



МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
РНПЦ ОМР имени Н.Н. Александрова
Республиканская молекулярно-генетическая
лаборатория канцерогенеза

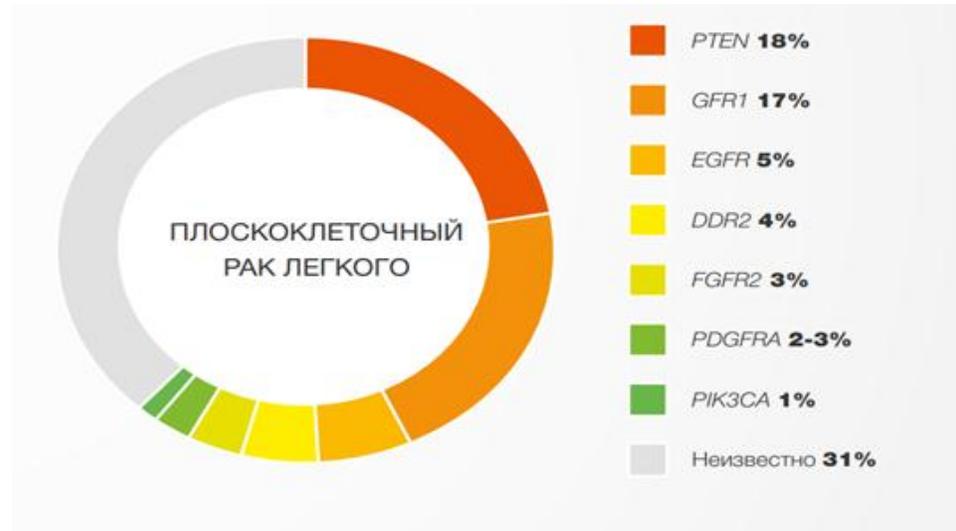
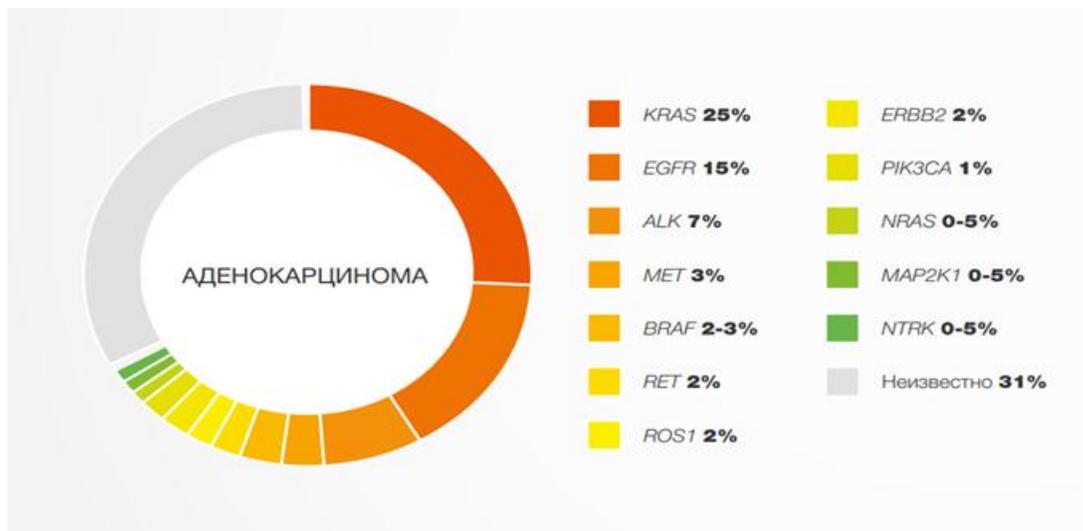
Подходы к тестированию гена EGFR при раке легкого

