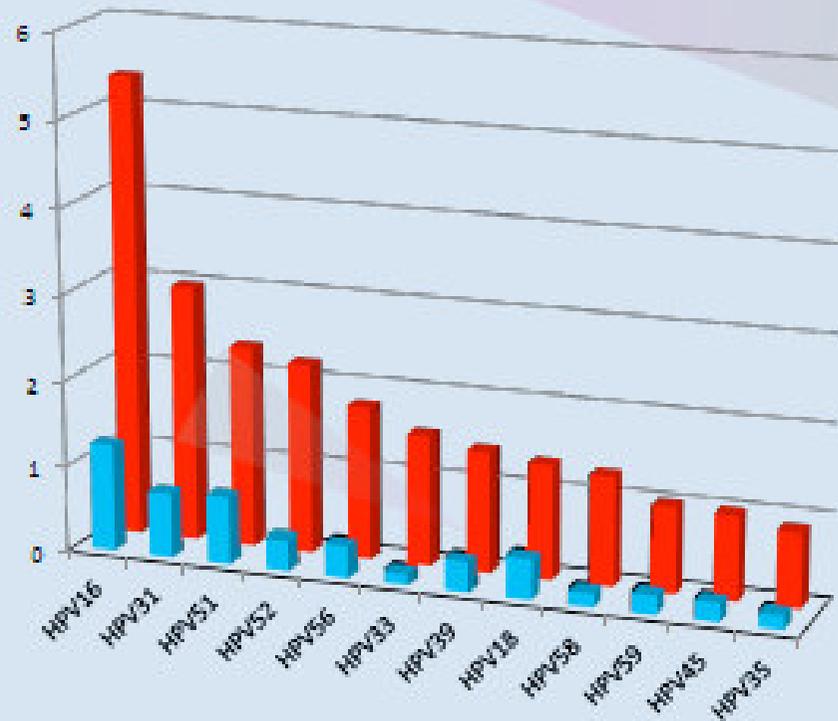
Женщины

% от общей выборки



Cut-off: $>10^4$ копий/мл пробы

% от общей выборки



Cut-off: $>10^5$ копий/мл пробы

ВПЧ-инфекция ≠ патология шейки матки!

- ✓ **Профилактика ВПЧ-инфекции < профилактика патологии ШМ**
- ✓ **Диагностика ВПЧ-инфекции ≠ диагностика патологии ШМ**
- ✓ **Лечение ВПЧ-инфекции ≠ лечение патологии ШМ**

Методы диагностики ПВИ: PAP-тест

- Чувствительность – 40-70%;
при контроле лечения CIN II+ – 15-25%
- Воспроизводимость – 11-80%
- Доля сомнительных результатов, требующих повторных исследований – до 15% (ASCUS; ASC-H)

McCrary D., 2002; Wright T., 2004

- Оценка риска развития дисплазий средней и тяжелой степеней в течение трех лет при нормальном Pap-тесте*

Цитология	ВПЧ-тест	Частота возникновения CIN II/III
Норма	Положительные повторные ВПЧ-тесты	21%
Норма	Отрицательные ВПЧ- тесты	0,08%

* Lorincz, et al. Arch Pathol Lab Med. 2003; Clavel C, et al. Brit J Cancer, 2001

ПВИ: методы диагностики

Кольпоскопия – осмотр шейки матки кольпоскопом,
выявление аномального эпителия

Хороший вторичный метод исследования

*Недостатки: неспецифичность (без дополнительных методов
выявление CIN – 75%; около 50% результатов могут быть
ложноположительными; около 25% тяжёлых CIN могут быть
классифицированы лёгкими)*

Гистология – исследование биоптатов

Золотой стандарт диагностики, позволяет ставить диагноз

*Недостатки: высокая стоимость, невозможность частого
проведения, высокие требования к качеству материала*

Ложноотрицательные результаты могут достигать 15%!

Метод ПЦР в диагностике ПВИ

- Наиболее чувствителен на ранних этапах ПВИ, когда отсутствуют клинические, кольпоскопические и цитологические признаки инфицирования ВПЧ
- Выявление ВПЧ высокого риска не позволяет установить стадию инфекции, но однозначно указывают на наличие ПВИ (при этом отсутствие инфекции не может быть установлено однозначно)
- Должен использоваться в совокупности с клиническими методами исследования

ПЦР-диагностика ПВИ: применение

- Скрининг (метод выбора в рамках национальных программ контроля РШМ), профилактические осмотры
- Контроль эффективности терапии
- Контроль эффективности вакцинопрофилактики (выявление генотипов ВПЧ, против которых направлены вакцины)
- Ранняя диагностика ПВИ
- Генотипирование
- Выявление дополнительных признаков онкогенности (наличие интеграции, выявление РНК вирусных онкогенов)
- Эпидемиологический надзор
- Подтверждение и уточнение результатов, полученных другими методами (неясные данные цитологии)

Вирусная нагрузка ВПЧ в норме и при патологии: существует ли “клинически незначимая” нагрузка?

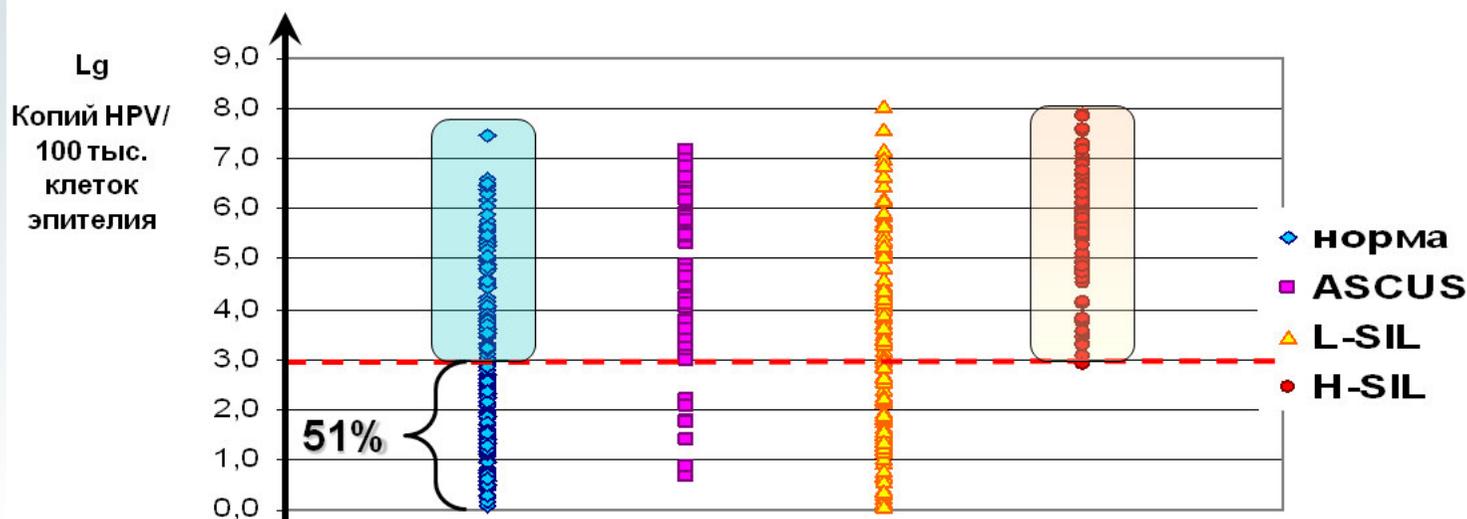
Вирусная нагрузка (оценивается на 100 тыс. клеток эпителия) ниже определенного значения практически не встречается в образцах тяжелой дисплазии и рака (“клинически незначимое инфицирование”). Нагрузка выше данного порога считается клинически значимой

Этот факт обосновывает применение отсечек, но не количественной оценки вирусной нагрузки!

Означает ли вирусная нагрузка ниже определенной гарантии отсутствия неоплазии?

Отсутствие вируса – означает с высокой вероятностью!

Количественное определение ДНК ВПЧ



Вирусная нагрузка ниже определенного значения практически не встречается в образцах тяжелой дисплазии и рака (“клинически незначимое инфицирование”). Нагрузка выше данного порога считается клинически значимой. В разных работах этот порог оценивается как 10^3 - 10^4 геномов ВПЧ на 100 тыс. клеток человека

* результаты Центра Молекулярной Диагностики (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора) по Донникову А.Е., 2012

Ни один из принятых в настоящее время алгоритмов профилактики РШМ не включает дифференцированный подход к пациентам по результатам контроля вирусной нагрузки!

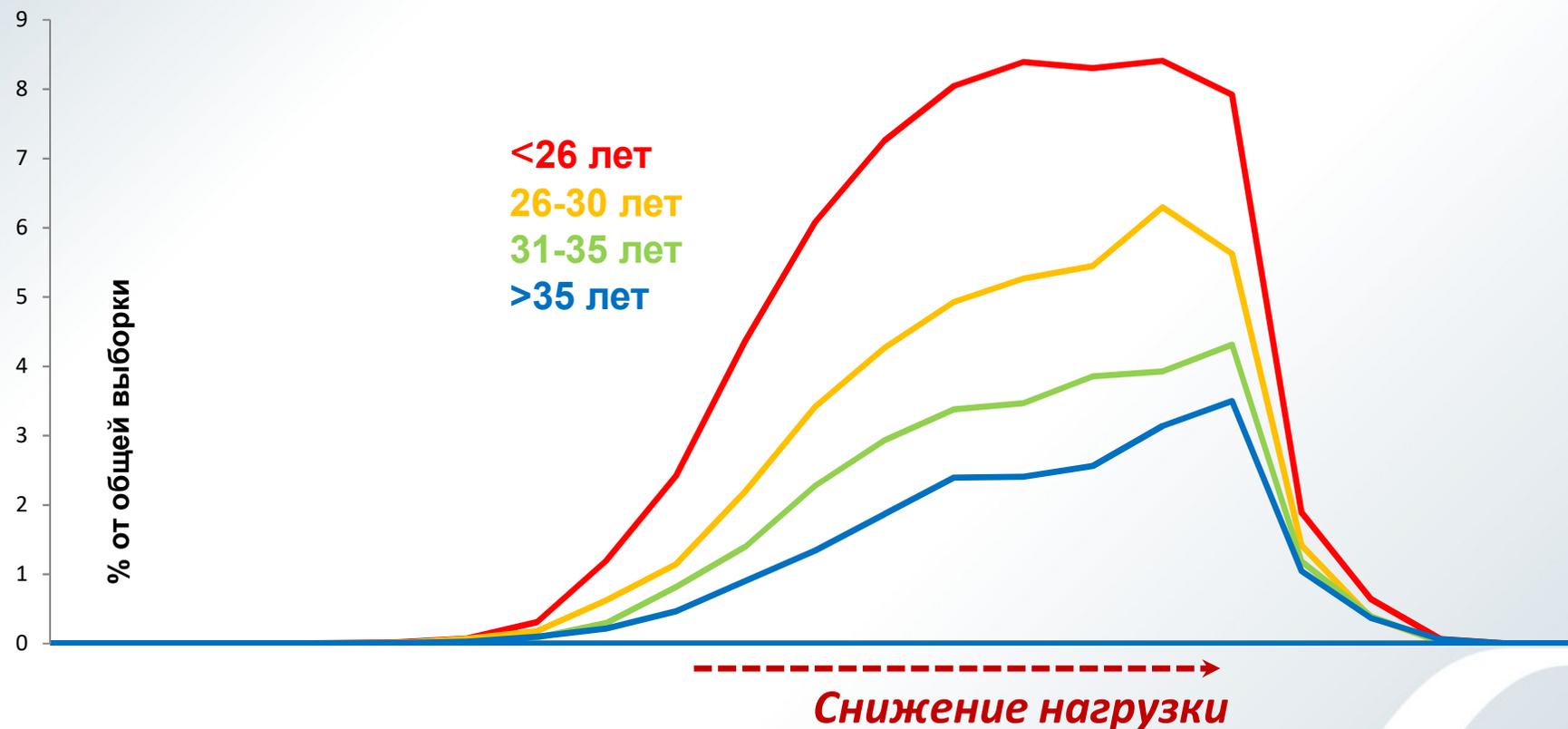
Почему?

