

Клинико-прогностические особенности *BRCA1/2*-ассоциированного рака молочной железы в зависимости от типа мутации: сигнальный механизм эстрогена и опухоли второй локализации

А.И. Стукань^{1,2}, А.Ю. Горяинова^{1,2}, Р.А. Мурашко^{1,2}, З.К. Хачмамук¹, О.Ю. Чухрай¹, С.Д. Максименко¹, О.А. Гончарова¹, Е.Н. Имянитов³⁻⁵, В.А. Порханов²

¹ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер № 1» Министерства здравоохранения Краснодарского края; Россия, 350040 Краснодар, ул. Димитрова, 146;

²ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет»; Россия, 350063 Краснодар, ул. Митрофана Седина, 4;

³ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России; Россия, 197758 Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68;

⁴ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России; Россия, 194100 Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2;

⁵ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова»; Россия, 191015 Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41

Контакты: Анастасия Игоревна Стукань jolie86@bk.ru

Введение. В настоящее время появляется все больше данных о прогностических и клинических различиях рака молочной железы (РМЖ), ассоциированного с разными типами мутаций *BRCA1/2*. Тройной негативный фенотип опухоли не является абсолютным патогномичным признаком *BRCA1/2*-ассоциированного рака, при котором все чаще выявляются люминальные фенотипы. Кроме того, пристальное внимание уделено значимости сигнального механизма эстрогена в зависимости от суррогатного типа опухоли, в том числе и при тройном негативном фенотипе за счет альтернативных механизмов.

Цель исследования – изучить клиническую значимость мутаций в генах *BRCA1/2* при люминальных подтипах РМЖ и множественном характере опухолевого процесса.

Материалы и методы. В проспективное исследование, проводимое на базе ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер № 1» г. Краснодара, включено 443 больных РМЖ, которым выполнен генетический анализ статуса генов *BRCA1/2* методом полимеразной цепной реакции в реальном времени. При люминальных фенотипах РМЖ и множественном опухолевом процессе гистологический материал и кровь отправлялись в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России для оценки мутационного статуса генов *BRCA1/2*, *ATM*, *CHEK2*, *NBS1*, *PALB2* методом секвенирования следующего поколения (NGS). Статистический анализ корреляций клинико-морфологических параметров с мутационным статусом выполняли с использованием статистического пакета IBM SPSS Statistics v.22.

Результаты. При промежуточном анализе данных в апреле 2022 г. из 304 больных РМЖ, протестированных методом ПЦР в ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер № 1», обнаружен 71 пациент – носитель мутаций гена *BRCA1*. Методом NGS выявлено 20 дополнительных мутаций гена *BRCA1/2*: 11 мутаций *BRCA1* и 9 мутаций *BRCA2*. Также мутация *PALB2* была обнаружена у 1 пациента, мутация *NBS1* – у 3, мутация *CHEK2* – у 2, мутация *ATM* – у 2 пациентов. Мутации *BRCA1/2* выявлены у 91 пациента с РМЖ, 21 случай люминального фенотипа отмечен при герминальных мутациях (ГМ) *BRCA1*, 9 – при ГМ *BRCA2*. Медиана возраста заболевания РМЖ не различалась у носителей ГМ *BRCA1* и *BRCA2* (42 года против 40 лет, $p > 0,05$). Мутации *BRCA1* связаны со степенью дифференцировки G₃, мутации *BRCA2* – с G₂ ($p < 0,001$). Для *BRCA2*-мутации характерен люминальный фенотип опухоли ($p < 0,001$). Не выявлено связи мутаций генов *BRCA1/2* со статусами T и N ($p > 0,005$). Из 91 случая *BRCA*-дефицитных опухолей первично-множественный рак имели 30 (33 %) пациентов: 27 (90 %) с ГМ *BRCA1* и 3 (10 %) с ГМ *BRCA2*. Контралатеральный РМЖ при наличии ГМ *BRCA1* выявлен у 14 больных. Частота выявления первично-множественного рака и контралатерального РМЖ не зависела от типа мутаций *BRCA1/2* ($p > 0,005$).

Заключение. При первичной множественности опухолевого процесса и люминальном подтипе опухоли определения мутаций методом полимеразной цепной реакции в реальном времени явно недостаточно. Очевидно, что методом NGS можно выявить дополнительные патогенные мутации, прогнозирующие клиническое течение, свидетельствующие

о возможности персонализации терапии и необходимости тестирования родственников, в том числе при люминальном фенотипе и опухолях нескольких локализаций.

Ключевые слова: рак молочной железы, *BRCA1/2*-мутации, полимеразная цепная реакция, секвенирование следующего поколения, первично-множественный опухолевый процесс, опухоли второй локализации, люминальный фенотип, тройной негативный фенотип

Для цитирования: Стукань А.И., Горьяинова А.Ю., Мурашко Р.А. и др. Клинико-прогностические особенности *BRCA1/2*-ассоциированного рака молочной железы в зависимости от типа мутации: сигнальный механизм эстрогена и опухоли второй локализации. Опухоли женской репродуктивной системы 2022;18(2):40–52. DOI: 10.1765/1994-4098-2022-18-2-40-52

Clinical and prognostic characteristics of *BRCA1/2*-associated breast cancer depending on the type of mutation: estrogen signaling pathway and secondary tumors

A.I. Stukan^{1,2}, A. Yu. Goryainova^{1,2}, R.A. Murashko^{1,2}, Z.K. Khachmamuk¹, O. Yu. Chukhray¹, S.D. Maksimenko¹, O.A. Goncharova¹, E.N. Imyanitor^{3–5}, V.A. Porkhanov²

¹Clinical Oncology Dispensary No. 1, Ministry of Health of Krasnodar Region; 146 Dimitrova St., Krasnodar 350040, Russia;

²Kuban State Medical University; 4 Mitrofana Sedina St., Krasnodar 350063, Russia;

³N.N. Petrov Research Institute of Oncology, Ministry of Health of Russia; 68 Leningradskaya St., Pesochnyy Settlement, Saint Petersburg 197758, Russia;

⁴Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Ministry of Health of Russia; 2 Litovskaya St., Saint Petersburg 194100, Russia

⁵I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, Ministry of Health of Russia; 41 Kirochnaya St., Saint Petersburg 191015, Russia

Contacts: Anastasiya Igorevna Stukan jolie86@bk.ru

Background. Currently, there is growth evidence on prognostic and clinical differences in breast cancer (BC) associated with different types of *BRCA1/2* mutations. At the same time, a triple negative tumor phenotype is not an absolute pathognomonic sign of *BRCA1/2*-associated cancer, where luminal phenotypes are being detected increasingly. In addition, attention is paid to the significance of estrogen signaling mechanism depending on the surrogate tumor type, including a triple negative phenotype due to alternative mechanisms.

Objective: to evaluate significance of *BRCA1/2*-mutations in luminal BC subtypes and multiple tumors.

Materials and methods. A prospective study conducted in Clinical Oncology Dispensary No. 1 in Krasnodar included 443 patients with breast cancer who underwent a genetic analysis on *BRCA1/2* genes status by real-time polymerase chain reaction. In diagnostic cases of luminal phenotype and multiple cancers histological material and blood were sent to the N.N. Petrov Research Institute of Oncology of Ministry of Health of Russia to assess the mutation status of the *BRCA1/2*, *ATM*, *CHEK2*, *NBS1*, *PALB2* genes by next-generation sequencing (NGS). Statistical analysis of clinical and morphological parameters correlated with mutational status was performed using the IBM SPSS Statistics v.22 statistical package.

Results. An interim analysis of data in April 2022 showed that 71 out of 304 breast cancer patients tested by polymerase chain reaction were found to be carriers of *BRCA1* gene mutations. NGS method revealed 20 additional mutations of the *BRCA1/2* genes: 11 *BRCA1* mutations and 9 *BRCA2* mutations. *PALB2* mutation was also detected in 1 patient, *NBS1* mutation – in 3, *CHEK2* mutation – in 2, *ATM* mutation – in 2 patients. Out of 91 *BRCA1/2*-associated breast cancer 21 *BRCA1*-mutated tumors and 9 tumors with *BRCA2*-mutation demonstrated luminal phenotypes. The median age of breast cancer disease did not differ in *BRCA1*- and *BRCA2*-carriers (42 years versus 40 years, $p > 0.05$). *BRCA1* mutations are associated with poor differentiation (G_3), *BRCA2* mutations are associated with G_2 ($p < 0.001$). The *BRCA2* mutation is characterized by a luminal tumor phenotype ($p < 0.001$). There was no association of *BRCA1/BRCA2* gene mutations with T and N status ($p > 0.05$). Of the 91 cases of *BRCA*-deficient tumors, 30 (33 %) patients had primary multiple cancer: 27 (90 %) with germinal mutation *BRCA1* and 3 (10 %) with germinal mutation *BRCA2*. Contralateral breast cancer in the presence of germinal mutation *BRCA1* was detected in 14 patients. The frequency of primary multiple cancer and contralateral breast cancer detection did not depend on the type of *BRCA1/2* mutations ($p > 0.05$).