Ю.В. Карпейчик, О.В. Чекун, Е.И. Субоч

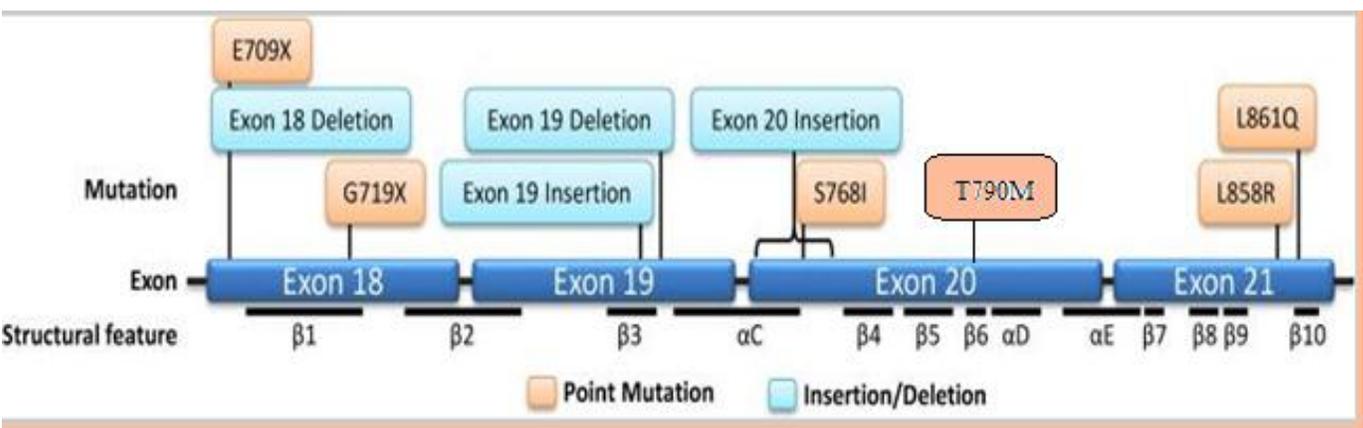
genelab@omr.by

Минск, 2023

Спектр мутаций при раке легкого



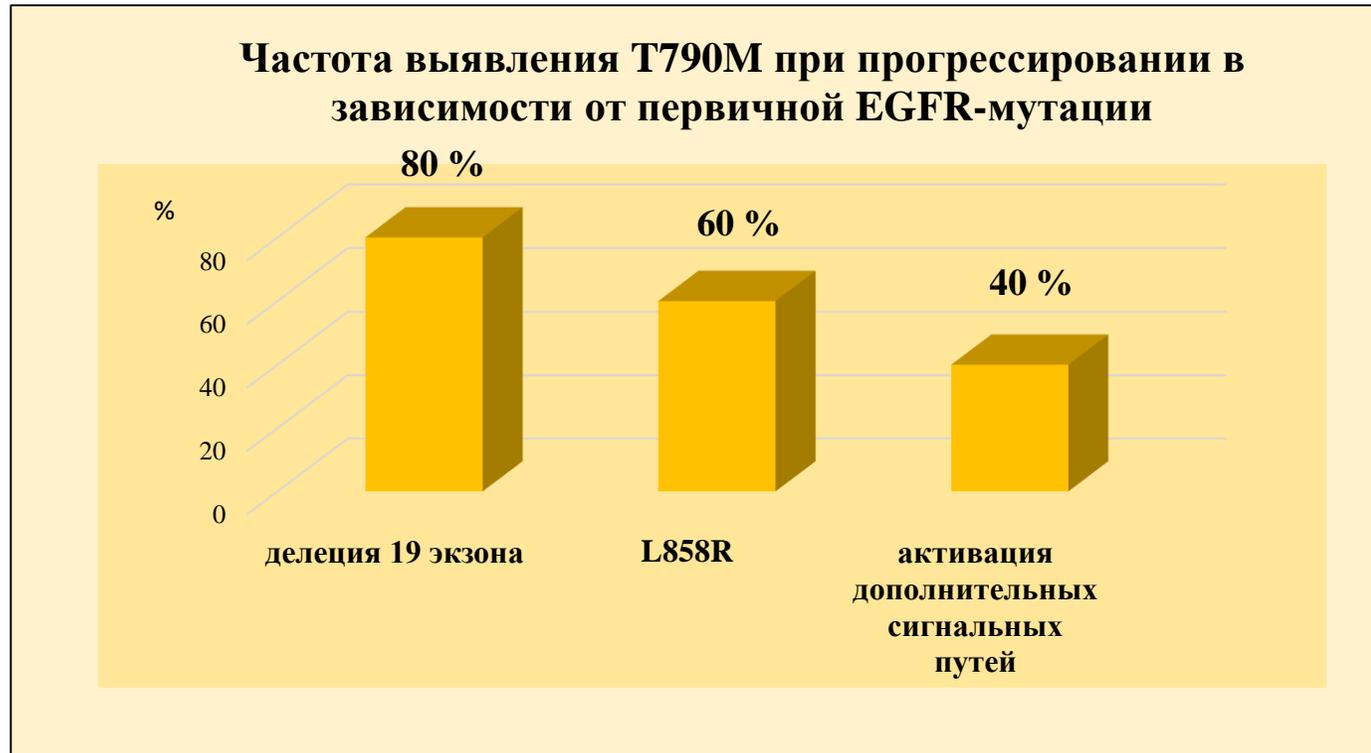
Активирующие мутации в гене *EGFR* встречаются в 10-35% случаев немелкоклеточного рака легкого и являются патологическими маркерами для назначения таргетной противоопухолевой терапии специфическими ингибиторами тирозинкиназы (ИТК).