- Вирусная нагрузка может **снижаться** при увеличении доли интегрированной формы
- При развитии патологии **характер** изменения вирусной нагрузки зависит от генотипа
- Для разных генотипов требуется **разное время** для развития РШМ
- Разные генотипы характеризуются **разной вероятностью** интеграции
- **Разные генотипы по-разному взаимодействуют** с защитными системами клетки и организма
- Большая часть информации получена для ВПЧ16, в меньшей степени – для ВПЧ18, про остальные генотипы информации недостаточно

multiple infections). In general, HPV-16 viral load as measured by real-time PCR increased linearly with increasing grade of SIL while HPV-18 measured using similar techniques increased through low-grade SIL (LSIL), with HPV-18 viral load among high-grade SIL and cancers near the level of cytologically normal women. HC 2 viral load, using the clinical 1.0 pg/ml cut point, differentiated cytologically normal women from women with any level of cytological abnormality (normal versus \geq LSIL) but did not change as lesion severity increased.



ВПЧ ВКР, распределение вирусных нагрузок в зависимости от возраста пациенток, случайная выборка n>100000 (собственные данные)



Более высокая вирусная нагрузка ВПЧ ВКР характерна для инфицированных пациенток более молодого возраста

Стратегии применения ПЦР в диагностике ПВИ

- Проведение первичного скрининга совместно с цитологическим исследованием для женщин старше 30 лет
- Второй этап скрининга после цитологии для разрешения сомнительных результатов
- Контроль проведенного хирургического лечения CIN II+
- Первый этап скрининга до цитологии (для стран и регионов, где плохо организованы программы цервикального цитологического скрининга)



Рекомендации ВОЗ по скринингу РШМ (2014 – 2015 гг)

- Методы: основной – цитологический, дополнительные – ДНК-тесты, визуальный
- Наиболее широкий охват женщин. В странах с ограниченными ресурсами – хотя бы одноразовый скрининг всех женщин 35-40 лет
- Идеальным считается скрининг женщин 25-65 лет сначала 2 года подряд, при отрицательных результатах – каждые 3 года
- Использование ВПЧ-тестирования позволит увеличить промежутки между скринингами до 5 лет
- Использование ВПЧ-тестирования совместно с цитологическим методом: одновременно (ко-тестирование) или в качестве первичного метода со вторичным - цитологическим

ВПЧ-тестирование и цитология при скрининге

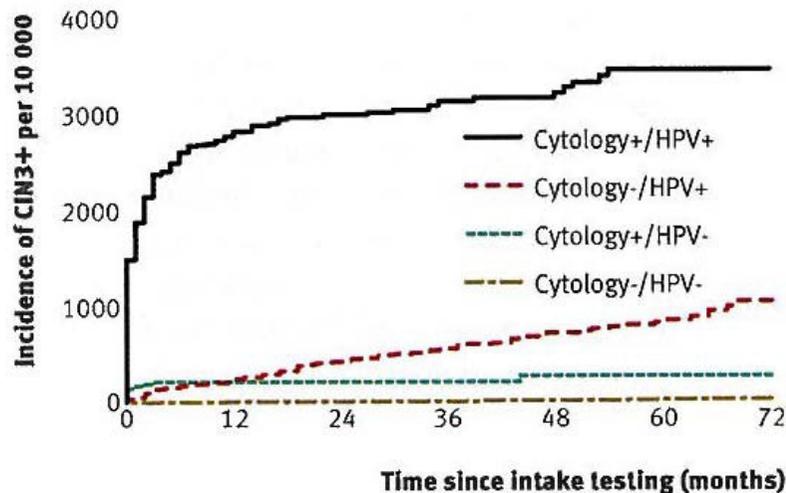


Fig 1 | Kaplan-Meier plots of cumulative incidence rate for CIN3+ for women according to baseline test results in the first 72 months of follow-up in all seven countries

Совместное применение цитологических исследований и ВПЧ-тестирования позволяет **значительно повысить эффективность скрининга:**

- Повышение чувствительности до 99-100%
- Удлинение сроков повторного исследования
- Значительное снижение затрат

ПВИ: резюме

- Передача только от человека к человеку, преимущественно половым путем, большинство женщин инфицируются в первые годы половой жизни
- Из >400 известных типов для некоторых показана онкогенность – инфицирование может являться причиной злокачественных новообразований
- Инфицирование ВПЧ является причиной рака шейки матки (РШМ)
- У большинства инфицированных вирус элиминируется под давлением иммунной системы и не развиваются клинические проявления
- Развитие поздних стадий РШМ может быть предотвращено при условии своевременной диагностики, основанной на выявлении ранних клинических проявлений (цитология, гистология)
- Рациональным основанием для направления на обследование может являться выявление ВПЧ высокого онкогенного риска (ВПЧ ВКР)

Инфицирование ВПЧ ВКР в РФ: резюме

- Уровень инфицированности населения и заболеваемости РШМ (по данным ВОЗ является относительно высоким)
- Национальная скрининговая программа отсутствует, региональные скрининговые программы основаны на цитологических методах и не демонстрируют эффективности
- Вакцинация не является обязательной, население ей не охвачено и имеет предубеждения против неё
- Большая часть обследований на наличие ВПЧ производится методом ПЦР и проводится в частных диагностических лабораториях
- Принципы использования ВПЧ-тестов и трактовки получаемых результатов не основаны на едином консенсусе

Наборы реагентов серии «РеалБест»

- Выявление ДНК одного генотипа ВПЧ

РеалБест ДНК ВПЧ 44

- Дифференциация ДНК двух генотипов ВПЧ

РеалБест ДНК ВПЧ 6/11, 16/18, 26/51, 31/33, 35/45

- Дифференциация ДНК трёх генотипов ВПЧ

РеалБест ДНК ВПЧ 26/53/66, 68/73/82

- Дифференциальное определение ДНК 12 генотипов ВПЧ
высокого риска (качественное и количественное)

РеалБест ДНК ВПЧ ВКР генотип – 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52,
56, 58, 59

ВПЧ-тестирование, цитология и **цервикальный скрининг**

ВПЧ после цитологии

ВПЧ вместе с цитологией

ВПЧ перед цитологией

Почему?

- 1) Потому, что ВПЧ-тестирование обладает значительно более высокой отрицательной предсказательной ценностью, чем цитология
- 2) Потому, что ВПЧ-тестирование дает **более однозначно интерпретируемый результат**
- 3) Потому, что ВПЧ-тестирование **в меньшей степени зависит от человеческого фактора и подготовки специалиста**
- 4) Потому, что проба для ВПЧ-тестирования пригодна для анализа **дополнительных молекулярных маркеров**

Терапия ВПЧ-инфекции

Специфического противовирусного препарата для подавления ВПЧ пока не существует

Ведется активная разработка терапевтических ВПЧ-вакцин

Полного устранения вируса из организма достичь **НЕВОЗМОЖНО**

Лечение **всех инфицированных** лишено практического смысла: вероятность повторного инфицирования и самоизлечения очень высоки

Задача терапии – устранение клинических и субклинических форм ВПЧ-инфекции:

- удаление кондилом/папиллом/генитальных бородавок с области половых органов
- удаление предраковых изменений с шейки матки

Важно понимать, что ВПЧ после этого может продолжать оставаться в соседних неизмененных клетках

Существующие вакцины

- **Церварикс** – бивалентная вакцина, содержащая очищенные капсидные белки L1 ВПЧ 16 и 18 типов, адсорбированных на адъювантной системе ASC4, содержащей гидроксид алюминия и 3-0-дезацил-4-монофосфолипида А
- **Гардасил** – четырехвалентная вакцина, содержащая очищенные капсидные белки L1 ВПЧ 6, 11, 16 и 18 типов, аморфный гидроксифосфат алюминия в качестве адъюванта

Позиции ВОЗ относительно вакцины против папилломавирусной инфекции человека (октябрь 2014)

- Серологический ответ на вакцинацию в 1-4 раза выше, чем ответ на естественную инфекцию
- Сывороточные антитела остаются стабильными в течение не менее 5 лет после вакцинации
- **ВОЗ рекомендует включение вакцинации против ВПЧ-инфекции в национальные программы иммунизации**
- ВОЗ для девушек 15 лет и младше рекомендует двухдозовый календарь с шестимесячным интервалом между дозами; и трехдозовый календарь (0; 1-2; 6 мес) для женщин старше 15 лет
- Внедрение ВПЧ-вакцины не должно нарушать или отвлекать денежные средства от эффективных программ по скринингу по поводу РШМ
- Внедрение ВПЧ-вакцины не должно подменять скрининг по поводу РШМ (30% РШМ вызываются другими типами ВПЧ, чем 16 и 18)

Интеграция ДНК ВПЧ в геном клетки



Интегрированная форма: есть E6, нет E2



Синтез белков E6, E7



E6
Связывание с белком p53 (опухольный супрессор)



