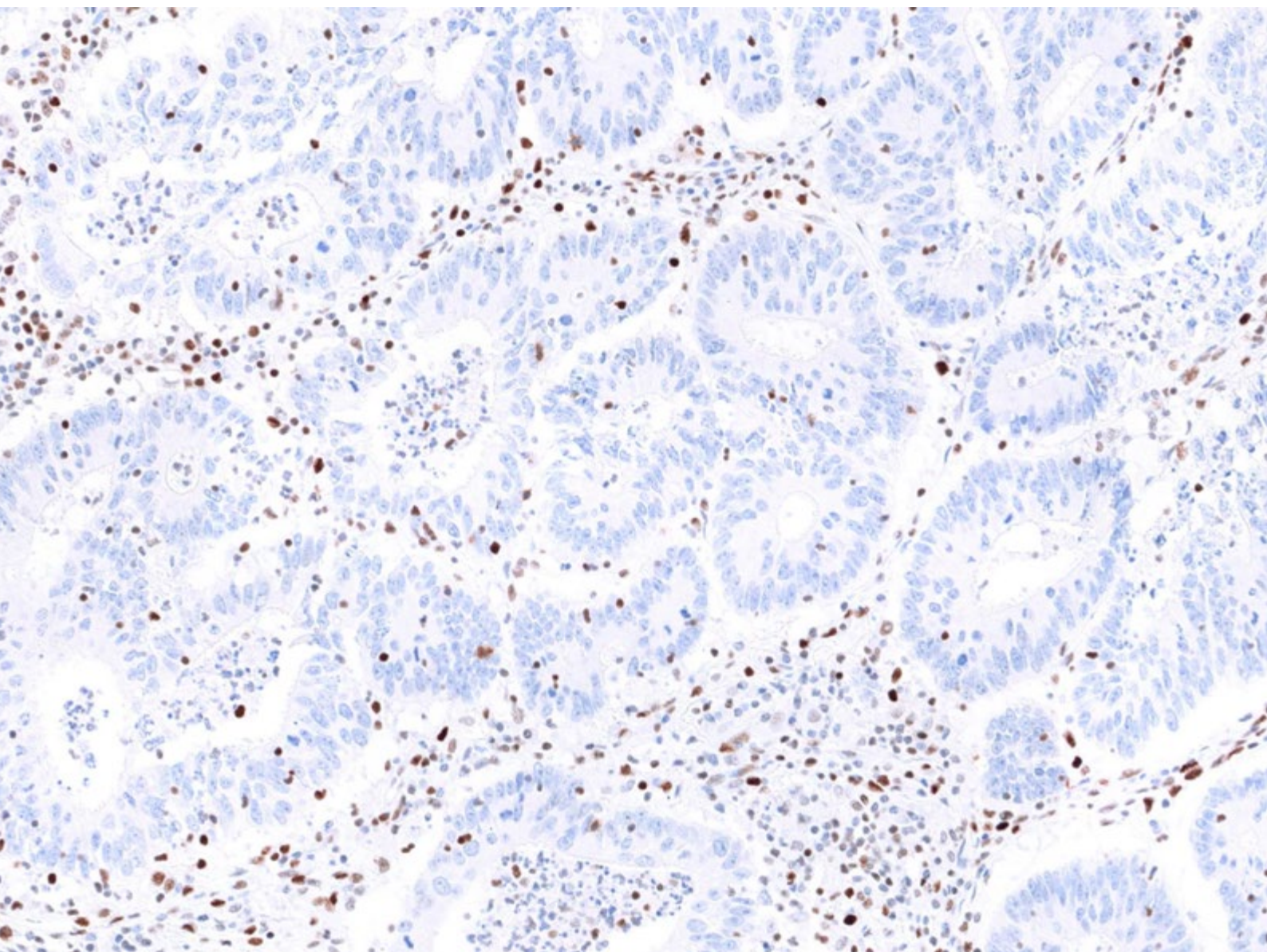


# **VENTANA MMR Panel**

*Ваш выбор имеет значение*



**Панель VENTANA MMR IHC – иммуногистохимическая панель для выявления дефицита белков системы репарации (MMR) для идентификации синдрома Линча и для обнаружения белка BRAF V600E для дифференциации спорадического колоректального рака и синдрома Линча.**

