

# РЕЗУЛЬТАТЫ ГЕНЕТИЧЕСКОГО СКРИНИНГА ГЕРМИНАЛЬНЫХ МУТАЦИЙ В ГЕНАХ *BRCA1* И *BRCA2* У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И БОЛЬНЫХ РАКОМ ЯИЧНИКОВ В РОССИЙСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

**Е.И. Батенева<sup>1,2</sup>, М.Г. Филиппова<sup>1</sup>, А.С. Тюляндина<sup>1</sup>, О.В. Крохина<sup>1</sup>,  
А.В. Семьянихина<sup>1</sup>, А.В. Петровский<sup>1</sup>, Л.Г. Жукова<sup>1</sup>, А.А. Мещеряков<sup>1</sup>,  
К.И. Жордания<sup>1</sup>, В.А. Соболевский<sup>1</sup>, И.К. Воротников<sup>1</sup>, Д.Ю. Трофимов<sup>2</sup>, Л.Н. Любченко<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> ФГБНУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

<sup>2</sup> ЗАО «НПФ ДНК-Технология», Москва

**Цель исследования:** оценить частоты встречаемости двенадцати известных мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* в неотобраных выборках больных раком молочной железы (1 091 человек) и больных раком яичников (302 человека). **Материалы:** цельная периферическая кровь больных раком молочной железы (1 091 человек) и больных раком яичников (302 человека)

**Материалы и методы:** генотипирование проведено методом ПЦР в режиме реального времени с использованием набора «ОнкоГенетика *BRCA*» (расширенная комплектация) (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). Работа тест-систем основана на модифицированном методе «примыкающих проб» (*kissing probes*). Полимеразную цепную реакцию проводили с использованием детектирующего амплификатора ДТпрайм (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия).

**Результаты:** мутации в генах *BRCA1* и *BRCA2* были выявлены у 5,9% больных раком молочной железы и у 20,9% больных раком яичников. Мутация 5382insC в 20 экзоне гена *BRCA1* составила 4,0% от выборки больных раком молочной железы и 11,6% от выборки больных раком яичников. Высокая частота мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* у больных раком яичников подтверждает необходимость тотального генетического скрининга в этой группе.

**Выводы:** анализ на наличие мутаций в генах *BRCA1* 185delAG, 4153delA, 5382insC, Cys61Gly, 2080delA, 3819delGTAAG, 3875delGTCT) и *BRCA2* (6174delT) может быть рекомендован для включения в скрининговые программы по выявлению наследственных случаев рака молочной железы и рака яичников.

**Ключевые слова:** мутация, *BRCA1*, *BRCA2*, рак молочной железы, рак яичников.

## RESULTS OF THE GENETIC TESTING OF GERMLINE MUTATIONS IN GENES *BRCA1* AND *BRCA2* IN PATIENTS WITH BREAST CANCER AND OVARIAN CANCER IN RUSSIAN POPULATION

**E.I. Bateneva<sup>1,2</sup>, M.G. Filippova<sup>1</sup>, A.S. Tyulyandina<sup>1</sup>, O.V. Krokhhina<sup>1</sup>, A.V. Semyanikhina<sup>1</sup>,  
A.V. Petrovskiy<sup>1</sup>, L.G. Zhukova<sup>1</sup>, A.A. Mescheryakov<sup>1</sup>, K.I. Zhordania<sup>1</sup>, V.A. Sobolevskiy<sup>1</sup>,  
I.K. Vorotnikov<sup>1</sup>, D.Yu. Trofimov<sup>2</sup>, L.N. Lyubchenko<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Federal State Budgetary Institution «N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center»  
of the Russian Academy of Medical Sciences

<sup>2</sup> Closed Joint-Stock Company «Research and Production Company DNA-Technology», Moscow

**Objective of the study:** to evaluate the frequencies of occurrence of twelve known mutations in genes *BRCA1* and *BRCA2* in unselected patient populations with breast cancer (1091 people) and ovarian cancer (302 people). **Materials:** whole peripheral blood of patients with breast cancer (1091 people) and patients with ovarian cancer (302 people).

