

ХАРАКТЕРИСТИКА *BRCA*-АССОЦИИРОВАННОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В РОССИЙСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Е. И. Новикова [✉], Е. А. Кудинова, В. К. Боженко, В. А. Солодкий

Российский научный центр рентгенодиагностики, Москва, Россия

Использование «стандартных» диагностических панелей, дающих возможность определять лишь несколько наиболее распространенных в популяции мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2*, может приводить к появлению ложноотрицательных результатов из-за наличия других повреждений в кодирующих областях данных генов, что, в свою очередь, может привести к неадекватному выбору тактики лечения у больных раком молочной железы (РМЖ). Целью работы было выявить особенности *BRCA*-ассоциированного рака молочной железы в российской популяции. В исследование вошли пациенты с диагнозом РМЖ ($n = 4440$). На первом этапе методом ПЦР в реальном времени проведено скрининговое исследование всех пациентов на наличие восьми наиболее распространенных мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2*. Далее при наличии у пациентов клинических признаков наследственного заболевания (КПНЗ) и отсутствии распространенных мутаций ($n = 290$) проводили исследование всей кодирующей части генов *BRCA1* и *BRCA2* методом секвенирования нового поколения (NGS). В 169 случаях (3,8%) были выявлены «стандартные» мутации в генах *BRCA1* и *BRCA2*. В группе пациентов с КПНЗ частота выявленных «стандартных» мутаций составила 15,4%. Методом NGS у 40 из 290 больных РМЖ (13,8%) были обнаружены 33 редкие патогенные мутации в генах *BRCA1* и *BRCA2*. Сделан вывод, что *BRCA*-ассоциированный РМЖ в российской популяции характеризуется широким спектром патогенных вариантов, который не ограничен мутациями, включенными в «стандартные» клинико-диагностические панели. Анализ всей кодирующей части генов *BRCA1* и *BRCA2* позволяет повысить эффективность выявления герминальных мутаций у больных РМЖ по крайней мере в 2 раза.

Ключевые слова: мутации в генах *BRCA1* и *BRCA2*, секвенирование нового поколения, NGS, наследственный рак молочной железы

Вклад авторов: Е. И. Новикова — сбор клинического материала, проведение молекулярно-генетических исследований, анализ и статистическая обработка результатов, подготовка и написание текста статьи; Е. А. Кудинова — анализ литературы, анализ результатов исследования; В. К. Боженко — анализ результатов, редактирование текста статьи; В. А. Солодкий — планирование и анализ результатов исследования, редактирование текста статьи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом РНЦРР (протокол № 3 от 27 марта 2020 г.); все пациенты, включенные в исследование, подписали добровольное информированное согласие на его проведение.

✉ **Для корреспонденции:** Екатерина Ивановна Новикова
ул. Профсоюзная, д. 86, г. Москва, 117997; e.novikova.ncrr@mail.ru

Статья получена: 02.01.2021 **Статья принята к печати:** 15.02.2021 **Опубликована онлайн:** 22.02.2021

DOI: 10.24075/vrgmu.2021.006

CHARACTERISTICS OF *BRCA*-ASSOCIATED BREAST CANCER IN THE POPULATION OF THE RUSSIAN FEDERATION

Novikova EI [✉], Kudinova EA, Bozhenko VK, Solodkiy VA

Federal State Budgetary Institution Russian Scientific Center of Roentgenradiology (RSCR) of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

"Standard" diagnostic panels allow identification of only a few of *BRCA1* and *BRCA2* gene mutations most common in a population. Therefore, tests relying on such panels may return false negative results, since the coding regions of these genes may have other defects. For breast cancer (BC) patients, false negative test results may translate into selection of inadequate therapy by their doctors. This study aimed to identify the features of *BRCA*-associated breast cancer in the population of the Russian Federation. The study included breast cancer patients ($n = 4440$). At the first stage, all patients were screened for the eight most common *BRCA1* and *BRCA2* genes mutations with the help of real-time PCR. Next, patients that exhibited clinical signs of a hereditary disease (CSHD) in the absence of common mutations ($n = 290$) had the entire coding regions of *BRCA1* and *BRCA2* genes studied with next generation sequencing (NGS). "Standard" mutations in the *BRCA1* and *BRCA2* genes were identified in 169 (3.8%) cases. In the CSHD group, such mutations were revealed in 15.4% of cases. NGS uncovered 33 rare pathogenic *BRCA1* and *BRCA2* gene mutations in 40 out of 290 breast cancer patients (13.8%). It was concluded that among the residents of the Russian Federation, the range of pathogenic variants of *BRCA*-associated breast cancer is wide, and it stretches beyond the mutations considered by the "standard" diagnostic panels. Analysis of the entire coding regions of *BRCA1* and *BRCA2* genes allows increasing efficiency of detection of germline mutations in breast cancer patients at least twofold.