**Панель VENTANA MMR содержит следующие антитела:**

VENTANA MLH1 (M1) первичное мышинное моноклональное антитело<sup>a</sup>

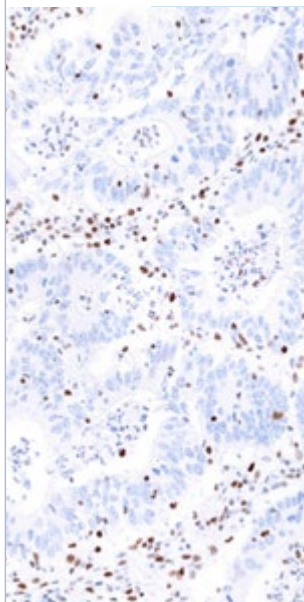
VENTANA PMS2 (A16-4) первичное мышинное моноклональное антитело<sup>b</sup>

VENTANA MSH2 (G219-1129) первичное мышинное моноклональное антитело<sup>c</sup>

VENTANA MSH6 (SP93) первичное кроличье моноклональное антитело<sup>d</sup>

VENTANA BRAF V600E (VE1) первичное мышинное моноклональное антитело<sup>e</sup>

S18-4341 A1-2



+

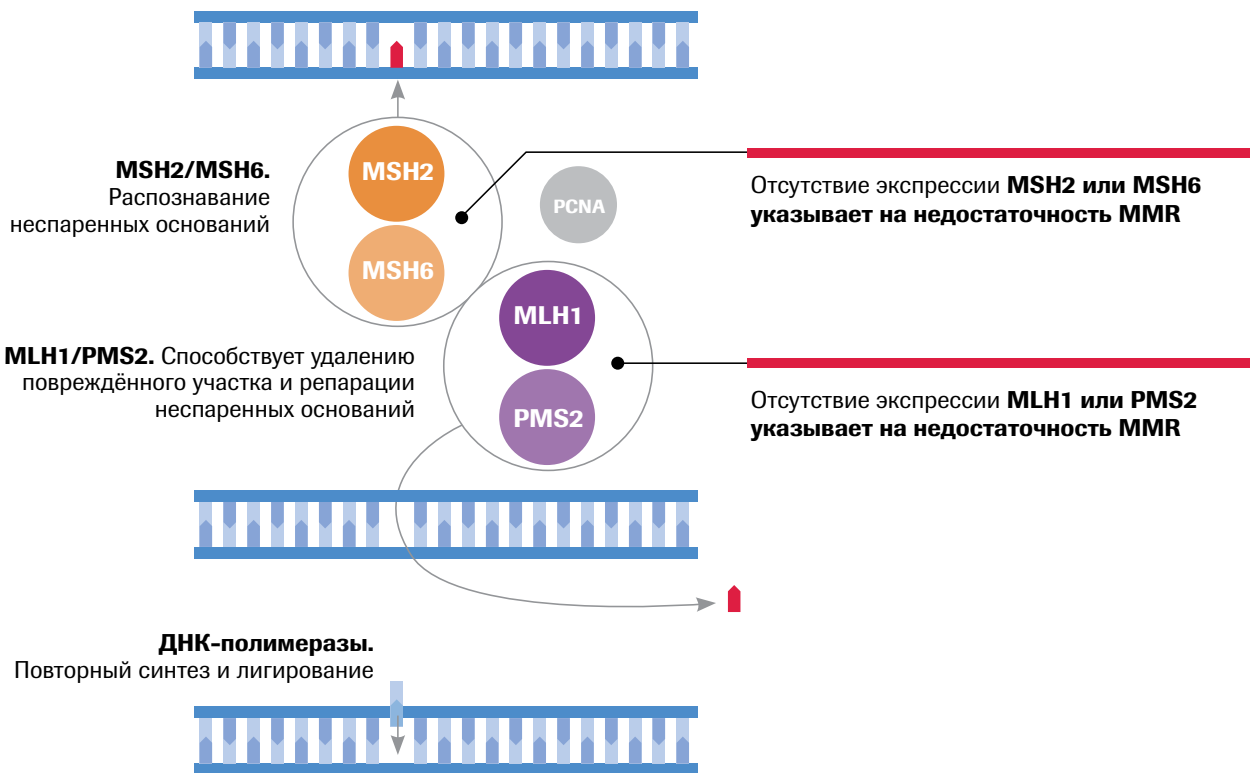
+

**Панель VENTANA MMR** предназначена для иммуногистохимического анализа белков системы репарации неспаренных оснований (MMR) в указанной ниже опухолевой ткани, фиксированной формалином и залитой в парафин (FFPE), которая была окрашена с помощью набора OptiView DAB IHC Detection Kit и вспомогательных реагентов для MLH1, MSH2 и MSH6, а также набора OptiView DAB IHC Detection Kit с OptiView Amplification Kit и вспомогательных реагентов для PMS2 на иммуностейнере BenchMark ULTRA<sup>h</sup>.

