

Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства, Москва,
Государственное автономное учреждение здравоохранения «Республиканский клинический онкологический диспансер Министерства Здравоохранения Республики Татарстан», г. Казань.
Казанский (Приволжский) федеральный университет, г.Казань
RIKEN, г.Иокогама, Япония.

Фенотипические особенности наследственных синдромов рака молочной железы и яичников среди татарского этноса

Дружков Максим Олегович
Врач-онколог, кандидат медицинских наук

Бровкина О.И.1, Гордиев М.Г.2, Шигапова Л.Х.3, Дружков М.О.2, Шагимарданова Е.И.3,
Еникеев Р.Ф.2, Ходырев Д.С.1, Гусев О.А.3,4, Никитин А.Г.1

Актуальность проблемы

Наиболее значимые гены, участвующие в развитии рака молочной железы:

BRCA1, BRCA2, ATM, FANCI, FANCL, PALB2, RAD51B, RAD51C, RAD54L, RAD51D, CHEK1, CHEK2, CDK12, BRIP1, PPP2R2A, BARD1, XRCC3, APC, CDH1,

Репарация двухцепочечных разрывов имеет огромное значение для поддержания стабильности генома. Нарушение функциональной активности белков, участвующих в гомологичной рекомбинации ДНК, приводит к риску развития рака молочной железы (РМЖ) и рака яичников (РЯ) .

В механизмах гомологичной рекомбинации задействован ряд генов: MUTYH, из которых ключевую роль играют BRCA1 и BRCA2 [2].

Риск развития рака в течение жизни при наличии мутаций BRCA1 BRCA2

| Рак | Мутация | Кумулятивный риск в течение жизни | Кумулятивный риск в популяции |
|---------------------|--------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| Рак молочной железы | <i>BRCA1</i> | 60–80% | 10% |
| | <i>BRCA2</i> | 55–80% | |
| Рак яичников | <i>BRCA1</i> | 40–50% | 1% |
| | <i>BRCA2</i> | 10–20% | |

- В настоящее время в мире известно более 3000 мутаций в генах BRCA1 и BRCA2. Распространенность мутаций генов BRCA1 и BRCA2 значительно варьирует в зависимости от принадлежности к этническим группам и географическому региону. Особенность спектра мутаций в России заключается в преобладании пяти частых мутаций (5382insC, C61G, 185delAG, 4154delA, 2080delA), которые охватывают до 90% всего спектра.
- С наибольшей частотой у женщин, проживающих в достаточно отдаленных друг от друга регионах России, встречается одна из этих мутаций — 5382insC в экзоне 20 гена BRCA1 (от 68 до 90%). Помимо BRCA1 5382insC, у российских пациентов РМЖ и РЯ наблюдается относительно частая встречаемость мутаций BRCA1 4154delA и BRCA1 185delAG, но почти вся информация, полученная в отношении наследственного РМЖ и РЯ в России, относится к женщинам славянского происхождения.
- Есть основание полагать, что представительницы других этнических групп, населяющих РФ, имеют отличный от славян спектр мутаций в генах BRCA1 и BRCA2, и принятые диагностические процедуры по поиску только распространенных в славянской популяции мутаций могут привести к большому числу ложноотрицательных результатов. Так, в выборке пациентов с диагнозом РМЖ в Республике Башкортостан мутация 5382insC BRCA1 встречается с частотой не более 4%.
- Таким образом, основной задачей данной работы было выявление особенностей распределения частот встречаемости мутаций генов BRCA1 и BRCA2 среди татарских женщин.