Keywords: *BRCA1* and *BRCA2* mutations, next-generation sequencing, NGS, hereditary breast cancer

Author contribution: Novikova EI — collection of clinical material, conducting molecular genetic studies, analysis and statistical processing of the results, preparation and writing of the article; Kudinova EA — analysis of literature, analysis of the research results; Bozhenko VK — analysis of the results, article text editing; Solodkiy VA — planning and analysis of the research results, article text editing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the ethics committee of the RSCR (minutes #3 of March 27, 2020); all patients included in the study signed a voluntary informed consent.

✉ **Correspondence should be addressed:** Ekaterina I. Novikova
Profsoyuznaya, 86, Moscow, 117997; e.novikova.ncrr@mail.ru

Received: 02.01.2021 **Accepted:** 15.02.2021 **Published online:** 22.02.2021

DOI: 10.24075/brsmu.2021.006

Главными факторами, влияющими на развитие рака молочной железы (РМЖ), являются гормональный статус и генетическая предрасположенность [1].

Большинство всех случаев заболевания приходится на спорадический (ненаследственный) РМЖ. Его отмечают у 90–95% заболевших. Наследственные формы,

характеризующиеся различными мутациями в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *NBN*, *ATM*, *PALB2* и др. [2, 3], выявляют у 5–10% пациентов с диагнозом РМЖ [2].

Наиболее часто наследственный характер РМЖ обусловлен наличием мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2*. Эти гены кодируют белки, которые отвечают за процессы

репарации двуниевых разрывов ДНК, контролируют прохождение клеточного цикла, регулируют транскрипцию и апоптоз, поддерживая геномную стабильность [4]. Повреждения в данных генах увеличивают вероятность развития онкологических заболеваний, большая часть из которых возникает в молодом возрасте [5, 6]. Наличие мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* во многом определяет выбор тактики лечения, а также профилактических мероприятий [7].

В настоящее время в России определение наследственных форм РМЖ осуществляют с помощью «стандартных» диагностических панелей, которые методом ПЦР позволяют быстро и сравнительно недорого обнаружить наиболее характерные для нашей популяции повреждения в генах *BRCA1* и *BRCA2* [8]. Однако ряд проведенных исследований указывает на наличие других клинически значимых мутаций, которые не определяются «стандартной» панелью, но также увеличивают онкологический риск, а, следовательно, их наличие требует специализированного подхода при лечении и профилактике заболеваний [9].

Целью работы было исследовать особенности *BRCA*-ассоциированного РМЖ в российской популяции.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 4440 пациентов, которые проходили обследование и лечение в Российском научном центре рентгенорадиологии с 2010 по 2019 г. Критерий включения: наличие у пациента диагноза РМЖ. Критерий исключения: отказ пациента от участия в исследовании. Возраст манифестации заболевания пациентов варьировал от 20 до 90 лет (табл. 1). Всем пациентам проведено гистологическое исследование тканей опухоли, а также выполнен иммуно-гистохимический анализ (ИГХ) опухолевых образцов. При сборе анамнеза особое внимание уделяли факторам, указывающим на возможный наследственный характер заболевания.

На основании данных анамнеза, согласно рекомендациям Национальной онкологической сети США (NCCN) [7], была сформирована группа повышенного риска (с клиническими признаками наследственного заболевания (КПНЗ)), в которую вошли 1026 больных РМЖ в возрасте 20–90 лет. Пациента включали в группу повышенного риска, если он имел хотя бы один КПНЗ: молодой возраст манифестации заболевания (до 50 лет), наличие первично-множественных опухолей (РМЖ и/или рак яичников (РЯ)), онкологически отягощенный семейный анамнез (РМЖ и/или РЯ у родственников первой и/или второй степени родства), трижды негативный молекулярный подтип опухоли.

На первом этапе исследования у всех 4440 пациентов методом ПЦР в реальном времени (РТ-ПЦР) определяли наличие наиболее распространенных в российской популяции мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2*: 185delAG, 4153delA, 5382insC, 3819delGTA, 3875delGTCT, 300T>G, 2080delA (*BRCA1*) и 6174delT (*BRCA2*). Для выделения ДНК использовали наборы «М-Сорб» («Синтол»; Россия). Постановку РТ-ПЦР проводили с использованием панели реагентов «ОнкоГенетика *BRCA*» («ДНК-Технология»; Россия), включающей специфичные праймеры для детекции восьми исследуемых мутаций.

На втором этапе были обследованы 290 пациентов из группы повышенного риска возникновения РМЖ, из которых не были выявлены «стандартные» мутации на первом этапе исследования. Им проводили анализ

всей кодирующей части генов *BRCA1* и *BRCA2* методом высокопроизводительного секвенирования (NGS).

Геномную ДНК выделяли из периферической крови с использованием реактивов «QIAamp DNA Mini Kit» (Qiagen; Германия) по протоколу производителя. Рабочая концентрация ДНК составляла не менее 10 нг/мкл. Подготовку библиотек для секвенирования проводили по протоколу фирмы-производителя с использованием методики селективного захвата целевых участков ДНК с помощью панели «TruSight Cancer» (Illumina; США) и набора реагентов «TruSight Rapid Capture» (Illumina; США).