E7
Связывание с белками Rb и p107

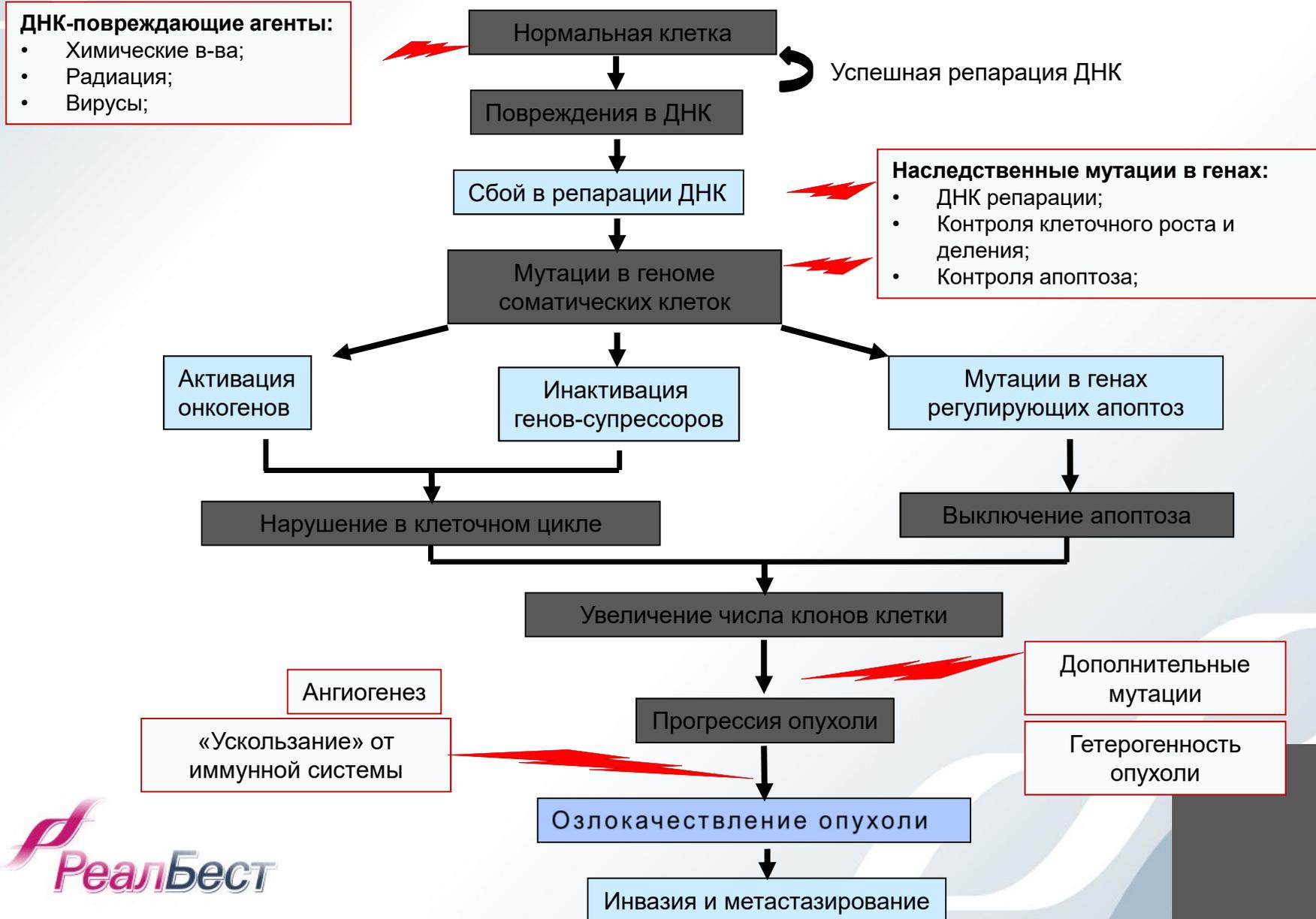
Блок апоптоза
Активация теломеразы
Нарушения клеточного цикла, неконтролируемое деление клетки

Рак

Молекулярные маркеры

- Отношение ДНК E2/E6 (ПЦР)
- РНК E6, E7 (ОТ-ПЦР, ТМА/NASBA)
- Aptima Gen-Probe HPV Assay (Hologic)
- PreTect HPV Proofer (Norchip)
- РНК химерных транскриптов ВПЧ (APOT Assay)
- РНК клеточных онкогенов и онкосупрессоров (ОТ-ПЦР, чипы)
- Клеточные белки: p16INK4A и т.п. (иммуногистохимия)
- Клеточные микроРНК (ОТ-ПЦР, чипы)
- CNV гена TERT (ПЦР, NGS)

Молекулярные основы канцерогенеза



BRCA



US005753441A

United States Patent [19]

Skolnick et al.

[11] Patent Number: **5,753,441**

[45] Date of Patent: **May 19, 1998**

[54] **170-LINKED BREAST AND OVARIAN
CANCER SUSCEPTIBILITY GENE**

[75] Inventors: **Mark H. Skolnick; David E. Goldgar;
Yoshio Miki; Jeff Swenson; Alexander
Kamb; Keith D. Harshman; Donna
M. Shattuck-Eidens; Sean V.
Tavtigian**, all of Salt Lake City, Utah;
**Roger W. Wiseman; P. Andrew
Futreal**, both of Durham, N.C.

[73] Assignees: **Myriad Genetics, Inc.; University of
Utah Research Foundation**, both of
Salt Lake City, Utah; **The United
States of America as represented by
the Department of Health and
Human Services**, Washington, D.C.

[21] Appl. No.: **488,011**

[22] Filed: **Jan. 5, 1996**

FOREIGN PATENT DOCUMENTS

0 518 650	12/1992	European Pat. Off. .
91/09964	7/1991	WIPO .
92/00311	1/1992	WIPO .
92/11874	7/1992	WIPO .
94/00764	1/1994	WIPO .
95/19369	7/1995	WIPO .

OTHER PUBLICATIONS

Friedman, L.S. et al. (1994). "Confirmation of BRCA1 by analysis of germline mutations linked to breast and ovarian cancer in ten families." *Nature Genetics* 8:399-404.

(List continued on next page.)

Primary Examiner—W. Gary Jones
Assistant Examiner—Dianne Rees
Attorney, Agent, or Firm—Venable, Baetjer, Howard & Civiletti, LLP

[57] **ABSTRACT**

Syllabus

NOTE: Where it is feasible, a syllabus (headnote) will be released, as is being done in connection with this case, at the time the opinion is issued. The syllabus constitutes no part of the opinion of the Court but has been prepared by the Reporter of Decisions for the convenience of the reader. See *United States v. Detroit Timber & Lumber Co.*, 200 U. S. 321, 337.

SUPREME COURT OF THE UNITED STATES

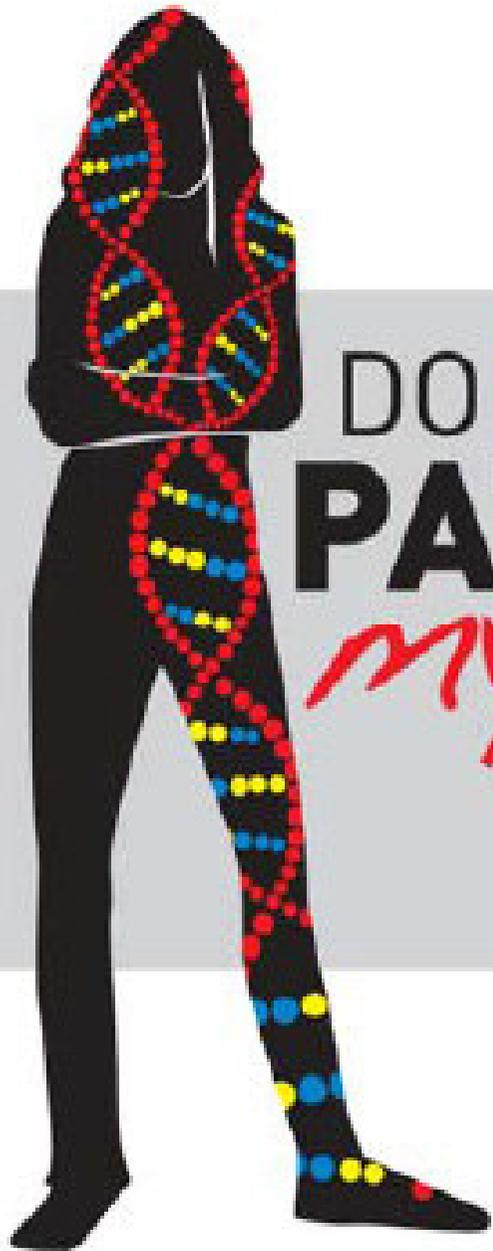
Syllabus

ASSOCIATION FOR MOLECULAR PATHOLOGY ET AL.
v. MYRIAD GENETICS, INC., ET AL.

CERTIORARI TO THE UNITED STATES COURT OF APPEALS FOR
THE FEDERAL CIRCUIT

No. 12–398. Argued April 15, 2013—Decided June 13, 2013

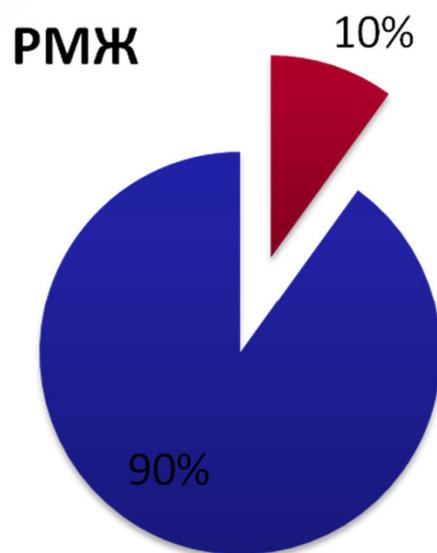
Each human gene is encoded as deoxyribonucleic acid (DNA), which takes the shape of a “double helix.” Each “cross-bar” in that helix consists of two chemically joined nucleotides. Sequences of DNA nucleotides contain the information necessary to create strings of amino acids used to build proteins in the body. The nucleotides that code for amino acids are “exons,” and those that do not are “introns.” Scientists can extract DNA from cells to isolate specific segments for study. They can also synthetically create exons-only strands of nucleotides known as composite DNA (cDNA). cDNA contains only the exons that occur in DNA, omitting the intervening introns.