## Белки MMR и их взаимодействие с ДНК

Система репарации неспаренных оснований ДНК (MMR) — это молекулярный механизм, цель которого заключается в исправлении неправильных замен нуклеиновых оснований, спонтанно происходящих во время репликации ДНК<sup>1</sup>. Считается, что за дефекты в механизме MMR ответственны мутации в белках MMR, чаще всего в MLH1, PMS2, MSH2 и MSH6.

Обычно белки MLH1 и PMS2 взаимодействуют в гетеродимерном комплексе, как и белки MSH2 и MSH6. Если MMR функционирует нормально, гетеродимер MSH6/MSH2 связывается с неспаренным основанием ДНК. Это связывание обуславливает конформационное изменение, которое позволяет гетеродимеру MLH1/PMS2 связываться с ДНК-связанным комплексом MSH6/MSH2, что приводит к удалению повреждённого участка ДНК<sup>2,3</sup>. Мутации или дефицит этих белков приводят к MSI (микросателлитной нестабильности) и соматическим мутациям из-за ошибок репликации.



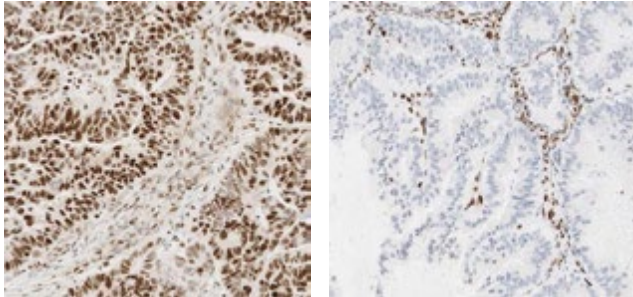
**Рис. 1.** Белки MMR и их взаимодействие с ДНК. Комплекс MSH2-MSH6 распознает неспаренные основания и инсерционные/делеционные петли. Комплекс MLH1-PMS2 способствует удалению повреждённого участка и репарации мутантного (-ых) основания (-й)

## Белки MMR как прогностические биомаркеры

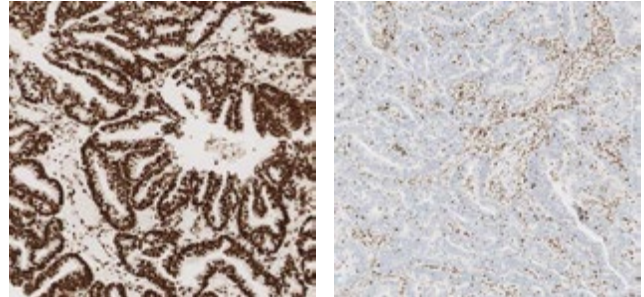
Многочисленные исследования показали, что недостаточность MMR коррелирует с более высокой экспрессией PD-1 или PD-L1. Возможно, это происходит из-за повышенной экспрессии опухолевого антигена, связанной с мутационной нагрузкой опухоли, которая является результатом ошибок репликации<sup>4,5</sup>. Таким образом, белки MMR могут выступать в качестве прогностических биомаркеров для таргетной терапии PD-L1; в частности, утрата экспрессии одного или нескольких белков MMR может указывать на повышенную вероятность ответа на такую терапию<sup>6,7,8</sup>. Ингибиторы PD-L1 могут применяться при тех видах рака, для которых характерна недостаточность MMR и/или MSI-H, например, при колоректальном раке<sup>6,8</sup>. Следовательно, у пациентов с колоректальным раком, в отношении которых рассматривают таргетную терапию PD-L1, имеет смысл проводить сопутствующий диагностический анализ для выявления популяции пациентов с недостаточностью MMR.

## Расшифровка данных панели

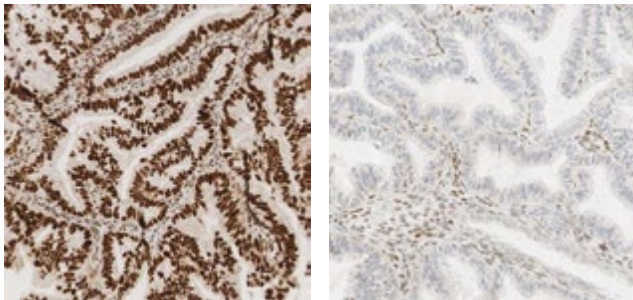
Отсутствие экспрессии одного из основных белков MMR (MLH1, PMS2, MSH2 или MSH6) становится причиной недостаточности MMR. Окрашивание всех четырёх маркеров-белков MMR в опухолевых образцах свидетельствует о достаточном статусе белков MMR по результатам анализа, проведённого с помощью панели VENTANA MMR IHC. Отсутствие окрашивания для любого из маркеров-белков MMR из панели VENTANA MMR Panel свидетельствует о недостаточности белков MMR по результатам анализа, проведённого с помощью панели VENTANA MMR IHC.



