

дифференцированно и специфично подходить к выбору последующей лечебной тактики ведения пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Петров А. М. Нейробиология сна: современный взгляд : учеб. пособие / А. М. Петров, А. Р. Гиниатулин ; под ред. А. Л. Зефирова. – Казань : КГМУ, 2012. – 109 с.
2. Левин, О. С. Болезнь Паркинсона / О. С. Левин, Н. В. Федорова. – 3-е изд. – М. : МЕДпресс-информ, 2012. – 352 с.
3. Нодель, М. Р. Нарушения сна и бодрствования при болезни Паркинсона: комплексный подход к терапии / М. Р. Нодель // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. – 2012. – Т. 4, № 1. – С 43–48.
4. Sleep and Respiration in 100 Healthy Caucasian Sleepers – A Polysomnographic Study According to American Academy of Sleep Medicine Standards / T. Mitterling [et al.] // Sleep. – 2015. – Vol. 38, № 6. – P. 867–875.
5. Non-recognition of depression and other non-motor symptoms in Parkinson's disease / L. M. Shulman [et al.] // Parkinsonism & Relat. Disord. – 2002. – Vol. 8, № 3. – P. 193–197.

ГЕРМИНАЛЬНЫЕ МУТАЦИИ В ГЕНАХ BRCA1 И BRCA2 У ЖЕНЩИН С КЛИНИЧЕСКИМИ ПРИЗНАКАМИ НАСЛЕДСТВЕННОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Савоневич Е. Л.¹, Абдрашитов В. В.², Ашурик О.³, Василькевич М. И.²,
Гронвальд Я.³, Степура Т. Л.¹

*Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь¹,
Гродненская университетская клиника, Гродно, Беларусь²,
Международный центр наследственных опухолей, кафедра генетики и
патологии, Померанский медицинский университет, Щецин, Польша³*

Актуальность. Начало XXI века ознаменовалось значительным увеличением числа женщин, заболевших раком молочной железы (РМЖ) Это заболевание лидирует среди всех злокачественных новообразований у женщин. Заболеваемость РМЖ за последние 20 лет возросла на 50%. Разрабатываются и внедряются в клиническую практику новые методы диагностики и скрининга РМЖ, однако, цифры заболеваемости и смертности от этой патологии продолжают неуклонно расти. Последнее десятилетие отмечено стремительным развитием онкогенетики и особенно генетики РМЖ. Наследственные мутации являются причиной развития РМЖ в 10-15% случаев. Такие формы рака характеризуются ранним возрастом развития заболевания, высокой частотой билатерального и первично-множественного поражения, менделевскими законами наследования и требуют индивидуального диагностического и лечебного подхода. В настоящее время к

числу генов, ассоциированных с развитием РМЖ, относят: BRCA1, BRCA2, CHEK2, p53, ATM, PALB2 и NBS1. Роль генов BRCA1 и BRCA2 в возникновении злокачественных новообразований в молочной железе изучена наиболее полно [1]. С поломкой в гене BRCA1 связывают прежде всего развитие синдрома наследственного рака молочной железы и яичников. Потеря функции гена BRCA2 связана с синдромом наследственного РМЖ. У женщин с наследственной мутацией одного из аллелей гена BRCA1 риск развития РМЖ в течение жизни ассоциирован с возрастом и достигает 55-70% к возрасту 70 лет. Риск развития РМЖ для носителей мутации в гене BRCA2 составляет 45-70%. При этом риск развития РМЖ в общей популяции не превышает 12%. Пик заболеваемости РМЖ у носителей мутации в гене BRCA1 приходится на возраст от 30 до 40 лет [2,3]. При наличии у носительницы мутации отягощенного семейного анамнеза риски развития опухоли в молочной железе возрастают: для носителей мутаций в гене BRCA1 до 87%, при мутации BRCA2 – до 84% [4]. Риск развития контрлатерального РМЖ у носителей мутации коррелирует с молодым возрастом выявления первой опухоли, локализацией мутации в гене, приемом тамоксифена, проведением двухсторонней аднексэктомии. L. Verhoog и соавт. оценили ежегодный риск развития контрлатерального РМЖ для пациенток с BRCA1- ассоциированным раком моложе 41 года в 4,5% [5]. При манифестации РМЖ у носителей мутации в гене BRCA1 в возрасте до 40 лет, риск развития контрлатерального РМЖ в последующие 25 лет составляет 63% и более [6]. Предшествующие исследования распространенности нескольких герминальных мутаций в общей популяции пациенток с РМЖ в Беларуси носили единичный характер, но установили значимый «эффект основателя» для мутации BRCA1 5382insC [7,8].

Цель. Оценка роли и особенностей герминальных мутаций BRCA1 и BRCA2 в развитии РМЖ. Для увеличения вероятности обнаружения генетических поломок, ассоциированных с развитием РМЖ, мы сконцентрировали наше внимание на пациентках с ранним, билатеральным и первично-множественным раком.