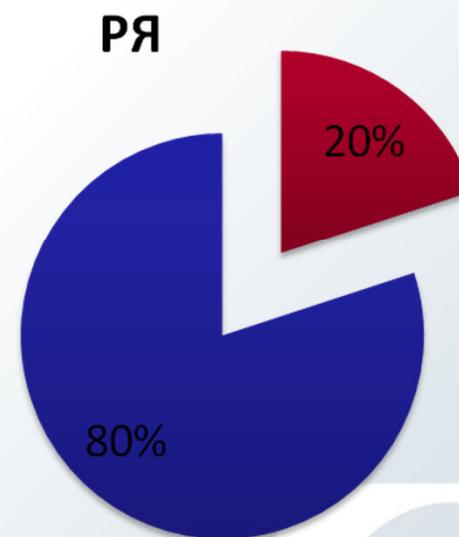
DO NOT
PATENT
my GENES



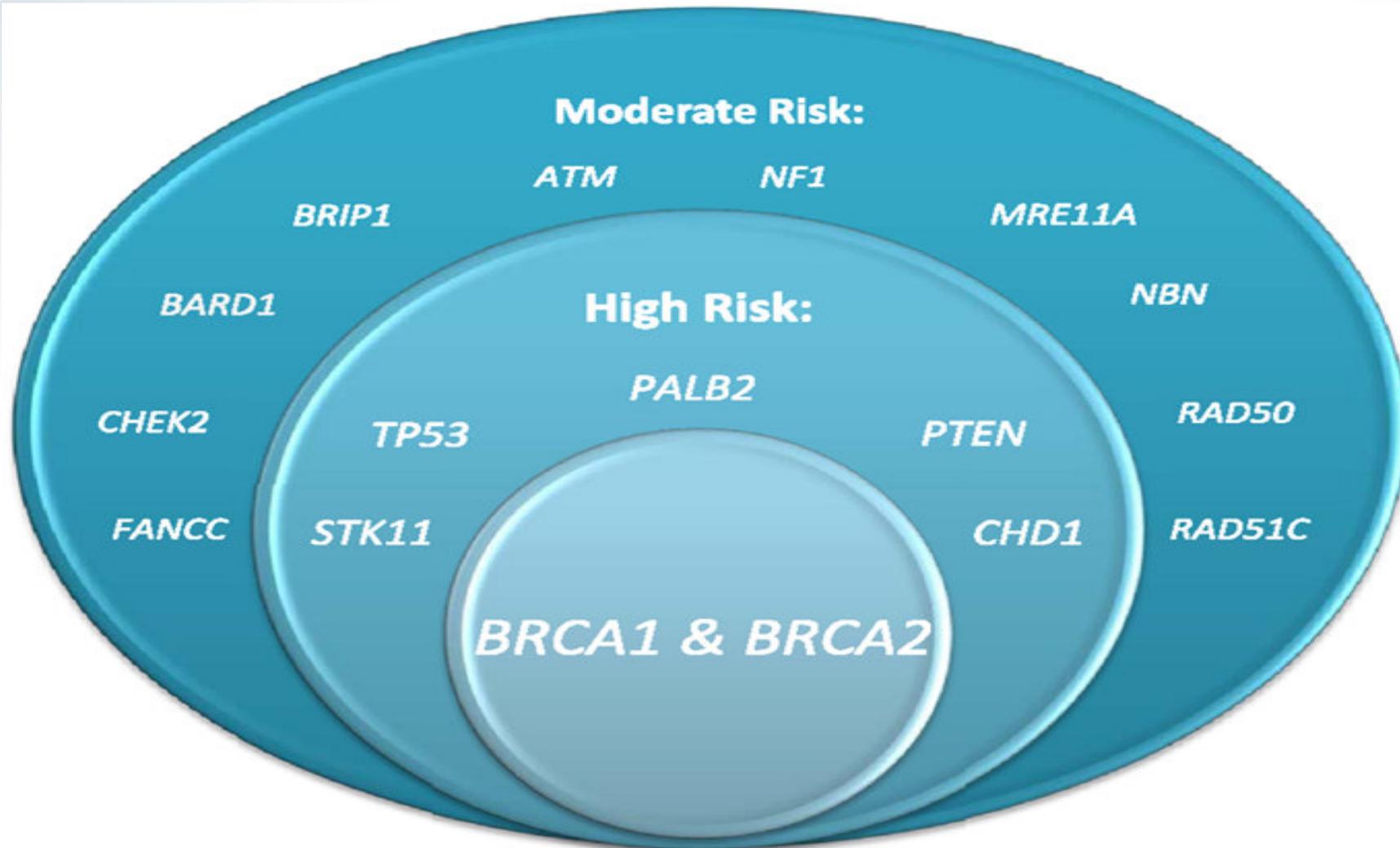
5-10% случаев РМЖ и 15-20% РЯ–имеют генетическую зависимость!



■ Наследственные
■ Спорадические

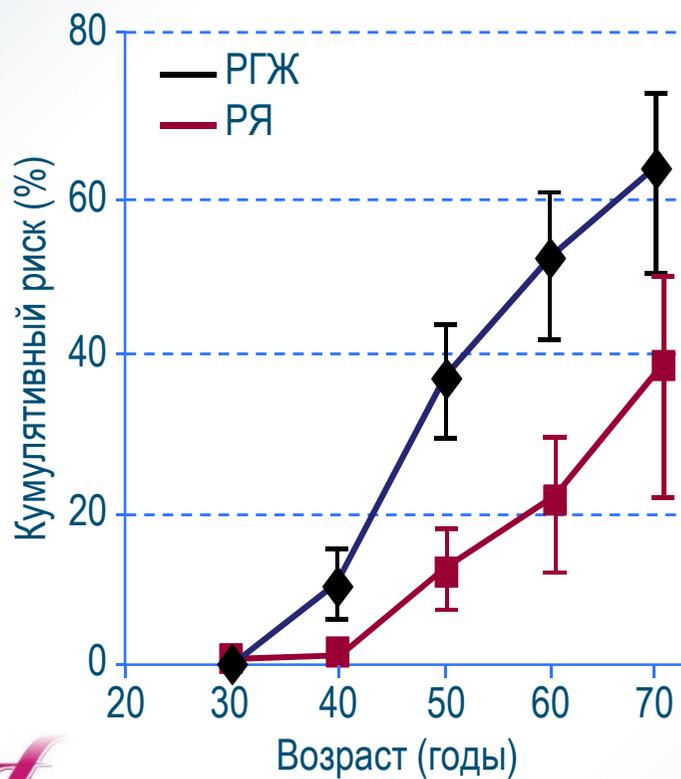


Наследственность не ограничивается только генами BRCA1-2

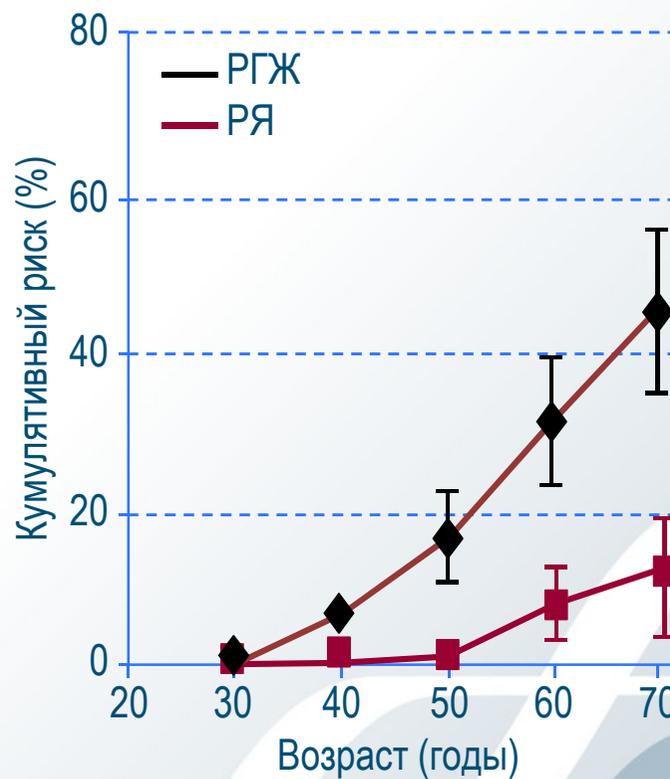


Риск заболевания в зависимости от мутаций *BRCA1* и *BRCA2*

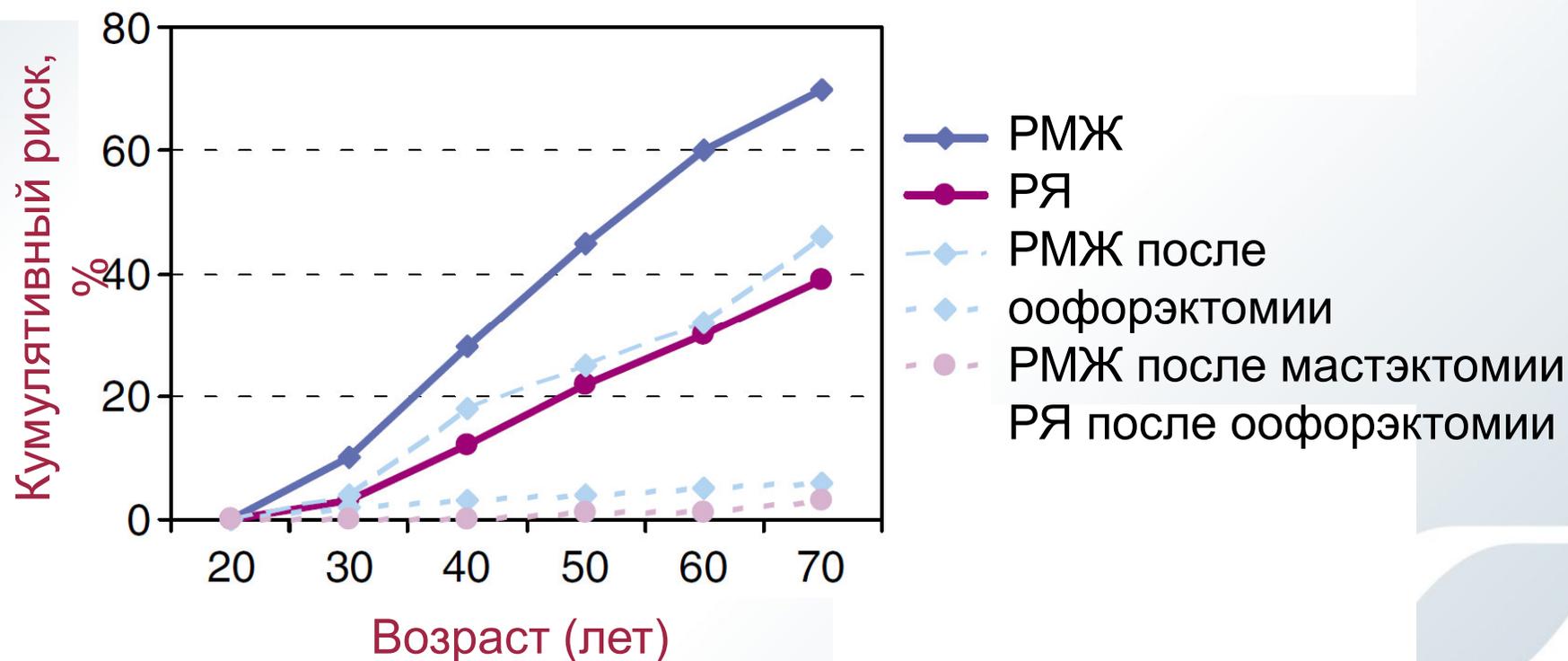
Мутация *BRCA1*



Мутация *BRCA2*



Профилактические мастэктомия и оофорэктомия у носительниц мутаций BRCA1/2 снижают риск РМЖ и РЯ