**Materials and Methods:** genotyping was performed through real-time PCR technology using a set «OncoGenetics BRCA» (LLC «Research and Production Company DNA-Technology», Russia). The operation of testing systems is based on a modified technique of «kissing probes». Polymerase chain reaction was performed using a detecting amplifier DTprime (LLC «Research and Production Company DNA-Technology», Russia).

**Results:** mutations in genes *BRCA1* and *BRCA2* were identified in 5,9% of patients with breast cancer and 20,9% of patients with ovarian cancer. Mutation 5382insC in exon 20 of gene *BRCA1* made up 4,0% of patient population with breast cancer and 11,6% of patient population with ovarian cancer. The high frequency of mutation in genes *BRCA1* and *BRCA2* in patients with ovarian cancer confirms the necessity to conduct total genetic testing for this patient group. Conclusions: analysis of mutations in genes *BRCA1* (185delAG, 4153delA, 5382insC, Cys61Gly, 2080delA, 3819delGTAAA, 3875delGTCT) and *BRCA2* (6174delT) can be recommended for inclusion in the screening programs to detect hereditary cases of breast cancer and ovarian cancer.

**Key words:** mutation, *BRCA1*, *BRCA2*, breast cancer, ovarian cancer.

## Введение

Рак молочной железы (РМЖ) и рак яичников (РЯ) представляют собой важную социально-медицинскую проблему в связи с высокой заболеваемостью и смертностью среди женского населения. В России в 2009 году зарегистрированы 54 315 новых больных раком молочной железы, РМЖ занимает лидирующее положение как в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями (ЗНО) женского населения (20,1%), так и в структуре смертности от них (17,4%). Рак яичников (РЯ) находится на седьмом месте среди всех ЗНО у женского населения России (4,9%), в 2009 году зарегистрированы 12 843 новых больных. В структуре смертности женщин от ЗНО рак яичников занимает шестое место (5,7%) [3]. Стадия РМЖ или РЯ становится определяющей для прогноза течения заболевания: чем позже ставится диагноз, тем выше стоимость лечения и ниже его эффективность. Таким образом, для снижения заболеваемости и смертности от РМЖ и РЯ необходимо внедрение в клиническую практику инновационных высокотехнологичных методов ранней, в том числе и доклинической, диагностики этих заболеваний.

Существуют группы повышенного риска в отношении развития рака молочной железы и рака яичников, при этом один из самых важных факторов риска — генетическая предрасположенность. От 5 до 10% случаев РМЖ [4, 20], от 10 до 17% случаев РЯ [6, 16] — наследственные. Наследственные формы РМЖ и РЯ характеризуются аутосомно-доминантным типом наследования с высокой (неполной) пе-

нетрантностью, более ранним (по сравнению со спорадическими формами) возрастом возникновения, передачей как с материнской, так и с отцовской стороны и выраженной генотипической и фенотипической гетерогенностью [4, 6, 18, 24].

В 1994–1995 годах были идентифицированы гены *BRCA1* (MIM 113705) [19] и *BRCA2* (MIM 600185) [25] (от **BR**east **C**ancer **A**ssociated). Гены *BRCA1* и *BRCA2* локализованы на 17-й и 13-й хромосомах соответственно и кодируют белки, участвующие в процессах репарации ДНК. Роль мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* в развитии наследственных форм РМЖ и РЯ — основная, ими обусловлены 30–50% наследственных форм рака молочной железы [12] и 90–95% — рака яичников [16].

Данные о мутациях в генах *BRCA1* и *BRCA2* объединены в Международной базе Breast Cancer Information Core (BIC) [11]. Во многих популяциях наблюдается так называемый эффект основателя («founder» эффект) — преобладание нескольких мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2*, специфичных именно для этой этнической группы [12]. Существование эффекта основателя значительно упрощает генетическое тестирование и делает возможным создание соответствующих скрининговых программ.

Определение спектра мутаций, характерных для популяции, становится первым этапом разработки недорогих тестов для обследования больных РМЖ и/или РЯ и здоровых женщин, находящихся в группе высокого риска (отягощенный семейный анамнез). В российской популяции преобладают мутации в гене

*BRCA1*: они составляют около 80% от общего количества мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2*. В гене *BRCA1* намного чаще встречаются повторяющиеся мутации (эффект основателя), в то время как мутации, идентифицированные в гене *BRCA2* (за исключением 6174delT), уникальны [6, 7]. Соответственно, при формировании панели для первичного генетического скрининга в российской популяции основное место в ней займут мутации в гене *BRCA1*.

Задачей нашего исследования было установление частот встречаемости двенадцати мутаций в генах *BRCA1* (185delAG, 4153delA, 5382insC, 3819delGTAAA, 3875delGTCT, Cys61Gly, 2080delA, 2963del10, 3747insA) и *BRCA2* (6174delT, 1528delAAAA, 9318delAAAA) в масштабных неотобранных выборках больных раком молочной железы и больных раком яичников в российской популяции для формирования оптимальной скрининговой панели, включающей наиболее распространенные мутации в генах *BRCA1* и *BRCA2*.

### Материалы и методы

Исследованы неотобранные выборки больных раком молочной железы (1 091 человек) и раком яичников (302 человека) с гистологически подтвержденным диагнозом РМЖ и РЯ соответственно, наблюдавшихся в ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН в 2010–2012 гг. Перед забором материала (цельная периферическая кровь) у больных было получено информированное согласие на проведение исследования.

Экстракцию ДНК из 100 мкл цельной периферической крови проводили с помощью комплекта реагентов «Проба-ГС-Генетика» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) согласно инструкции производителя.

Генотипирование проведено методом ПЦР в режиме реального времени с использованием набора «ОнкоГенетика BRCA» (расширенная комплектация) (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) согласно инструкции производителя. Работа тест-систем основана на модифицированном методе «примыкающих проб» (kissing probes) [5]. Полимеразную цепную реакцию проводили с использовани-

ем детектирующего амплификатора ДТпрайм (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия).

### Результаты и обсуждение

Мутации в генах *BRCA1* и *BRCA2* были обнаружены у 64 больных раком молочной железы (5,9% от неотобранной выборки, см. табл. 1), что не противоречит опубликованным ранее частотам для российской популяции.

Было проведено выборочное медико-генетическое консультирование больных-носителей мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* (59 человек). У 30 больных из этой группы (50,8%) отмечался семейный рак молочной железы. Случаи других опухолей в анамнезе (не РМЖ, не РЯ) зарегистрированы у 15 пациентов (25,4%). Семейный анамнез не был онкологически отягощен у 11 пробандов (18,6%).

Таким образом, если бы было проведено выборочное тестирование в группе высокого риска по наследственной предрасположенности к РМЖ и/или РЯ, значительная часть носителей мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* была бы пропущена. Этот результат согласуется со сравнительным анализом двух методических подходов для выявления лиц с наследственной предрасположенностью к РМЖ (выборочного тестирования в группах риска и генетического скрининга), проведенным в Белоруссии (неотобранная выборка больных РМЖ, 631 человек). Авторы показали, что при выборочном тестировании точность выявления носителей мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* ниже более чем на 24%, чем при генетическом скрининге [8].

Можно сделать вывод о целесообразности генетического тестирования всех первичных случаев РМЖ, учитывая относительно невысокую стоимость такого исследования в России, как в популяции с выраженным эффектом основателя и небольшим спектром частых мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2*.

Частота обнаружения мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* у больных раком яичников в нашем исследовании была высокой и составила 20,9% от неотобранной выборки (см. табл. 1). Эти данные подтверждают обоснованность генетического скрининга для того, чтобы обнаружить повторяющиеся мутации

в генах *BRCA1* и *BRCA2* у всех больных раком яичников [21].

Преобладала мутация 5382insC (*BRCA1*) — 4,0% от выборки больных раком молочной железы, 11,6% от выборки больных раком яичников (см. табл. 1), это согласуется с данными многочисленных работ отечественных и зарубежных авторов, в которых было показано превалирование мутации 5382insC в гене *BRCA1* в различных регионах Российской Федерации [1, 2, 6, 10, 17, 22, 23].

Семь мутаций — 185delAG, 4153delA, 5382insC, Cys61Gly, 2080delA, 3819delGTAAA в гене *BRCA1* и 6174delT в гене *BRCA2* — были зарегистрированы и у больных раком молочной железы, и у больных раком яичников (см. таблицу 1), каждая из них обнаружена ранее в российской популяции более чем в одном исследовании [1, 2, 6, 9, 13, 14, 17, 22]. Мутация 3875delGTCT в гене *BRCA1* была найдена только у одной больной РМЖ (см. таблицу 1), ее отсутствие в группе больных раком яичников может быть связано с меньшим размером выборки. Мутации 2963del10, 3747insA в гене

*BRCA1* и 1528delAAAA, 9318delAAAA в гене *BRCA2* не были обнаружены. Поскольку в работах, сообщающих об этих мутациях [2, 6, 23], случаи их обнаружения единичны, можно предположить, что они уникальны и для скрининга не значимы.

Итак, один и тот же набор мутаций формирует предрасположенность и к РМЖ, и к РЯ. Спектры мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* при раке молочной железы и раке яичников характеризуются значительным сходством по составу и некоторыми различиями в доле соотношении выявленных мутаций (см. рис. 1). Доля превалирующей мутации 5382insC в гене *BRCA1* при РМЖ выше, чем при РЯ (68,8% vs 55,6%). При раке яичников чаще, чем при раке молочной железы, отмечены мутации Cys61Gly (12,7% vs 6,3%) и 2080delA (11,1% vs 3,1%) в гене *BRCA1*. Высокая частота мутации 2080delA в гене *BRCA1* именно при раке яичников уже была отмечена ранее; было высказано предположение, что она обладает специфическими свойствами, обуславливающими предрасположенность к развитию в основном

Таблица 1

**Частоты мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* в неотобраных выборках больных раком молочной железы и больных раком яичников**

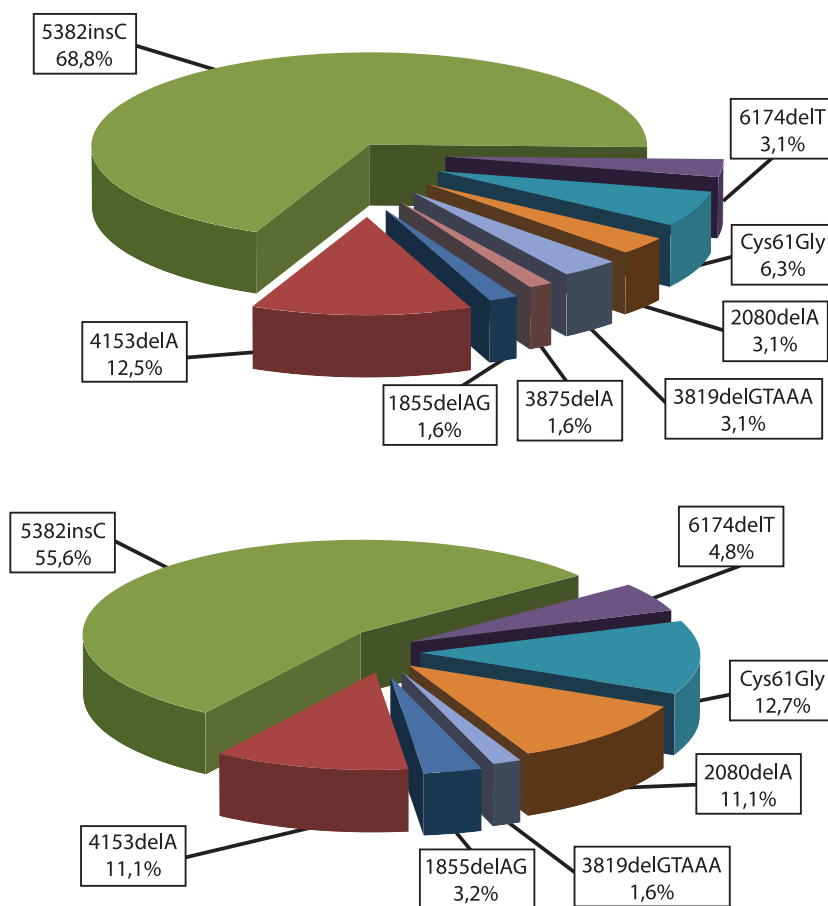
Ген	Тривиальное название мутации и rs-номер	Рак молочной железы (1 091 человек)		Рак яичников (302 человека)	
		Число больных с мутацией	Частота в выборке (%)	Число больных с мутацией	Частота в выборке (%)
<i>BRCA1</i>	185delAG (rs80357713)	1	0,1	2	0,7
	4153delA (rs80357711)	8	0,7	7	2,3
	5382insC (rs80357906)	44	4,0	35	11,6
	3819delGTAAA (rs80357609)	2	0,2	1	0,3
	3875delGTCT (rs80357868)	1	0,1	0	0
	Cys61Gly (rs28897672)	4	0,4	8	2,7
	2080delA (rs80357522)	2	0,2	7	2,3
	3747insA (rs80357729)	0	0	0	0
	2963del10 (rs не определен)	0	0	0	0
<i>BRCA2</i>	6174delT (rs80359550)	2	0,2	3	1,0
	1528delAAAA (rs не определен)	0	0	0	0
	9318delAAAA (rs не определен)	0	0	0	0
Всего	64	5,9	63	20,9	