Патогенный вариант	Частота
Экзон 18: G719X	2%
Экзон 19: делеции	45%
Экзон 20: S768I T790M инсерции	<1% 4% ~1%
Экзон 21: L858R L861Q	38-45% 1%

Т790М – основной механизм резистентности к ингибиторам тирозинкиназ

Т790М – мутация в 20 экзоне гена EGFR, определяется у более чем 2/3 пациентов на фоне терапии



Ahn M.J., Tsai C.M., Osimertinib in patients with T790M mutation-positive, advanced non-small cell lung cancer: Long-term follow-up from a pooled analysis of 2 phase 2 studies. Cancer. 2019 Mar 15; 125(6): 892–901.

- ### Пути приобретения резистентности
- ❑ замещение метионина на треонин в Т790М в опухолевых клетках отсутствует изначально и развивается de novo в одной или более клональной популяции на фоне лечения ИТК EGFR
 - ❑ замещение Т790М существует в cis положении вследствие первичной активирующей мутации у небольшой популяции и «проявляется» в присутствии ИТК EGFR
 - ❑ мутация EGFR Т790М существует у 1–8% пациентов, ранее не получавших ИТК EGFR, что предполагает модель селекции минорного клона, несущего эту мутацию

Последовательное применение ингибиторов EGFR следующих поколений представляется оптимальным вариантом лечения пациентов с патогенным вариантом Т790М гена EGFR

Цель исследования – разработать оптимальные подходы к тестированию гена EGFR



Материал исследования

парафиновый блок

цитоблок

циркулирующая опухолевая ДНК

- ограниченная доступность биологического материала (биопсий материал)
- не учитывается опухолевая гетерогенность

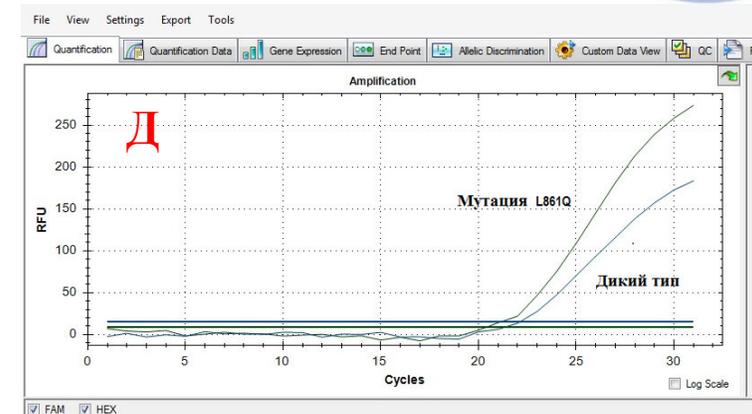
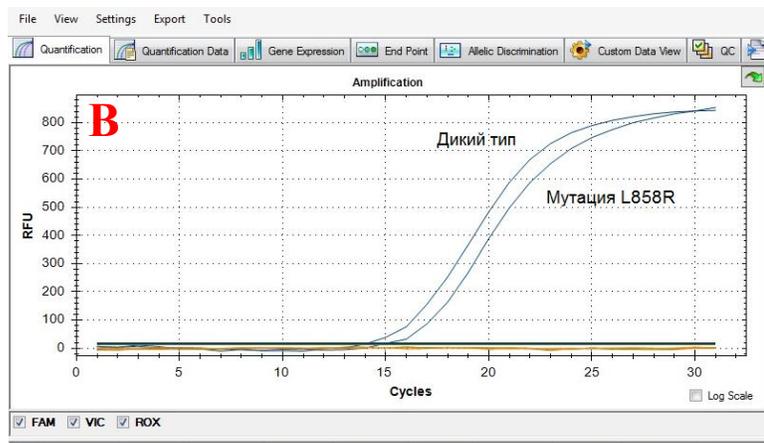
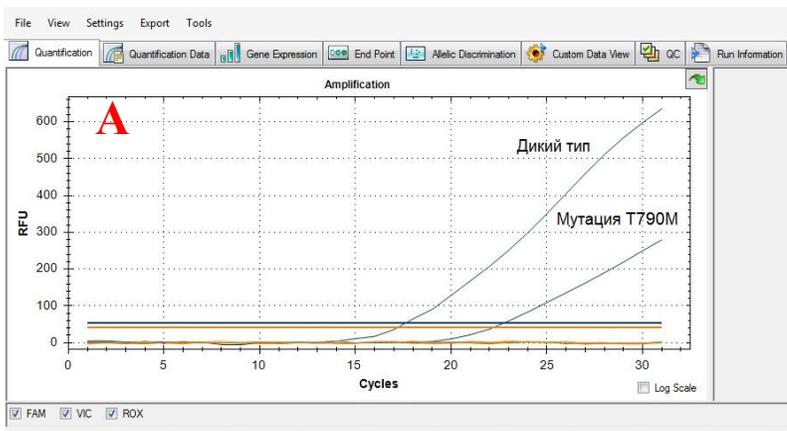
- требуется высокая клеточность
- в случаях отсутствия гистологического материала