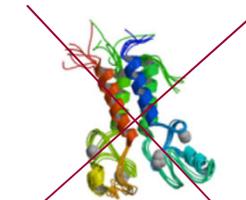


Распространенность в РФ

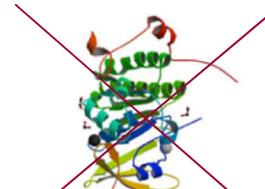
	Мутация	Частота встречаемости
BRCA1		
1.	5382insC	55,6%
2.	4153delA	11,1%
3.	300T>G	12,7%
4.	185delAG	3,2%
5.	2080delA	11,1%
6.	3819delGTAAA	1,6%
7.	3875delGTCT	<1,6%
BRCA2		
8.	6174delT	4,8%

BRCA-ассоциированный рак яичников

Мутация в гене
BRCA1



Белок BRCA1



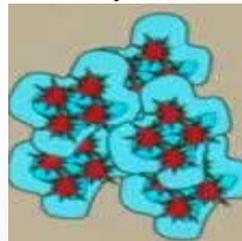
Белок BRCA2

Мутация в гене
BRCA2

Дефицит
BRCA

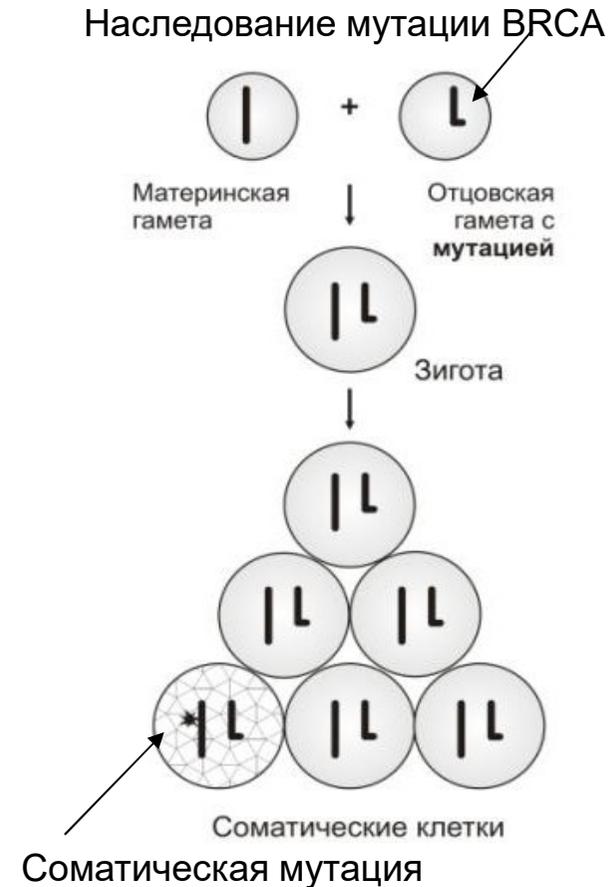
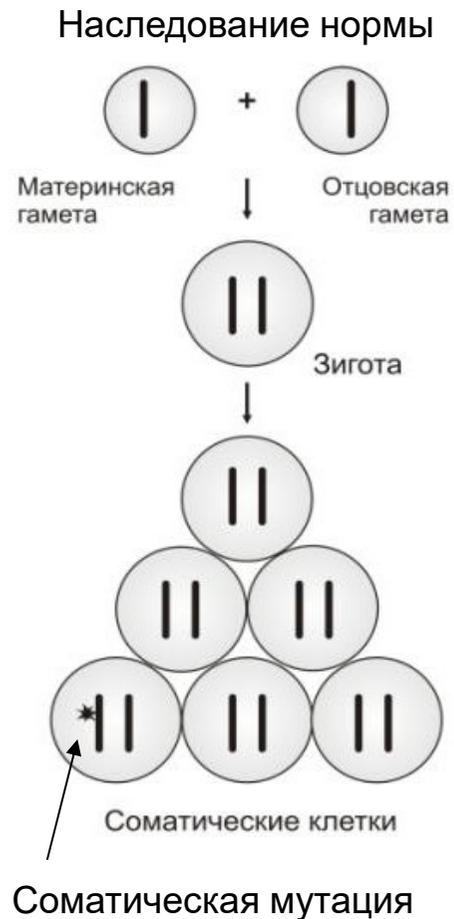
Нет эффективной
репарации двуниевых
разрывов ДНК

Геномная нестабильность

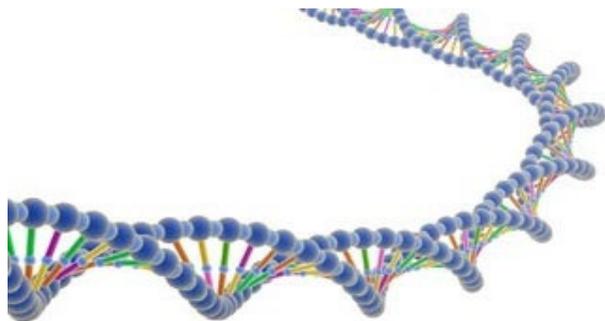


Злокачественные клетки

«Классический» механизм развития BRCA-ассоциированных опухолей: инактивация оставшегося гена



Приводит к утрате функции гена и дефициту соответствующего белка



Нобелевская премия 2015 по химии – за открытие механизмов восстановления повреждений ДНК



KUNGL.
VETENSKAPS-
AKADEMIEN

THE ROYAL SWEDISH ACADEMY OF SCIENCES

THE NOBEL PRIZE IN CHEMISTRY 2015

POPULAR SCIENCE BACKGROUND

DNA repair – providing chemical stability for life

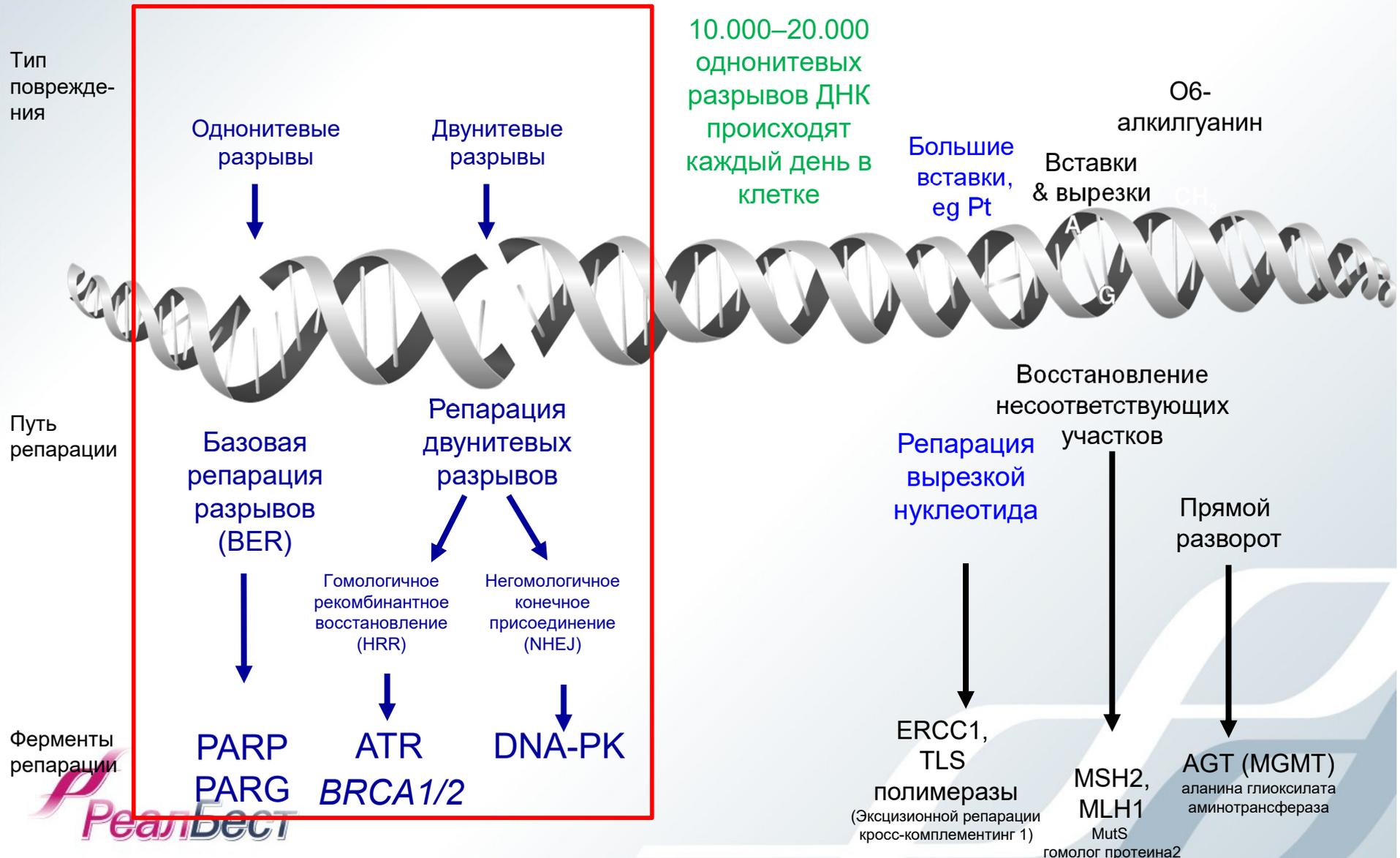
From one cell to another, from human beings to plants, all organisms are constantly subjected to assaults on their DNA. The 2015 Nobel Laureates in Chemistry, Tomas Lindahl, Paul Modrich and Aziz Sancar, have mapped and explained how

In fact, in many forms of cancer, one or more of these repair systems have been entirely or partially switched off. This makes the cancer cells' DNA unstable, which is one reason why cancer cells often mutate and become resistant to chemotherapy. At the same time, these sick cells are even more dependent on the repair systems that are still functioning; without these, their DNA will become too damaged and the cells will die. Researchers are attempting to utilise this weakness in the development of new cancer drugs. Inhibiting a remaining repair system allows them to slow down or completely stop the growth of the cancer. One example of a pharmaceutical that inhibits a repair system in cancer cells is *olaparib*.