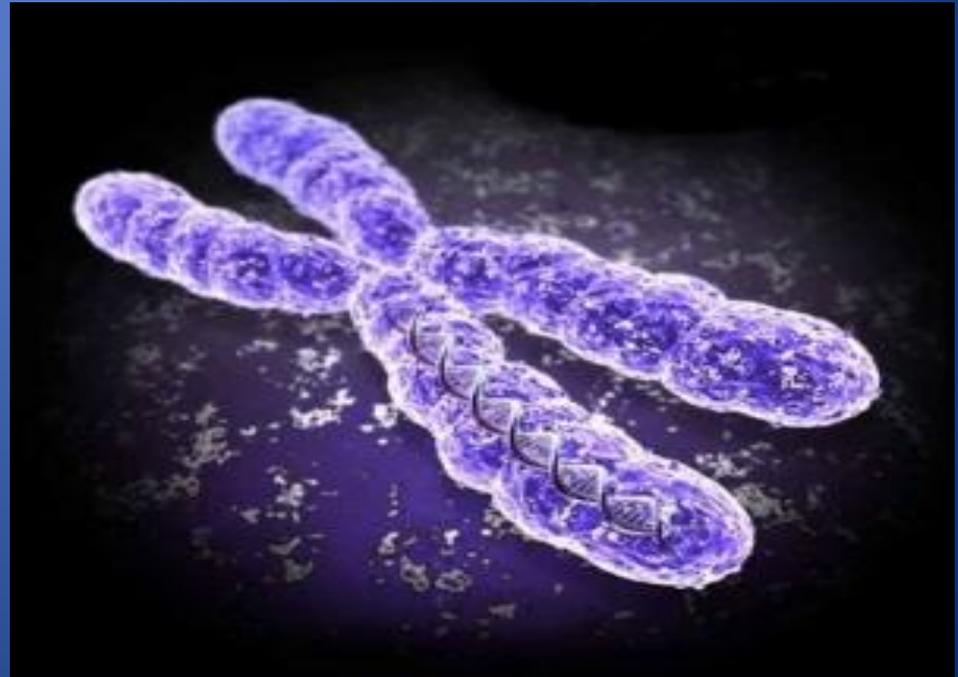
Этноспецифические мутации

Мутации в генах *BRCA1/2* в разных популяциях Европы [36]

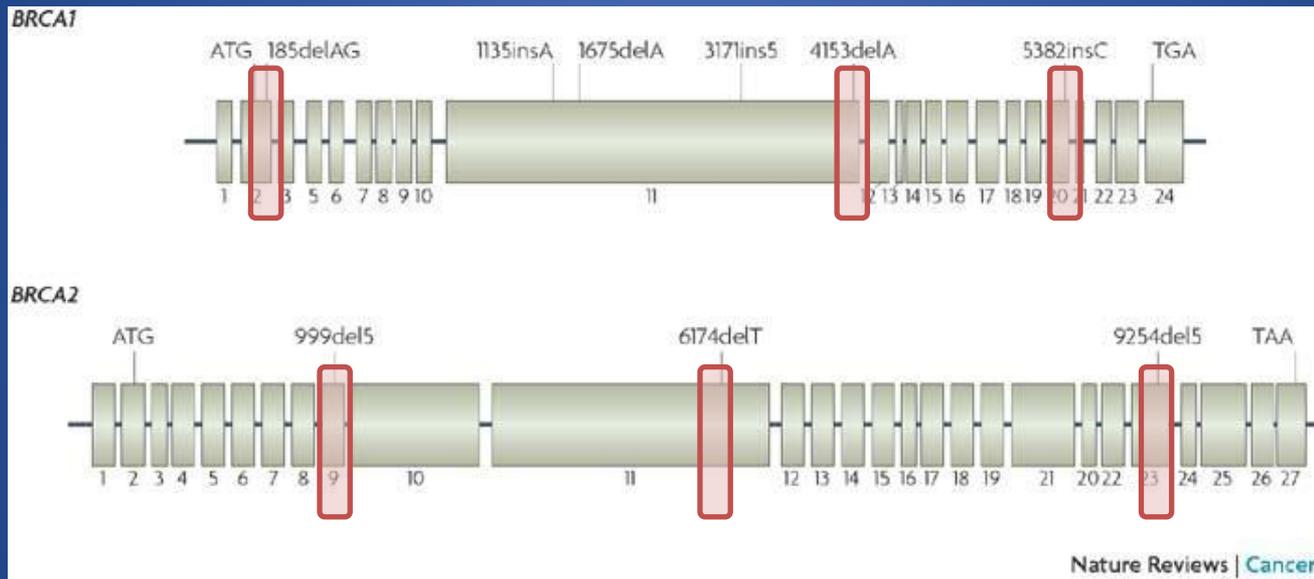
| Популяция | Ген <i>BRCA1</i> | Ген <i>BRCA2</i> | Ген <i>BRCA1/2</i> |
|-------------------|------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|
| Евреи ашкенази | 185delAG 5382insC | 6174delT | 98–99% мутаций в генах <i>BRCA1/2</i> |
| Исландия | | 999del5 | Наибольшее количество мутаций в генах <i>BRCA1/2</i> , 7,9% при раке яичников |
| Россия | 5382insC 185delAG C61G 4154delA 2080delA 2080insA | | Основное количество в гене <i>BRCA1</i> , 94% |
| Польша | 5382insC C61G 4154delA | | 80% мутаций в гене <i>BRCA1/2</i> |
| Германия | 5382insC C61G Del ex 17 | | 66% мутаций в гене <i>BRCA1</i> |
| Венгрия | 5382insC C61G 185delAG | 9326insA 6174delT | 80% мутаций в гене <i>BRCA1</i> и 50% – в гене <i>BRCA2</i> |
| Норвегия | 1675delA 1135insA 816delGT 3347delAG | | 68% из всех мутаций в гене <i>BRCA1</i> являются 1675delA и 1135insA |
| Финляндия | IVS11 3A>G C4446T | 9345 1G>A C7708T T8555G 3604delTT | 84% мутаций в генах <i>BRCA1/2</i> |