Методы исследования. В исследование включена 71 женщина: 22 пациентки с ранним (до 50 лет включительно), 8 женщин с билатеральным и 41 с первично-множественным РМЖ. Все женщины проходили лечение в Гродненской университетской клинике. Включение пациенток в исследование было проведено с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности с оформлением информированного согласия на участие в исследовании. Исследование выполнено при поддержке БРФФИ, грант № M20P-400.

Средний возраст пациенток, включенных в исследование, составил $45,4 \pm 9,2$ лет. В группе монолатерального рака, диагностированного в возрасте до 50 лет, из 22 женщин средний возраст заболевания составил $41,2 \pm 7,4$ года (от 28 до 50 лет), каждая вторая пациентка имела отягощенный семейный анамнез по РМЖ и/или раку яичников (РЯ) в 1-2й линии родства. Из 8 женщин с билатеральным РМЖ только у двух опухоли развились синхронно. Средний возраст развития первой

опухоли – $42,4 \pm 9,4$ лет (от 31 до 59 лет), контрлатерального новообразования – $48,3 \pm 11,1$ (от 40 до 68 лет). Косвенные признаки семейного рака имели только 3 пациентки. Временной интервал между первой и второй опухолями в молочных железах был от 1 года до 17 лет, в среднем – $8,2 \pm 5,3$ лет. Группа первично-множественного рака (ПМР) с поражением молочной железы состояла из 4 синхронных и 37 метакронных случаев заболевания. Средний возраст выявления РМЖ составил $48,4 \pm 9$ лет (от 32 до 73 лет), при этом только у 3 женщин РМЖ был второй диагностированной опухолью. Первичная множественность новообразований в большинстве случаев была представлена двумя локализациями – 28 (68 %), реже – тремя 12 (29 %). Только у 1 пациентки были диагностированы 4 опухоли. Чаще всего развитие злокачественных новообразований молочных желез сочеталось с РЯ – 39 случаев, раком тела матки – 3. Билатеральное поражение молочных желез в группе пациенток с ПМР имело место у 9 женщин (22%). Интервал между развитием РМЖ и появлением очередного новообразования колебался от 1 года до 19 лет, в среднем составил – $7,7 \pm 5$ лет. Отягощенный семейный онкоанамнез по РМЖ и/или РЯ в 1-2й линии родства имели 23 женщины с ПМР (56%).

Все образцы ДНК были выделены из лейкоцитов периферической крови. Выполнен анализ 13 значимых мутаций в генах BRCA1 (с.5266dupC, с.4035delA, с.5251C>T, с.181T>G, с.676delT, с.68_69delAG, с.3700_3704delGTAAA, с.1687C>T, с.3756_3759delGTCT) и BRCA2 (с.658_659delGT, с.7910_7914delCCTTT, с.3847_3848delGT, с.5946delT). Определения мутаций с.5266dupC и с.4035delA в гене BRCA1 проводили методом аллель-специфичной олигонуклеотидной полимеразной цепной реакции (ПЦР). Другие мутации BRCA1 (с.5251C>T, с.181 T>G, с.676delT, с.68_69delAG, с.3700_3704delGTAAA, с.1687C>T, с.3756_3759delGTCT) и BRCA2 (с.658_659delGT, с.7910_7914delCCTTT, с.3847_3848delGT, с.5946delT) были генотипированы с использованием наборов TaqMan (Applied Biosystems/Life Technologies, Carlsbad, CA) на Roche LightCycler 480. Для валидации полученных результатов проводили прямое секвенирование ДНК по Сангеру. Использовали наборы BigDyeTerminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Life Technologies), согласно протокола производителя. Результаты секвенирования анализировали на генетическом анализаторе ABI Prism 3100 (Life Technologies).

Результаты и их обсуждение. В результате исследования у 32 из 71 пациенток (45%) обнаружена одна из значимых патогенных мутаций в генах BRCA1 и BRCA2. Чаще других встречалась мутация BRCA1 5382insC – она была выявлена у 19 женщин с РМЖ (27%). Носительство патогенного аллеля BRCA1 4153delA было подтверждено в 8 случаях (11%). У двух пациенток имела место мутация BRCA2 886delGT (3%). У трех пациенток с ПМР были установлены единичные случаи других генетических дефектов в гене BRCA1 (4%). Средний возраст в группе носителей мутации составил $43,4 \pm 9,3$ лет (от 30 до 73 лет). В группе пациенток без мутаций средний возраст заболевания РМЖ был выше – $47,2 \pm 8,8$ лет (от 28 до 68 лет). Среди 22 молодых женщин с монолатеральным РМЖ герминальная

мутация была выявлена только у 7 человек (32%), во всех семи случаях была идентифицирована BRCA1 5382insC. Наследственные мутации присутствовали у 3 из 8 женщин (38%) с билатеральным РМЖ и у 22 из 41 с ПМП (54%). Установлено, что у пациенток с полинеоплазией мутации 5382insC и 4153delA в гене BRCA1 встречаются примерно с одинаковой частотой – соответственно в 24% и 20% случаев. У одной женщины с раком пищевода в 65 лет, РМЖ в возрасте 73 лет и колоректальным раком в 84 года установлено наличие мутации BRCA2 886delGT. Вместе с тем, среди 50 пациенток сотягощенным семейным анамнезом по РМЖ и/или РЯ в 1-2-й линии родства и клиническими признаками наследственного рака мутации в генах BRCA1 и BRCA2 были обнаружены только у 24 человек (48%). Это определяет необходимость проведения остальным пациентам углубленного генетического обследования, включающего определение полной нуклеотидной последовательности ряда генов, ассоциированных с развитием РМЖ, в том числе BRCA1 и BRCA2. Конечно, эти методы существенно сложнее, дороже и требуют привлечения серьезных материальных ресурсов и высококвалифицированного персонала. К ним относятся классическое секвенирование по Сангеру и метод секвенирования следующего поколения.

