

НАСЛЕДСТВЕННАЯ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ И КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ЖИТЕЛЬНИЦ КАБАРДИНО-БАЛКАРИИ

Биттуева М.М.¹, Боготова З.И.¹, Даурова Л.В.¹, Гидова Э.М.¹, Паритов А.Ю.¹, Хандохов Т.Х.¹, Ситников М.Н.¹, Кереева М.К.¹

ФГБОУ ВПО «Кабардино-Балкарский Государственный Университет им. Х.М. Бербекова», Нальчик, Россия (360004, Нальчик, ул. Чернышевского, 173), e-mail: madbi@mail.ru

Проведено исследование по индивидуальному генотипированию здоровых и больных женщин в Кабардино-Балкарской Республике для определения групп риска с повышенной предрасположенностью развития наследственной формы рака молочной железы. Проведен анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов, а также ассоциаций генотипов с возможными рисками развития рака молочной железы. Собраны образцы крови и выделена ДНК более 300 человек (контрольная и опытная группа). На данной выборке выявлены случаи носительства мутаций гена 6174delT гена BRCA2 и мутаций 5382insC и 4154delA гена BRCA1 у женщин, больных раком молочной железы. Полученные данные дают возможность сделать вывод об установлении наследственных форм рака молочной железы. Проведение сравнительного анализа частот аллелей генов предрасположенности к наследственной форме данного заболевания даст возможность открыть генетические причины увеличения раковых заболеваний и определить группы наибольшего риска.

Ключевые слова: рак молочной железы, ген BRCA1, ген BRCA2, генетическая предрасположенность, Кабардино-Балкария.

HEREDITARY PREDISPOSITION CLINICAL AND MORPHOLOGICAL FEATURES OF BREAST CANCER FROM RESIDENTS OF KABARDINO-BALKARIA

Bittueva M.M.¹, Bogotova Z.I.¹, Daurova L.V.¹, Gidova E.M.¹, Paritov A.Y.¹, Handohov T.H.¹, Sitnikov M.N.¹, Kerefova M.K.¹

¹ Kabardino-Balkarian State University n.a. H.M. Berbekov, Nalchik, Russia (360000, Nalchik, street Chernishevskaya, 173), e-mail:madbi@mail.ru

Research on individual genotyping of healthy and sick women in Kabardino-Balkar Republic for definition of groups of risk with the increased predisposition of development of a hereditary form of a breast cancer is conducted. The analysis of distribution of frequencies of alleles and genotypes of polymorphic options of genes, and also associations of genotypes with possible risks of development of a breast cancer is carried out. Samples of blood are collected and DNA more than 300 people (control and skilled group) is allocated. On this selection cases of a carriage of mutations of a gene 6174delT a gene of BRCA2 and mutations 5382insC and 4154delA BRCA1 gene at women, patients with cancer of a mammary gland are revealed. The obtained data give the chance to draw a conclusion on establishment of hereditary forms of a breast cancer. Carrying out the comparative analysis of frequencies of alleles of genes of predisposition to a hereditary form of this disease will give the chance to open the genetic reasons of increase in cancer diseases and to define groups of the greatest risk.

Keywords: Breast cancer, gene BRCA1, gene BRCA2, genetic predisposition, Kabardino-Balkaria.

Рак молочной железы является одной из наиболее распространенных нозологических форм в структуре онкологических заболеваний у женщин во всем мире и в России. Интенсивному изучению подвергается молекулярный этиопатогенез злокачественных опухолей молочной железы. Уже установлено, что различного рода наследственные мутации, поддерживающие целостность генома (*BRCA1*, *BRCA2*, *PTEN*, *TP53*, *CHEK2*, *MLH1*, *MSH2*, *LKB1/STK11*, *CDH1*), вносят существенный вклад в развитие данного заболевания [1].

Разработка новых подходов в диагностике и лечении предраковых состояний связана с высокой актуальностью проблемы заболеваемости молочной железы.