Conclusion. With the primary multiplicity of the tumor process and the luminal subtype of the tumor, the determination of mutations by polymerase chain reaction in real time is clearly insufficient. It is obvious that the NGS method can identify additional pathogenic mutations that predict the clinical course and indicate the possibility of personalizing therapy and the need to test relatives, including tumors with luminal phenotype and tumors of several localizations.

Key words: breast cancer, *BRCA1/2*-mutations, polymerase chain reaction, next generation sequencing, multiple tumors, luminal phenotype, triple negative phenotype

For citation: Stukan A.I., Goryainova A.Yu., Murashko R.A. et al. Clinical and prognostic characteristics of *BRCA1/2*-associated breast cancer depending on the type of mutation: estrogen signaling pathway and secondary tumors. Opukholy zhenskoy reproduktivnoy systemy = Tumors of female reproductive system 2022;18(2):40–52. (In Russ.). DOI: 10.1765/1994-4098-2022-18-2-40-52

Введение

В настоящее время рак молочной железы (PMЖ) с положительным рецепторным статусом вне зависимости от статуса мутаций *BRCA1/2* принято считать заболеванием с благоприятным прогнозом, позволяющим отказаться от адъювантной химиотерапии с назначением адъювантной гормонотерапии. Однако данные исследований свидетельствуют о том, что положительные по эстрогеновым рецепторам (ЭР) носители мутаций *BRCA1/2* имеют крайне неблагоприятный прогноз. Поэтому целесообразно рассматривать этих пациентов как группу высокого риска рецидива и смерти от заболевания. Установлено, что прогноз у данных пациентов хуже, чем у больных ЭР-отрицательным PMЖ без мутации. При этом для носителей мутаций *BRCA1/2* с ЭР-отрицательным PMЖ прогноз сопоставим с таковым при ЭР-положительном заболевании у пожилых пациентов без мутаций, что справедливо даже для ранней манифестации PMЖ. Становится очевидным, что определение статуса мутаций генов *BRCA1/2* крайне важно на этапе планирования тактики лечения, в том числе и для выбора стратегии адъювантной терапии.

Прогностические особенности PMЖ у носителей мутаций *BRCA1/2* в зависимости от рецепторного статуса. Большинство пациентов с *BRCA1*-ассоциированным PMЖ демонстрируют типичные гистологические характеристики: низкую степень дифференцировки и тройной негативный подтип. Патогистологические характеристики PMЖ у носителей мутаций *BRCA2* менее патогномоничны, но зачастую выявляются экспрессия ЭР и отсутствие экспрессии HER2/neu, что объединяет этих пациентов с больными, имеющими спорадические опухоли [1–5]. Данные о прогнозе PMЖ у носителей мутаций *BRCA1/2* противоречивы: в одних исследованиях демонстрируется худший прогноз или схожий с прогнозом больных спорадическим раком [6–8]. В метаанализе у больных PMЖ — носителей герминальных мутаций (ГМ) *BRCA1/2* в сравнении с больными PMЖ без мутации не показано различий в показателях выживаемости [6]. Проспективное исследование POSH с включением 2733 молодых пациентов с PMЖ не выявило различий в общей выживаемости (ОВ) у 338 носителей мутаций *BRCA1* и *BRCA2*. В исследовании POSH 23 наблюдалось 137 женщин с мутацией *BRCA2* и лишь 21 из них имела ЭР-отрицательный статус. Обнаружено, что *BRCA2*-положительный статус не оказывал негативного влияния на выживаемость, но не оценено влияние ЭР-статуса на прогноз в *BRCA2*-положительной подгруппе. Кроме того, в исследовании 558 больных трижды негативным раком молочной железы (ТНРМЖ), в том числе и носителей мутаций *BRCA1/2*, имели лучшие показатели ОВ через 2 года наблюдения (95 % против 91 %; отношение рисков (ОР) 0,59; 95 % доверительный интервал

(ДИ) 0,35–0,99), но в дальнейшем преимущество невеликовало [9]. М. Voska и соавт. выявили незначительное ухудшение бессобытийной выживаемости и ракоспецифичной выживаемости у носителей мутаций *BRCA1/2* по сравнению с пациентами без мутаций, однако разница составила <10 % через 10 лет и была значима только для ракоспецифичной выживаемости (ОР 1,65; 95 % ДИ 1,01–2,70) [7]. В метаанализе Z. Varetta и соавт. показано снижение показателя ракоспецифичной выживаемости (ОР 1,42; 95 % ДИ 1,05–1,92) у носителей мутаций *BRCA1/2* [8]. Метаанализ, проведенный A.J. van den Broek и соавт., выявил незначительную тенденцию к ухудшению выживаемости у носителей мутаций *BRCA1/2* [6]. Однако E.R. Copson и соавт. не показали существенных различий в ОВ для носителей мутаций *BRCA1/2* [9]. Тем не менее все же есть данные о том, что молодые больные ТНРМЖ — носители мутации *BRCA1* имеют неблагоприятный прогноз [10–13]. Это указывает на возможные различия во влиянии статуса гормональных рецепторов, сигнального механизма эстрогена или возраста на прогноз PMЖ у носителей мутаций *BRCA1/2*. Так, выявлена обратная зависимость между статусом ЭР и возрастом в этих 2 группах в однофакторных анализах. Риск рецидива заболевания был выше в случае отсутствия экспрессии ЭР, более молодого возраста пациенток или пременопаузального статуса, в случае отсутствия мутаций. Схожие результаты продемонстрировали больные ЭР-положительным PMЖ — носители мутаций *BRCA1/2*, у которых частота рецидива заболевания была в 2,3 раза выше, чем у больных ЭР-положительным PMЖ без мутации (38,2 % против 6,6 %; $p < 0,001$). Носители мутаций *BRCA1/2* с ЭР-положительным PMЖ также имели в 3,4 раза более высокий риск смерти по сравнению с больными ЭР-положительным PMЖ без мутации (21,7 % против 6,3 %; $p < 0,001$) [7]. Прогноз для больных ТНРМЖ с мутациями *BRCA1/2* сопоставим с прогнозом у больных ЭР-положительным PMЖ. Более низкие показатели выживаемости больных ЭР-положительным PMЖ также были отмечены в исследовании POSH у носителей мутации *BRCA1* (ОР 1,96; 95 % ДИ 1,41–2,71) и носителей мутации *BRCA2* (ОР 2,24; 95 % ДИ 1,56–3,22) через 10 лет наблюдения [9].

ЭР-положительный статус PMЖ при *BRCA2*-мутации в исследовании М. Voska и соавт. был более значимо связан с плохим прогнозом, чем ЭР-положительный статус у больных с мутацией *BRCA1*. В исландском исследовании J.G. Jonasson и соавт. было показано снижение ракоспецифичной выживаемости у пациентов с PMЖ — носителей мутации *BRCA2999del5* (ОР 1,61; 95 % ДИ 1,11–2,35), которая выявлялась чаще у больных ЭР-положительным PMЖ (ОР 1,92; 95 % ДИ 1,20–3,05) [5]. М.К. Schmidt и соавт. в Голландии выявили снижение ОВ у больных ЭР-положительным

РМЖ именно с мутациями *BRCA2* (ОР 2,04; 95 % ДИ 1,22–3,39) [4]. Данные исследования К. Metcalfe и соавт. также говорят о низких показателях выживаемости у больных ЭР-положительным РМЖ с мутацией *BRCA2*. Для больных ЭР-положительным и ЭР-отрицательным РМЖ 20-летняя выживаемость составила 62,2 и 83,7 % соответственно ($p = 0,03$) [14]. Таким образом, данные о прогностической роли рецепторного статуса у больных РМЖ — носителей мутаций *BRCA1/2* и в случае отсутствия мутации различны. Е.Н. Lips и соавт. показали, что ЭР-положительные опухоли у носителей мутаций *BRCA1* и *BRCA2* имеют схожие специфические геномные профили соматических изменений числа копий генов ДНК, которые отличаются от профилей больных с ЭР-положительным спорадическим РМЖ и носителей мутаций *BRCA1* с ЭР-отрицательным РМЖ [15]. Весьма показательны данные Р.Д. Shah и соавт., которые проанализировали значимость предиктивной панели OncotypeDX у носителей мутаций *BRCA1/2* при ЭР-положительных опухолях. Именно в этой группе часто выявлялись пациенты с высоким риском рецидива, которым показана адъювантная химиотерапия [16].