- доступность биологического материала
- учитывается опухолевая гетерогенность
- молекулярное профилирование в режиме реального времени

- ограниченные сроки обработки венозной крови
- отсутствие стандартизованных подходов

Метод	Аналитическая чувствительность
Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени	5%
Секвенирование по Сэнгеру	15-20%
Фрагментный анализ	25%
Цифровая капельная полимеразная цепная реакция	1%
Секвенирование нового поколения (NGS)	1%

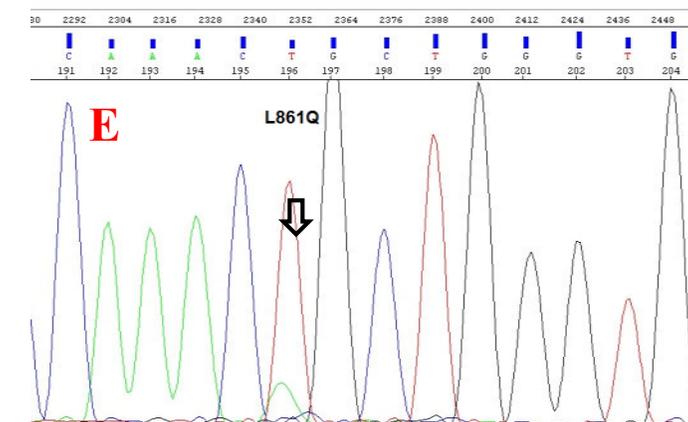
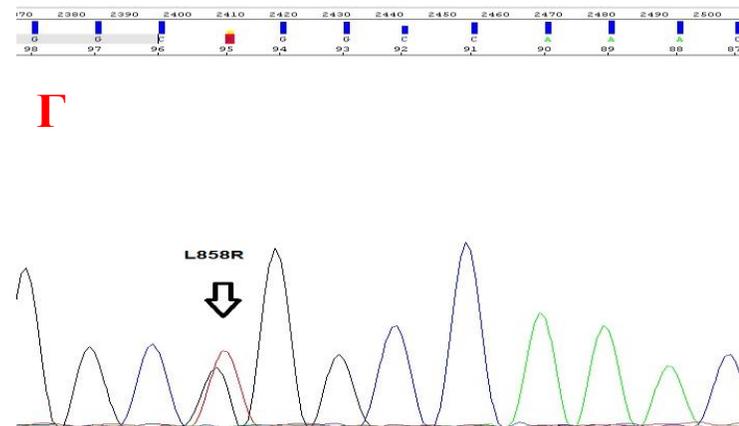
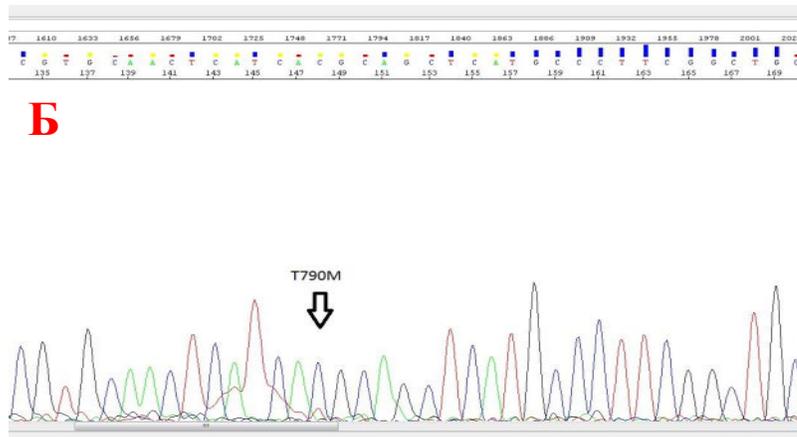
EGFR-тестирование: собственные результаты