Появление новых инструментальных методов обследования женского населения позволяют не только диагностировать, но и правильно интерпретировать полученные результаты. Наследственный рак молочной железы (РМЖ) является самой частой разновидностью семейных опухолевых заболеваний. Его вклад в общую встречаемость РМЖ составляет примерно 5-10% [3]. Большой резонанс в обществе и среди исследователей-онкологов вызвало открытие в 1994г. гена BRCA1 (от Breast cancer - рак молочной железы), который является в случае мутаций причиной около половины всех случаев наследственного РМЖ [8]. Годом позже был открыт второй ген (BRCA2), который также ассоциирован с наследственной предрасположенностью к раку молочной железы [7,9]. У женщин с мутациями в данных генах РМЖ развивается в 70-80% случаев, с мутацией в гене BRCA2 повышается риск развития рака яичников (РЯ) [4]. В настоящее время приоритетом современной медицины является ранняя предиктивная диагностика заболеваний. От возможности выявить болезнь на начальном этапе зависит степень успешности лечения. В связи с этим весьма актуальна разработка и введение в медицинскую практику эффективных методов прогнозирования и ранней диагностики с применением молекулярно-генетических технологий. Данные технологии позволяют выявить мутации в генах, контролирующих клеточных цикл и репарацию повреждений ДНК, повышающих риск возникновения исследуемой патологии. В мире интенсивно изучается спектр мутаций в генах семейства BRCA. Этот спектр весьма специфичен в разных популяциях. С помощью ДНК-диагностики и знания спектра и частоты мутаций, характерных для страны или региона, можно выявлять группы риска людей с повышенной предрасположенностью к онкопатологиям. В России проводились исследования по изучению спектра мутаций гена BRCA1 и BRCA2 у больных с семейными формами заболевания Московской и Ленинградской областей, также исследованы популяции населения Башкирии и Читинской области [2,5]. Лидирующее положение по частоте встречаемости занимает мутация 5382insC. Полученные результаты имеют существенное значение для практической ДНК-диагностики наследственной предрасположенности к раку молочной железы и яичников в России, главным образом, у женщин русского этнического происхождения, башкир и бурят. Литературных данных о проведении аналогичных работ по Северному Кавказу не имеется.

Целью настоящего исследования является проведение индивидуального генотипирования здоровых и больных женщин в Кабардино-Балкарской Республике для определения групп риска с повышенной предрасположенностью развития наследственной формы рака молочной железы.

Материалы и методы

Материалом для исследования служили образцы ДНК здоровых и больных раком молочной железы женщин Кабардино-Балкарии. Образцы венозной крови были собраны на ба-

зе ГБУЗ «Онкологический диспансер» МЗ КБР и ФГОУ ВПО «Кабардино-Балкарский Государственный университет им. Х.М. Бербекова», начиная с 2009 года. Данные представлены по материалам ГБУЗ «ОД» КБР и основаны на анализе результатов комплексного обследования и лечения 150 больных раком молочной железы в возрасте от 25 до 78 лет. Во всех случаях диагноз рака молочной железы был верифицирован морфологически. По настоящее время продолжается работа по пополнению банка ДНК из числа больных РМЖ и здоровых лиц. С информированного согласия о цели исследований производился забор крови. Методом анкетирования получены популяционно-генетические данные обследованных здоровых (контрольная группа) и больных РМЖ пациенток.

Выделение ДНК из цельной крови осуществляли при помощи набора реагентов «QI-Aamp DNA Blood Mini Kit» (фирмы «Qiagen», Германия). Аллель-специфичную ПЦР-реакцию проводили с использованием набора реагентов для ПЦР для выявления мутаций 5382insC и 4154delA, 185delAG гена BRCA1 и 6174delT гена BRCA2 (фирма «Изоген», Россия; фирма «Литех», Россия). ПЦР-фрагменты разделяли в 2% агарозном геле.

Результаты и обсуждения

Поскольку существует специфичность в распределении мутаций и полиморфных вариантов разных генов у разных народов, в генетических исследованиях различных заболеваний следует учитывать этническое происхождение группы больных и контроля. В ходе исследования уточнялись данные об этнической принадлежности пациенток путем опроса и выяснения национальной принадлежности родителей до третьего поколения. В контрольной, и опытной группе можно выделить три доминирующие нации, проживающие на территории республики: кабардинцы, балкарцы и русские.

По возрастному составу контрольная и опытная группа несколько отличались. В контрольной группе возраст женщин колеблется от 20 до 69 лет (средний возраст 31,3 лет) (рис.1).