Классический и альтернативный пути активации сигнального механизма эстрадиола при *BRCA1/2*-ассоциированном канцерогенезе. Все большее значение в клинической практике приобретает влияние сигнального механизма эстрогена на канцерогенез и клиническое течение РМЖ у носителей ГМ *BRCA1/2*. В зависимости от типа мутации и экспрессии ЭР возможна реализация классического и альтернативного путей активации сигнального механизма эстрадиола. К примеру, несмотря на то, что при ТНРМЖ опухолевые клетки не экспрессируют ЭР α , эстрадиол влияет на опухолевые клетки с участием ЭР α -независимых путей. Было показано, что продукт гена *BRCA1* является универсальным регулятором, участвующим во многих клеточных функциях в дополнение к его роли в репарации ДНК [17, 18]. При экспрессии на стромальных клетках он приводит к снижению экспрессии эстрогензависимых генов и подавлению экспрессии ЭР α . Это влияет на снижение роли классического эстрогензависимого канцерогенеза молочной железы. Тем не менее при нарушении экспрессии *BRCA1* на стромальных клетках ввиду наследственной мутации повышен уровень локального эстрогена, что может способствовать потенциальному канцерогенезу ввиду генетической нестабильности. Несмотря на то, что *BRCA1*-ассоциированные опухоли зачастую ЭР-отрицательны, показано, что именно эстроген промотирует инициацию и прогрессирование ЭР-отрицательных *BRCA1*-дефицитных опухолей ввиду стимулирования клеточной пролиферации и активации эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП). В последнее десятилетие описана способность влияния эстрогена на ЭМП и способность сигнального механизма ЭР к взаимодействию с его

регуляторами, такими как Snail и Slug [19]. В исследовании Р. Bourisa и соавт. показана роль утраты экспрессии эстрогена и изменения активации сигнального механизма ЭР в процессе ЭМП при РМЖ, где механизм ЭР на клеточных линиях MCF-7 был исключен посредством специфичных лентивирусных частиц shRNA (lentiviral particles). Клетки изменились фенотипически совместно с изменением экспрессии генов и белков, типичных для ЭМП. Отмечались полная потеря экспрессии Е-кадгерина, появление экспрессии виментина и фибронектина (мезенхимальных маркеров) и активация ЭМП-ассоциированных регуляторов транскрипции (ZEB1/EF1 и SNAIL2/SLUG). Супрессия сигнального механизма ЭР приводила к нарушению экспрессии EGFR и HER2, а также различных матриксных металлопротеиназ и компонентов плазминоген-активирующей системы. Таким образом, при снижении экспрессии ЭР клеточные линии MCF-7 демонстрировали пролиферацию, миграцию и инвазивность [20]. Также установлено, что в *BRCA1*-дефицитных клетках молочной железы эстроген в отсутствие экспрессии ЭР α активирует сигнальный механизм АКТ путем фосфорилирования p-Akt, p-mTOR, p-Gsk³, и p-4Ebp1. Именно совместно с активацией сигнального пути Akt эстрадиол промотировал ЭМП и пролиферацию в *BRCA1*-дефицитных раковых клетках [21]. В целом в ЭР-отрицательных *BRCA1*-дефицитных опухолях сигнальный механизм PI3K/АКТ стимулирован именно эстрогеном, что приводит к опухолевому росту и метастазированию [22]. Соответственно, очевидна целесообразность эффективной супрессии эстроген-индуцированной активации сигнального механизма Akt и программы ЭМП в *BRCA1*-дефицитных опухолевых клетках.

Эстрогеновые рецепторы бета и GPER-1 в альтернативном сигнальном механизме эстрадиола при ТНРМЖ. Показано, что именно эстрогены способствуют появлению метастазов ТНРМЖ в головном мозге, поскольку на экспериментальной модели продемонстрировано, что овариэктомия снижает частоту метастазов ТНРМЖ в головном мозге на 56 % по сравнению с добавлением эстрогена. При этом комбинация овариэктомии и ингибитора ароматазы летрозоло дополнительно снизила частоту метастазов на 14,4 %. Кроме того, повышение уровня циркулирующих эстрогенов было достаточным для стимулирования образования и прогрессирования ЭР α -отрицательных видов рака, включая ТНРМЖ. Эффекты эстрогена реализуются посредством системного усиления ангиогенеза, частично за счет увеличения мобилизации и рекрутирования клеток костного мозга. Эти наблюдения предполагают, что эстроген может способствовать росту ЭР α -отрицательных видов РМЖ, воздействуя на клетки микроокружения и стимулируя ангиогенез [23]. В отличие от ЭР α , при ТНРМЖ зачастую отмечается

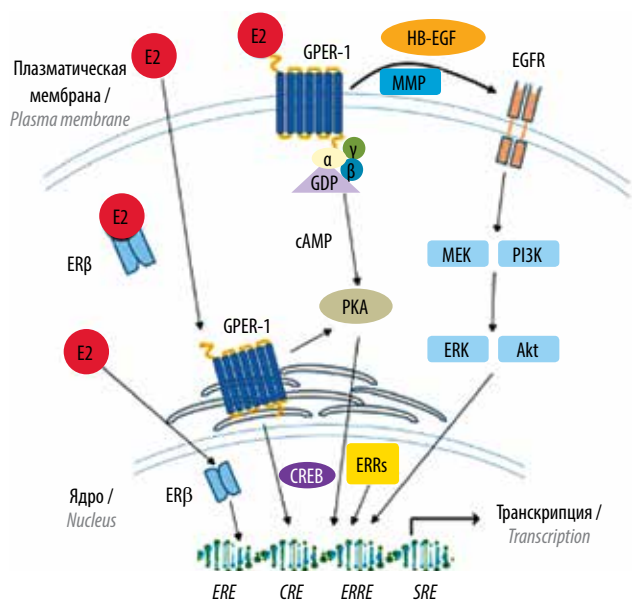


Рис. 1. Альтернативные сигнальные механизмы эстрогена при трижды негативном раке молочной железы. cAMP – цАМФ, циклический аденозин-монофосфат; PKA – протеинкиназа A; CREB – белок, связывающий цАМФ-элемент ответа; CRE – цАМФ-элемент ответа; SRE – элемент ответа сыворотки; MMP – матриксная металлопротеиназа; HB-EGF – гепаринсвязывающий EGF-подобный фактор роста; EGFR – рецептор эпидермального фактора роста; MEK – активируемая митогеном протеинкиназа; ERK – киназа, регулируемая внеклеточным сигналом; PI3K – фосфоинозитид-3-киназа; AKT – протеинкиназа B (PKB); ERβ – эстрогеновые рецепторы бета

Fig. 1. Alternative estrogen signaling pathways in triple-negative breast cancer. cAMP – cyclic adenosine monophosphate; PKA – protein kinase A; CREB – cAMP response element binding protein; CRE – cAMP response element; SRE – serum response element; MMP – matrix metalloproteinase; HB-EGF – heparin-binding EGF-like growth factor; EGFR – epidermal growth factor receptor; MEK – mitogen-activated protein kinase; ERK – extracellular signal-regulated kinase; PI3K – phosphoinositide 3-kinases; AKT – protein kinase B (PKB); ERβ – estrogen receptors beta

гиперэкспрессия ЭРβ и GPER-1, а также рецепторов, связанных с эстрогеном (ERR) (рис. 1).

Есть данные о том, что селективный антиэстроген (SERD) фулвестрант, являясь агонистом ЭРβ-положительных клеток ТНРМЖ, подавляет рост опухолевых клеток *in vitro* и *in vivo*, и этот эффект напрямую зависит от уровня экспрессии ЭРβ [24]. ЭРβ кодируется геном *ESR2* в различных сплайс-вариантах, причем наиболее изученными формами являются ЭРβ1 и ЭРβ2 (сх), которые отличаются С-концевой областью белка.

Анализ влияния экспрессии ЭРβ на поведение опухолевых клеток ТНРМЖ впервые проведен в исследованиях *in vitro* с использованием клеточных линий ТНРМЖ, таких как MDA-MB-231, MDA-MB-468 или Hs578T. Показано, что экспрессия ЭРβ1 ингибирует рост клеток ТНРМЖ, тем самым останавливая клеточный цикл в фазе G1, блокирует образование клеточных колоний и уменьшает размер опухоли в ксено-трансплантатах мышей. В исследовании M. van Barele

и соавт. был рассмотрен вопрос о лиганднезависимых эффектах ЭРβ. Показано, что около 80 % регулируемых генов были E2-зависимыми и только 20 % – лиганднезависимыми. Эффекты E2, блокирующие рост ввиду взаимодействия с ЭРβ в клетках ТНРМЖ, обусловлены ингибированием циклинзависимых киназ 1 и 7 и регуляцией генов, участвующих в пути Wnt/β-катенина (DKK1, WNT4 и CDH1), и влиянием на контрольные точки клеточного цикла G1/S (CDKN1A) [25, 26]. Блокирование экспрессии ЭРβ значительно увеличивало инвазивность клеток ТНРМЖ *in vitro* и повышало экспрессию генов *MMP13* и *TNC*, тогда как активация ЭРβ снижала инвазивность клеток ТНРМЖ [27, 28]. Полагают, что активность сигнального пути ЭРβ в клетках ТНРМЖ зависит от статуса мутации *TP53*. В клетках, экспрессирующих *TP53* «дикого типа», выключение гена ЭРβ усиливало апоптоз, а его гиперэкспрессия приводила к усилению пролиферации. Противоположные эффекты наблюдались в клетках с мутацией *TP53*, что указывает на важную роль белка *TP53* в функционировании ЭРβ [29]. Таким образом, ЭРβ ингибирует пролиферацию клеточных линий ТНРМЖ и снижает экспрессию генов, участвующих в ангиогенезе, инвазии, метастазировании и синтезе холестерина, ввиду ассоциации ЭРβ с регуляторными комплексами ремоделирования хроматина [30].