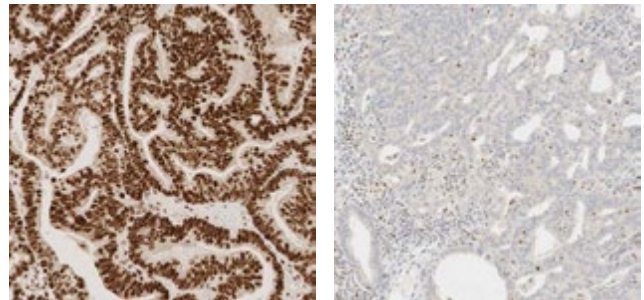
**Рис. 1.** VENTANA MLH1 (M1) первичное мышьяное моноклональное антитело, окрашенное по типу интактной экспрессии (слева) и по типу утраты экспрессии (справа) в ткани эндометриального рака



**Рис. 2.** VENTANA MSH6 (SP93) первичное кроличье моноклональное антитело, окрашенное по типу интактной экспрессии (слева) и по типу утраты экспрессии (справа) в ткани эндометриального рака



**Рис. 3.** VENTANA MSH2 (G219-1129) первичное мышьяное моноклональное антитело, окрашенное по типу интактной экспрессии (слева) и по типу утраты экспрессии (справа) в ткани эндометриального рака



**Рис. 4.** VENTANA PMS2 (A16-4) первичное кроличье моноклональное антитело, окрашенное по типу интактной экспрессии (слева) и по типу утраты экспрессии (справа) в ткани эндометриального рака

## Расшифровка результатов

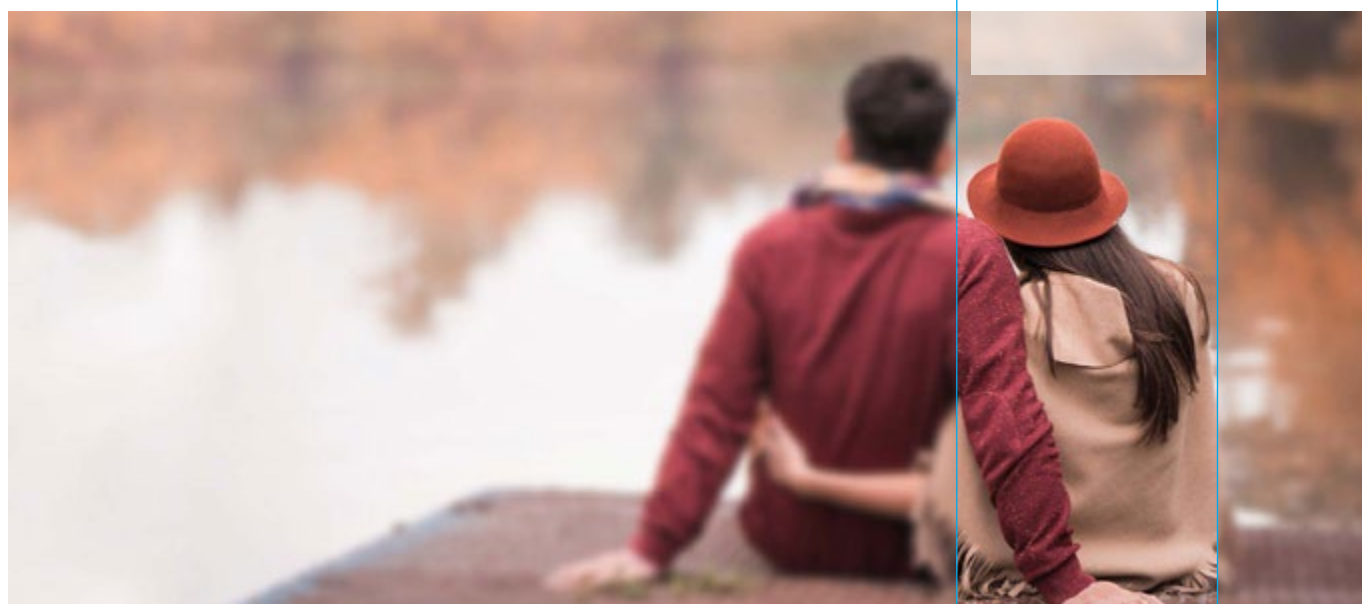
### Расшифровка результатов экспрессии белков, полученных с помощью панели VENTANA MMR