Пациент М. патогенный вариант T790M:
аллель-специфическая ПЦР (А)
секвенирование по Сэнгеру (Б)

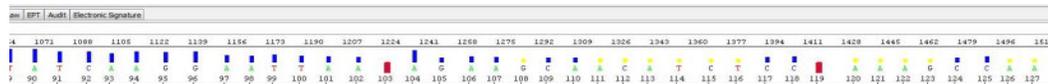
Пациент Н. патогенный вариант L858R:
аллель-специфическая ПЦР (В)
секвенирование по Сэнгеру (Г)

Пациент Ч. патогенный вариант L861Q:
аллель-специфическая ПЦР (Д)
секвенирование по Сэнгеру (Е)

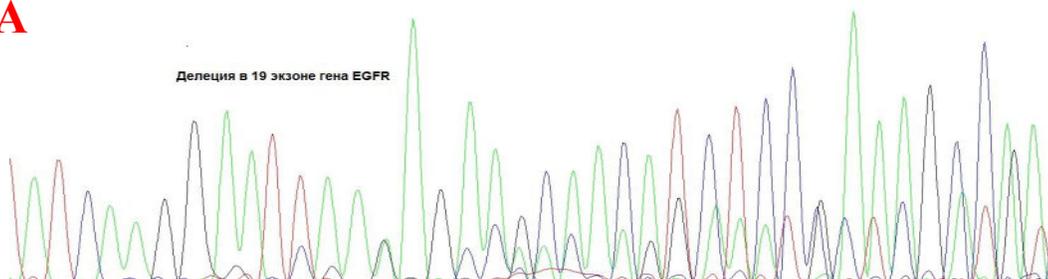


В онкологическом отделении генетики разработаны и внедрены методы аллель-специфической ПЦР по определению патогенных вариантов T790M, L858R, L861Q в гене EGFR