In conclusion, the basic research carried out by the 2015 Nobel Laureates in Chemistry has not only deepened our knowledge of how we function, but could also lead to the development of lifesaving treatments. Or, in the words of Paul Modrich: "That is why curiosity-based research is so important. You never know where it is going to lead. . . A little luck helps, too."


РеалБест

Механизмы репарации ДНК



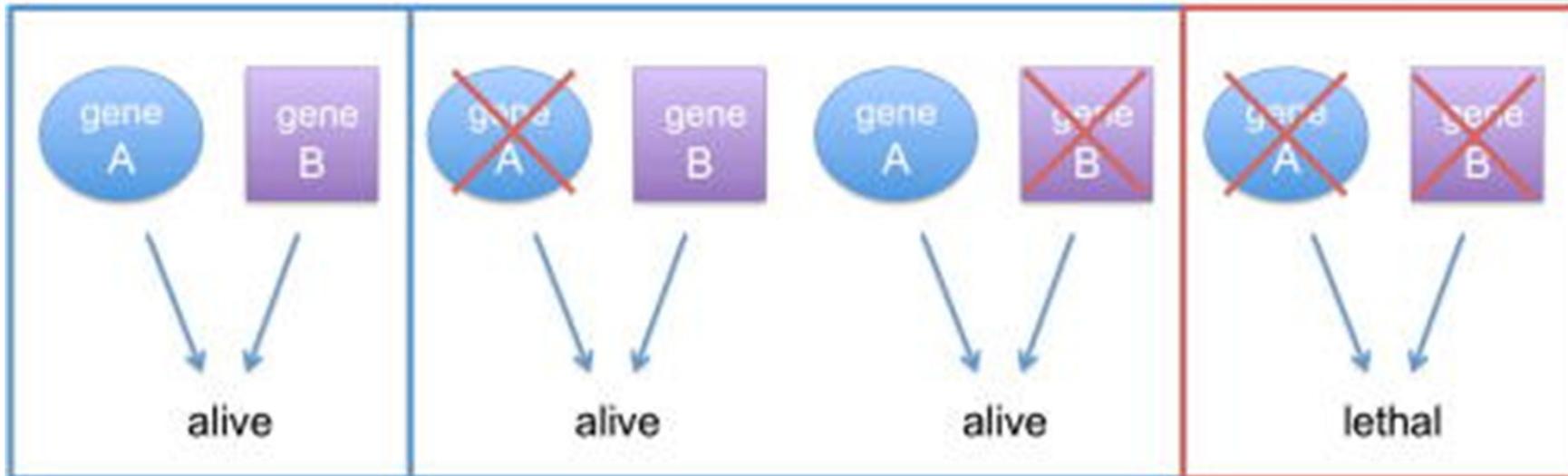
Наличие *BRCA* мутаций ассоциировано с повышенным риском ЗНО

Риск заболеть РЯ или РМЖ в течение жизни среди носительниц мутаций в генах *BRCA1* или *BRCA2*

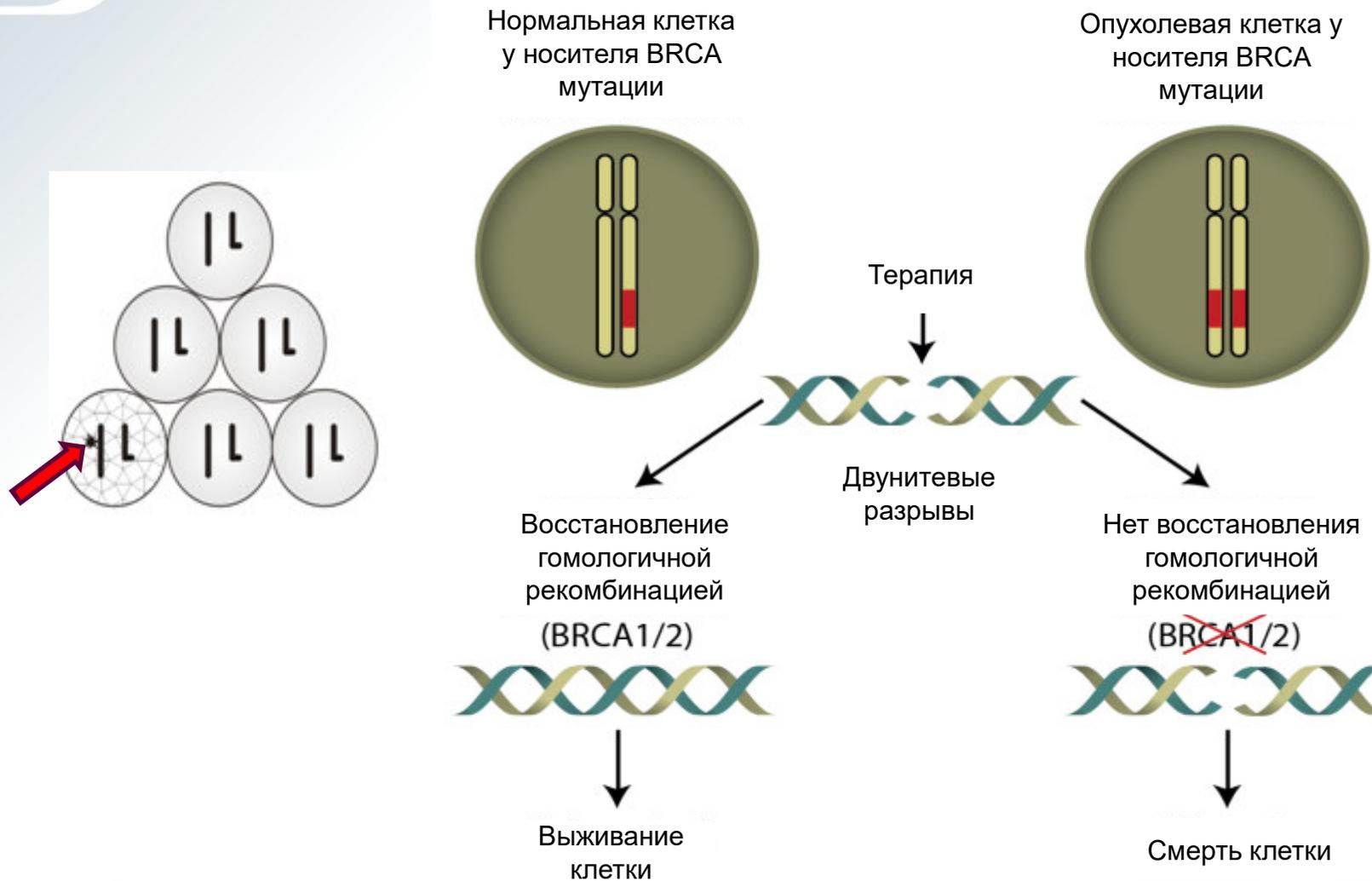




“Синтетическая летальность” – вариант генетического взаимодействия, при котором комбинация двух молекулярных событий приводит к клеточной гибели, в то время как при наличии только одного из двух событий клетка жизнеспособна.



Терапевтическое окно для BRCA1/2-ассоциированных раков



Синтетическая летальность в результате сложения эффектов блокирования двух путей репарации

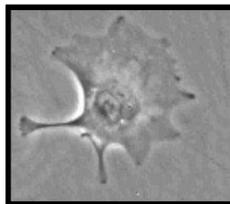
10.000–20.000 однонитевых разрывов ДНК случаются в клетке ежедневно

Во время репликации невосстановленные однонитевые разрывы на границе заблокированной PARP превращаются в двунитевые разрывы

Нормальная клетка

Восстановление с помощью гомологичной рекомбинации (HR)

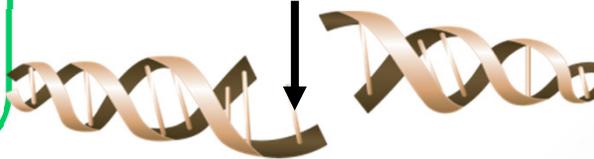
Выживание
РеалБест



Олапариб



Делящиеся клетки



Предотвращение репарации и сохранение на ДНК большого протеинового комплекса, препятствующего репликации

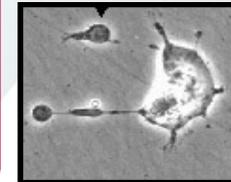
Комбинация с ДНК-повреждающими агентами (химиотерапия и лучевая)