Данные РКОД МЗ РТ

- - Обследовано порядка 280 женщин с отягощенным анамнезом на предмет самых распространенных мутаций в гене BRCA;
- - из них изученные мутаций встретились в 4 % (8 женщин), что крайне мало.(стандартная ПЦР панель - 5382ins, 4153delA, T300G, 185delAG)

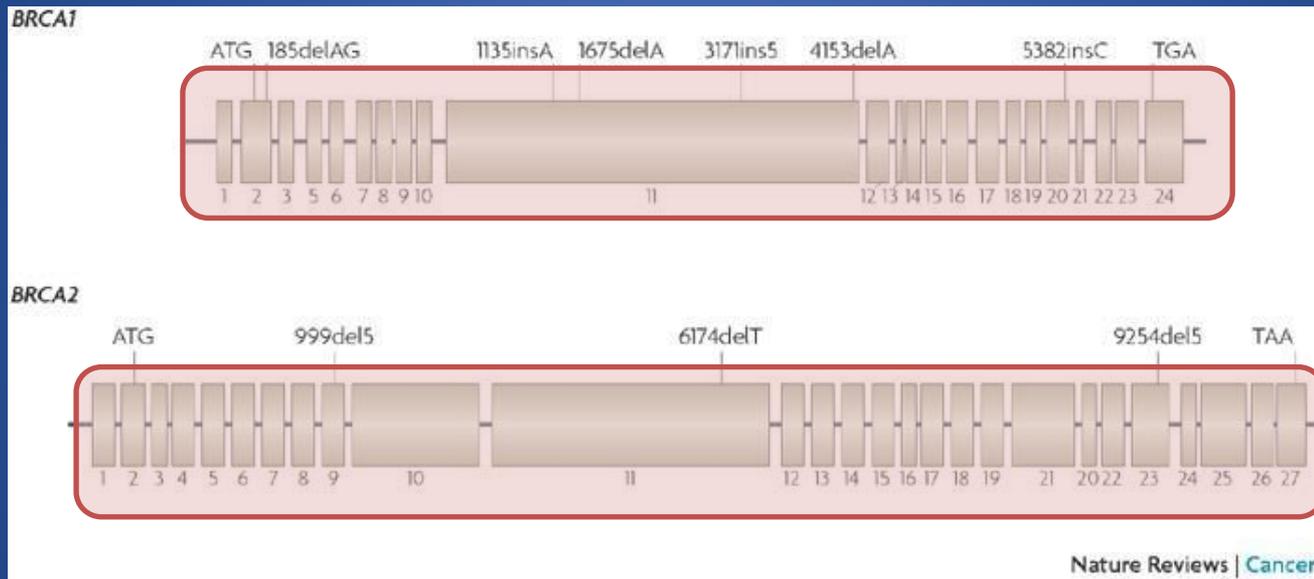


ПЦР-анализ частых мутаций



- Диагностируются 4-10 частых мутаций из более чем 3000 описанных патогенных в базах данных

Полногеномное секвенирование

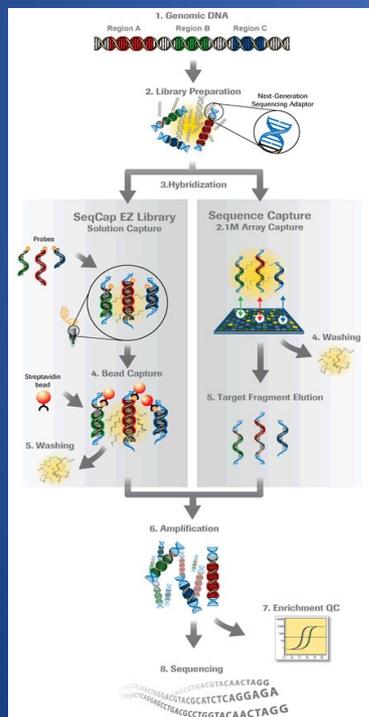


- Диагностируются все мутации в генах BRCA1/BRCA2

Совместное исследование РКОД+ КФУ

(Анализ 56 образцов крови у пациенток с наследственным РМЖ)

Roche Nimblegen



MiSeq



Таблица 1.