Секвенирование подготовленных библиотек проводили на приборе «MiSeq» (Illumina; США) с использованием наборов реагентов «MiSeq Reagent Kits v2» (Illumina; США) методом парно-концевого чтения (2 × 151 пар оснований). Среднее покрытие исследуемых целевых участков ДНК составило не менее 100×.

Обработка полученных после секвенирования данных, осуществленная с помощью стандартного программного обеспечения «MiSeq Reporter v2.5» (Illumina; США), позволила выявить в ряде образцов генетические нарушения в исследуемых регионах. Для снижения вероятности появления ошибок риды с низким качеством прочтения исключали из анализа. Аннотацию и классификацию выявленных генетических вариантов проводили с использованием программного обеспечения «Variant Studio 2.2» (Illumina; США).

Клиническую значимость выявленных генетических нарушений оценивали на основании критериев оценки «патогенности» генетических вариантов, предложенной Американским колледжем медицинской генетики (ACMG) [10], с учетом информации в доступных базах данных: «dbSNP» («The Single Nucleotide Polymorphism database»), «ClinVar» («Clinical Variation»), «HGMD» («Human Gene Mutation Database»), «BIC» («Breast Cancer Information Core»), «OMIM» («Online Mendelian Inheritance in Man»), «ExAC» («Exome Aggregation Consortium»), «1000G» («1000 Genomes Project») и программ предсказания патогенности «CADD» («Combined Annotation Dependent Depletion»), «PolyPhen» («Polymorphism Phenotyping») и «Sift» («Sorting Intolerant from Tolerant»). Генетические варианты, не имеющие клинического значения, а также имеющие неизвестное клиническое значение, в данной работе не рассматривали.

Для верификации выявленных изменений нуклеотидной последовательности использовали метод секвенирования по Сэнгеру. Анализ проводили на автоматическом капиллярном секвенаторе «ABI PRISM 3100» (Applied Biosystems; США).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В общей группе пациентов с установленным диагнозом РМЖ ($n = 4440$) методом РТ-ПЦР у 169 человек, что составило 3,8%, были выявлены мутации, входящие в «стандартные» диагностические панели, в генах *BRCA1* и *BRCA2* (табл. 2). При анализе частоты «стандартных» мутаций в группе пациентов с КПНЗ отмечено, что частота данных генетических изменений в этой группе в 4 раза превысила уровень в общей группе и составила 15,4%. Показано, что наиболее распространенным вариантом была мутация 5382insC в гене *BRCA1*. Частота встречаемости данного варианта в общей группе составила 2,9%, а в группе пациентов с КПНЗ — 11,5%, т. е. он был обнаружен примерно у каждого девятого пациента

Таблица 1. Клиническая характеристика обследованной группы больных РМЖ

Характеристика	Больные РМЖ (n = 4440)
Возраст	
Средний возраст манифестации заболевания, лет	52 (20–90)
До 50 лет, чел. (%)	1332 (30)
51 год и старше, чел. (%)	3108 (70)
Семейный онкологический анамнез	
Отягощен, чел. (%)	533 (12)
Не отягощен, чел. (%)	3907 (88)
Диагноз	
ПМЗН (РМЖ/РМЖ или РМЖ/РЯ), чел. (%)	313 (7)
РМЖ, чел. (%)	4127 (93)
Молекулярный подтип опухоли	
ER(+) и/или PR(+)Her2(-), чел. (%)	2930 (66)
ER(+) и/или PR(+)Her2(+), чел. (%)	888 (20)
ER(-)PR(-)Her2(+), чел. (%)	222 (5)
ER(-)PR(-)Her2(-), чел. (%)	400 (9)
Гистологический тип опухоли	
Инвазивный протоковый РМЖ, чел. (%)	3330 (75)
Инвазивный дольковый РМЖ, чел. (%)	577 (13)
Другие, чел. (%)	533 (12)

Примечание: ПМЗН — первично-множественные злокачественные новообразования.

из группы повышенного риска. Среди выявленных «стандартных» мутаций вариант 5382insC обнаружен в 75% случаев. Остальные генетические варианты из «стандартной» диагностической панели встретились по крайней мере на порядок реже (табл. 2).

Анализ всей кодирующей области, а также регионов сплайсинга генов *BRCA1* и *BRCA2* методом высокопроизводительного секвенирования позволил выявить 33 клинически значимых генетических варианта у 40 из 290 (13,8%) больных РМЖ из группы повышенного риска. В 18 случаях мутации были обнаружены в гене *BRCA1* и представлены девятью вариантами нонсенс-мутаций, тремя вариантами делеций со сдвигом рамки считывания и двумя нарушениями в сайтах сплайсинга. В гене *BRCA2* патогенные варианты нуклеотидной последовательности были обнаружены у 22 пациентов и представляли собой семь вариантов нонсенс-мутаций, восемь вариантов делеций и инсерций со сдвигом рамки считывания и два нарушения в сайтах сплайсинга (табл. 3).