G-protein coupled estrogen receptor-1 (GPER-1) экспрессируется в большинстве случаев ТНРМЖ. Первые сведения о роли GPER-1 были получены в результате исследований *in vitro*, однако эти исследования выявили противоположные эффекты активации рецептора. Это несоответствие может быть результатом взаимодействия GPER-1 с разными агонистами: E2 и синтетическим агонистом G-1. Блокирование данного рецептора в клетках ТНРМЖ, экспрессирующих GPER-1, ингибирует E2-индуцированную пролиферацию, экспрессию c-Fos, активацию Src-киназы и транскрипцию EGFR, предполагая, что GPER-1 способен опосредовать пролиферативные эффекты E2. Воздействие эстриолом (E3) или ингибирование EGFR гефитинибом способствовало ингибированию активации клеток ТНРМЖ при влиянии E2 на GPER-1. В другом исследовании показано, что эстроген-опосредованная негеномная передача сигналов ERK, активируемая GPER-1, участвует в жизнеспособности и подвижности клеток ТНРМЖ. Воздействие 17β-эстрадиолом (E2) или тамоксифеном приводило к быстрой активации p-ERK1/2. Более того, активация сигнального пути эстрогена/GPER/ERK была вовлечена в процессы ускорения роста клеток, выживаемости и миграции/инвазии путем усиления экспрессии циклина A, циклина D1 и c-Fos [23]. Недавно NHERF1 был идентифицирован как белок, взаимодействующий с GPER-1, который, как сообщалось, ингибирует опосредованную GPER-1 пролиферацию клеток и фосфорилирование

ERK1/2 и Akt. Возможно, NHERF1 играет ключевую роль на ранней стадии канцерогенеза ТНПМЖ [31]. Есть данные о том, что агонист GPER-1 G-1 ингибирует рост клеток ТНПМЖ посредством индукции остановки клеточного цикла в фазе G2/M, усиленного фосфорилирования гистона H3 и апоптоза, опосредованного каспазой-3 [32]. В другом исследовании с использованием G-1 в качестве агониста GPER-1 было обнаружено, что активация GPER-1 ингибирует ЭМТ и метастазирование клеток ТНПМЖ посредством передачи сигналов NF-κB. После активации GPER-1 происходит ингибирование интерлейкина 6 (IL-6) и фактора роста эндотелия сосудов A (VEGF-A), что приводит к подавлению миграции и ангиогенеза клеток ТНПМЖ [33]. Недавнее исследование *in vitro* показало, что эстрогены ингибируют экспрессию VEGF и ангиогенез в ТНПМЖ путем активации GPER-1. Более того, связывание E2 с GPER-1 ингибировало рост опухоли *in vivo* и ангиогенез, снижая уровни экспрессии VEGF, NF-κB/p65, STAT3 и эндотелиального маркера CD34 в опухолях ксенотрансплантата клеток ТНПМЖ [34]. Активацию GPER-1 с помощью E2 или G-1 возможно использовать для ингибирования жизнеспособности клеток ТНПМЖ, пролиферации, миграции, инвазии, ангиогенеза и процесса ЭМП через сигнальный механизм CD151/miR-199a-3p [35].

В работе С. Gorrini и соавт. показано, что E2, NRF2, PI3K и BRCA1 тесно связаны в процессе BRCA1-ассоциированного канцерогенеза. Вероятно, соматическая потеря функции BRCA1 у гетерозиготных носителей мутаций BRCA1 имеет дифференциальные эффекты в зависимости от ткани. В тканях с низкой концентрацией эстрадиола дефицит BRCA1 ухудшает передачу сигналов антиоксидантов NRF2, что приводит к гибели клеток с дефицитом BRCA1. Однако в молочной железе и яичниках E2 защищает клетки с дефицитом BRCA1 от гибели, вызванной окислительным стрессом, активируя NRF2 по PI3K-AKT-зависимому механизму. Если клетка с дефицитом BRCA1 теряет функцию PTEN, путь PI3K-AKT может быть дополнительно стимулирован и, таким образом, усилена E2-опосредованная передача сигналов NRF2. Митогенные и антиоксидантные нисходящие пути AKT в сочетании с геномной нестабильностью, вызванной отсутствием BRCA1-опосредованной репарации ДНК, в конечном итоге приводят к злокачественной трансформации BRCA1-дефицитных клеток. E2 регулирует NRF2-антиоксидантный ответ через сигнальный путь PI3K-AKT, активирующий DJ-1 и mTOR. E2 важен для контроля выживаемости как нормальных, так и злокачественных клеток с дефицитом BRCA1. В исследовании С. Gorrini и соавт. обосновано использование ингибиторов PI3K при лечении опухолей с мутацией BRCA1 ввиду блокирования активности NRF2 в клетках с дефицитом BRCA1, что увеличивает кон-

центрацию активных форм кислорода и способствует гибели клеток [36].

Значение эстрогенового сигнального механизма и характер множественного опухолевого процесса при BRCA1/2-ассоциированном РМЖ: данные клинических исследований и опыт регионального диспансера. В когортном исследовании К. Metcalfe и соавт. с включением 390 пациентов 77 % носителей ГМ BRCA2 имели ЭР-положительные опухоли. У этих пациентов не было выявлено корреляции летального исхода с прогностическими факторами: размером опухоли, статусом регионарных лимфатических узлов (ОР 0,98; 95 % ДИ 0,55–1,77; $p = 0,95$) и высокой степенью злокачественности (ОР 0,77; 95 % ДИ 0,21–2,80; $p = 0,69$). Больные ЭР-положительным РМЖ с ГМ BRCA2 демонстрировали меньшую 10-летнюю ОВ в сравнении с пациентами с ЭР-отрицательным РМЖ (80,4 % против 92,6 % соответственно). ЭР-положительный статус был предиктором летального исхода (ОР 2,08; 95 % ДИ 0,99–4,36; $p = 0,05$). Кроме того, у женщин с ЭР-положительными опухолями применение тамоксифена или химиотерапии не влияло на выживаемость [14]. При анализе прогностической роли ЭР-статуса у 1910 больных РМЖ в Канаде из 213 больных в возрасте до 40 лет 15-летняя выживаемость была значительно хуже при ЭР-положительном статусе по сравнению с ЭР-отрицательными опухолями (55 % против 61 % соответственно) [37]. У больных старше 40 лет ЭР-положительный статус выступал благоприятным прогностическим фактором. Снижение риска смерти при овариэктомии наблюдалось лишь у женщин с BRCA1-ассоциированным РМЖ (ОР 0,38; 95 % ДИ 0,19–0,77; $p = 0,007$), но не у носителей ГМ BRCA2 (ОР 0,57; 95 % ДИ 0,23–1,43; $p = 0,23$) [38]. Положительный эффект овариэктомии также наблюдался только у женщин с ЭР-отрицательным РМЖ (ОР 0,07; 95 % ДИ 0,01–0,51; $p = 0,009$) и отсутствовал при ЭР-положительном статусе (ОР 0,76; 95 % ДИ 0,32–1,78; $p = 0,53$). В исследовании К. Metcalfe и соавт. при овариэктомии также не выявлено преимуществ в показателях выживаемости у женщин с BRCA2-ассоциированным РМЖ. При этом у них применение тамоксифена также не снижало риск летального исхода (ОР 0,91; 95 % ДИ 0,49–1,69; $p = 0,76$), что подтверждает выводы J.G. Jonasson и соавт. [5, 14].

P.J. Goodwin и соавт. показали, что больные РМЖ с ГМ BRCA2, получавшие адъювантную гормональную терапию, имели более высокий риск смерти по сравнению с больными спорадическим РМЖ (ОР 2,05; 95 % ДИ 1,07–3,91; $p = 0,03$) [39]. При этом применение адъювантной химиотерапии у 285 исландских женщин с мутациями BRCA2 было связано со снижением риска летального исхода (ОР 0,35; 95 % ДИ 0,16–0,80; $p = 0,01$), а при спорадическом РМЖ подобной корреляции не отмечено (ОР 0,98; 95 % ДИ 0,47–2,04;

$p = 0,96$) [5]. К. Metcalfe и соавт. не выявили улучшения показателей выживаемости при химиотерапии ни у пациентов с *BRCA2*-ассоциированным РМЖ (ОР 1,00; 95 % ДИ 0,57–1,74; $p = 1,00$), ни в подгруппе ЭР-положительного РМЖ (ОР 1,03; 95 % ДИ 0,51–2,06; $p = 0,94$). Вероятно, необходимы дополнительные исследования для оценки влияния различных режимов химиотерапии на выживаемость женщин с *BRCA2*-ассоциированным РМЖ, в частности с использованием схем химиотерапии на основе препаратов платины.