Интактная экспрессия белков	Отсутствие экспрессии белков
<p>Однозначное ядерное окрашивание жизнеспособных опухолевых клеток в присутствии приемлемых внутренних положительных контролей (например, ядерное окрашивание лимфоцитов, фибробластов или нормального эпителия в непосредственной близости от опухоли).</p>	<p>Однозначное отсутствие ядерного окрашивания или очаговое слабое неоднозначное ядерное окрашивание жизнеспособных опухолевых клеток в присутствии приемлемых внутренних положительных контролей. Точечное ядерное окрашивание расценивают как отрицательное.</p>

### Расшифровка статуса MMR, полученного с помощью панели VENTANA MMR

Достаточный	Недостаточный
<p>Все четыре белка из панели (MLH1, PMS2, MSH2 и MSH6) демонстрируют экспрессию по интактному типу.</p>	<p>Как минимум один белок из четырёх (MLH1, PMS2, MSH2 и MSH6) в панели демонстрирует отсутствие экспрессии.</p>

S18-4341 A1-2



+

+

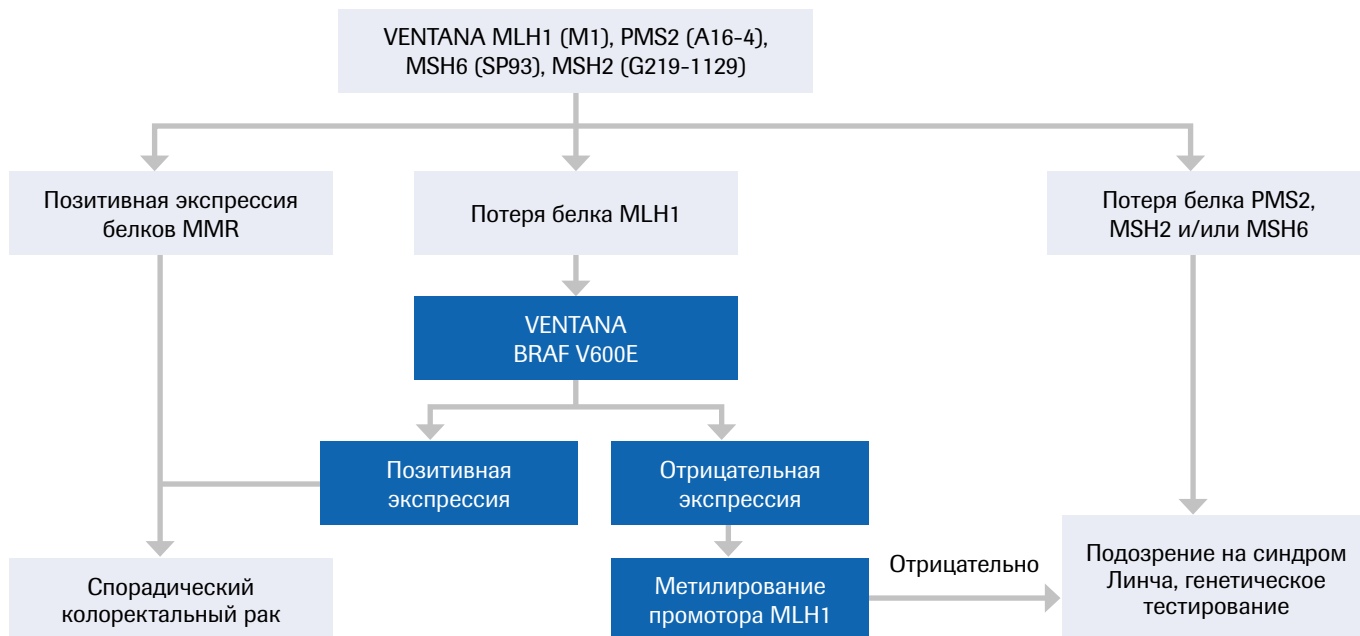
**Соответствие статуса MMR по результатам теста Clinical Trial Assay, использованного в исследовании 4010-01-001, и панели VENTANA MMR (популяция ITD\*)**

Мера соответствия	n/N	Соответствие (%)	95% ДИ
Процент совпадения положительных результатов (PPA)	70/76	92,1	(83,8; 96,3)
Процент совпадения отрицательных результатов (NPA)	90/91	98,9	(94,0; 99,8)
Общая согласованность (OPA)	160/167	95,8	(91,6; 98,0)

\*Популяция пациентов с установленным диагнозом (Intent-to-diagnose, ITD).

