

ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ BRCA-МУТАЦИЙ В ЮЖНОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ У БОЛЬНЫХ С КЛИНИЧЕСКИМИ ПРИЗНАКАМИ НАСЛЕДСТВЕННОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Водолажский Д.И.¹, Шатова Ю. С.¹, Комова Е.А.¹, Двадненко К.В.¹

¹ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, Ростов-на-Дону, e-mail: rnioi@list.ru

Изучена частота встречаемости мутаций в генах *BRCA-1* и *BRCA-2* у 67 пациенток с клинически наследственным раком молочной железы (PMЖ) I–II стадии популяции Южного Федерального Округа. Было выявлено 7 образцов, несущих мутации, в том числе 6 из них имели мутации 5382insC в 20 экзоне гена *BRCA1* (9%) и 1 образец содержал мутацию T300G в гене *BRCA1* (1,5%). Мутации в гене *BRCA-2* не обнаружены. Суммарная частота мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA-2* составила 10,4% от общего числа обследованных пациенток. Таким образом, одной из наиболее часто встречающихся мутаций при клинически наследственном PMЖ у жителей славянских этносов ЮФО является 5382insC в гене *BRCA1*, а мутация T300G в гене *BRCA1* обнаружена у пациентки армянской национальности.

Ключевые слова: рак молочной железы, BRCA1, BRCA2.

BRCA MUTATIONS AMONG THE PATIENTS WITH CLINICALLY HEREDITARY BREAST CANCER IN THE SOUTH FEDERAL STATE

Vodolazhsky D.I.¹, Shatova Y.S.¹, Komova E.A.¹, Dvadnenko K.V.¹

¹Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia, e-mail: rnioi@list.ru

Was studied frequency of mutations in the genes *BRCA -1* and *BRCA-2* in 67 patients with confirmed breast cancer (BC) I-II stage of Southern Federal Region of the Russian Federation. 7 samples were identified carrying mutations including six of them had mutations 5382insC exon 20 *BRCA1* (9%) and one sample contained T300G mutation in the gene *BRCA1* (1,5%). Mutations in the gene two-*BRCA-2* was not detected. The total frequency of mutations in the genes *BRCA1* and *BRCA -2* was 10.4% of the total number of examinees. Thus, one of the most common mutations in clinically hereditary breast cancer among residents of Slavic ethnic groups SFD was 5382insC in the gene *BRCA1*, and T300G mutation in the *BRCA1* gene found in patients of Armenian nationality.

Keywords: breast cancer, BRCA1, BRCA2.

Ежегодно в мире рак молочной железы (PMЖ) диагностируется у 1 млн 400 тыс. женщин. Наследственные формы рака молочной железы клинически характеризуются ранним возрастом возникновения и составляют 5–10% всех случаев заболевания [2]. Герминальные мутации в генах *BRCA1* (локализован в 1-й полосе 2-го региона длинного плеча 17-й хромосомы) и *BRCA2* (локализован в позиции 12.3 длинного плеча 13-й хромосомы) представляют собой наиболее изученные и часто встречающиеся генетические изменения, повышающие риск развития PMЖ и рака яичников (РЯ) [9]. Женщины, в семейном анамнезе которых регистрировался PMЖ у родственников первой линии, имеют в 3–5 раз более высокий риск возникновения данного заболевания, чем в среднем по популяции [6]. Первые данные о причастности генов *BRCA1* и *BRCA2* к возникновению PMЖ и РЯ были получены на пациентках, проживающих в Европе и Северной Америке. Оказалось, что спектр мутаций в этих генах исключительно широк. Также следует отметить,

что спектр наследственных мутаций в генах *BRCA1/2* специфичен для разных стран и этнических групп. Важно заметить, что в различных этнических популяциях преобладают *BRCA 1/2* мутации разного спектра [10].