Среди выявленных генетических нарушений наиболее частым вариантом изменения нуклеотидной последовательности была мутация с.3607C>T в гене

BRCA1, обнаруженная в 7,5% случаев (у трех пациентов). Частота в спектре выявленных патогенных вариантов на уровне 5% была обнаружена для мутаций с.4689C>G и с.5224C>T — в гене *BRCA1*, с.1301_1304delAAAG, с.9089_9090insA и с.3283C>T — в гене *BRCA2*.

Частота встречаемости каждого из выявленных методом NGS патогенных вариантов сопоставима с частотой распространенных «стандартных» мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* (статистически значимые различия не обнаружены, $p > 0,05$), за исключением мутации 5382insC в гене *BRCA1*.

Учитывая имеющиеся сведения об особенностях *BRCA*-ассоциированного РМЖ, провели анализ некоторых клинических характеристик пациентов — носителей мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* и морфологических характеристик опухоли (табл. 4). У 94% больных *BRCA1*-ассоциированным и у всех больных *BRCA2*-ассоциированным РМЖ наблюдали один или несколько признаков наследственного заболевания (возраст до 50 лет, онкологически отягощенный семейный анамнез, первично-множественные злокачественные новообразования, трижды негативный молекулярный подтип опухоли). У 6% пациентов клинические признаки наследственного заболевания отсутствовали.

Таблица 2. Частота встречаемости наиболее распространенных в популяции мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* у больных РМЖ

Ген	Название мутации (номенклатура VIC)	Число пациентов с мутацией в обследованной группе, чел.	Частота мутации, %	Число пациентов с мутацией в группе с КПНЗ, чел.	Частота мутации, %
<i>BRCA1</i>	5382insC	127	2,9	118	11,5
<i>BRCA1</i>	4153delA	5	0,1	4	0,4
<i>BRCA1</i>	300T>G	10	0,2	10	1,0
<i>BRCA1</i>	2080delA	8	0,2	8	0,8
<i>BRCA1</i>	185delAG	10	0,2	9	0,9
<i>BRCA1</i>	3819delGTAAA	8	0,2	8	0,8
<i>BRCA1</i>	3875delGTCT	–	–	–	–
<i>BRCA2</i>	6174delT	1	0,02	1	0,1
Всего		169	3,8	158	15,4

Таблица 3. Характеристика и частота редких патогенных вариантов нуклеотидной последовательности в генах *BRCA1* и *BRCA2* в группе больных РМЖ с признаками наследственного заболевания

Ген	Название генетического варианта (номенклатура HGVS)	Идентификационный номер (dbSNP)	Характеристика варианта	Число больных, чел.
<i>BRCA1</i>	c.4327C>T (p.Arg1443Ter)	rs41293455	нонсенс-мутация	1
<i>BRCA1</i>	c.4689C>G (p.Tyr1563Ter)	rs80357433	нонсенс-мутация	2
<i>BRCA1</i>	c.5531-1G>A	rs80358048	мутация в сайте сплайсинга	1
<i>BRCA1</i>	c.3607C>T (p.Arg1203Ter)	rs62625308	нонсенс-мутация	3
<i>BRCA1</i>	c.5224C>T (p.Gln1721Ter)	rs878854957	нонсенс-мутация	2
<i>BRCA1</i>	c.4258C>T (p.Gln1420Ter)	rs80357305	нонсенс-мутация	1
<i>BRCA1</i>	c.1687C>T (p.Gln563Ter)	rs80356898	нонсенс-мутация	1
<i>BRCA1</i>	c.4165_4166delAG (p.Ser1389Terfs)	rs80357572	делеция со сдвигом рамки считывания	1
<i>BRCA1</i>	c.3257T>G (p.Leu1086Ter)	rs80357006	нонсенс-мутация	1
<i>BRCA1</i>	c.5152+1G>T	rs80358094	мутация в сайте сплайсинга	1
<i>BRCA1</i>	c.1510delC (p.Arg504Valfs)	rs80357908	делеция со сдвигом рамки считывания	1
<i>BRCA1</i>	c.83_84delTG (p.Leu28Argfs)	rs80357728	делеция со сдвигом рамки считывания	1
<i>BRCA1</i>	c.5314C>T (p.Arg1772Ter)	rs80357123	нонсенс-мутация	1
<i>BRCA1</i>	c.763G>T (p.Glu255Ter)	rs80357009	нонсенс-мутация	1
<i>BRCA2</i>	8002A>T (p.Arg2668Ter)	rs276174900	нонсенс-мутация	1
<i>BRCA2</i>	6070C>T (p.Gln2024Ter)	rs80358844	нонсенс-мутация	1
<i>BRCA2</i>	c.6997_6998insT (p.Pro2334Thrfs)	rs754611265	инсерция со сдвигом рамки считывания	1
<i>BRCA2</i>	c.3748_3749insA (p.Thr1251Asnfs)	rs397507683	инсерция со сдвигом рамки считывания	1
<i>BRCA2</i>	c.5718_5719delCT (p.Leu1908Argfs)	rs80359530	делеция со сдвигом рамки считывания	1
<i>BRCA2</i>	c.1301_1304delAAAG (p.Lys437Ilefs)	rs80359277	делеция со сдвигом рамки считывания	2
<i>BRCA2</i>	c.9117G>A (p.Pro3039=)	rs28897756	мутация в сайте сплайсинга	1
<i>BRCA2</i>	c.9089_9090insA (p.Thr3033Asnfs)	rs397507419	инсерция со сдвигом рамки считывания	2
<i>BRCA2</i>	c.632-1G>A	rs81002820	мутация в сайте сплайсинга	1
<i>BRCA2</i>	c.4111C>T (p.Gln1371Ter)	rs80358659	нонсенс-мутация	1
<i>BRCA2</i>	c.7254_7255delAG (p.Arg2418Serfs)	rs80359644	делеция со сдвигом рамки считывания	1
<i>BRCA2</i>	c.3881T>A (p.Leu1294Ter)	rs80358632	нонсенс-мутация	1
<i>BRCA2</i>	c.8909G>A (p.Trp2970Ter)	–	нонсенс-мутация	1
<i>BRCA2</i>	c.8168A>G (p.Asp2723Gly)	rs41293513	миссенс-мутация	1
<i>BRCA2</i>	c.5633delA (p.Asn1878ThrfsTer31)	–	делеция со сдвигом рамки считывания	1
<i>BRCA2</i>	c.7007G>A (p.Arg2336His)	rs28897743	миссенс-мутация	1
<i>BRCA2</i>	c.658_659delGT (p.Val220Ilefs)	rs80359604	делеция со сдвигом рамки считывания	1
<i>BRCA2</i>	c.3283C>T (p.Gln1095Ter)	rs397507662	нонсенс-мутация	2
<i>BRCA2</i>	c.8437G>T (p.Gly2813Ter)	–	нонсенс-мутация	1