\*\*Двусторонний 95 % ДИ рассчитывали с использованием метода оценки Вильсона.

## Алгоритм тестирования панели VENTANA MMR IHC



## Вопросы и ответы

### Что конкретно изменилось?

Многое изменилось, в частности: информация о назначении, обновлены рекомендованные протоколы с системой детекции OptiView DAB, изменена классификация продукта, добавлены важные данные для поддержки новой информации о назначении, изменились клоны антител MSH6 и PMS2.

### Какие основные изменения в инструкции по применению?

Основное изменение — это изменение в информации области применения. В настоящее время оно отражает то, как эти продукты используются в клинической практике в качестве панели для идентификации пациентов с высоким риском синдрома Линча в качестве медицинского изделия. Кроме того, теперь рекомендовано использовать протоколы с системой детекции OptiView DAB. В инструкции также содержится информация о назначении продукта, которое отражает использование для всей панели VENTANA MMR IHC Panel. Эта панель состоит из 5 антител, включая эксклюзивное VENTANA BRAF V600E (VE1). Важно отметить, что каждый продукт может продаваться и использоваться отдельно.

### Придётся ли проходить повторную валидацию?

Для первичных антител MSH6 и MLH1, которые остались неизменными (даже если у них есть новые каталожные номера) с учётом изменений в рекомендуемом протоколе окрашивания, требуется чтобы заведующий лабораторией определил «достаточное количество» контрольных положительных и отрицательных случаев для тестирования. Эти маркеры должны быть включены в «ориентированное множество», которое является репрезентативным в лабораторных условиях. Нет конкретного количества рекомендуемых или требуемых случаев. Это полностью остаётся на усмотрение директора лаборатории. Для трех новых продуктов первичных антител MSH2, PMS2, BRAF требуется в случае, если новый клон предназначен для диагностики *in vitro*, выполнить ПОЛНУЮ оптимизацию и верификацию протоколов окрашивания.

### Какие данные у вас есть для поддержки ваших новых продуктов?

Производительность этих продуктов, в том числе BRAF V600E, подтверждается достоверными данными, включающими внутри-/межлабораторное исследование воспроизводимости (ILR), обзор клинической литературы, в котором эффективность сравнивается с более чем 1200 публикациями, где использовался метод MMR IHC, а также исследование точности, которое сравнило нашу производительность с секвенированием нового поколения.

### Что такое исследование точности? Почему я должен заботиться о результатах?

Исследование точности – это способ сравнения наших результатов ИГХ с результатами секвенирования нового поколения. Это очень важное сравнение, так как секвенирование нового поколения используется в качестве подтверждающего диагноза синдрома Линча и это имитирует использование в клинической практике. Результаты показывают очень высокое согласование между этими двумя методами. Это значит, что ИГХ правильно определяет тех пациентов, которые нуждаются в дальнейшем тестировании.

## **Необходимо ли использовать антитело VENTANA BRAF V600E (VE1), чтобы остаться в рамках зарегистрированных показаний?**

Антитела для панели VENTANA MMR IHC могут продаваться и продвигаться отдельно. Мы рекомендуем использовать полную панель VENTANA MMR IHC для получения пользы для пациента, как описано во множестве рекомендаций, включая NCCN.

## **В чём разница между BRAF V600E IHC и BRAF от RMD?**

VENTANA BRAF V600E (VE1) мышинное моноклональное антитело — это антитело, которое нужно использовать на BenchMark ULTRA. RMD имеет тесты BRAF V600E для платформы Cobas, которые используются для прогнозирования терапевтического ответа при метастатической меланоме и для выявления мутационного статуса BRAF V600E при папиллярном раке щитовидной железы. VENTANA BRAF V600E (VE1) является специфическим тестом для диагностики in-vitro для BRAF V600E при колоректальном раке.

## **Что означает «возможно наличие» синдрома Линча? Мне все ещё нужно проводить секвенирование, если я использую ваши тесты?**

Использование VENTANA MMR IHC Panel является средством выделения пациентов с недостаточным статусом MMR +/- мутацией BRAF V600E. Эта группа может получить преимущества от консультирования по генетическим вопросам. Секвенирование гена, вызвавшего потерю белка, для выявления герминативной мутации считается подтверждающим диагнозом синдрома Линча.