Полученные результаты секвенирования 56 образцов пациенток с наследственным РМЖ можно разделить на две группы. К первой группе (описанных в литературе патогенных мутаций) можно отнести выявление 6 мутаций в гене BRCA1 и 5 в гене BRCA2 (таблица 1).

| Ген | Координата | Транскрипт:кДНК | Белок | Количество |
|--------------|----------------|----------------------------|-------------------|------------|
| <i>BRCA2</i> | chr13:32900279 | NM_000059.3:c.468dup | p.Lys157* | 1 |
| <i>BRCA1</i> | chr17:41215382 | NM_007294.3:c.5161C>T | p.Gln1721* | 2 |
| <i>BRCA1</i> | chr17:41209079 | NM_007300.3:c.5329dup | p.Gln1777Profs*74 | 2 |
| <i>BRCA1</i> | chr17:41258504 | NM_007294.3:c.181T>G | p.Cys61Gly | 2 |
| <i>BRCA2</i> | chr13:32907409 | NM_000059.3:c.1796_1800del | p.Ser599* | 1 |
| <i>BRCA2</i> | chr13:32968950 | NM_000059.3:c.9381G>A | p.Trp3127* | 1 |
| <i>BRCA2</i> | chr13:32968836 | NM_000059.3:c.9269del | p.Phe3090Serfs*14 | 1 |
| <i>BRCA2</i> | chr13:32906576 | NM_000059.3:c.965_966dup | p.Val323Lysfs*2 | 1 |

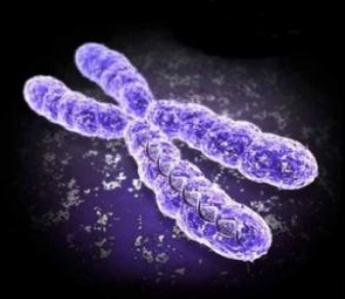
Ко второй группе предположительно патогенных мутаций по данным компьютерного анализа можно отнести 5 мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* (таблица 2).

| Ген | Координата | Транскрипт:кДНК | Белок | Количество |
|--------------|----------------|-------------------------------|--------------|------------|
| <i>BRCA2</i> | chr13:32912181 | NM_000059.3:c.3689C>T | p.Ser1230Phe | 1 |
| <i>BRCA2</i> | chr13:32930673 | NM_000059.3:c.7544C>T | p.Thr2515Ile | 1 |
| <i>BRCA1</i> | chr17:41223048 | NM_007294.3:c.4883T>C | p.Met1628Thr | 1 |
| <i>BRCA2</i> | chr13:32972745 | NM_000059.3:c.10095_10096insT | p.Ser3366* | 1 |
| <i>BRCA2</i> | chr13:32913562 | NM_000059.3:c.5070A>C | p.Lys1690Asn | 1 |

Диагностические шаги по интерпретации данных



(* NOTE: A classification number and classification system used, eg. Class 3 from Plon or IAR. However, in final report to clinician it is recommended to avoid a classification number since different systems may be used in different labs; therefore terms like: neutral, likely neutral, VUS, likely pathogenic, pathogenic should be used instead to avoid misunderstanding. Not all classes are reported (3,4,5)



Данные РКОД МЗ РТ

Больная Ш

Возраст 34года

- Отягощенный наследственный анамнез
- 30.09.2008 – Мастэктомия Дз:Рак молочной железы, pT2N2M0
- Гистология - инфильтрирующая протоковая карцинома молочной железы, высокой степени злокачественности, в 7 л.у мтс са. ИДО Эр0, Пр0, HER2/neu-, Ki67 =80%
- ПЦР панель - мутаций *300T>G*, *2080delA*, *185delAG*, *3875delGTCT*, *3819delGTAAA*, *5382ins,C* *4153delA* не обнаружено
- ПХТ ФАС 6 курсов, ДЛТ СОД 42 Гр
- КТ ОГК 01.09.2009 МТС в л.у средостения
- ПХТ 4курса ТАС со слабopоложительной динамикой
- 20.12.2009 NGS с помощью NimbleGen SepCapEZ Choice («Roche») выявлена мутация в гене BRCA1
- ХТ 6 циклами химиотерапии паклитакселом + препарат платины. Ремиссия до 2015
- 12.11.2015 MRI: MTS in cerebri,

Выводы!

- ! Используя классическую стандартную ПЦР панель, мы бы обнаружили из 8 мутаций только одну !!!!!
- Подтвердилось, что татарской популяции не подходит классическая панель мутации BRCA (в перспективе возможна универсальная панель)
- Необходима дальнейшая работа в этом направлении
- Другие гены репарации (CHEK1, CHEK2, FANCI, FANCL, CDK12 и др.) могут представлять исключительный клинический интерес!

ВЫВОДЫ

- В результате проведенного NGS анализа 56 пациенток с наследственных РМЖ татарской национальности было выявлено 16 мутаций в генах *BRCA1/BRCA2* (28%). Использование только коммерческих ПЦР наборов для определения мутаций в генах *BRCA1, BRCA2* у татарских пациенток приводит к большому количеству ложноотрицательных результатов, поэтому при отсутствии мутаций по результатам ПЦР-анализа рекомендуется проводить для данных пациенток анализ с помощью NGS.

БЛАГОДАРЮ ЗА ВНИМАНИЕ