Ввиду увеличения продолжительности жизни онкологических пациентов все чаще в клинической практике наблюдается развитие метакхронного или синхронного рака различных локализаций [40]. При этом развитие рака контралатеральной молочной железы отмечается примерно в 30–50 % всех случаев вторичных злокачественных новообразований у женщин с первичным РМЖ. Заболеваемость двусторонним РМЖ составляет около 3 % всех случаев РМЖ: синхронные опухоли составляют 0,6 %, метакхронные – 2,2 % [3]. Синхронный двусторонний РМЖ определяется как контралатеральный РМЖ, диагностированный в течение 6 мес после обнаружения первого РМЖ [41, 42]. Факторами риска развития двустороннего РМЖ являются наличие семейного анамнеза РМЖ, манифестация заболевания в перименопаузе, инвазивный дольковый тип, мультицентрический рост, лучевая терапия в анамнезе и генетическая предрасположенность [43]. В исследовании А. Даг и соавт. частота синхронного и метакхронного двустороннего РМЖ составила 2 % (33/1420): выявлено 17 пациентов с метакхронным и 16 – с синхронным двусторонним РМЖ. Среднее время до появления второй опухоли при метакхронном течении составило 42 мес. Средний возраст пациента – 46,9 года. В исследовании с включением 4065 пациентов с РМЖ ракспецифичная выживаемость и общая продолжительность жизни при синхронном РМЖ были меньше, чем при метакхронном. При этом ОВ при метакхронном РМЖ была выше, чем при одностороннем РМЖ [16]. В другом исследовании при анализе 123 пациентов с синхронным и метакхронным двусторонним РМЖ не отмечено разницы в общей и безрецидивной выживаемости [17]. Т. Huzarski и соавт. выявили, что продолжительность жизни также не различалась при синхронном и метакхронном РМЖ ($p = 0,153$). Что касается генетических предпосылок, именно наличие герминальной мутации *BRCA1/2* является существенным фактором риска развития двустороннего синхронного или метакхронного РМЖ. Как известно, кумулятивный риск развития РМЖ (до 80 лет) составляет около 72 и 69 % у носителей ГМ *BRCA1* и *BRCA2* соответственно [1]. При этом риск развития рака в контралатеральной молочной железе в течение жизни этих пациентов увеличивается

в 2–6 раз со скоростью 0,3–1,0 % в год [9–11]. Ввиду того, что белки генов *BRCA1* и *BRCA2* участвуют в восстановлении разрывов ДНК, вызванных ионизирующим излучением, носители мутаций *BRCA1/2* имеют повышенную чувствительность к радиации и высокий риск развития РМЖ. При этом, возможно, низкие дозы ионизирующего излучения, используемые в рутинных диагностических процедурах с раннего возраста, могут увеличить риск развития РМЖ у носителей мутаций *BRCA1/2* [7]. В европейском исследовании был оценен эффект диагностического облучения у более чем 2000 носителей мутаций *BRCA1/2*. Воздействие диагностического излучения у носителей ГМ *BRCA1/2* в возрасте до 30 лет было связано с повышенным риском развития РМЖ, что не было подтверждено для носителей ГМ *BRCA1/2* старше 30 лет [23].

Предполагается, что у носителей ГМ *BRCA1* РМЖ развивается раньше, чем у носителей ГМ *BRCA2*, зачастую в возрасте до 50 лет [18]. Однако в исследовании А. Даг и соавт. средний возраст пациентов с *BRCA1*-мутацией составил 51 (42–63) год, а средний возраст пациентов с *BRCA2*-дефицитным РМЖ – 39,6 (36–42) года, что не согласуется с данными литературы. При сравнении пациентов с ГМ *BRCA1* и *BRCA2*, по данным литературы, частота ТНРМЖ в группе пациентов с *BRCA1*-положительным РМЖ относительно высока (60 % против 33,3 %) [19]. В исследовании, включившем 338 больных РМЖ, проанализирован прогноз *BRCA1/2*-дефицитных опухолей. В сравнении с 2395 больными спорадическим РМЖ показано отсутствие различий в ОВ (2-летняя ОВ 97,0 % против 96,6 %; 5-летняя ОВ 83,8 % против 85,0 %; 10-летняя ОВ 73,4 % против 70,1 %; ОР 0,96; 95 % ДИ 0,76–1,22; $p = 0,76$) [43].

В онкологическом диспансере г. Краснодара проводится активное выявление молекулярно-генетических мишеней для оптимизации лекарственной терапии местно-распространенного, метастатического РМЖ в составе первично-множественных опухолей. В рамках реализации научно-исследовательских работ кафедры онкологии с курсом торакальной хирургии ФПК и ППС Кубанского государственного медицинского университета, утвержденных в 2020 и 2021 г., в ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер № 1» проводятся наблюдательные исследования, направленные на изучение внутриопухолевой гетерогенности РМЖ с учетом молекулярно-генетических особенностей опухоли, а также анализ клинических и молекулярных маркеров эффективности лекарственной терапии метастатического РМЖ.

Цель исследования – изучить частоту выявления дополнительных мутаций в генах *BRCA1/2* методом секвенирования следующего поколения (NGS) и их значение при люминальных подтипах и множественном характере опухолевого процесса.

Материалы и методы

В данное клиническое исследование в период с апреля 2021 г. по апрель 2022 г. включено 443 больных РМЖ, соответствовавших диагностическим критериям для определения мутаций в генах *BRCA1/2*. В локальной молекулярно-генетической лаборатории ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер № 1» определение мутаций генов *BRCA1* (185delAG, 4153delA, 5382insC, 3819delGTAAA, 3875delGTCT, 300T>G, 2080delA) и *BRCA2* (6174delT) проведено методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени по лейкоцитам периферической крови. При наличии диагностических критериев и несоответствии фенотипу опухоли тройному негативному гистологический материал и/или плазма крови направлялись в генетическую лабораторию ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России в рамках научного сотрудничества с ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер № 1». Определение мутаций генов *BRCA1/2*, *ATM*, *CHEK2*, *NBS1*, *PALB2* выполнялось методом секвенирования следующего поколения (NGS).

Статистический анализ выполнен с использованием статистического пакета IBM SPSS Statistics v.22. Нормальность распределения непрерывных переменных оценена по критерию Колмогорова–Смирнова. На этом основании применены параметрические и непараметрические описательные статистики, оценены средние величины со стандартным отклонением и медианы с интерквартильным размахом. С помощью анализа таблиц сопряженности, реализованного в указанном выше пакете, была проведена оценка зависимости исходов от факторов риска. В данных случаях статистическая достоверность корреляции изучалась с использованием критерия χ^2 и точного критерия Фишера. В случаях, предусмотренных статистическим анализом, использован метод расчета критерия χ^2 с поправкой Йейтса. Различия считались значимыми при $p < 0,05$. Также изучено время до появления вторых опухолей в составе первично-множественного опухолевого процесса методом кривых Каплана–Мейера с анализом достоверности различий с помощью *log-rank*-теста.

Результаты

При промежуточном анализе данных в апреле 2022 г. из 304 больных РМЖ, протестированных в ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер № 1», обнаружен 71 пациент – носитель мутаций гена *BRCA1*. Из них тройным негативным фенотипом обладали 61 (86 %) пациентов, а люминальными фенотипами – 10 (14 %). Дополнительно методом NGS на носительство ГМ *BRCA1/2*, *ATM*, *CHEK2*, *NBS1*, *PALB2* обследовано 139 пациентов. Выявлено 20 мутаций генов *BRCA1/2*: 11 мутаций *BRCA1* и 9 мутаций *BRCA2*. Также

было дополнительно выявлено 8 мутаций в следующих генах: *PALB2* (у 1 пациентки), *NBS1* (у 3), *CHEK2* (у 2), *ATM* (у 2 пациентов). В общей когорте из 91 больного РМЖ с ГМ в генах *BRCA1/2* проанализирована частота ЭР-положительного статуса и выявлено 20 ЭР-положительных опухолей: у 11 больных с *BRCA1*-мутацией и 9 *BRCA2*-дефицитных пациентов.

Медиана возраста при *BRCA1*-дефицитном РМЖ составила 42 (35–50) года, при мутации *BRCA2* – 40 (34–52) лет, различия незначимы ($p > 0,05$). Мутации *BRCA1* достоверно связаны со степенью дифференцировки G_3 , мутации *BRCA2* – с умеренной дифференцировкой G_2 ($p < 0,001$). Для *BRCA2*-мутации характерен люминальный фенотип опухоли ($p < 0,001$). Не выявлено связи мутации генов *BRCA1/2* с размером первичного очага ($p = 0,947$), наличием метастазов в регионарных лимфатических узлах ($p = 0,947$). Из всех выявленных 91 *BRCA*-дефицитной опухоли первично-множественный синхронный и метакронный характер заболевания имели 30 (33 %) пациентов: 27 (90 %) с ГМ *BRCA1* и 3 (10 %) с ГМ *BRCA2*. От всего числа *BRCA2*-дефицитных больных первично-множественный рак выявлен в 33 % случаев и в 33 % – при ГМ *BRCA1*. Контралатеральный РМЖ при наличии ГМ *BRCA1* обнаружен у 14 пациентов, рак яичников – у 7 больных, рак толстого кишечника – у 1, также выявлены 1 случай рака шейки матки, 2 случая рака тела матки, 1 случай рака желудка, 1 случай рака щитовидной железы. При *BRCA2*-мутации выявлены 2 случая РМЖ и 1 пациент с раком щитовидной железы в анамнезе. Тем не менее при мутациях *BRCA1* и *BRCA2* частота выявления вторых локализаций не различалась ($p = 0,403$), в том числе наличие мутаций этих генов не различалось в отношении частоты поражения контралатеральной молочной железы ($p = 0,261$). Типы мутаций в генах *BRCA1/2* представлены в табл. 1.