Сравнение групп пациентов с выявленными мутациями в генах *BRCA1* и *BRCA2* показало, что в группе больных *BRCA1*-ассоциированным РМЖ средний возраст манифестации заболевания составил 42 года (20–82 года), а группа больных *BRCA2*-ассоциированным РМЖ характеризовалась более высоким средним возрастом начала заболевания — 44 года (25–79 лет). При этом в группе носителей мутаций в гене *BRCA2* у 87% пациентов установлена манифестация заболевания в молодом возрасте (до 50 лет), в то время как в группе больных *BRCA1*-ассоциированным РМЖ молодой возраст начала заболевания отмечен в 81% случаев.

Больше половины больных — носителей мутаций в генах *BRCA1* (63%) и *BRCA2* (74%) отметили наличие онкологических заболеваний (РМЖ/РЯ) у кровных родственников. Для носителей мутаций как в гене *BRCA1*, так и в гене *BRCA2* зафиксирована довольно высокая частота первично-множественных злокачественных

новообразований (в 22 и 30% случаев соответственно) (табл. 4).

Результаты исследования показали, что большая часть как *BRCA1*-ассоциированных (91%), так и *BRCA2*-ассоциированных опухолей (61%) относилась к инвазивному протоковому типу РМЖ (табл. 4). Однако при сравнении данных групп было отмечено преобладание инвазивного протокового гистологического типа опухоли у носителей мутаций в гене *BRCA1* (91%) по сравнению с носителями мутаций в гене *BRCA2* (61%) ($p = 0,0003$). Для *BRCA2*-ассоциированных опухолей, напротив, наблюдалось преобладание инвазивного долькового РМЖ (30%) по сравнению с *BRCA1*-ассоциированными опухолями (5%) ($p = 0,0005$).

Современная классификация молекулярных подтипов РМЖ основана на определении с помощью ИГХ уровней экспрессии рецепторов эстрогена (ER), прогестерона (PR) и эпидермального фактора роста (Her2). Данные

Таблица 4. Сравнение *BRCA1*- и *BRCA2*-ассоциированного РМЖ по основным клинико-морфологическим характеристикам

Характеристика	<i>BRCA1</i> -ассоциированный РМЖ (n = 187)	<i>BRCA2</i> -ассоциированный РМЖ (n = 23)
Возраст		
Средний возраст манифестации заболевания, лет	42 (20–82)	44 (25–79)
До 50 лет, чел. (%)	152 (81)	20 (87)
51 год и старше, чел. (%)	35 (19)	3 (13)
Семейный онкологический анамнез		
Отягощен, чел. (%)	118 (63)	17 (74)
Не отягощен, чел. (%)	69 (37)	6 (26)
Диагноз		
ПМЗН (РМЖ/РМЖ или РМЖ/РЯ), чел. (%)	41 (22)	7 (30)
РМЖ, чел. (%)	146 (78)	16 (70)
Молекулярный подтип опухоли		
ER(+) и/или PR(+)Her2(-), чел. (%)	122 (65)	22 (96)*
ER(+) и/или PR(+)Her2(+), чел. (%)	9 (5)	0
ER(-)PR(-)Her2(+), чел. (%)	2 (1)	0
ER(-)PR(-)Her2(-), чел. (%)	54 (29)	1 (4)*
Гистологический тип опухоли		
Инвазивный протоковый РМЖ, чел. (%)	171 (91)	14 (61)*
Инвазивный дольковый РМЖ, чел. (%)	9 (5)	7 (30)*
Другие, чел. (%)	7 (4)	2 (9)
Наличие клинических признаков РМЖ		
С клиническими признаками заболевания, чел. (%)	176 (94)	23 (100)
Без клинических признаков заболевания, чел. (%)	11 (6)	0

Примечание: * — статистически значимые различия с группой больных *BRCA1*-ассоциированным РМЖ ($p < 0,05$); ПМЗН — первично-множественные злокачественные новообразования.