Наиболее распространенной мутацией в гене *BRCA1* в странах Восточной Европы, включая и Россию, является мутация 5382 insC в 20 экзоне. Частота этой мутации, по данным разных авторов, колеблется в генетически отягощенных семьях от 10 до 63% [1]. Влияние генетической предрасположенности к РМЖ у женщин в Южном Федеральном Округе изучено недостаточно. При этом необходимо отметить, что ЮФО в совокупности с Северным Кавказом представляет собой уникальный регион с оседлым проживанием различных этносов. В связи с этим данное исследование может служить моделью для изучения мутаций в генах *BRCA1/2*, что крайне важно для дальнейшего расширения представлений об этиологии и факторах риска развития рака молочной железы. На практике эти особенности необходимо учитывать для прогнозирования стандартов лечения РМЖ и планирования скрининговых программ [3].

Целью настоящего исследования является выявление частот встречаемости мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* в популяциях ЮФО при клинически наследственном раке молочной железы.

Материалы и методы

В исследование были включены 67 пациенток с верифицированным РМЖ I–II стадии и клиническими признаками наследственного РМЖ, которые проходили стационарное лечение в ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава Российской Федерации, постоянно проживающих в ЮФО. Медиана возраста на момент постановки диагноза пациенток, вошедших в исследование, составила 44 года, а возраст варьировал в диапазоне от 24 до 80 лет. Учитывались клинические признаки наследственного РМЖ, а именно: первично-множественный процесс (РМЖ и РЯ; синхронные и метакронные), семейный онкологический анамнез (РМЖ, РЯ), молодой возраст начала заболевания (до 40–45 лет), негативный статус рецепторов ER, PR и HER2 [7]. Исследования соответствовали установленным этическим стандартам. Для уточнения анамнестических данных осуществлялось индивидуальное анкетирование больных.

В целях выявления мутаций в генах *BRCA 1/2* выполнялся молекулярно-генетический анализ ДНК из лейкоцитов периферической крови. Для исследования у пациенток забирали периферическую венозную кровь в объеме 5 мл в вакуумные пробирки GreenVac-Tube (Корея) с антикоагулянтом ЭДТА-K2. Лейкоциты выделяли из цельной крови путем гемолиза эритроцитов добавлением 0,84%-ного раствора NH_4Cl в сочетании с последовательным центрифугированием и отмывкой 0,9% NaCl [5].

Геномную ДНК экстрагировали с использованием лизирующего SDS-содержащего буфера в присутствии протеиназы-К и последующей фенол-хлороформной экстракции [4]. Концентрацию полученных препаратов ДНК измеряли на флуориметре Qubit 2.0® (Invitrogen, США) с использованием набора Quant-iT™ dsDNA High-Sensitivity (HS) Assay Kit (Invitrogen, США). Для наработки ампликонов концентрацию образцов ДНК нормализовывали до величины 2 нг/мкл. Детекцию мутаций проводили с использованием набора "BRCA-скрин" («Интерлабсервис», Россия) методом пиросеквенирования на оборудовании PyroMark Q24 (Qiagen, Germany). Определялись мутации в генах *BRCA1/BRCA2* (табл. 1).

Таблица 1

Исследуемые мутации

Локус	Полиморфизм
<i>BRCA1</i>	185delAG
<i>BRCA1</i>	300T>G (C61G)
<i>BRCA1</i>	2080delA
<i>BRCA1</i>	4153delA
<i>BRCA1</i>	5382insC
<i>BRCA2</i>	6174delT

Результаты и обсуждение

В 67 образцах геномной ДНК, выделенной из лейкоцитов периферической крови пациенток, было выявлено 7 образцов, несущих мутации в исследованных нами генетических локусах (табл. 1). Из них 5 пациенток в возрасте от 30 до 44 лет имели в семейном анамнезе РМЖ и РЯ у родственников первой линии, а у двух женщин в возрасте 36–40 лет онконаследственность была не отягощена. По результатам гистологического исследования у данной группы преобладала инфильтрирующая карцинома. В том числе 6 из них имели мутации 5382insC в 20 экзоне гена *BRCA1* (9%), а один образец содержал мутацию T300G в гене *BRCA1* (1,5%). Суммарно частота мутаций в гене *BRCA1* составила 10,5% от общего числа обследованных пациенток. Мутации в гене *BRCA2* в рамках нашего исследования не выявлены. Медиана возраста группы пациенток, имеющих мутации в гене *BRCA1*, составила 39 лет (табл. 2), что на 5 лет ниже аналогичной характеристики всей экспериментальной группы. Это также подтверждает наличие клинически наследственного РМЖ.