## **Какой тип секвенирования использовался в вашем исследовании точности?**

В ходе исследования было проведено сравнение панели VENTANA MMR IHC Panel с обширной панелью секвенирования ДНК для толстой кишки, тестированием MSI и гиперметилением MLH1 для идентификации колоректальных опухолей с недостаточной MMR (dMMR). Панель секвенирования ДНК толстой кишки включает геномный анализ вариантов, присутствующих в генах MMR (MLH1, PMS2, MSH2, MSH6, EPCAM), BRAF и других генах, играющих важную роль в канцерогенезе (например, PIK3CA, KRAS, NRAS, ERBB2 и т. д.). Секвенирование включает в себя все экзоны, интронные и фланкирующие последовательности, а также большие делеции, дупликации и мозаицизм. MSI была определена по методу MSINGS. Метилирование промотора MLH1 определялось с помощью теста на гиперметиление MLH1 в опухоли (MLH1 hypermethylation Analysis Tumor Test).

## **В чём разница между MSI (микросателлитная нестабильность) и MMR (репарация неспаренных оснований)?**

MSI ПЦР и MMR ИГХ — это разные тесты, которые измеряют один и тот же биологический эффект. Метод ПЦР позволяет оценить MSI путём амплификации микросателлитных повторов. Наиболее широко используемая панель Bethesda состоит из пяти микросателлитных повторов, в том числе двух мононуклеотидных повторов (BAT25 и BAT26) и трёх динуклеотидных повторов (D2S123, D5S346 и D17S250), микросателлиты, демонстрирующие не менее двух новых аллелей (сдвиг), определяют высокое значение MSI (MSI high) (это расценивается как микросателлитная нестабильность). Низкий уровень MSI (MSI low) определяется как обнаружение только одного уникального (сдвинутого) микросателлита, хотя достоверность этой категории является спорным. Когда сдвинутые микросателлиты не идентифицируются, это определяется как MSS.

Если в качестве первичного скрининг-теста используется анализ MSI, а не ИГХ, то мутационное тестирование BRAF или определение метилирования промотора MLH1 может быть использовано в качестве второго шага перед генетическим секвенированием у пациентов с выявленной MSI. Оценка экспрессии белков MMR с помощью ИГХ осуществляется для того, чтобы выявить отсутствие или потерю определённого белка в ядре опухолевых клеток; аномальный ИГХ сильно коррелирует со статусом MSI, определённым с помощью ПЦР.

Опухоли, в которых выявляется отсутствие MSH2 и/или MSH6 или PMS2, подозрительны на синдром Линча, и эти пациенты должны быть рассмотрены на предмет выполнения секвенирования любого отсутствующего белка (после надлежащего согласия). Если после этого выявляется герминативная мутация, то диагностируется синдром Линча. Если герминативная мутация не идентифицирована, можно рассмотреть возможность проведения теста на соматический MMR-ген и/или потерю гетерозиготности.

## **Как ваши результаты сравниваются с MSI ПЦР?**

Результаты исследования точности показывают, что исследования на MMR и MSI работали одинаково, однако важно отметить, что тестирование на MSI, которое проводилось в исследовании точности, было гораздо более обширным, чем стандартная практика, описанная в рекомендациях.

## **Могут ли работать с Ultraview?**

RTD утверждает, что анализ должен выполняться со строгим соблюдением предоставленного протокола. Соблюдение протокола имеет решающее значение для поддержания соответствия процедурам секвенирования.

## **А как насчёт других опухолей Линча?**

Данный продукт предназначен для использования при колоректальном раке, и никакое другое использование не было подтверждено. Клиентам необходимо будет валидировать исследование других тканей на своё усмотрение.

Наименование продукта	Каталожный номер	Код заказа	Количество
VENTANA MLH1 (M1) первичное мышинное моноклональное антитело	760-5091	08033668001	50 тестов
VENTANA PMS2 (A16-4) первичное мышинное моноклональное антитело	760-5094	08033692001	50 тестов
VENTANA MSH2 (G219-1129) первичное мышинное моноклональное антитело	760-5093	08033684001	50 тестов
VENTANA MSH6 (SP93) первичное кроличье моноклональное антитело	760-5092	08033676001	50 тестов
VENTANA BRAF V600E (VE1) первичное мышинное моноклональное антитело	760-5095	08033706001	50 тестов
OptiView DAB IHC Detection Kit <sup>f</sup>	760-700	06396500001	250 тестов
OptiView Amplification Kit <sup>g</sup>	860-099	06718663001	250 тестов

\*Требуется вместе с VENTANA anti-PMS2 (A16-4) первичное мышинное моноклональное антитело.