Возрастной состав контрольной

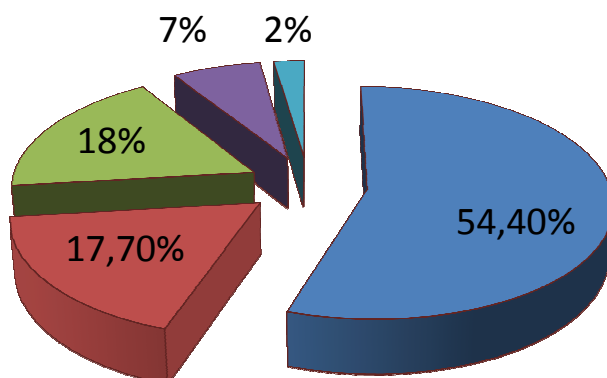


Рис.1. Возрастной состав контрольной группы

В группе больных РМЖ - от 25 до 78 лет (средний возраст 52 года) (рис.2).

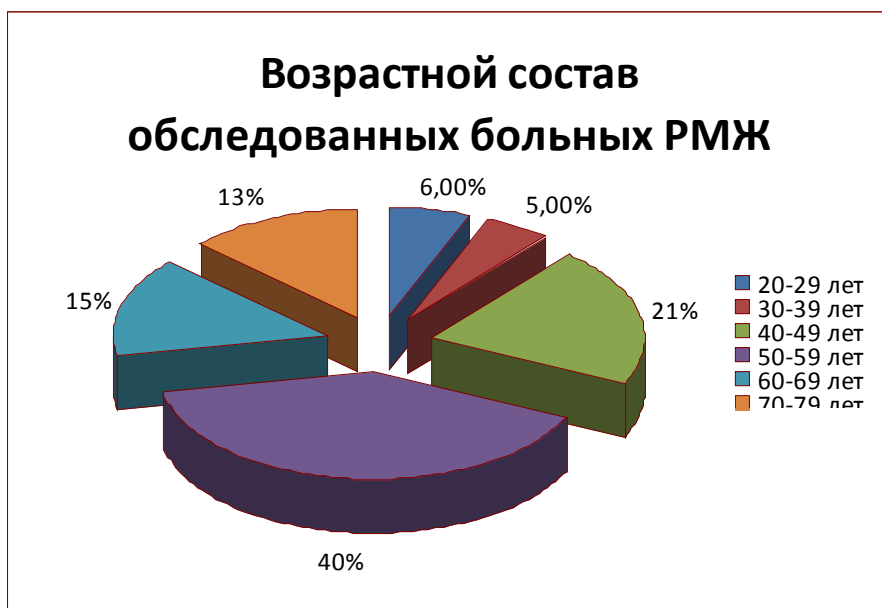


Рис. 2. Возрастной состав обследованных больных РМЖ

При распределении больных по возрасту возникновения и развития РМЖ, пик манифестации заболевания отмечается в возрасте от 50 до 59 лет, что составило 40% от всей выборки больных.

Случаи онкопатологий в семьях у исследуемых лиц

При сборе и обработке клинического материала особое внимание уделялось выявлению случаев заболевания раком, в частности раком молочной железы, в семьях исследуемой выборки. Среди больных было отмечено наличие случаев различных онкопатологий в анамнезе у представителей разной степени родства (табл. 1).

**Процентное соотношение формы рака молочной железы и другой онкопатологии
в исследуемой выборке больных**

Степень родства	Случаи различных онкопатологий (%)	Случаи семейного РМЖ (%)
I степень родства	13	6
II степень родства	6	2
III степень родства	2	1
Всего	21	9

Распределение больных раком молочной железы по характеру менструально-овариальной функции

В результате множества научных исследований отмечено повышение риска возникновения и развития рака молочной железы в раннем возрасте менархе, поздней менопаузе, что риск развития данной патологии связан с нарушением гормональной функции яичников, надпочечников, щитовидной железы, гипофиза, гипоталамической системы [6]. Среди исследуемой группы пациенток с РМЖ средний возраст менархе 13,6 лет. Распределение больных по состоянию репродуктивной функции отражено в таблице 2.