Опухолевая клетка с дефектом гомологичной рекомбинации, н-р *BRCA1*

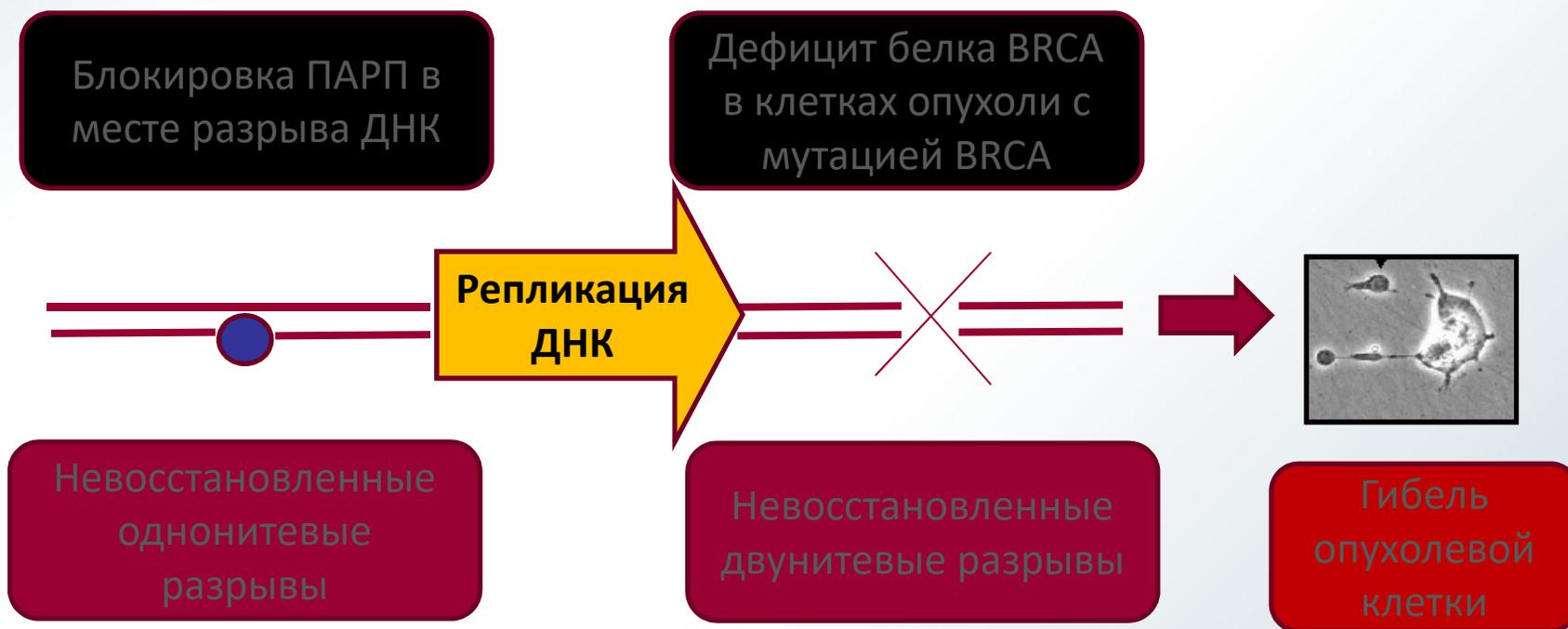
Опухолево-специфическое повреждающее воздействие PARP ингибитора (опосредованная гибель клетки)

Нет эффективной репарации

Гибель клетки

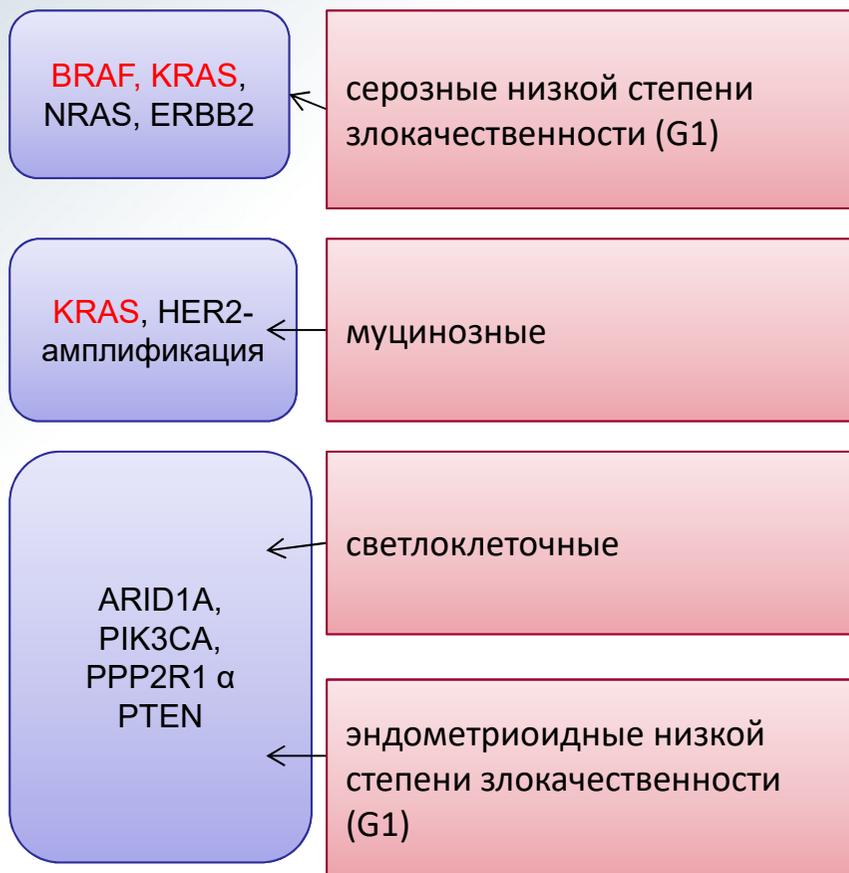


Блокирование ПАРП при имеющейся мутации BRCA1/2 приводит к гибели опухолевых клеток (сложение нелетальных эффектов)

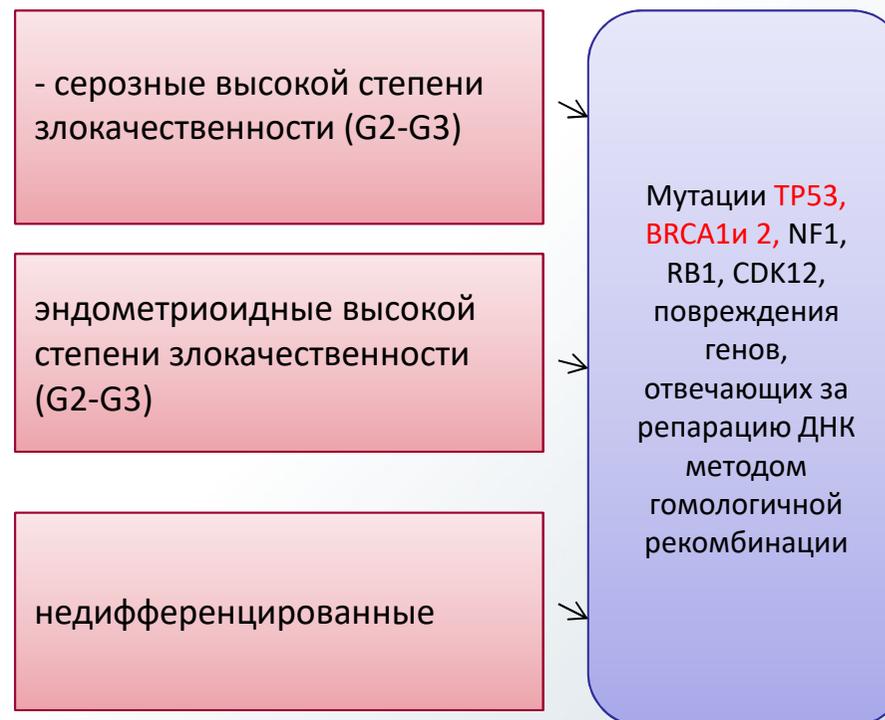


Гистология и молекулярная биология рака яичников

Тип I



Тип II



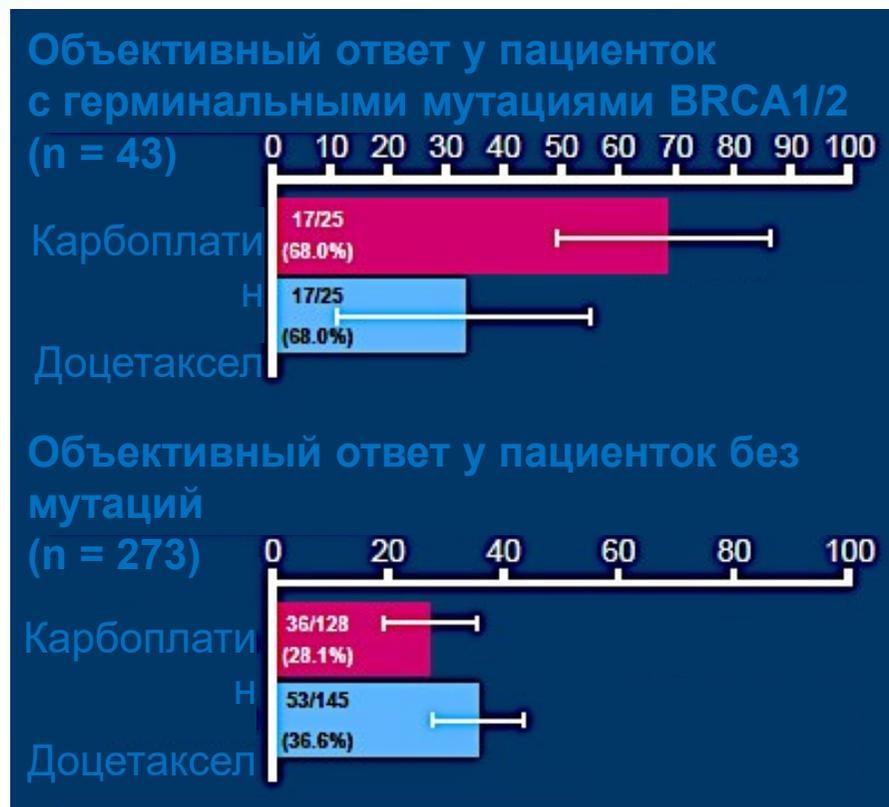
BRCA1-ассоциированный рак молочной железы

Режим химиотерапии	N	ПЛП (n)	ПЛП (%)
CMF или аналог	14	1	7%
AC	23	5	22%
FAC	28	6	21%
AT	25	2	8%
Цисплатин	12	10	83%

Наиболее эффективна неoadъювантная терапия производными платины

BRCA-ассоциированный и тройной негативный метастатический РМЖ

Исследование TNT (n = 376): Объективный ответ



У пациенток с мутациями *BRCA1/2* (n = 43) карбоплатин был эффективнее доцетаксела