### Список литературы

1. Hsieh P, Yamane K. DNA mismatch repair: Molecular mechanism, cancer, and ageing. *Mech Ageing Dev.* 2008;129(7-8):391-407. 2. Buza N, Ziai J, Hui P. Mismatch repair deficiency testing in clinical practice. *Expert Rev Mol Diagn.* 2016;16(5):591-604. 3. Silva FCC, Torrezan GT, Ferreira JRO, et al. Germline mutations in MLH1 leading to isolated loss of PMS2 expression in Lynch syndrome: implications for diagnostics in the clinic. *Am J Surg Pathol.* 2017;41(6):861-864. 4. Yamashita H, Nakayama K, Ishikawa M, et al. Microsatellite instability is a biomarker for immune checkpoint inhibitors in endometrial cancer. *Oncotarget.* 2017;9(5):5652-5664. 5. Xiao X, Dong D, He W, et al. Mismatch repair deficiency is associated with MSI phenotype, increased tumor-infiltrating lymphocytes and PD-L1 expression in immune cells in ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2018;149(1):146-154. 6. Le DT, Durham JN, Smith KN, et al. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science.* 2017;357(6349):409-413. 7. Sloan EA, Ring KL, Willis BC, et al. PD-L1 expression in mismatch repair-deficient endometrial carcinomas, including Lynch syndrome-associated and MLH1 promoter hypermethylated tumors. *Am J Surg Pathol.* 2017;41(3):326-333. 8. Dudley JC, Lin MT, Le DT, et al. Microsatellite instability as a biomarker for PD-1 blockade. *Clin Cancer Res.* 2016;22(4):813-820.

### Регистрационные удостоверения

- Первичное мышинное моноклональное антитело для качественного обнаружения белка MLH1 иммуногистохимическим методом в диагностике *in vitro* к иммуноштейнерам автоматическим серии BenchMark (VENTANA MMR IHC Panel: VENTANA anti-MLH1 (M1) Mouse Monoclonal Primary Antibody) (кат. № 08033668001) № РЗН 2020/13154 от 12.01.2021
- Первичное мышинное моноклональное антитело для качественного обнаружения белка PMS2 иммуногистохимическим методом в диагностике *in vitro* к иммуноштейнерам автоматическим серии BenchMark (VENTANA MMR IHC Panel: VENTANA anti-PMS2 (A16-4) Mouse Monoclonal Primary Antibody) (кат. № 08033692001) № РЗН 2020/13153 от 12.01.2021
- Первичное мышинное моноклональное антитело для качественного обнаружения белка MSH2 иммуногистохимическим методом в диагностике *in vitro* к иммуноштейнерам автоматическим серии BenchMark (VENTANA MMR IHC Panel: VENTANA anti-MSH2 (G219-1129) Mouse Monoclonal Primary Antibody) (кат. №08033684001) № РЗН 2021/13285 от 28.01.2021.
- Первичное кроличье моноклональное антитело для качественного обнаружения белка MSH6 иммуногистохимическим методом в диагностике *in vitro* к иммуноштейнерам автоматическим серии BenchMark (VENTANA MMR IHC Panel: VENTANA MSH6 (SP93) Monoclonal Primary Antibody) (кат. № 08033676001) № РЗН 2021/13312 от 28.01.2021
- Первичное мышинное моноклональное антитело для качественного обнаружения V600E в белке BRAF иммуногистохимическим методом в диагностике *in vitro* к иммуноштейнерам автоматическим серии BenchMark (VENTANA MMR IHC Panel: VENTANA anti-BRAF V600E (VE1) Mouse Monoclonal Primary Antibody) (кат. № 08033706001) № РЗН 2020/13032 от 24.12.2020
- OptiView DAB IHC Detection Kit № ФСЗ 2012/12679 от 17.08.2012
- OptiView Amplification Kit № ФСЗ 2012/12679 от 17.08.2012
- Иммуноштейнер автоматический Ventana BenchMark Ultra № ФСЗ 2009/05250 от 28.01.2016

Информация предназначена для медицинских работников.

VENTANA и BENCHMARK, OPTIVIEW и логотип VENTANA являются товарными знаками Рош.

Все другие товарные знаки являются собственностью соответствующих правообладателей

© 2021 ООО «Рош Диагностика Рус»

ООО «Рош Диагностика Рус»

Россия, 115114, г. Москва, ул. Летниковская, д. 2, стр. 2

Бизнес-центр «Вивальди Плаза»

Тел.: +7 (495) 229-69-99

www.roche.ru

www.rochediagnostics.ru