EGFR-тестирование: собственные результаты

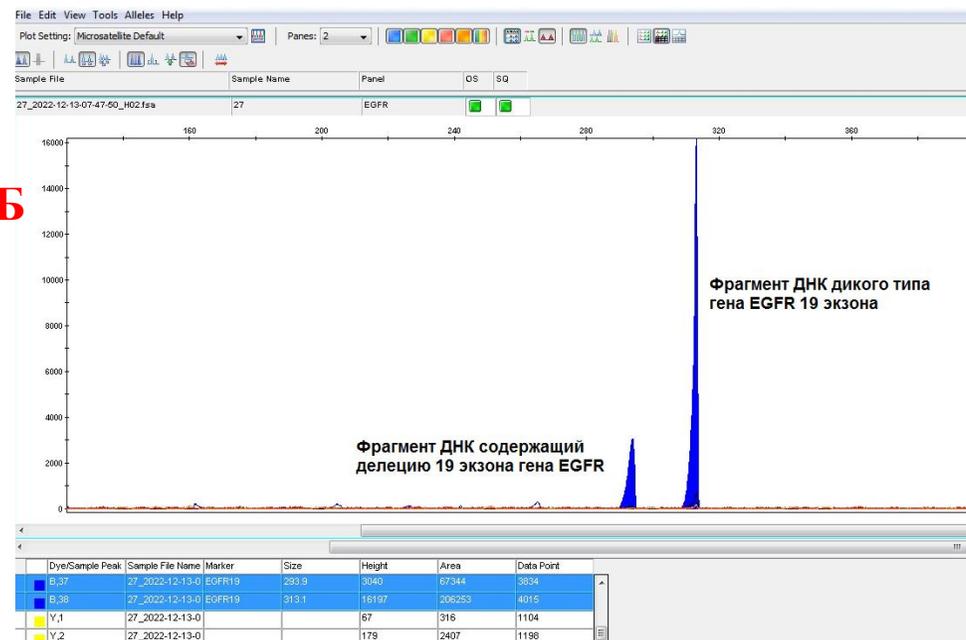


A

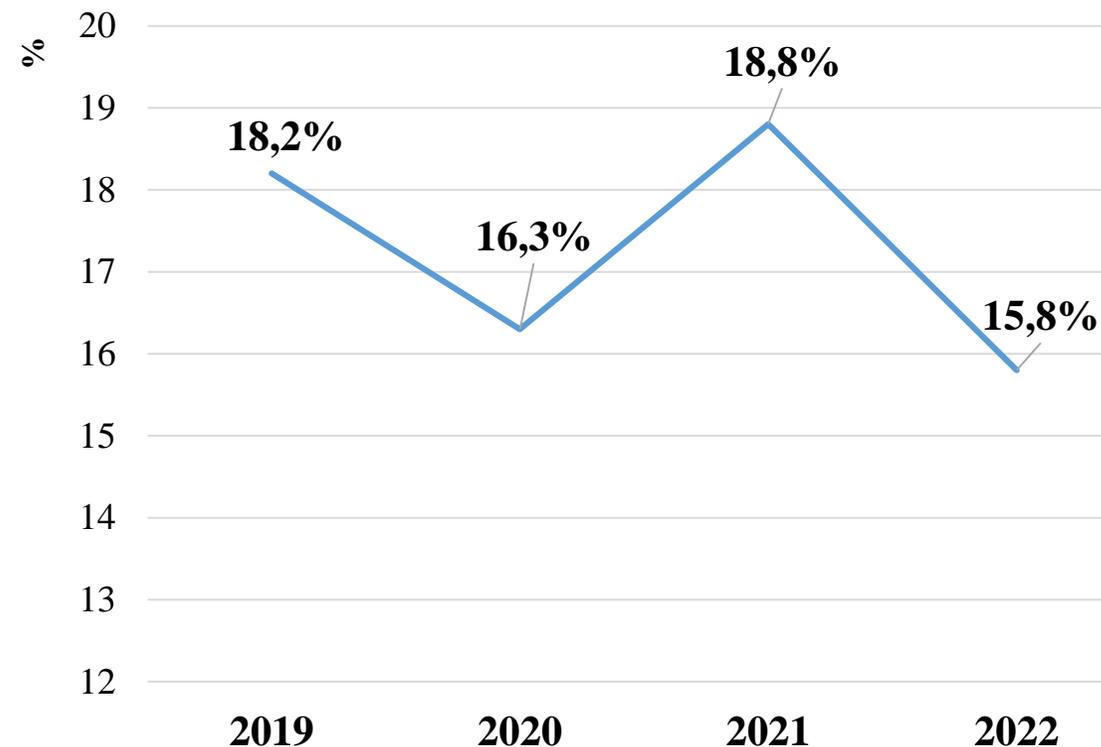


Пациент С. патогенный вариант делеция в 19 экзоне гена *EGFR*:
секвенирование по Сэнгеру (А)
фрагментный анализ (Б)

Б



Частота выявления мутаций в гене *EGFR* по годам



В онкологическом отделении генетики разработан и внедрен метод фрагментного анализа для определения делеций в 19 экзоне гена *EGFR*



ВЫВОДЫ

- Патогенные варианты в гене *EGFR* являются важными молекулярными маркерами потенциальной эффективности лечения ингибиторами тирозинкиназ при раке легкого
- Прогрессирование заболевания на фоне таргетной терапии свидетельствует о необходимости поиска маркеров резистентности, в первую очередь тестирование 20 экзона гена *EGFR*
- Частота выявления патогенных вариантов в гене *EGFR* составляет 19,2%. По данным литературы удельный вес патогенных вариантов в гене *EGFR* составляет 10–16% в странах Европы и Северной Америки, в странах Азии эта цифра достигает 60%
- Использование метода ПЦР в режиме реального времени позволяет проводить быстрое, высокочувствительное и рентабельное определение точечных мутаций в гене *EGFR*