***BRCA1* 5382 insC - ассоциированный РМЖ.**

Для *BRCA1* 5382insC-ассоциированного РМЖ в нашем исследовании были характерны инфильтрирующий протоковый, медулярный и криброзный раки. Как упоминалось выше, при гистологическом исследовании у всей экспериментальной группы с мутациями в гене *BRCA1* преобладала инфильтрирующая карцинома. Трижды негативный подтип РМЖ среди пациенток, имеющих мутации *BRCA1* 5382 insC, был выявлен только в одном случае, или в 16,7% случаев от всех мутаций 5382 insC в гене *BRCA1*. Люминальный тип В наблюдался в 3 случаях (50%), а Her2-положительный и Люминальный А подтипы встретились только 1 раз (16,7%). При анализе семейного онкологического анамнеза РМЖ был отмечен у 4 кровных родственников по материнской линии (67%). Молочно-яичниковый синдром встретился в 1 случае (16,7%), больные билатеральным РМЖ — 1 человек (16,7%). У двух пациенток с мутациями в гене *BRCA1* 5382 insC в семейном анамнезе онкозаболеваний отмечено не было (33%). Неoadвантная полихимиотерапия в данной экспериментальной группе не проводилась. Все пациентки данной группы принадлежали к славянской этнической группе (табл. 2). Медиана возраста составила 39,5 лет, т.е. пациентки этой группы имели раннюю манифестацию онкологического заболевания.

Таблица 2

Клиническая характеристика больных с мутациями в генах *BRCA1*, *BRCA2*

Фамилия	6174delT (<i>BRCA2</i>)	185delAG (<i>BRCA1</i>)	300T>G (C61G) (<i>BRCA1</i>)	2080 delA (<i>BRCA1</i>)	4153de IA (<i>BRCA1</i>)	5382insC (<i>BRCA1</i>)	Возраст	национальность
Пациентка К.	WT	WT	WT	WT	WT	MT	36	русс
Пациентка О.	WT	WT	WT	WT	WT	MT	39	русс
Пациентка С.	WT	WT	WT	WT	WT	MT	39	русс
Пациентка Б.	WT	WT	WT	WT	WT	MT	63	русс
Пациентка Н.	WT	WT	WT	WT	WT	MT	40	русс
Пациентка П.	WT	WT	MT	WT	WT	WT	30	арм
Пациентка М.	WT	WT	WT	WT	WT	MT	44	русс

***BRCA1* 300T>G (C61G) -ассоциированный РМЖ.**

В проведенном нами исследовании была обнаружена 1 мутация данного типа в гене *BRCA1*, что составило частоту встречаемости мутации данного типа среди всех мутаций в гене *BRCA1*, равную 14,3%, или 1,5% от всего количества пациенток (67 пациенток). При

гистологическом исследовании, так же как и при наличии мутаций в гене *BRCA1* 5382insC, была отмечена инфильтрирующая протоковая карцинома. Рецепторный статус был представлен люминальным подтипом В с негативным статусом рецепторов Her2 и PR. Возраст пациентки на момент постановки диагноза составлял 30 лет (ранняя манифестация РМЖ). В ее семейном анамнезе у матери также был отмечен РМЖ. Сама больная ранее получала лечение по поводу лимфогранулематоза и рака контралатеральной молочной железы. Пациентка с данной мутацией принадлежит к армянской этнической группе (табл. 2).

Полученные нами данные наглядно демонстрируют качественный спектр и частоту встречаемости мутаций в генах *BRCA1/2*, аналогичную ранее проведенным исследованиям в г. Москве, С. Петербурге, Томске, Краснодаре и др. [3]. Как показало данное исследование, приблизительно в 10% случаев клинически наследственный РМЖ ассоциирован с мутацией 5382insC в 20 экзоне гена *BRCA1* и в 1,5 % случаев – с мутацией Т300G гена *BRCA1*.