показатели, определенные в баллах, позволяют отнести РМЖ к одному из молекулярных подтипов, что, в свою очередь, во многом определяет тактику лечения и прогноз заболевания. В проведенном исследовании трижды негативный рак молочной железы (ТНРМЖ) был выявлен в 29% случаев (у 54 человек) *BRCA1*-ассоциированного РМЖ и лишь в 4% случаев (у одного человека) *BRCA2*-ассоциированного РМЖ. В настоящем исследовании почти все *BRCA2*-ассоциированные опухоли (96%) относились к люминальному подтипу и характеризовались экспрессией рецепторов эстрогена (ER) и прогестерона (PR) (табл. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты проведенного исследования согласуются с данными ранее опубликованных работ и подтверждают достаточно высокую частоту мутантных вариантов в генах *BRCA1* и *BRCA2* в российской популяции, наиболее распространенным из которых является мутация 5382insC в гене *BRCA1*, встречающаяся на порядок чаще остальных мутаций в данных генах [2, 3, 8]. Данный факт подтверждает предположение о славянском происхождении этого генетического варианта [2].

Среди редких патогенных мутаций, выявленных методом высокопроизводительного секвенирования, наиболее частым вариантом изменения нуклеотидной последовательности была мутация с.3607C>T в гене *BRCA1*. Данный генетический вариант описан в литературе и характеризуется высоким риском развития как РМЖ, так и рака яичника [11, 12].

Проведенный анализ международных и российских публикаций и баз данных показал, что в российских

исследованиях описано лишь несколько из выявленных редких генетических вариантов. Мутация с.3607C>T в гене *BRCA1* описана у пациентки из Санкт-Петербурга с диагнозом РМЖ, семейный анамнез которой онкологически отягощен [13]. Мутации с.5224C>T и с.5314C>T в гене *BRCA1* обнаружены в татарской популяции у пациентов с наследственным РМЖ и РЯ [14]. Мутации с.4689C>G, с.5152+1G>T — в гене *BRCA1*, с.6997_6998insT, с.7254_7255delAG и с.658_659delGT — в гене *BRCA2* были найдены у жителей Сибири и Дальнего Востока с наследственным РМЖ и РЯ [15]. Остальные выявленные методом NGS генетические варианты описаны лишь в зарубежных публикациях и базах данных.

Результаты проведенного исследования подтверждают, что для больных РМЖ — носителей мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* характерно наличие КПНЗ, которые включают: молодой возраст манифестации заболевания (до 50 лет), наличие первично-множественных опухолей (РМЖ и/или РЯ), онкологически отягощенный семейный анамнез (РМЖ и/или РЯ у родственников первой и/или второй степени родства), трижды негативный молекулярный подтип опухоли. Отсутствие КПНЗ у 6% больных с мутациями в гене *BRCA1* может быть связано как с отсутствием у пациента данных об онкологических заболеваниях родственников, так и с возможностью появления этих мутаций *de novo*.

Для группы больных *BRCA2*-ассоциированным РМЖ был характерен более высокий средний возраст начала заболевания (44 года) по сравнению с группой больных РМЖ с мутациями в гене *BRCA1* (42 года), что согласуется с литературными данными. По результатам объединенного исследования, включившего в себя анализ патоморфологических характеристик опухоли и

клинических данных 3797 носителей мутаций в гене *BRCA1* и 2392 носителей мутаций в гене *BRCA2*, медиана возраста манифестации заболевания для *BRCA1*-ассоциированного РМЖ составила 40 лет, для *BRCA2*-ассоциированного РМЖ — 43 года [16].

Полученные в настоящем исследовании данные подтверждают, что большинство *BRCA*-ассоциированных опухолей относится к инвазивному протоковому гистологическому подтипу, однако среди *BRCA2*-ассоциированных опухолей преобладает инвазивный дольковый РМЖ по сравнению с *BRCA1*-ассоциированными опухолями [16].

Для носителей мутаций в гене *BRCA1* показано, что опухоль наиболее часто характеризуется отсутствием экспрессии рецепторов эстрогена (ER), прогестерона (PR) и эпидермального фактора роста (Her2), т. е. относится к ТНРМЖ по сравнению с большими РМЖ без повреждений в данном гене [16, 17]. В проведенном исследовании ТНРМЖ был выявлен в 29% случаев *BRCA1*-ассоциированного РМЖ, что статистически значимо различается с числом случаев ТНРМЖ у пациентов с мутацией в гене *BRCA2*. В настоящем исследовании почти все *BRCA2*-ассоциированные опухоли (96%) относились к

люминальному подтипу и характеризовались экспрессией рецепторов эстрогена (ER) и прогестерона (PR), что также свойственно для спорадического РМЖ [18].

ВЫВОДЫ

Таким образом, *BRCA*-ассоциированный РМЖ в российской популяции характеризуется широким спектром патогенных вариантов, который не ограничен мутациями, включенными в «стандартные» клинико-диагностические панели, подходящие скорее для первичного скрининга. Полученные результаты указывают на необходимость анализа всей кодирующей части генов *BRCA1* и *BRCA2*, что позволит повысить эффективность выявления герминальных мутаций у больных РМЖ по крайней мере в 2 раза. В связи с наличием определенных клинико-морфологических особенностей у *BRCA*-ассоциированного РМЖ в первую очередь такое исследование необходимо проводить пациентам, имеющим ранний возраст развития заболевания (до 50 лет), кровных родственников с онкологическими заболеваниями в анамнезе (РМЖ и РЯ), первично-множественные злокачественные новообразования (РМЖ и РМЖ и/или РЯ), трижды негативный молекулярный подтип опухоли.

Литература

1. Соухами Р. Л., Тобайас Дж. Рак и его лечение. М.: Бином. Лаборатория знаний, 2014; 440 с.
2. Имянитов Е. Н. Наследственный рак молочной железы. Практическая Онкология. 2010; 11 (4): 258–66.
3. Бит-Сава Е. М. Молекулярно-биологическое обоснование лечения *BRCA1*/*CHK2*/*BLM*-ассоциированного и спорадического рака молочной железы [диссертация]. С-П., 2015; 237 с.
4. Gudmundsdottir K, Ashworth A. The roles of *BRCA1* and *BRCA2* and associated proteins in the maintenance of genomic stability. *Oncogene*. 2006; 25 (43): 5864–74.
5. Antoniou A, Pharoah PDP, Narod S, Risch HA, Eyfjord JE, Hopperet JL, et al. 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. *Am J Hum Genet*. 2003; 72: 1117–30.
6. Mavaddat N, Peock S, Frost D, Ellis S, Platte R, Fineberg E, et al. Cancer risks for *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers: results from prospective analysis of EMBRACE. *J Natl Cancer Inst*. 2013; 105: 812–22.
7. Daly MB, Pilarski R, Berry M, Buys SS, Farmer M, Friedman S, et al. NCCN Guidelines Insights: Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast and Ovarian, Version 2.2017. *J Natl Compr Canc Netw*. 2017; 15 (1): 9–20.
8. Батенева Е. И. Новая диагностическая панель для выявления наследственной предрасположенности к развитию рака молочной железы и рака яичников [диссертация]. М., 2015; 125 с.
9. Новикова Е. И., Снигирева Г. П., Солодкий В. А. Редкие мутации в генах *BRCA1* и *BRCA2* у российских больных раком молочной железы. *Медицинская генетика*. 2017; 16 (9): 25–30.
10. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015; 17 (5): 405–24.
11. Friedman LS, Ostermeyer EA, Szabo CI, Dowd P, Lynch ED, Rowell SE, et al. Confirmation of *BRCA1* by analysis of germline mutations linked to breast and ovarian cancer in ten families. *Nat Genet*. 1994; 8: 399–404.
12. Manguoglu AE, Lüleci G, Özçelik T, Colak T, Schayek H, Akaydin M, et al. Germline mutations in the *BRCA1* and *BRCA2* genes in Turkish breast/ovarian cancer patients. 2003; 21 (4): 444–5.
13. Грудина Н. А., Голубков В. И., Тихомирова О. С. и др. Преобладание широко распространенных мутаций в гене *BRCA1* у больных семейными формами рака молочной железы Санкт-Петербурга. *Генетика*. 2005; 41: 405–10.
14. Бровкина О. И., Гордиев М. Г., Еникеев Р. Ф., Дружков М. О., Шигапова Л. Х., Шагимарданова Е. И. и др. Гены системы репарации: популяционные различия наследственных типов рака яичников и молочной железы, выявляемые методом секвенирования нового поколения. *Опухоли женской репродуктивной системы*. 2017; 3 (13): 61–67.
15. Кечин А. А. Разработка и применение метода определения мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* у больных раком молочной железы и раком яичников [диссертация]. Н., 2018; 118 с.
16. Mavaddat N, Barrowdale D, Andrulis IL, Domchek SM, Eccles D, Nevanlinna H, et al. Pathology of breast and ovarian cancers among *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers: results from the Consortium of Investigators of Modifiers of *BRCA1/2* (CIMBA). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2012; 21 (1): 134–47.
17. Любченко Л. Н., Батенева Е. И., Абрамов И. С., Емельянова М. А., Будик Ю. А., Тюляндина А. С. и др. Наследственный рак молочной железы и яичников. Злокачественные опухоли. 2013; (2): 53–61.
18. Lakhani SR, Van De Vijver MJ, Jocelyne Jacquemier J, Anderson TJ, Osin PP, McGuffog L, et al. The pathology of familial breast cancer: predictive value of immunohistochemical markers estrogen receptor, progesterone receptor, HER-2, and p53 in patients with mutations in *BRCA1* and *BRCA2*. *J Clin Oncol*. 2002. 20 (9): 2310–8.

References

1. Souhami RL, Tobajas Dzh. Rak i ego lechenie. M.: Binom. Laboratorija znaniy, 2014; 440 s. Russian.
2. Imyanitov EN. Nasledstvennyj rak molochnoj zhelezy. Prakticheskaja Onkologija. 2010; 11 (4): 258–66. Russian.

3. Bit-Sava EM. Molekuljarno-biologicheskoe obosnovanie lechenija BRCA1/SNEK2/BLM-associirovannogo i sporadicheskogo raka molochnoj zhelezy [dissertacija]. S-P., 2015; 237 s. Russian.
4. Gudmundsdottir K, Ashworth A. The roles of BRCA1 and BRCA2 and associated proteins in the maintenance of genomic stability. *Oncogene*. 2006; 25 (43): 5864–74.
5. Antoniou A, Pharoah PDP, Narod S, Risch HA, Eyfjord JE, Hopperet JL, et al. 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. *Am J Hum Genet*. 2003; 72: 1117–30.
6. Mavaddat N, Peock S, Frost D, Ellis S, Platte R, Fineberg E, et al. Cancer risks for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: results from prospective analysis of EMBRACE. *J Natl Cancer Inst*. 2013; 105: 812–22.
7. Daly MB, Pilarski R, Berry M, Buys SS, Farmer M, Friedman S, et al. NCCN Guidelines Insights: Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast and Ovarian, Version 2.2017. *J Natl Compr Canc Netw*. 2017; 15 (1): 9–20.
8. Bateneva EI. Novaja diagnosticheskaja panel' dlja vyjavlenija nasledstvennoj predraspolozhennosti k razvitiju raka molochnoj zhelezy i raka jaichnikov [dissertacija]. M., 2015; 125 c. Russian.
9. Novikova EI, Snigireva GP, Solodkij VA. Redkie mutacii v genah BRCA1 i BRCA2 u rossijskih bol'nyh rakom molochnoj zhelezy. *Medicinskaja genetika*. 2017; 16 (9): 25–30. Russian.
10. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015; 17 (5): 405–24.
11. Friedman LS, Ostermeyer EA, Szabo CI, Dowd P, Lynch ED, Rowell SE, et al. Confirmation of BRCA1 by analysis of germline mutations linked to breast and ovarian cancer in ten families. *Nat Genet*. 1994; 8: 399–404.
12. Manguoglu AE, Lüleci G, Özçelik T, Colak T, Schayek H, Akaydin M, et al. Germline mutations in the BRCA1 and BRCA2 genes in Turkish breast/ovarian cancer patients. 2003; 21 (4): 444–5.
13. Grudinina NA, Golubkov VI, Tihomirova OS, i dr. Preobladanie shiroko rasprostranennyh mutacij v gene BRCA1 u bol'nyh semejnymi formami raka molochnoj zhelezy Sankt-Peterburga. *Genetika*. 2005; 41: 405–10. Russian.
14. Brovkina OI, Gordiev MG, Enikeev RF, Druzhkov MO, Shigapova LH, Shagimardanova EI, i dr. Geny sistemy reparacii: populjacionnye razlichija nasledstvennyh tipov raka jaichnikov i molochnoj zhelezy, vyjavljaemye metodom sekvenirovanija novogo pokolenija. *Opuholi zhenskoj reproduktivnoj sistemy*. 2017; 3 (13): 61–67. Russian.
15. Kechin AA. Razrabotka i primenenie metoda opredelenija mutacij v genah BRCA1 i BRCA2 u bol'nyh rakom molochnoj zhelezy i rakom jaichnikov [dissertacija]. N., 2018; 118 c. Russian.
16. Mavaddat N, Barrowdale D, Andrulis IL, Domchek SM, Eccles D, Nevanlinna H, et al. Pathology of breast and ovarian cancers among BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: results from the Consortium of Investigators of Modifiers of BRCA1/2 (CIMBA). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2012; 21 (1): 134–47.
17. Ljubchenko LN, Bateneva EI, Abramov IS, Emelyanova MA, Budik YuA, Tjuljandina AS, i dr. Nasledstvennyj rak molochnoj zhelezy i jaichnikov. *Zlokachestvennye opuholi*. 2013; (2): 53–61.
18. Lakhani SR, Van De Vijver MJ, Jocelyne Jacquemier J, Anderson TJ, Osin PP, McGuffog L, et al. The pathology of familial breast cancer: predictive value of immunohistochemical markers estrogen receptor, progesterone receptor, HER-2, and p53 in patients with mutations in BRCA1 and BRCA2. *J Clin Oncol*. 2002. 20 (9): 2310–8.