**Распределение больных раком молочной железы по характеру
менструально-овариальной функции**

Характер менструально-овариальной функции	Число больных	
	абс.	%
Менструации сохранены	82	54,6
Менопауза	68	45,4
Всего	150	100

У 90% пациенток имеются дети, из них 86% кормили ребенка грудью. При проведении анкетирования нами было выявлено, что 98% из исследуемой опытной группы не курит, не принимает гормональные контрацептивы, у 82% работа не связана с вредным воздействием производства, и только у 18% работа ранее была связана с химическими реактивами и изотопами. Неоднократное раннее прерывание беременности выявлено у 80% женщин в опытной группе.

Среди контрольной группы средний возраст менархе 12,8 лет. У 61% имеются дети, из них 97% кормили ребенка грудью. Распределение женщин контрольной группы по состоянию репродуктивной сферы показан в таблице 3.

Таблица 3

**Распределение контрольной группы по характеру
менструально-овариальной функции**

Характер менструально-овариальной функции	Число исследуемых	
	абс.	%
Менструации сохранены	107	71,3
Менопауза	43	28,7
Всего	150	100

Выявляется клинической особенностью рака молочной железы у больных, проживающих на территории Кабардино-Балкарии, в зависимости между возрастом возникновения заболевания и состоянием репродуктивной функции организма женщины.

Исследуется наличие мутаций 5382insC, 185delAG, 4154delA гена BRCA1 и 6174delT гена BRCA2. У больных раком молочной железы выявлена высокая частота носительства (4%) мутации 5382insC гена BRCA1. Обнаружен более ранний возраст манифестации заболевания у носителей данной мутации. Обнаружены случаи носительства мутации 6174delT гена BRCA2 (2,7%).

Заключение

Наличие мажорной мутации в гене BRCA1 (5382insC) позволяет проводить скрининговые исследования в группах повышенного риска и у женщин с неотягощенным семейным анамнезом с целью своевременной первичной профилактики возникновения и развития данной патологии.

Продолжается работа по генотипированию контрольной и опытной групп с целью выявления носительства других мутаций.

Сопоставление частот аллелей перечисленных генов предрасположенности к наследственной форме РМЖ в группах больных и здоровых женщин позволит выявить генетические причины роста онкозаболеваемости, а также определить группы повышенного риска.

Список литературы

1. Денисов Е.В. Изучение взаимосвязи ARG72PRO полиморфизма и соматических мутаций гена TP53 у больных раком молочной железы // Молекулярно-биологические технологии в

- медицинской практике.– Новосибирск: Альфа Виста Н, 2009. – Вып. 13. – С. 66.
2. Зинатуллина Г.З. Определение факторов прогноза течения рака молочной железы на основании молекулярно-генетических исследований: Автореф. дисс. канд. мед. наук. – Уфа, 2007. – 24 с.
 3. Имянитов Е.Н. Наследственный рак молочной железы// Практическая онкология. – 2010. – Т. 11, №4. – С. 258-259.
 4. Любченко Л.Н., Гарькавцева Р.Ф., Поспехова Н.И., Карпухин А.В. Медико-генетическое консультирование при наследственном раке молочной железы // Медицинская генетика. – 2008. – №10. – С.30-34.
 5. Тарасов В.А., Асланян М.М., Цырендоржиева Е.С., Литвинов С.С., Гарькавцева Р.Ф., Алтухов Ю.П. Генетически обусловленная подразделенность популяций человека по риску развития рака молочной железы у женщин // Доклады Академии наук. – 2006.– Т. 406, №2. – С. 281-285.
 6. Dunning A.M., Dowsett M., Healey C.S. et al. Polymorphisms associated with circulating sex hormone levels in postmenopausal women // J. Natl. Cancer. Inst. – 2004. – Vol. 96. – p. 936 – 945.
 7. Easton D.F., Steele L., Fields P. et al. Cancer risks in two large breast cancer families linked to BRCA2 on chromosome 13q 12-13 // Am. J. Hum. Genet. – 1995. V. 57. – P. 1284-1297.
 8. Miki Y., Swensen J., Shattuck-Eidens D. et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1 // Science. – 1994. V. 266. – P. 66-71.
 9. Wooster R. et al. Identification of the breast cancer susceptibility gene *BRCA2*// Nature. –1995. V. 378. – P. 789 – 792.

Рецензенты:

Кетенчиев Х.А., д.б.н., профессор Кабардино-Балкарского Государственного университета им. Х.М. Бербекова, г. Нальчик.

Арсанукаев Д.Л., д.б.н., профессор Чеченского Государственного университета, г. Грозный.