Характеристика клинических и морфологических параметров пациентов представлена в табл. 2.

Также оценены корреляции клинко-морфологических параметров пациентов с *BRCA1* 5382insC-мутацией и другими типами мутаций гена *BRCA1*, в том числе выявленными методом NGS. Не обнаружено различий в медиане возраста при разных типах мутаций гена *BRCA1* ($p > 0,05$). Не выявлено корреляции типа мутаций *BRCA1* с суррогатным типом ($p = 0,557$), распространенностью (Т) ($p = 0,366$), метастатическим поражением регионарных лимфатических узлов ($p = 0,745$), степенью дифференцировки ($p = 0,114$), уровнем пролиферативной активности ($p = 0,402$), выявлением второй локализации опухоли ($p = 0,370$). Данные представлены в табл. 3.

Очевидно, что предшествующее лечение – химиотерапия и лучевая терапия по поводу рака первичной локализации – могло повлиять на развитие рака второй локализации с учетом участия генов *BRCA1/2* в репарации

Таблица 1. Типы мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2*Table 1. Types of *BRCA1* and *BRCA2* mutations

Пациенты с <i>BRCA1</i> -дефицитным раком молочной железы (<i>n</i> = 82) Patients with <i>BRCA1</i> -deficient breast cancer (<i>n</i> = 82)	Пациенты с <i>BRCA2</i> -дефицитным раком молочной железы (<i>n</i> = 9) Patients with <i>BRCA2</i> -deficient breast cancer (<i>n</i> = 9)
5382insC – 44 (53,6 %); 300T>G – 9 (10,9 %); 4153delA – 14 (17 %); 3819delGTAAA – 3 (3,6 %); 185delAG – 2 (2,4 %); 3875delGTCT – 1 (1 %); 2080delA – 1 (1 %); c.1510del. C – 1 (1 %); c.4065_4068delITCAA – 1 (1 %); c.2649_2650insCGCA – 1 (1 %); c.3531delT-1 – 1 (1 %); c.53T>C – 2 (2,4 %); p.Met18Thr – 1 (1 %); C61G (c.181T>G) – 1 (1 %)	c.5722_5723delCT; c.5720_5723delCT; c.2808_2811delACAA; c.8364G>A; 6174delT; c.2649_2650insGGCA; c.4065_4068delITCAA; сочетание c.53T>C и p. Met18Thr; combination of c.53T>C and p.Met18Thr; p.Thr2241_Leu2245del

ДНК. Интересны случаи метакронного выявления 3 и более локализаций рака: в 1 случае зафиксировано сочетание первичного рака желудка и метакронного

двустороннего РМЖ. Во 2-м случае выявлено возникновение первично хронического лимфолейкоза, метакронного РМЖ, рака почки и рака толстого кишечника у пациентки с выявленной мутацией *BRCA1*5382insC в сочетании с мутациями *CHEK2* c.1100delC, *CHEK2* c.444+1G>A.

По методу Каплана–Мейера были оценены различия во времени до появления второй опухоли в зависимости от мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2*. Медиана времени до появления рака второй локализации при *BRCA1*-мутации составила 60 мес, при *BRCA2*-мутации – 48 мес. Различий во времени появления второй опухоли не выявлено ($p = 0,286$, *log-rank*-тест) (рис. 2).

Также изучено различие во времени до появления второй опухоли в зависимости от наличия наиболее часто выявляемой мутации – *BRCA1*5382insC. Медиана времени до появления второй локализации при *BRCA1*5382insC составила 180 мес, при других типах мутаций *BRCA1/2* – 20 мес. Однако различия во времени появления второй опухоли также статистически не значимы ($p = 0,217$, *log-rank*-тест) (рис. 3).

При обнаружении второй локализации опухоли методом ПЦР зачастую не обнаруживалось мутаций

Таблица 2. Корреляция типа мутаций *BRCA1/2* с клинико-морфологическими параметрами больных раком молочной железыTable 2. Correlation between the type of *BRCA1/2* mutations and clinical/morphological characteristics of breast cancer patients

Параметр Parameter	Пациенты с <i>BRCA1</i> -мутацией (<i>n</i> = 82) Patients with a <i>BRCA1</i> -mutation (<i>n</i> = 82)	Пациенты с <i>BRCA2</i> -мутацией (<i>n</i> = 9) Patients with a <i>BRCA2</i> -mutation (<i>n</i> = 9)	<i>p</i>
Медиана возраста (25–75-й процентиля), лет Median age (25 th –75 th percentiles), years	42 (35–50)	40 (34–52)	>0,05
Суррогатный тип, <i>n</i> (%): Surrogate definition, <i>n</i> (%): люминальный luminal трижды негативный triple-negative	21 (26,0) 61 (74,0)	9 (100) 0	<0,001
TNM, <i>n</i> : T 1/2/3/4 N 0/1/2/3 M 0/1	19/46/3/14 56/13/10/3 76/6	3/5/1/0 7/1/1/0 9/0	>0,05
Степень дифференцировки, <i>n</i> (%): Differentiation grade, <i>n</i> (%): G ₂ G ₃	21 (26,0) 61 (74,0)	9 (100) 0	<0,001
Синхронные и метакронные опухоли: Synchronous and metachronous tumors: РМЖ/РЩЖ/РЯ BC/TC/OC РТК/РШМ/РТМ/РЖ Coca/CeCa/UC/SC	27 (33,0) 14/17/1 1/1/2/1	3 (33,0) 2/1/0 0/0/0	0,403

Примечание. РМЖ – рак молочной железы; РЩЖ – рак щитовидной железы; РЯ – рак яичников; РТК – рак толстого кишечника; РШМ – рак шейки матки; РТМ – рак тела матки; РЖ – рак желудка.

Note. BC – breast cancer; TC – thyroid cancer; OC – ovarian cancer; CoCa – colon cancer; CeCa – cervical cancer; UC – uterine cancer; SC – stomach cancer.

Таблица 3. Корреляция типа мутаций *BRCA1* с клинико-морфологическими параметрами больных раком молочной железы

Table 3. Correlation between the type of *BRCA1* mutations and clinical/morphological characteristics of breast cancer patients

Параметр Parameter	<i>BRCA1</i> 5382insC (<i>n</i> = 47)	Другие типы мутаций гена <i>BRCA1</i> (<i>n</i> = 35) Other mutations in the <i>BRCA1</i> gene (<i>n</i> = 35)	<i>p</i>
Медиана возраста (25–75-й процентиля), лет Median age (25 th –75 th percentiles), years	38 (37–50)	40 (34–51)	>0,05
Суррогатный тип, <i>n</i> (%): Surrogate definition, <i>n</i> (%): люминальный luminal трижды негативный triple-negative	12 (25,5) 35 (74,5)	11 (31,5) 24 (68,5)	0,557
TNM, <i>n</i> (%): T 1–2/3–4 N 0/+	41 (87,2)/6 (12,8) 32 (68,0)/15 (32,0)	27 (77,0)/8 (23,0) 25 (71,4)/10 (28,6)	0,366 0,745
Степень дифференцировки, <i>n</i> (%): Differentiation grade, <i>n</i> (%): G ₂ G ₃	10 (21,0) 37 (79,0)	13 (37,0) 22 (63,0)	0,114
Индекс пролиферативной активности Ki-67, <i>n</i> (%): Ki-67 proliferation index, <i>n</i> (%): ≥30 % <30 %	36 (76,6) 11 (23,3)	30 (85,7) 5 (14,3)	0,402
Синхронные и метасинхронные опухоли, <i>n</i> (%): Synchronous and metachronous tumors, <i>n</i> (%): выявлены detected не выявлены not detected	14 (29,8) 33 (70,2)	12 (34,3) 23 (65,7)	0,370

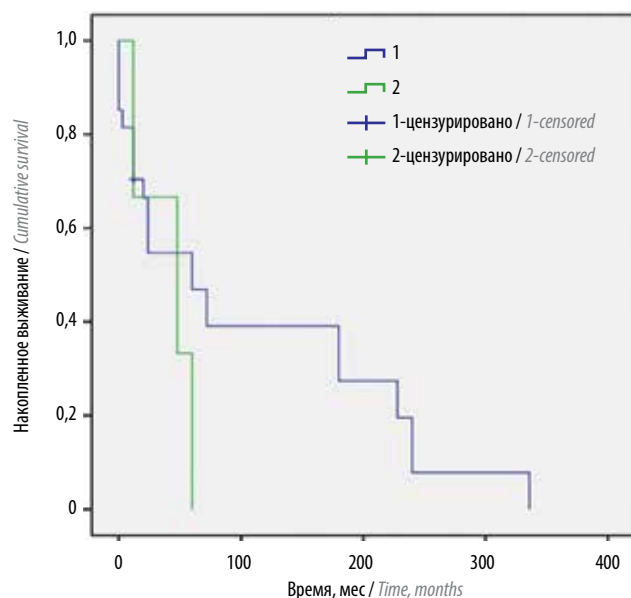


Рис. 2. Время до появления второй опухоли в зависимости от наличия *BRCA1*-мутации (1) и *BRCA2*-мутации (2)