Исходя из данных фактов можно утверждать, что наиболее часто встречающейся мутацией при семейных формах рака молочной железы (РМЖ) у жителей славянских этносов разных регионов ЮФО является инсерция 5382insC в гене *BRCA1*. Действительно, даже соседствующие друг с другом Северо-Западная Россия и Финляндия коренным образом отличаются по спектру мутаций в генах при наследственном РМЖ. Как было сказано выше, в российских популяциях преобладают мутации в гене *BRCA1*, а мутации в гене *BRCA2* весьма редки, что также наглядно подтверждается в нашем исследовании (табл. 2). В то же время в Финляндии наблюдается низкая частота мутаций в генах *BRCA1/2* в целом, при этом мутации в гене *BRCA1* практически не встречаются [8]. Популяции Юга России и Северного Кавказа характеризуются высоким потенциальным генетическим полиморфизмом. В частности, в нашем исследовании единственная мутация в гене *BRCA1* 300T>G была зарегистрирована у пациентки армянской национальности с отягощенным семейным анамнезом и не была зарегистрирована ни у одной пациентки славянской этнической группы.

Таким образом, полученные нами данные демонстрируют как сходство паттернов мутаций в генах *BRCA1/2* у пациенток славянской этнической группы с другими исследованиями, так и отличия, выявленные у пациенток других этнических групп популяций Юга России.

Для изучения этих закономерностей необходимо расширение медико-генетических исследований на территории Южного Федерального Округа, что позволит обеспечить адекватную специализированную помощь больным с клиническими признаками наследственного рака молочной железы, а также своевременно выявить здоровых женщин —

носителей мутаций в генах *BRCA1/2* и как можно раньше предотвратить развитие данного заболевания.

Список литературы

1. Автономов Д.Е. [и др.] Клинические и морфологические особенности BRCA-ассоциированного РМЖ у женщин репродуктивного возраста (обзор) //Проблемы репродукции, 2013, № 2. С. 15–19.
2. Бит-Сава Е.М., Ахмедов Р.М., Моногарова М.А. Реконструктивно-пластические операции у больных с BRCA-1-ассоциированным раком молочной железы// Вестник хирургии, 2014, Т. 173 (3): 84 –6.
3. Имянитов Е.Н. Наследственный рак молочной железы //Практическая онкология, 2010, Т.11 (4): 258–266.
4. Корниенко И.В., Водолажский Д.И. Закономерности появления одиночных нуклеотидных замен в гипервариабельных участках контрольного региона митохондриальной ДНК человека//Молекулярная биология, 2010, Том 44, № 3 Год: 439–446.
5. Коган М.И., Чибичан М.Б., Водолажский Д.И. [и др.] Экспрессия генетических локусов в мононуклеарной фракции периферической крови больных раком предстательной железы//Онкоурология, 2012: 40–48
6. Макиева К.Б. [и др.] Наследственность и рак молочной железы // Вестник КPCY., 2013, Т.13.(4): 128–131
7. Brozek I. [et al.] Prevalence of the most frequent BRCA1 mutations in Polish population // Journal of Applied Genetics. 2011.No. 52.P. 325–330.
8. Ferla R., Calo V., Cascio S., Rinaldi G., Badalamenti G., Carreca I., Surmacz E., Colucci G., Bazan V., Russo A. Founder mutations in BRCA1 and BRCA2 genes // Ann Oncol. – Vol. 2007. – Vol. 18 (Suppl 6). – P. 93–98.
9. Mulligan A.M., Couch F.J., Barrowdale D. et al. Common breast cancer susceptibility alleles are associated with tumour subtypes in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: results from the Consortium of Investigators of Modifiers of BRCA1/2. Breast Cancer Res, 2011, 13(6):R110.
10. Plakhins G., Irmejs A., Gardovskis A. et al. Genotype-phenotype correlations among BRCA1 4153delA and 5382insC mutation carriers from Latvia. BMC Med Genet, 2011, 12:147.

Рецензенты:

Франциянц Е.М., д.б.н., профессор, руководитель гормональной лаборатории ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону;

Вашенко Л.Н., д.м.н., профессор, руководитель отдела опухолей мягких тканей и молочной железы ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону.