

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ ФУНКЦИЙ ГЕНА *BRCA1* ПРИ РАКЕ ЯИЧНИКОВ

Н.П. Киселева, П.М. Абрамов, С.В. Винокурова

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Цель исследования. Провести анализ литературных данных о генетических и эпигенетических нарушениях функций гена-супрессора *BRCA1* в опухолях яичников, о возможностях их использования для диагностики и терапии.

Материалы и методы. Обзор включает анализ статей, представленных в базе данных PubMed.

Результаты. Наличие генетических (мутации) и эпигенетических (гиперметилирование промотора) нарушений гена *BRCA1* является отличительной чертой высокозлокачественных эпителиальных опухолей (взЭО) яичников. Дефицит функций *BRCA1*, возникающий в опухолевой клетке вследствие этих нарушений, сопровождается уменьшением/утратой способности к репарации двухцепочечных разрывов ДНК и генетической нестабильностью. Герминальные мутации *BRCA1* являются фактором предрасположенности к образованию взЭО и предсказательным маркером для их терапии ДНК-повреждающими препаратами. Частота их встречаемости составляет от 9 до 18% всех ЭО и зависит от этнической принадлежности носителей мутаций. Частота встречаемости соматических мутаций и гиперметилирования промотора *BRCA1* составляет 10–12% и 10–15%, соответственно. Данные о возможности использования как соматических мутаций, так и гиперметилирования промотора *BRCA1* в качестве предсказательного маркера для терапии ДНК-повреждающими препаратами спорадических взЭО противоречивы, что связано, по-видимому, с отсутствием унифицированного и корректного способа их определения.

Заключение. Генетические и эпигенетические нарушения гена *BRCA1*, выявляемые молекулярно-биологическими методами, потенциально могут быть использованы в качестве диагностических, прогностических или предсказательных маркеров. Однако обнаруженное в последнее время благодаря новым методам разнообразие мутаций и ужесточение требований к корректному определению уровня гиперметилирования промотора *BRCA1* требуют расширения ДНК-диагностических тестов для полноты выявления *BRCA1*-дефицитных опухолей.

Ключевые слова: высокозлокачественные эпителиальные опухоли яичников, ген *BRCA1*, мутации, гиперметилирование промотора.

GENETIC AND EPIGENETIC DISORDERS OF THE *BRCA1* GENE IN OVARIAN CANCER

N.P. Kiselyova, P.M. Abramov, S.V. Vinokurova

Federal State Budgetary Institution «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology»
of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

Objective of the study is to analyze the literature data on genetic and epigenetic disorders of the *BRCA1* suppressor gene in ovarian tumors, on the possibilities of their use for diagnosis and therapy.

Materials and Methods. The review comprises analysis of the articles presented in PubMed database.

Results. The presence of genetic (mutations) and epigenetic (promoter hypermethylation) disorders of *BRCA1* gene is a distinctive feature of high-grade epithelial ovarian tumors (HGEOC). The deficiency of *BRCA1* functions that occurs in a tumor cell as a consequence of these disorders, is accompanied by a decrease/loss of the ability to repair double-strand DNA breaks and by genetic instability. Germinal *BRCA1* mutations are a risk factor for high-grade epithelial ovarian cancer (HGEOC) formation and a predictive marker for their therapy with DNA-damaging drugs. Their incidence is from 9 to 18% of all epithelial ovarian tumors and depends on the ethnicity of the mutation carriers. The incidence of somatic mutations and *BRCA1* promoter hypermethylation makes up 10-12% and 10-15% respectively. Data on the possibility of using both somatic mutations and *BRCA1* promoter hypermethylation as a predictive marker for the therapy of sporadic high-grade epithelial ovarian tumors (HGEOC) with-DNA-damaging preparations are contradictory, which is apparently associated with the absence of unified and correct method of their determination.

Conclusion. Genetic and epigenetic gene *BRCA1* disorders detected by molecular biology techniques can be potentially used as diagnostic, prognostic or predictive markers. However, diversity of mutations revealed recently due to using of new techniques and stricter and increased requirements for the correct determination of the level of *BRCA1* promoter hypermethylation necessitate the expansion of DNA-diagnostic testing for comprehensive detection for *BRCA1*-deficient tumours.

Keywords: high-grade epithelial ovarian tumors, *BRCA1* gene, mutations, promoter hypermethylation.

Введение

По частоте встречаемости рак яичников (РЯ) занимает 2-е место среди злокачественных новообразований женской репродуктивной системы [1]. Показатели пятилетней выживаемости больных РЯ варьируют от 30 до 50%. При этом следует отметить, что общая выживаемость больных РЯ за последние 40 лет существенно не улучшилась, что связано с выявлением болезни на поздних стадиях ее течения. Сложности ранней диагностики связаны с отсутствием ранних симптомов болезни, с длительным бессимптомным течением, молекулярно-генетической гетерогенностью опухолей, малой чувствительностью опухолево-ассоциированных маркеров на ранних стадиях заболевания и отсутствием эффективных скрининговых программ. В связи с ограниченной информацией о молекулярно-генетических событиях, связанных с ранними стадиями РЯ, механизмы зарождения и развития этого заболевания остаются невыясненными окончательно. В настоящее время известны только некоторые факторы, связанные с повышенным риском развития РЯ: мутации генов *BRCA1/BRCA2*, наличие в семейном анамнезе рака яичников, хроническое воспаление, эндометриоз и т.п.

В обзоре рассматриваются особенности нарушений функций гена *BRCA1* в высокозлокачественных эпителиальных опухолях (взЭО) яичников.

Высокозлокачественные эпителиальные опухоли яичников

Опухоли яичников представляют собой гетерогенную группу новообразований. Около 80% всех новообразований яичников составляют опухоли, развивающиеся из эпителиальных клеток (ЭО). В свою очередь, по типу эпителия различают серозные, муцинозные, эндометриодные, серомуцинозные и светлоклеточные ЭО. В настоящее время выделяют два варианта развития ЭО. Тип I включает низкок злокаче-

ственные опухоли всех перечисленных гистологических типов, характеризующиеся медленным ростом. Ко II типу высокозлокачественных ЭО относятся быстро растущие и прогрессирующие опухоли. Высокок злокачественные агрессивные серозные опухоли составляют около 75% всех ЭО [2, 3].

В последнее время считается, что ЭО II типа представлены не только серозными опухолями, но и эндометриодными, которые могут иметь черты высокозлокачественных новообразований, а также недифференцированными опухолями [2].

ЭО, относящиеся к I типу, обычно обладают низкой пролиферативной активностью, чаще развиваются только в одном из яичников (унилатеральное расположение), редко сопровождаются образованием асцита в брюшной полости, медленно прогрессируют, т.е. отличаются относительно доброкачественным течением болезни. Они чаще обнаруживаются на ранних стадиях. В этом случае прогноз выживаемости для пациентов является благоприятным. Опухоли I типа «ответственны» только за 10% смертности от РЯ. Опухоли II типа обнаруживаются лишь на поздних стадиях, обладают высокой пролиферативной активностью, часто бывают билатеральными, быстро прогрессируют, часто сопровождаются образованием асцита, быстро рецидивируют после лечения, т.е. отличаются агрессивным течением заболевания [2].

Первоначальным основанием для разделения ЭО на два типа послужило различие в предполагаемых предшествующих новообразованиях. Опухоли I типа развиваются из доброкачественных предшественников (цистоаденомы, пограничные опухоли, эндометриоз). Для опухолей II типа не было описано существование доброкачественных предшественников, в связи с чем считалось, что они развиваются *de novo* из поверхностного эпителия яичников. В последнее время было показано, что многие карциномы II типа развиваются из интраэпителиальных

Молекулярно-генетическая характеристика ЭО

Мутации	Тип I	Тип II
	KRAS, BRAF, ERBB2, PTEN, CTNNB1, PIK3CA, ARID1A, PPP2R1A	p53, BRCA 1,2, Bcl-2, HER2/neu, C-kit, дикий тип KRAS, высокий уровень Ki — 67, амплификация гена CCNE1

карцином фаллопиевых труб, возникающих в ресничном отделе последних [4]. Их обозначили как STIC (от англ. Serous tubal intraepithelial carcinomas). STIC муцинозного или эндометриоидного гистологического строения до сих пор обнаружены не были, в связи с чем их считают предшественниками только высокозлокачественных серозных карцином яичников [5]. Эта гипотеза получает как молекулярно-генетические, так и эпидемиологические подтверждения. Показано клональное происхождение мутаций TP53 при одновременном обнаружении у пациентов STIC и серозных опухолей яичников II типа. Установлено также значительное снижение риска возникновения карцином яичников при удалении фаллопиевых труб [6].

Очевидно, что выявление молекулярно-генетических маркеров для разных типов опухолей существенно облегчает их диагностику и терапию. Два типа ЭО существенно различаются по установленным в настоящее время молекулярно-генетическим признакам. Основные молекулярно-генетические отличия двух типов опухолей представлены в табл. 1.

В каждом из двух типов ЭО набор молекулярно-генетических изменений может различаться в разных гистологических подтипах. Типы ЭО различаются по двум главным молекулярно-генетическим характеристикам. Для опухолей I типа не характерно присутствие мутации гена TP53, в них наблюдается относительно невысокая хромосомная нестабильность; опухоли II типа несут мутации гена TP53 в 80% случаев и отличаются высокой хромосомной нестабильностью [7]. Описанные молекулярно-генетические отличия двух типов опухолей также свидетельствуют в пользу их различного происхождения.

Ген BRCA1 в ЭО высокой степени злокачественности

Для высокозлокачественных опухолей характерны мутации в генах BRCA1 и BRCA2

(см. табл. 1). BRCA1 и BRCA2 (от англ. Breast cancer susceptibility gene 1 и 2) были идентифицированы как гены предрасположенности к раку молочной железы (РМЖ) и клонированы из локусов хромосом 17q и 13q, соответственно, которые были часто делецированы у больных семейным РМЖ [8, 9]. Затем было показано, что для носителей герминальных мутаций BRCA1 и BRCA2 существует также риск развития РЯ и с меньшей вероятностью — рака простаты, желудка, поджелудочной железы и колоректального рака [10–12].

Было установлено, что у носителей герминальных мутаций гена BRCA1 вероятность развития РМЖ и РЯ (пенетрантность) составляет 57–65% и 39–40%, соответственно. У носителей герминальных мутаций BRCA2 пенетрантность составляет 45–49% для РМЖ и 11–18% для РЯ [13]. Частота герминальных мутаций гена BRCA1 в различных популяциях здоровых людей варьирует от 1/400 до 1/800, т.е. составляет доли процентов, а мутации BRCA2 встречаются значительно реже, чем BRCA1. Однако среди больных РМЖ и РЯ доля носителей герминальных мутаций BRCA1 составляет уже от 9 до 18% в зависимости от этнической принадлежности носителей мутаций [14, 15].

Носители герминальных мутаций BRCA1/2 всегда наследуют только один мутантный аллель; по-видимому, гомозиготные мутации этих генов летальны. При этом в опухолях таких пациентов аллель дикого типа приобретает либо соматическую мутацию, либо делецирован, что характерно для генов-супрессоров опухолевого роста согласно двухударной модели инактивации супрессоров Кнудсена [16].

После открытия BRCA1/2 как генов предрасположенности к злокачественным опухолям было установлено, что в опухолевых клетках пациентов без наследственной предрасположенности к раку (спорадические ЭО) также происходит нарушение функций этих двух генов за счет соматических мутаций, утраты

одного из аллелей, гиперметилирования промотора гена, сопровождающегося подавлением транскрипции.

Следует отметить, что клиническое значение имеют нарушения функций гена *BRCA1* при РЯ в связи с большей частотой встречаемости его мутаций (10–12%) и гиперметилирования промотора гена (10–15%) по сравнению с геном *BRCA2* (3–4% и доли процентов, соответственно).

Структура и функции гена *BRCA1*. Ген-супрессор опухолевого роста *BRCA1*, картированный на хромосоме 17q, имеет 24 экзона, кодирует белок с молекулярной массой 220 kD, состоящий из 1863 аминокислот (рис. 1) [8]. Уровень его экспрессии в нормальной клетке зависит от клеточного цикла [17]. *BRCA1* — многофункциональный белок, он участвует в репарации двухцепочечных разрывов ДНК, активации транскрипции, контроле клеточного цикла и апоптоза, ремоделировании хроматина [18–22]. Обладая такими функциями, *BRCA1* является одновременно ядерным и цитоплазматическим белком.

Мутации гена *BRCA1*. Большинство мутаций гена *BRCA1*, идентифицированных в опухолевых клетках, являются или точечными мутациями, или небольшими делециями/вставками. Около 80% известных герминальных и соматических мутаций *BRCA1*, обнаруженных в опухолях, приводят к сдвигу открытой рамки считывания белка, к возникновению бессмысленного кодона в рамке считывания, аминокислотным заменам, что сопровождается преждевременным окончанием трансляции (образование укороченного белка), дестабилизацией белка или мРНК [23–25]. Описаны также герминальные мутации гена *BRCA1*, приводящие к нарушению сплайсинга мРНК [26]. С развитием техники секвенирования генома в семьях с предрасположенностью к раку были обнару-

жены также перестройки в гене *BRCA1*, включающие протяженные делеции и дупликации, связанные, по-видимому, с большим количеством Alu-повторов в локусе гена, которые являются горячими точками неравноценной гомологичной рекомбинации [27].

Таким образом, большая часть мутаций *BRCA1* классифицируется как патогенные, они приводят к дефициту функций белка *BRCA1*. Наиболее изученным последствием дефицита функций *BRCA1* в опухолевой клетке является возникновение дефицитного по гомологичной рекомбинации фенотипа (HRD-phenotype, от англ. homologous recombination deficient), характеризующегося геномной нестабильностью. Было показано, что HRD-фенотип у носителей герминальных мутаций сопровождается проявлением геномной нестабильности уже в нормальных эпителиальных тканях, прилегающих к опухоли, т.е. до появления морфологических признаков злокачественной трансформации [28, 29]. Это говорит о том, что дефицит функций *BRCA1* является направляющим канцерогенез событием.

В последнее время с развитием технологий секвенирования описано много мутаций, функциональное значение которых еще неизвестно [30].

Особый вид мутаций представляет потеря гетерозиготности (loss of heterozygosity, LOH). Родительские аллели гена, как правило, содержат идентичные копии гена, но различаются по набору микросателлитных маркеров в локусе гена, что позволяет их идентифицировать при анализе ДНК. Потеря гетерозиготности во многих локусах генома характерна для всех видов рака и, особенно, для опухолей носителей наследственных мутаций в генах-супрессорах. При этом событии утрачивается аллель дикого типа, и опухолевая клетка становится гомозиготной по мутантному аллелю. LOH

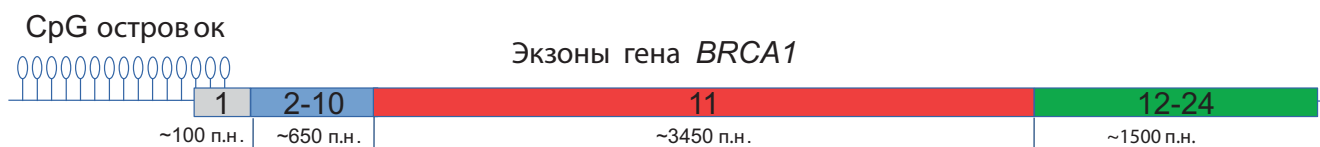


Рис. 1. Схема структуры гена *BRCA1*. Цифры внутри прямоугольников — номера экзонов, цифры под прямоугольниками — размер экзонов в парах нуклеотидов, шарик — индивидуальный CpG-динуклеотид в последовательности ДНК

в локусе *BRCA1* является наиболее частым событием для инактивации аллеля дикого типа в опухолях РЯ носителей герминальных мутаций *BRCA1*. Это событие наблюдается в более чем 90% таких случаев [31]. В спорадических опухолях яичника ЛОН в локусе *BRCA1* наблюдается реже и часто в сочетании с гиперметилированием промотора *BRCA1* в качестве события, инактивирующего другой аллель гена [32].

В настоящее время в клинической практике проводится, как правило, анализ небольшого числа наиболее распространенных мутаций. Наличие 24 экзонов в гене *BRCA1*, распределение мутаций по всему гену без выраженных «горячих точек», широкие вариации типов мутаций (точечные мутации, микроделеции/вставки, реаранжировки, мутации, нарушающие сплайсинг, ЛОН), необходимость исследовать функциональную значимость вновь обнаруженных мутаций в спорадических опухолях осложняют применение мутаций *BRCA1* в качестве диагностических и прогностических маркеров в клинической практике. Очевидно, что исчерпывающий ответ о наличии инактивирующих мутаций в каждом конкретном случае можно получить только с помощью метода массового параллельного секвенирования опухолевой ДНК, который в широкой клинической практике пока не применяется в силу сложности и высокой стоимости.

Гиперметилирование промотора гена *BRCA1*. Наряду с мутациями еще одним механизмом инактивации гена *BRCA1* является гиперметилирование промотора.

Метилирование ДНК играет регуляторную роль в экспрессии генов в клетках млекопитающих. Ферментативное присоединение метильной группы к цитозину в определенной последовательности ДНК (5' CpG 3') является эпигенетической модификацией ДНК. В процессе дифференцировки при идентичном генетическом коде создается уникальный для каждого типа клеток паттерн метилирования ДНК, что позволяет осуществлять программу экспрессии генов, уникальную для каждого типа клеток. При возникновении злокачественных новообразований наблюдаются изменения паттерна метилирования ДНК по сравнению с таковым

в нормальной клетке. Одним из таких изменений является избирательное локальное гиперметилирование CpG-островков, расположенных в 5'-регуляторных областях многих генов-супрессоров опухолей (в нормальных клетках они не метилированы), сопровождающееся инактивацией их транскрипции [33].

Гиперметилирование CpG-островка, расположенного в районе промотора и начала первого экзона гена *BRCA1* (см. рис. 1), приводит к подавлению транскрипции и, следовательно, к дефициту функций белка *BRCA1* в опухолевых клетках. Гиперметилирование промотора *BRCA1* в качестве второго инактивирующего ген события в опухолях носителей герминальных мутаций наблюдается лишь в единичных случаях [34]. Однако гиперметилирование этого района *BRCA1* наблюдается в 10–15% спорадических опухолей яичника [32, 35, 36].

В спорадических опухолях яичников гиперметилирование промотора *BRCA1* часто сочетается с потерей гетерозиготности в локусе *BRCA1* [32]. Потеря гетерозиготности считается маркером дефицита функций гомологичной рекомбинации и обнаруживается почти во всех опухолях с герминальными мутациями *BRCA1*. Можно предполагать, что гиперметилирование промотора *BRCA1* и его эпигенетическая инактивация, так же как мутации *BRCA1*, являются направляющим канцерогенез событием, провоцирующим нестабильность генома. Независимо от того, в результате генетического (мутации) или эпигенетического (гиперметилирование промотора) способа инактивации одного из аллелей гена в качестве события, инактивирующего второй аллель, может выступать потеря гетерозиготности в локусе *BRCA1* как результат дефицита функций *BRCA1* и в том, и другом случае.

Недавно было обнаружено, что в части опухолей больных семейным РМЖ без герминальных мутаций *BRCA1/2* наблюдается гиперметилирование промотора *BRCA1*, коррелирующее с уменьшенным количеством белка в опухолевых клетках [37]. Затем было показано, что гиперметилирование промотора *BRCA1* наблюдается у больных семейным РМЖ в клетках периферической крови, не несущих герминальных мутаций *BRCA1/2* [38]. Наличие гипермети-

лирования промотора *BRCA1* не только в опухоли, но и в нормальной, неэпителиальной ткани говорит о герминальном происхождении эпигенетической инактивации гена. Было показано, что наличие гиперметилированного аллеля *BRCA1* в крови и других нормальных тканях больных РМЖ и РЯ ассоциировано со специфической нуклеотидной заменой в промоторе *BRCA1* в этом аллеле [39]. У таких индивидуумов гиперметилирование промотора предопределено вариацией в последовательности нуклеотидов промотора (полиморфизм), которая может передаваться по наследству, как и герминальные мутации в экзонах гена. В связи с этим анализ гиперметилирования в крови наряду с герминальными мутациями позволит более полно выявлять пациентов, члены семей которых подвержены риску развития РМЖ и РЯ.

У больных со спорадическим серозным РЯ высокой степени злокачественности гиперметилирование промотора *BRCA1* коррелирует с более ранним возрастом появления болезни. Оно может быть определено у относительно молодых пациентов с помощью неинвазивных методов исследования (ДНК опухолевой клетки, присутствующая в сыворотке, плазме) [36, 40].

Таким образом, гиперметилирование промотора *BRCA1* может быть использовано как диагностический маркер для спорадических и части наследственных ЕО.

***BRCA1* как предсказательный маркер.** После установления того факта, что последствием дефицита функций *BRCA1* в опухолевой клетке является возникновение дефицитного по гомологичной рекомбинации фенотипа, была высказана идея, что такие опухоли должны быть более чувствительны к ДНК-повреждающим препаратам, чем нормальные эпителиальные ткани или опухоли без нарушений функций *BRCA1* вследствие утраты способности формировать ДНК-репарационные белковые комплексы, что приводит к остановке клеточного цикла и запуску апоптоза. Действительно, *in vitro* было показано, что клеточные линии карцином молочной железы и яичников с мутациями или гиперметилированием промотора *BRCA1* обладают повышенной чувствительностью к препаратам платины и ингибиторам PARP

[от англ. poly (ADP-ribose) polymerase] по сравнению с клетками, сохранившими функциональный *BRCA1*. PARP — фермент, участвующий в репарации одноцепочечных разрывов ДНК, которая в нормальных клетках происходит без участия гомологичной рекомбинации. При ингибировании PARP и накоплении одноцепочечных разрывов активируется механизм гомологичной рекомбинации [41, 42].

В настоящее время известно, что пациенты-носители опухолей яичников с герминальными мутациями *BRCA1* отличаются от пациентов с опухолями, сохранившими функции гена, большей чувствительностью к химиотерапии ДНК-повреждающими агентами (препараты платины) и к ингибиторам PARP, а также лучшей выживаемостью после химиотерапии [43, 44]. Таким образом, для этого типа опухолей дефицит функций *BRCA1* можно рассматривать как предсказательный и прогностический маркер при терапии препаратами платины и ингибиторами PARP. Данные о том, можно ли использовать как предсказательный маркер наследственное гиперметилирование промотора *BRCA1* у пациентов с семейными опухолями яичников без герминальных мутаций, пока отсутствуют. Для спорадических же опухолей (как яичников, так и молочной железы) существуют противоречивые данные о возможности использования соматических мутаций или гиперметилирования промотора *BRCA1* для предсказания чувствительности к препаратам платины и ингибиторам PARP и прогноза выживаемости пациентов при такой терапии [45]. Особенно противоречивы данные относительно возможностей использования гиперметилирования промотора *BRCA1* как предсказательного маркера. В ряде случаев исследователям не удалось обнаружить преимуществ в терапии ДНК-повреждающими препаратами пациентов с гиперметилированием промотора *BRCA1* [46].

В недавно опубликованном исследовании с использованием метода ксенографтов (пассирование первичных опухолей яичников на мышцах), при котором происходит обогащение операционного материала по неопластическим клеткам, авторам удалось показать, что чувствительностью к ингибиторам PARP обладают ксе-

нографты с гиперметилированием двух аллелей *BRCA1* (гомозиготное гиперметилирование) [47]. При гетерозиготном гиперметилировании (в отсутствии инактивирующих мутаций во втором аллеле) ксенографты были устойчивы к обработке ингибиторами PARP. В клетках таких ксенографтов происходило формирование репарационного комплекса в ответ на повреждающее ДНК воздействие, т.е. еще присутствовал функциональный *BRCA1*. Авторы подчеркивают необходимость точного количественного определения уровня метилирования, наличия инактивирующих мутаций/амплификаций гена и числа неопластических клеток в образце для предсказания чувствительности к ингибиторам PARP и повреждающим ДНК препаратам. Очевидно, что простого определения уровня метилирования *BRCA1*, что представлено в ряде публикаций, недостаточно.

По-видимому, основными причинами противоречивости данных о чувствительности/устойчивости спорадических опухолей яичников к терапии повреждающими ДНК агентами являются: разнообразие использованных методов тестирования уровня метилирования и разная величина порога метилирования, принимаемая как гиперметилирование, гетерогенность исследуемого материала по соотношению опухолевых и нормальных клеток, отсутствие данных об инактивирующих мутациях при гетерозиготном метилировании.

В последнее время появились исследования, в которых показана утрата гиперметилирования промотора *BRCA1* в части рецидивов серозных опухолей яичников высокой степени злокачественности после терапии повреждающими

ДНК препаратами [48, 49]. Исследования были выполнены на парных образцах первичных опухолей до терапии и при рецидивах после терапии. Утрата гиперметилирования *BRCA1* под давлением терапии говорит о том, что именно клетки с гиперметилированием промотора гена были мишенью действия препарата. Эти данные указывают на то, что гиперметилирование промотора *BRCA1* определяет чувствительность клеток к повреждающим ДНК воздействиям и может служить маркером ответа на терапию и на необходимость разработки корректного его определения.

Заключение

Генетические и эпигенетические нарушения гена *BRCA1* в клетках высокозлокачественных эпителиальных опухолей яичников приводят к возникновению дефицита функций гена и, как следствие, дефицитного по гомологичной рекомбинации фенотипа, характерной особенностью которого является генетическая нестабильность. Оба типа нарушений, выявляемые молекулярно-биологическими методами, потенциально могут быть использованы в качестве диагностических, прогностических или предсказательных маркеров. Однако обнаруженное в последнее время благодаря новым методам разнообразие мутаций, а также ужесточение требований к корректному определению уровня гиперметилирования промотора *BRCA1* требуют расширения ДНК-диагностических тестов для полноты выявления *BRCA1*-дефицитных опухолей. Особый интерес представляет введение в практику одновременного выявления мутаций и гиперметилирования промотора *BRCA1* по анализу ДНК.

ЛИТЕРАТУРА

1. Torre L.A., Bray F., Siegel R.L., Ferlay J., Lortet-Tieulent J., Jemal A. Global cancer statistics, 2012 // *CA Cancer J Clin.* 2015;65:87–108.
2. Koshiyama M., Matsumura N., Konishi I. Recent concepts of ovarian carcinogenesis: type I and type II // *Biomed Res Int.* 2014;2014:934261.
3. Kurman R.J., Carcangiu M.L., Herrington C.S., Young R.H. WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs. Fourth Edition // *IARC WHO Classification of Tumours.* 2014;6:307.
4. Weinberger V., Bednarikova M., Cibula D., Zikan M. Serous tubal intraepithelial carcinoma (STIC) — clinical impact and management // *Expert Rev Anticancerther.* 2016;16:1311–1321.
5. Maeda D., Ota S., Takazawa Y., Ohashi K., Mori M., Imamura T., et al. Mucosal carcinoma of the fallopian tube coexists with ovarian cancer of serous subtype only: a study of Japanese cases // *Virchows Arch.* 2010;457:597–608.
6. Falconer H., Yin L., Gronberg H., Altman D. Ovarian cancer risk after salpingectomy: a nationwide population-based study // *J Natl Cancer Inst.* 2015;107:dju410.

7. Salani R K.R., Giuntoli R., Gardner G., Bristow R., Wang T.L., Shih I.M. Assessment of TP53 mutation using purified tissue samples of ovarian serous carcinomas reveals a higher mutation rate than previously reported and does not correlate with drug resistance // *Int J Gynecol Cancer*. 2008;18:487–491.
8. Miki Y., Swensen J., Shattuck-Eidens D., Futreal P.A., Harshman K., Tavtigian S., Liu Q., et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene *BRCA1* // *Science*. 1994;266:66–71.
9. Wooster R., Neuhausen S.L., Mangion J., Quirk Y., Ford D., Collins N., et al. Localization of a breast cancer susceptibility gene, *BRCA2*, to chromosome 13q12–13 // *Science*. 1994;265:2088–2090.
10. Rubin S.C., Benjamin I., Behbakht K., Takahashi H., Morgan M.A., LiVolsi V.A., et al. Clinical and pathological features of ovarian cancer in women with germ-line mutations of *BRCA1* // *N Engl J Med*. 1996;335:1413–1416.
11. Noh J.M., Choi D.H., Baek H., Nam S.J., Lee J.E., Kim J.W., et al. Associations between *BRCA* mutations in high-risk breast cancer patients and familial cancers other than breast or ovary // *J Breast Cancer*. 2012;15:283–287.
12. Risch H.A., McLaughlin J.R., Cole D.E., Rosen B., Bradley L., Kwan E., et al. Prevalence and penetrance of germline *BRCA1* and *BRCA2* mutations in a population series of 649 women with ovarian cancer // *Am J Hum Genet*. 2001;68:700–710.
13. Chen S., Parmigiani G. Meta-analysis of *BRCA1* and *BRCA2* penetrance // *J Clin Oncol*. 2007;25:1329–1333.
14. Suspitsin E.N., Sherina N.Y., Ponomariova D.N., Sokolenko A.P., Iyevleva A.G., Gorodnova T.V., et al. High frequency of *BRCA1*, but not *CHEK2* or *NBS1* (NBN), founder mutations in Russian ovarian cancer patients // *Hered Cancer Clin Pract*. 2009;7:5.
15. Whittemore A.S., Gong G., Itnyre J. Prevalence and contribution of *BRCA1* mutations in breast cancer and ovarian cancer: results from three U.S. population-based case-control studies of ovarian cancer // *Am J Hum Genet*. 1997;60:496–504.
16. Merajver S.D., Frank T.S., Xu J., Pham T.M., Calzone K.A., Bennett-Baker P., Chamberlain J., Boyd J., Garber J.E., Collins F.S., et al. Germline *BRCA1* mutations and loss of the wild-type allele in tumors from families with early onset breast and ovarian cancer // *Clin Cancer Res*. 1995;1:539–544.
17. Chen Y.F.A., Chen C.F., Jones D.C., Chen P.L., Lee W.H. *BRCA1* is a 220-kDa nuclear phosphoprotein that is expressed and phosphorylated in a cell cycle-dependent manner // *Cancer Res*. 1996;56:3168–3172.
18. Bochar D.A., Wang L., Beniya H., Kinev A., Xue Y., Lane W.S., Wang W., Kashanchi F., Shiekhhattar R. *BRCA1* is associated with a human SWI/SNF-related complex: linking chromatin remodeling to breast cancer // *Cell*. 2000;102:257–265.
19. Harkin D.P., Bean J.M., Miklos D., Song Y.H., Truong V.B., Englert C., et al. Induction of GADD45 and JNK/SAPK-dependent apoptosis following inducible expression of *BRCA1* // *Cell*. 1999;97:575–586.
20. Monteiro A.N., August A., Hanafusa H. Evidence for a transcriptional activation function of *BRCA1* C-terminal region // *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996;93:13595–13599.
21. Somasundaram K. Breast cancer gene 1 (*BRCA1*): role in cell cycle regulation and DNA repair—perhaps through transcription // *J Cell Biochem*. 2003;88:1084–1091.
22. Wang R.H., Yu H., Deng C.X. A requirement for breast-cancer-associated gene 1 (*BRCA1*) in the spindle checkpoint // *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004;101:17108–17113.
23. Perrin-Vidoz L., Sinilnikova O.M., Stoppa-Lyonnet D., Lenoir G.M., Mazoyer S. The nonsense-mediated mRNA decay pathway triggers degradation of most *BRCA1* mRNAs bearing premature termination codons // *Hum Mol Genet*. 2002;11:2805–2814.
24. Shattuck-Eidens D., McClure M., Simard J., Labrie F., Narod S., Couch F., Hoskins K., Weber B., Castilla L., Erdos M., et al. A collaborative survey of 80 mutations in the *BRCA1* breast and ovarian cancer susceptibility gene. Implications for presymptomatic testing and screening // *JAMA*. 1995;273:535–541.
25. Williams R.S., Chasman D.I., Hau D.D., Hui B., Lau A.Y., Glover J.N. Detection of protein folding defects caused by *BRCA1*-*BRCT* truncation and missense mutations // *J Biol Chem*. 2003;278:53007–53016.
26. Sanz D.J., Acedo A., Infante M., Duran M., Perez-Cabornero L., Esteban-Cardenosa E., et al. A high proportion of DNA variants of *BRCA1* and *BRCA2* is associated with aberrant splicing in breast/ovarian cancer patients // *Clin Cancer Res*. 2010;16:1957–1967.
27. Mazoyer S. Genomic rearrangements in the *BRCA1* and *BRCA2* genes // *Hum Mutat*. 2005;25:415–422.
28. Tomlinson G.E., Chen T.T., Stastny V.A., Virmani A.K., Spillman M.A., Tonk V., Blum J.L., Schneider N.R., Wistuba I.I., Shay J.W., Minna J.D., Gazdar A.F. Characterization of a breast cancer cell line derived from a germ-line *BRCA1* mutation carrier // *Cancer Res*. 1998;58:3237–3242.
29. Rennstam K., Ringberg A., Cunliffe H.E., Olsson H., Landberg G., Hedenfalk I. Genomic alterations in histopathologically normal breast tissue from *BRCA1* mutation carriers may be caused by *BRCA1* haploinsufficiency // *Genes Chromosomes Cancer*. 2010;49:78–90.
30. Cunningham J.M., Cicek M.S., Larson N.B., Davila J., Wang C., Larson M.C., et al. Clinical characteristics of ovarian cancer classified by *BRCA1*, *BRCA2*, and *RAD51C* status // *Sci Rep*. 2014;4:4026.
31. Maxwell K.N., Wubbenhorst B., Wenz B.M., De Sloover D., Pluta J., Emery L., Barrett A., et al. *BRCA* locus-specific loss of heterozygosity in germline *BRCA1* and *BRCA2* carriers. // *Nat Commun*. 2017;8:319.

32. Esteller M., Silva J.M., Dominguez G., Bonilla F., Matias-Guiu X., Lerma E., et al. Promoter hypermethylation and *BRCA1* inactivation in sporadic breast and ovarian tumors // *J Natl Cancer Inst.* 2000;92:564–569.
33. Kisseljova N.P., Kissel'jov F.L. DNA demethylation and carcinogenesis // *Biochemistry (Moscow)*. 2005;70:743–752.
34. Dworkin A.M., Spearman A.D., Tseng S.Y., Sweet K., Toland A.E. Methylation not a frequent «second hit» in tumors with germline *BRCA* mutations // *Fam Cancer*. 2009;8:339–346.
35. Baldwin R.L., Nemeth E., Tran H., Shvartsman H., Cass I., Narod S., Karlan B.Y. *BRCA1* promoter region hypermethylation in ovarian carcinoma: a population-based study // *Cancer Res.* 2000;60:5329–5333.
36. Ruscito I., Dimitrova D., Vasconcelos I., Gellhaus K., Schwachula T., Bellati F., et al. *BRCA1* gene promoter methylation status in high-grade serous ovarian cancer patients—a study of the tumour Bank ovarian cancer (TOC) and ovarian cancer diagnosis consortium (OVCAD) // *Eur J Cancer*. 2014;50:2090–2098.
37. Tapia T., Smalley S.V., Kohen P., Munoz A., Solis L.M., Corvalan A., Faundez P., Devoto L., Camus M., Alvarez M., Carvallo P. Promoter hypermethylation of *BRCA1* correlates with absence of expression in hereditary breast cancer tumors // *Epigenetics*. 2008;3:157–163.
38. Snell C., Krypuy M., Wong E.M., kConFab investigators, Loughrey M.B., Dobrovic A. *BRCA1* promoter methylation in peripheral blood DNA of mutation negative familial breast cancer patients with a *BRCA1* tumour phenotype // *Breast Cancer Res.* 2008;10:R12.
39. Evans D.G.R., van Veen E.M., Byers H.J., Wallace A.J., Ellingford J.M., Beaman G., et al. A Dominantly Inherited 5' UTR Variant Causing Methylation-Associated Silencing of *BRCA1* as a Cause of Breast and Ovarian Cancer // *Am J Hum Genet.* 2018;103:213–220.
40. Ibanez de Caceres I., Battagli C., Esteller M., Herman J.G., Dulaimi E., Edelson M.I., et al. Tumor cell-specific *BRCA1* and *RASSF1A* hypermethylation in serum, plasma, and peritoneal fluid from ovarian cancer patients // *Cancer Res.* 2004;64:6476–6481.
41. Farmer H., McCabe N., Lord C.J., Tutt A.N., Johnson D.A., Richardson T.B., et al. Targeting the DNA repair defect in *BRCA* mutant cells as a therapeutic strategy // *Nature*. 2005;434:917–921.
42. Stefansson O.A., Villanueva A., Vidal A., Marti L., Esteller M. *BRCA1* epigenetic inactivation predicts sensitivity to platinum-based chemotherapy in breast and ovarian cancer // *Epigenetics*. 2012;7:1225–1229.
43. Alsop K., Fereday S., Meldrum C., deFazio A., Emmanuel C., George J., et al. *BRCA* mutation frequency and patterns of treatment response in *BRCA* mutation-positive women with ovarian cancer: a report from the Australian Ovarian Cancer Study Group // *J Clin Oncol.* 2012;30:2654–2663.
44. Banerjee S., Kaye S.B., Ashworth A. Making the best of PARP inhibitors in ovarian cancer // *Nat Rev Clin Oncol.* 2010;7:508–519.
45. Buller R.E., Shahin M.S., Geisler J.P., Zogg M., De Young B.R., Davis C.S. Failure of *BRCA1* dysfunction to alter ovarian cancer survival // *Clin Cancer Res.* 2002;8:1196–1202.
46. Swisher E.M., Gonzalez R.M., Taniguchi T., Garcia R.L., Walsh T., Goff B.A., Welsh P. Methylation and protein expression of DNA repair genes: association with chemotherapy exposure and survival in sporadic ovarian and peritoneal carcinomas // *Mol Cancer*. 2009;8:48.
47. Kondrashova O., Topp M., Nesic K., Lieschke E., Ho G.Y., Harrell M.I., et al. Methylation of all *BRCA1* copies predicts response to the PARP inhibitor rucaparib in ovarian carcinoma // *Nature Comm.* 2018;9:3970.
48. Patch A.M., Christie E.L., Etemadmoghadam D., Garsed D.W., George J., Fereday S., et al. Whole-genome characterization of chemoresistant ovarian cancer // *Nature*. 2015;521:489–494.
49. Prieske K., Prieske S., Joosse S.A., Trillsch F., Grimm D., Burandt E., et al. Loss of *BRCA1* promoter hypermethylation in recurrent highgrade ovarian cancer // *Oncotarget*. 2017;8:83063–83074.

АВТОРЫ

Киселева Наталья Петровна, кандидат биологических наук, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115418, Москва, Каширское шоссе, 24, e-mail: natalia-kis@yandex.ru

Kisseljova Natalia P., PhD (Biol), «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Healthcare of Russian Federation, 115418, Moscow, Kashirskoye sh., 24, e-mail: natlia-kis@yandex.ru

Абрамов Павел Михайлович, аспирант, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115418, Москва, Каширское шоссе, 24, e-mail: apmlol6@gmail.com

Abramov Pavel M., PhD student, «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Healthcare of Russian Federation, 115418, Moscow, Kashirskoye sh., 24, e-mail: apmlol6@gmail.com

Винокурова Светлана Владимировна, кандидат биологических наук, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115418, Москва, Каширское шоссе, 24, e-mail: vinokourova@mail.ru

Vinokourova Svetlana V., PhD (Biol), «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Healthcare of Russian Federation, 115418, Moscow, Kashirskoye sh., 24, e-mail: vinokourova@mail.ru