Fig. 2. Time to second tumor development depending on the presence of *BRCA1*-mutation (1) and *BRCA2*-mutation (2)

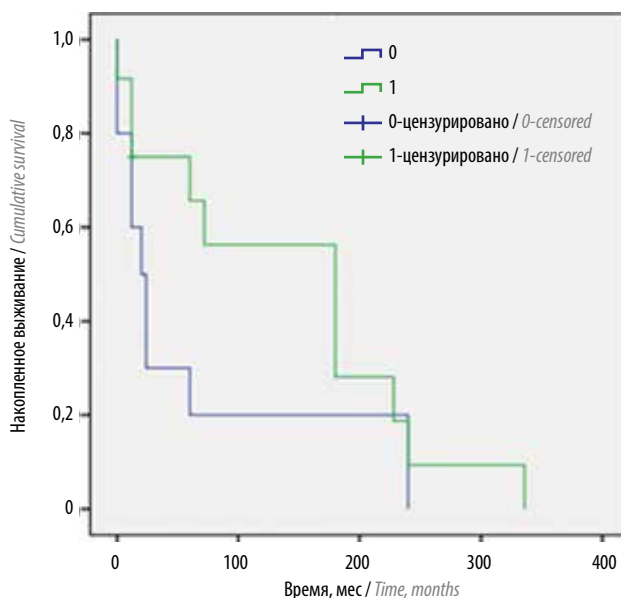


Рис. 3. Время до появления второй опухоли в зависимости от наличия мутации *BRCA1* 5382insC (1) и других типов *BRCA1/2*-мутаций (0)

Fig. 3. Time to second tumor development depending on the presence of *BRCA1* 5382insC (1) and other *BRCA1/2* mutations (0)

BRCA1/2, не входящих в стандартную диагностическую панель. В случае проведения анализа методом NGS были определены дополнительные патогенные мутации в генах *BRCA1* и *BRCA2*. Что касается гормонозависимых опухолей, то методом NGS выявлено 9 мутаций при гормоноположительном заболевании и 7 мутаций при тройном негативном фенотипе, не определяемых методом ПЦР. Методом ПЦР достоверно чаще обнаруживались мутации при ТНПМЖ в сравнении с гормоноположительным РМЖ: 54 против 21 ($p = 0,041$).

Заключение

Необходимо отметить, что появляется все больше данных о прогностических и клинических различиях разных типов мутаций *BRCA1/2*, в частности установлен неблагоприятный прогноз *BRCA2*-ассоциированного РМЖ с ЭР-положительным фенотипом. При этом прогностические факторы РМЖ, включая степень дифференцировки, размер опухоли и статус регионарных лимфатических узлов, могут быть нетипичными для пациентов с мутациями *BRCA2*. Отсутствие эффективных методов терапии ЭР-положительного *BRCA2*-ассоциированного РМЖ диктует необходимость поиска альтернативных методов лечения, включая химиотерапию на основе препаратов платины и овариэктомию и ин-

гибиторы PARP. Кроме того, очевидно, что при первичной множественности опухолевого процесса и люминальном подтипе опухоли стандартным методом ПЦР с диагностическим набором из 8 мутаций можно не выявить дополнительные патогенные мутации, свидетельствующие о возможности назначения таргетной терапии и необходимости тестирования родственников. Следовательно, все большую значимость приобретает изучение всего спектра мутаций генов *BRCA1/2* методом NGS у больных РМЖ, в том числе с ЭР-положительным статусом и первичной множественностью процесса, для планирования тактики первичного лечения, адъювантной терапии и лечения метастатического заболевания. Очевидно, что подходы к терапии *BRCA1/2*-ассоциированного РМЖ должны быть основаны на понимании этиопатогенеза заболевания с возможностью сочетания нарушений различных сигнальных механизмов и влияния сигнального механизма эстрогена. Безусловно, необходимы дальнейшие проспективные наблюдательные исследования эффективности овариэктомии, гормонотерапии при люминальных подтипах РМЖ у носителей мутаций *BRCA1/2* в адъювантном режиме и при метастатическом заболевании, а также изучение эффективности блокирования сигнального механизма эстрогена при тройном негативном фенотипе РМЖ у носителей ГМ *BRCA1/2*.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Huzarski T., Byrski T., Gronwald J. et al. Ten-year survival in patients with *BRCA1*-negative and *BRCA1*-positive breast cancer. *J Clin Oncol* 2013;31: 3191–6. DOI: 10.1200/jco.2012.45.3571.
2. Spurdle A.B., Couch F.J., Parsons M.T. et al. Refined histopathological predictors of *BRCA1* and *BRCA2* mutation status: A large-scale analysis of breast cancer characteristics from the BCAC, CIMBA, and ENIGMA consortia. *Breast Cancer Res* 2014;16:3419. DOI: 10.1186/s13058-014-0474-y.
3. Sun J., Meng H., Yao L. et al. Germline mutations in cancer susceptibility genes in a large series of unselected breast cancer patients. *Clin Cancer Res* 2017;23:6113–9. DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-16-3227.
4. Schmidt M.K., Van den Broek A.J., Tollenaar R.A. et al. Breast cancer survival of *BRCA1/BRCA2* mutation carriers in a hospital-based cohort of young women. *J Natl Cancer Inst* 2017; 109:djw329. DOI: 10.1093/jnci/djw329.
5. Jonasson J.G., Stefansson O.A., Johannsson O.T. et al. Oestrogen receptor status, treatment and breast cancer prognosis in Icelandic *BRCA2* mutation carriers. *Br J Cancer* 2016;115:776–83. DOI: 10.1038/bjc.2016.249.
6. Van den Broek A.J., Schmidt M.K., Van't Veer L.J. et al. Worse breast cancer prognosis of *BRCA1/BRCA2* mutation carriers: what's the evidence? A systematic review with meta-analysis. *PLoS One* 2015;10:e0120189. DOI: 10.1371/journal.pone.0120189.
7. Vocka M., Zimovjanova M., Bielcikova Z. et al. Estrogen receptor status oppositely modifies breast cancer prognosis in *BRCA1/BRCA2* mutation carriers versus non-carriers cancers. *Cancers* 2019;11:738; DOI: 10.3390/cancers11060738.
8. Baretta Z., Mocellin S., Goldin E. et al. Effect of *BRCA* germline mutations on breast cancer prognosis: A systematic review and meta-analysis. *Medicine* 2016;95:e4975. DOI: 10.1097/md.0000000000004975.
9. Copson E.R., Maishman T.C., Tapper W.J. et al. Germline *BRCA* mutation and outcome in young-onset breast cancer (POSH): A prospective cohort study. *Lancet Oncol* 2018; 19:169–80. DOI: 10.1016/s1470-2045(17)30891-4.
10. Rennert G., Bisland-Naggan S., Barnett-Griness O. et al. Clinical outcomes of breast cancer in carriers of *BRCA1* and *BRCA2* mutations. *N Engl J Med* 2007;357:115–23. DOI: 10.1056/nejmoa070608.
11. Zhong Q., Peng H.L., Zhao X. et al. Effects of *BRCA1*- and *BRCA2*-related mutations on ovarian and breast cancer survival: A meta-analysis. *Clin Cancer Res* 2015;21:211–20. DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-14-1816.
12. Sopik V., Sun P., Narod S.A. The prognostic effect of estrogen receptor status differs for younger versus older breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2017;165:391–402. DOI: 10.1007/s10549-017-4333-2.
13. Waks A.G., Winer E.P. Breast cancer treatment: A review. *JAMA* 2019;321:288–300. DOI: 10.1001/jama.2018.19323.
14. Metcalfe K., Lynch H.T., Foulkes W.D. et al. Oestrogen receptor status and survival in women with *BRCA2*-associated