У пациенток без мутаций (n = 273) карбоплатин уступал доцетакселу

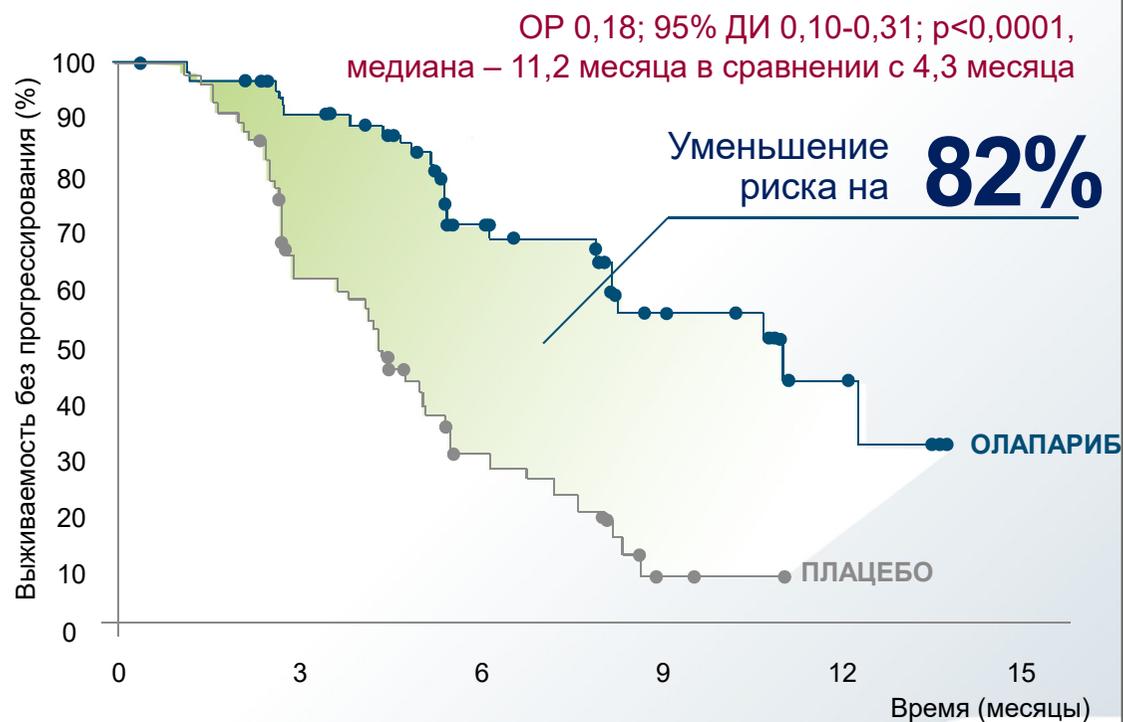
RealDECT

УВЕЛИЧЕНИЕ ВБП В ИССЛЕДОВАНИИ 19, РАК ЯИЧНИКОВ

+6,9 МЕСЯЦА
УВЕЛИЧЕНИЕ
МЕДИАНЫ ВБП
В СРАВНЕНИИ
С ПЛАЦЕБО

82% УМЕНЬШЕНИЕ РИСКА
ПРОГРЕССИРОВАНИЯ
ЗАБОЛЕВАНИЯ ИЛИ
СМЕРТИ В
СРАВНЕНИИ
С ПРИМЕНЕНИЕМ
ПЛАЦЕБО³

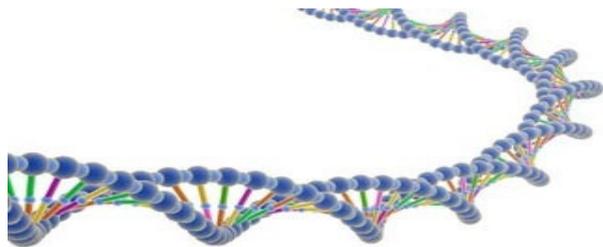
Олапариб помогает отсрочить прогрессирование болезни у пациенток с платиночувствительным рецидивом рака яичников с мутацией *BRCA1/2*



Количество пациентов с риском

ОЛАПАРИБ	74	59	34	15	5	0
ПЛАЦЕБО	62	35	13	2	0	0

Ledermann J et al. N Engl J Med 2012;366:1382–92



Значение тестирования мутаций BRCA1 и BRCA2

Россия, рак яичников BRCAm+ 12-19%¹

Россия, рак молочной железы BRCAm+ 5-7%¹

Тестирование BRCA-мутаций

Диагностика наследственных форм рака

Выявление носителей в семьях

Индивидуализация лечения

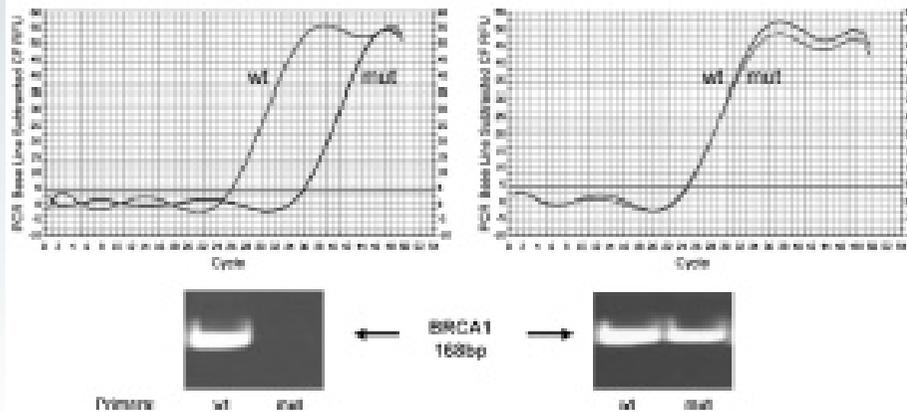
Высокая чувствительность к платино-содержащим препаратам

Разработка препаратов, таргетных при наличии мутаций BRCA

Социальная значимость

Профилактический мониторинг для выявления ранних стадий заболеваний

BRCA1 5382insC



~0.1% в популяции
 ~4% больных РМЖ
 ~10% больных РМЖ
 «высокого риска»
 ~15-20% больных РЯ



High frequency of BRCA1 5382insC mutation in Russian breast cancer patients

Anna P. Sokolenko^a, Natalia V. Mitiushkina^a, Konstantin G. Buslov^a, Elena M. Bit-Sava^a, Aglaya G. Iyevleva^a, Elena V. Chekmariova^a, Ekaterina Sh. Kuligina^a, Yulia M. Ulbina^a, Maxim E. Rozanov^a, Evgeny N. Suspitsin^a, Dmitry E. Matsko^a, Oleg L. Chagunava^b, Dmitry Yu. Trofimov^c, Peter Devilee^d, Cees Cornelisse^d, Alexandr V. Togo^a, Vladimir F. Semiglazov^a, Evgeny N. Imyanitov^{a,*}

Hereditary Cancer in Clinical Practice



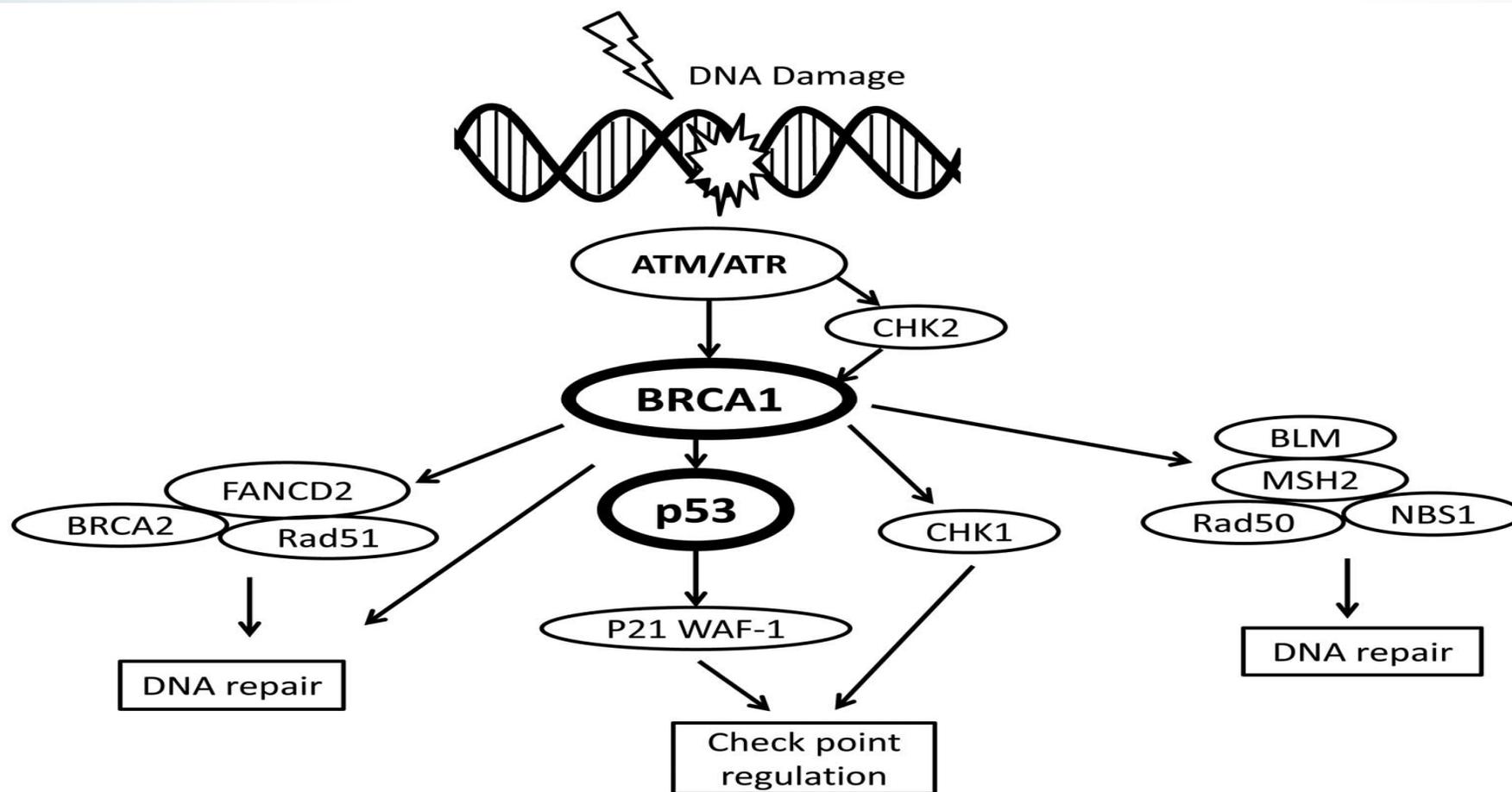
Research

Open Access

High frequency of BRCA1, but not CHEK2 or NBS1 (NBN), founder mutations in Russian ovarian cancer patients

Evgeny N. Suspitsin^{1,4}, Nathalia Yu. Sherina¹, Daria N. Ponomartova¹, Anna P. Sokolenko^{1,4}, Aglaya G. Iyevleva^{1,4}, Tatyana V. Gorodnova¹, Olga A. Zaitseva¹, Olga S. Yatsuk¹, Alexandr V. Togo¹, Nathalia N. Tkachenko⁶, Grigory A. Shtyanov⁶, Oksana S. Lobelko², Nadezhda Yu. Krylova⁵, Dmitry E. Matsko³, Sergey Ya. Maximov², Adel F. Urmancheyeva^{2,5}, Nathalia V. Porhanova⁶ and Evgeny N. Imyanitov^{* 1,4,5}

В системе репарации ДНК участвуют не только гены BRCA1-2





"Marry me, Virginia. My genes are excellent and, as yet, unpatented."