## Опухоли придатков матки

рака яичников [7]. Аналогичное предположение в отношении мутации 4153delA в гене *BRCA1* [7] в нашем исследовании не подтверждено (12,5% при РМЖ vs 11,1% при РЯ), что согласуется с результатами других авторов [15].

Таким образом, высокая частота мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* у больных раком яичников подтверждает необходимость тотального генетического скрининга в этой группе. Для более полного выявления наследственной предрасположенности к РМЖ также обосновано проведение генетического скрининга всем больным раком молочной железы, учитывая невысокую стоимость генотипирования методом ПЦР в режиме реального времени с применением зарегистрированного в МЗСР РФ оборудования и реагентов отечественного производства. Диагностическую панель, включающую восемь мутаций (185delAG, 4153delA,

5382insC, 3819delGTAAA, 3875delGTCT, Cys61Gly, 2080delA в гене *BRCA1* и 6174delT в гене *BRCA2*), можно рекомендовать в качестве стандартной для первичного генетического скрининга пациентов, направленных на обследование в учреждения здравоохранения для выявления наследственной предрасположенности к раку молочной железы и/или раку яичников и подтверждению генетического диагноза наследственной формы злокачественного новообразования (РМЖ и/или РЯ). Генетический скрининг позволяет идентифицировать большинство случаев наследственных форм у больных раком молочной железы и/или раком яичников с последующей индивидуализацией лечения пациенток и направить усилия на профилактику и раннюю диагностику заболеваний при обнаружении мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* у здоровых женщин.



**Рис. 1.** Спектр обнаруженных мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* у больных раком молочной железы (верхняя диаграмма) и у больных раком яичников (нижняя диаграмма)

## ЛИТЕРАТУРА

1. Батенева Е.И., Мещеряков А.А., Любченко Л.Н. и соавт. Частота одиннадцати мутаций генов *BRCA1* и *BRCA2* в неотобранной выборке больных раком молочной железы россиянок // Уральский Медицинский Журнал. — 2011. — № 3 (81). — С. 69–73.
2. Грудинина Н.А., Голубков В.И., Тихомирова О.С. и соавт. Преобладание широко распространенных мутаций в гене *BRCA1* у больных семейными формами рака молочной железы Санкт-Петербурга // Генетика. — 2005. — № 41(3). — С. 405–10.
3. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2009 году // Вестник РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН. — Т. 22. — № 3(85). — Прил. 1. — 2011. — Июль-сентябрь.
4. Имянитов Е.Н. Наследственный рак молочной железы // Практическая Онкология. — 2010. — № 11(4). — С. 258–66.
5. Кофиади И.А., Ребриков Д.В. Методы детекции однонуклеотидных полиморфизмов: аллель-специфичная ПЦР и гибридизация с олигонуклеотидной пробой // Генетика. — 2006. — № 42(1). — С. 22–32.
6. Любченко Л.Н. Наследственный рак молочной железы и/или яичников: ДНК-диагностика, индивидуальный прогноз, лечение и профилактика [диссертация]. — М.: РОНЦ им.Н.Н.Блохина (РАМН), 2009.
7. Поспехова Н.И. Комплексный анализ наследственной формы рака молочной железы и/или яичников [дисс.]. М.: Медико-генетический научный центр РАМН, 2011.
8. Силин А.Е., Мартинков В.Н., Рожко А.В. и соавт. Выявление наследственной предрасположенности к раку молочной железы: выборочное тестирование или генетический скрининг // Онкологический журнал (Белоруссия). — 2009. — № 4(12). С. 48–56.
9. Федорова О.Е., Любченко Л.Н., Паяниди Ю.Г. и соавт. Использование биочипов при изучении распространенных мутаций в генах *BRCA1/2* и *CHEK2* у больных органоспецифическим раком яичников и первично-множественными злокачественными новообразованиями с поражением яичников (российская популяция) // Молекулярная биология. — 2007. — № 41. — С. 37–42.
10. Часовникова О.Б., Митрофанов Д.В., Демченко Д.О., Сидоров С.В., Францкевич О.З., Коваленко С.П. *BRCA1* и *BRCA2* мутации у больных раком молочной железы в сибирском регионе // Сибирский онкологический журнал. — 2010. № 5. — С. 32–5.
11. Breast Cancer Information Core (BIC), web: [research.nhgri.nih.gov/bic](http://research.nhgri.nih.gov/bic).
12. Ferla R., Calò V., Cascio S. et al. Founder mutations in *BRCA1* and *BRCA2* genes. *Ann Oncol* 2007; 18 (Suppl 6): 93–8.
13. Gayther S.A., Harrington P., Russell P., Kharkevich G., Garkavtseva R.F., Ponder B.A. Frequently occurring germ-line mutations of the *BRCA1* gene in ovarian cancer families from Russia. *Am J Hum Genet* 1997; 60:1239–42.
14. Iyevleva A.G., Suspitsin E.N., Kroeze K. et al. Non-founder *BRCA1* mutations in Russian breast cancer patients. *Cancer Lett* 2010; 298: 258–63.
15. Krylova N.Y., Lobeiko O.S., Sokolenko A.P. et al. *BRCA1* 4153delA founder mutation in Russian ovarian cancer patients. *Hered Cancer Clin Pract*. 2006 Sep 15;4(4):193–6.
16. Lalwani N., Prasad S.R., Vikram R. et al. Histologic, molecular, and cytogenetic features of ovarian cancers: implications for diagnosis and treatment. *Radiographics*. 2011 May-Jun;31(3):625–46.
17. Loginova A.N., Pospekhova N.I., Lyubchenko L.N. et al. Spectrum of mutations in *BRCA1* gene in hereditary forms of breast and ovarian cancer in Russian families. *Bull Exp Biol Med* 2003; 136:276–8.
18. Lynch H.T., Casey M.J., Snyder C.L., et al. Hereditary ovarian carcinoma: heterogeneity, molecular genetics, pathology, and management. *Mol Oncol*. 2009 Apr;3(2):97–137.
19. Miki Y., Swensen J., Shattuck-Eidens D. et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene *BRCA1*. *Science* 1994; 266: 66–71.
20. Newman B., Austin M.A., Lee M., King M.C. Inheritance of human breast cancer: evidence for autosomal dominant transmission in high-risk families. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988 May; 85(9):3044–8.
21. Suspitsin E.N., Sherina N.Y., Ponomariova D.N. et al. High frequency of *BRCA1*, but not *CHEK2* or *NBS1* (*NBN*), founder mutations in Russian ovarian cancer patients. *Hered Cancer Clin Pract*. 2009 Feb 25;7(1):5.
22. Szabo C.I., King M.C. Population genetics of *BRCA1* and *BRCA2*. *Am J Hum Genet* 1997; 60:1013–20.
23. Tereschenko I.V., Basham V.M., Ponder B.A., Pharoah P.D. *BRCA1* and *BRCA2* mutations in Russian familial breast cancer. *Hum Mutat* 2002; 19: 184.
24. Van der Groep P., van der Wall E., van Diest P.J. Pathology of hereditary breast cancer. *Cell Oncol (Dordr)*. 2011 Apr; 34(2):71–88.
25. Wooster R., Bignell G., Lancaster J. et al. Identification of the breast cancer susceptibility gene *BRCA2*. *Nature* 1995; 378:789–92.