- breast cancer. *Br J Cancer* 2019;120:398–403. DOI: 10.1038/s41416-019-0376-y.
15. Lips E.H., Debipersad R.D., Scheerman C.E. et al. *BRCA1*-mutated estrogen receptor-positive breast cancer shows *BRCA*ness, suggesting sensitivity to drugs targeting homologous recombination deficiency. *Clin Cancer Res* 2017;23:1236–41. DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-16-0198.
 16. Shah P.D., Patil S., Dickler M.N. et al. Twenty-one-gene recurrence score assay in *BRCA*-associated versus sporadic breast cancers: Differences based on germline mutation status. *Cancer* 2016;122:1178–84. DOI: 10.1002/cncr.29903.
 17. Sedic M., Kuperwasser C. *BRCA1*-haploinsufficiency: unraveling the molecular and cellular basis for tissue-specific cancer. *Cell Cycle* 2016;15:621–7. DOI: 10.1080/15384101.2016.1141841.
 18. Joosse S.A. *BRCA1* and *BRCA2*: A common pathway of genome protection but different breast cancer subtypes. *Nat Rev Cancer* 2012;12:372. DOI: 10.1038/nrc3181-c2.
 19. Saha Roy S., Vadlamudi R.K. Role of estrogen receptor signaling in breast cancer metastasis. *Int J Breast Cancer* 2012;2012:654698. DOI: 10.1155/2012/654698.
 20. Bourisa P., Skandalisa S.S., Piperigkou Z. et al. Estrogen receptor alpha mediates epithelial to mesenchymal transition, expression of specific matrix effectors and functional properties of breast cancer cells. *Matrix Biol* 2015;43:42–60. DOI: 10.1016/j.matbio.2015.02.008.
 21. Wang C., Bai F., Zhang L.H. et al. Estrogen promotes estrogen receptor negative *BRCA1*-deficient tumor initiation and progression. *Breast Cancer Res* 2018;20:74. DOI: 10.1186/s13058-018-0996-9.
 22. Gorrini C., Gang B.P., Bassi C. et al. Estrogen controls the survival of *BRCA1*-deficient cells via a PI3K-NRF2-regulated pathway. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014;111:4472–7. DOI: 10.1073/pnas.1324136111.
 23. Van Barele M., Heemskerk-Gerritsen B.A.M., Louwers Y.V. et al. Estrogens and progestogens in triple negative breast cancer: do they harm? *Cancers* 2021;13(11):2506. DOI: 10.3390/cancers13112506.
 24. Zhao L., Huang S., Mei S. et al. Pharmacological activation of estrogen receptor beta augments innate immunity to suppress cancer metastasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2018;115:E3673–81. DOI: 10.1073/pnas.1803291115.
 25. Mishra A.K., Abrahamsson A., Dabrosin C. Fulvestrant inhibits growth of triple negative breast cancer and synergizes with tamoxifen in ER-alpha positive breast cancer by up-regulation of ERbeta. *Oncotarget* 2016;7:56876–88. DOI: 10.18632/oncotarget.10871.
 26. Bado I., Nikolos F., Rajapaksa G. et al. ER-beta decreases the invasiveness of triple-negative breast cancer cells by regulating mutant p53 oncogenic function. *Oncotarget* 2016;7:13599–611. DOI: 10.18632/oncotarget.7300.
 27. Reese J.M., Bruinsma E.S., Monroe D.G. et al. ERbeta inhibits cyclin dependent kinases 1 and 7 in triple negative breast cancer. *Oncotarget* 2017;8:96506–21. DOI: 10.18632/oncotarget.21787.
 28. Schüller-Toprak S., Häring J., Inwald E.C. et al. Agonists and knockdown of estrogen receptor β differentially affect invasion of triple-negative breast cancer cells *in vitro*. *BMC Cancer* 2016;16:1–13. DOI: 10.1186/s12885-016-2973-y.
 29. Reese J.M., Bruinsma E.S., Nelson A.W. et al. ER β -mediated induction of cystatins results in suppression of TGF β signaling and inhibition of triple-negative breast cancer metastasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2018;115:E9580–9. DOI: 10.1073/pnas.1807751115.
 30. Mukhopadhyay U.K., Oturkar C.C., Adams C. et al. *TP53* status as a determinant of pro- vs anti-tumorigenic effects of estrogen receptor-beta in breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2019;111:1202–15. DOI: 10.1093/jnci/djz051.
 31. Revankar C.M., Cimino D.F., Sklar L.A. et al. A transmembrane intracellular estrogen receptor mediates rapid cell signaling. *Science* 2005;307:1625–30. DOI: 10.1126/science.1106943.
 32. Prossnitz E.R., Barton M. Signaling, physiological functions and clinical relevance of the G protein-coupled estrogen receptor GPER. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2009;89:89–97. DOI: 10.1016/j.prostaglandins.2009.05.001.
 33. Lappano R., Rigracciolo D., De Marco P. et al. Recent advances on the role of G protein-coupled receptors in hypoxia-mediated signaling. *AAPS J* 2016;18:305–10. DOI: 10.1208/s12248-016-9881-6.
 34. Pandey D.P., Lappano R., Albanito L. et al. Estrogenic GPR30 signalling induces proliferation and migration of breast cancer cells through CTGF. *EMBO J* 2009;28:523–32. DOI: 10.1038/emboj.2008.304.
 35. Marjon N.A., Hu C., Hathaway H.J., Prossnitz E.R. G protein-coupled estrogen receptor regulates mammary tumorigenesis and metastasis. *Mol Cancer Res* 2014;12:1644–54. DOI: 10.1158/1541-7786.mcr-14-0128-t.
 36. Gorrini C., Ganga B.P., Bassi C. et al. Estrogen controls the survival of *BRCA1*-deficient cells via a PI3K-NRF2-regulated pathway. *PNAS* 2014;111(12):4472–7. DOI: 10.1073/pnas.1324136111.
 37. Sopik V., Sun P., Narod S.A. The prognostic effect of estrogen receptor status differs for younger versus older breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2017;165:391–402. DOI: 10.1007/s10549-017-4333-2.
 38. Metcalfe K., Lynch H.T., Foulkes W.D. et al. Effect of oophorectomy on survival after breast cancer in *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers. *JAMA Oncol* 2015;1:306–13. DOI: 10.1001/jamaoncol.2015.0658.
 39. Goodwin P.J., Phillips K.A., West D.W. et al. Breast cancer prognosis in *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers: An International Prospective Breast Cancer Family Registry population-based cohort study. *J Clin Oncol* 2012;30:19–26. DOI: 10.1200/jco.2010.33.0068.
 40. Londero A.P., Bernardi S., Bertozzi S. et al. Synchronous and metachronous breast malignancies: A cross-sectional retrospective study and review of the literature. *Biomed Res Int* 2014;250727. DOI: 10.1155/2014/250727.
 41. Jobsen J.J., Van der Palen J., Ong F. et al. Bilateral breast cancer, synchronous and metachronous; differences and outcome. *Breast Cancer Res Treat* 2015;153(2):277–83. DOI: 10.1007/s10549-015-3538-5.
 42. Megaro G., Rossi L., Ceddia S. et al. Synchronous and metachronous metastatic breast cancer, with different histology and opposite immunophenotype, treated with combination of chemotherapy, anti-HER2, and endocrine therapy: A case report. *Case Rep Oncol* 2020;13(2):544–54. DOI: 10.1159/000507433.
 43. Dağ A., Arslan B., Güler E., Mermer S. *BRCA1*–2 incidence in synchronous and metachronous breast cancer: A Tertiary Center Study. *Ind J Surg* 2022. DOI: 10.1007/s12262-022-03335-1.

Вклад авторов

А.И. Стукань: обзор публикаций по теме статьи, сбор данных для анализа, интерпретация результатов, написание текста;
 А.Ю. Горяинова, О.А. Гончарова: обзор литературы, интерпретация результатов;
 О.Ю. Чухрай, С.Д. Максименко: получение данных для анализа;
 Е.Н. Имянитов: получение данных для анализа, критический анализ текста рукописи;
 Р.А. Мурашко: сбор данных для анализа, критический анализ материала;
 З.К. Хачмамук, В.А. Порханов: обзор публикаций по теме статьи.

Authors' contributions

A.I. Stukan: review of publications on the topic of the article, data collection for analysis, interpretation of the results, writing the article;
 A.Yu. Goryainova, O. A. Goncharova: literature review, interpretation of the results;
 O.Yu. Chukhray, S.D. Maksimenko, Z.K. Khachmamuk: obtaining data for analysis;
 E.N. Imyanitov: obtaining data for analysis, critical analysis of the text of the article;
 R.A. Murashko: data collection for analysis;
 V.A. Porkhanov: a review of publications on the topic of the article.

ORCID авторов / ORCID of authors

А.И. Стукань / A.I. Stukan: <https://orcid.org/0000-0002-0698-7710>
 А.Ю. Горяинова / A.Yu. Goryainova: <https://orcid.org/0000-0001-7127-7945>
 Р.А. Мурашко / R.A. Murashko: <https://orcid.org/0000-0001-8084-8770>
 О.Ю. Чухрай / O.Yu. Chukhray: <https://orcid.org/0000-0003-3041-520X>
 С.Д. Максименко / S.D. Maksimenko: <https://orcid.org/0000-0003-2515-9125>
 О.А. Гончарова / O.A. Goncharova: <https://orcid.org/0000-0002-6322-7144>
 Е.Н. Имянитов / E.N. Imyanitov: <https://orcid.org/0000-0003-4529-7891>
 З.К. Хачмамук / Z.K. Khachmamuk: <https://orcid.org/0000-0001-7745-4631>
 В.А. Порханов / V. A. Porkhanov: <https://orcid.org/0000-0003-0572-1395>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Financing. The work was performed without external funding.

Соблюдение прав пациентов. Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет». Все пациентки подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights. The study protocol was approved by the Biomedical Ethics Committee of the Kuban State University. The patients signed an informed consent to participate in the study.