Выводы. Наиболее значимым и востребованным в клинической практике на сегодняшний день является диагностика значимых мутаций в генах BRCA1 и BRCA2. Необходимо продолжать изучение типичных для нашего населения мутаций в других генах, ассоциированных с развитием РМЖ, особенно в группе молодых пациенток, так как настоящим исследованием генетическая предрасположенность подтверждена только у каждой третьей пациентки в возрасте до 50 лет. Вместе с тем, организация определения нескольких «основных» мутаций всем пациенткам с РМЖ является реальной задачей для лечебных учреждений областного уровня. Таким образом, значительное количество наследственных РМЖ в нашем регионе может быть выявлено с помощью небольшого числа ПЦР тестов. Применение данного диагностического подхода и профилактической риск-редуцирующей хирургии может способствовать в будущем снижению заболеваемости и смертности от РМЖ в Беларуси.

ЛИТЕРАТУРА

1. Наследственный рак молочной железы: генетическая и клиническая гетерогенность, молекулярная диагностика, хирургическая профилактика / Л. Н. Любченко [и др.] // Успехи молекулярной онкологии. – 2014. – № 2. – С. 17-25.
2. Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case series unselected for family history: a combined analysis of 22 studies / A. Antoniou [et al.] // Am J Hum Genet. – 2003. – Vol. 72, iss. 5. – P. 1170-1130.
3. Risks of breast, ovarian and contralateral breast cancer for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers / K. B. Kuchenbaecker [et al.] // JAMA. – 2017. – Vol. 317, iss. 2 – P. 2402-2416.

4. Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families. The Breast Cancer Linkage Consortium / D. Ford [et al.] // *Am J Hum Genet.* – 1998. – Vol. 62, iss. 3. – P. 676-689.

5. New malignancies among cancer survivors: SEER Cancer Registries, 1973-2000. [Electronic resource] / ed.: R. E. Curtis [et al.]. – National Cancer Institute, 2006. – 492 p. – Mode of access: <http://seer.cancer.gov/archive/publications/mpmono/>. – Date of access: 18.12.2020.

6. Contralateral breast cancer risk in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers / M. K. Graeser [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2009. – Vol. 27, iss. 35. – P. 5887-5892.

7. The contribution of founder mutations in BRCA1 to breast cancer in Belarus / N. Uglanitsa [et al.] // *Clin Genet.* – 2010. – Vol. 78, iss. 4. – 377-380. – doi: 10.1111/j.1399-0004.2010.01439.x.

8. High frequency and allele-specific differences of BRCA1 founder mutations in breast cancer and ovarian cancer patients from Belarus / N. V. Bogdanova [et al.] // *Clin Genet.* – 2010. – Vol. 78 (4). – P. 364-372. – doi: 10.1111/j.1399-0004.2010.01473.x.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ BRCA - АССОЦИИРОВАННОГО РАКА ЯИЧНИКОВ В БЕЛАРУСИ

Савоневич Е. Л.¹, Степура Т. Л.¹, Семеняко И. А.², Ошурик О.³, Гронвальд Я.³

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь¹,

Гродненская университетская клиника, Гродно, Беларусь²,

Международный центр наследственных опухолей, кафедра генетики и патологии, Померанский медицинский университет, Щецин, Польша³

Актуальность. ДНК-диагностика мутаций, ассоциированных с наследственной предрасположенностью к раку яичников и/или раку молочной железы, обеспечивает подтверждение генетической предрасположенности к онкологическим заболеваниям, оценку риска развития онкопатологии у прямых родственников, позволяет определить тактику ведения, возможность профилактики и ранней диагностики. Однократное генетическое тестирование имеет пожизненную информационную ценность. Молекулярная эпидемиология наследственно-обусловленного рака яичников несет черты существенного сходства в различных странах с преимущественно славянским населением. Наиболее значительным и давно известным примером этого феномена является крайне высокая встречаемость «founder»-мутации 5382insC в гене BRCA1 - наиболее частой причины наследственного рака молочной железы и рака яичников в России, Украине, Польше, Чехии и т.д. [1,2]. К числу иных известных повреждений, демонстрирующих «эффект основателя» в славянских странах, относятся ряд мутаций в генах CHEK2, ATM, NBN, BLM, PALB2. Вместе с тем, можно отметить определенные региональные различия внутри группы «славянских» стран. Так, например, высокая встречаемость мута-