

Гены системы репарации: популяционные различия наследственных типов рака яичников и молочной железы, выявляемые методом секвенирования нового поколения

О.И. Бровкина¹, М.Г. Гордиев², Р.Ф. Еникеев², М.О. Дружков², Л.Х. Шигапова³, Е.И. Шагимарданова³,
О.А. Гусев³, В.В. Косый¹, Д.С. Ходырев¹, А.Г. Кедрова¹, Р.Ш. Хасанов⁴, А.Г. Никитин¹

¹ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА России»; Россия, 115682 Москва, Ореховый бульв., 28;

²ГАУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер Минздрава Республики Татарстан»;
Россия, 420029 Республика Татарстан, Казань, Сибирский Тракт, 29;

³ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» Минобрнауки России;
420008 Республика Татарстан, Казань, ул. Кремлевская, 18;

совместно с Институтом физико-химических исследований RIKEN; 1-7-22 Suehiro-cho, Tsurumi-ku 230-0045 Yokohama, Kanagawa Japan);

⁴Казанская государственная медицинская академия – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России;
Россия, 420012 Республика Татарстан, Казань, ул. Муштары, 11

Контакт: Ольга Игоревна Бровкина brov.olia@gmail.com

Введение. Развитие наследственных видов рака яичников (РЯ) и рака молочной железы (РМЖ) обусловлено генетическими нарушениями в системе репарации ДНК, состоящей более чем из 100 генов. Однако в настоящее время в большинстве медицинских центров России диагностика наследственного РЯ и РМЖ представляет собой определение наиболее частых мутаций (8 точек) в генах BRCA1 и BRCA2 с помощью методов полимеразной цепной реакции (ПЦР). При этом данные мутации являются частыми в славянской популяции, в то время как среди населения России неславянского происхождения они встречаются реже или не встречаются вообще.

Цель работы – популяционный анализ мутаций в генах системы репарации, которые необходимо учитывать при выборе химиотерапии. **Материалы и методы.** Методом секвенирования нового поколения (NGS) были проанализированы гены репарационной системы в 139 образцах крови пациенток из татарской популяции с наследственными РЯ и РМЖ.

Для сравнения частот встречаемости мутаций методом ПЦР в реальном времени исследовались 67 образцов крови пациенток славянского происхождения, проходивших обследование в ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА России» (Москва) в 2014–2016 гг.

Результаты. По результатам анализа ПЦР в реальном времени в крови женщин-славянок была выявлена мутация 5382insC (NM_007300.3:c.5329dup) в 36% случаев. Эта же мутация у женщин татарского происхождения обнаруживалась лишь в 7% случаев. В результате проведенного методом NGS анализа крови 139 пациенток татарского этноса с наследственными РМЖ и РЯ была выявлена 61 мутация в генах системы репарации, 1/3 из которых (28%) детектирована не в генах BRCA1/BRCA2.

Выводы. С помощью метода NGS появилась возможность выявить редкие мутации, характерные для различных этносов России, что дает возможность назначать оптимальную химиотерапию.

Ключевые слова: наследственный рак молочной железы, наследственный рак яичников, мутация, гены BRCA1/BRCA2, гены системы репарации ДНК.

DOI: 10.17650/1994-4098-2017-13-2-61-67

Reparation system genes: population differences in hereditary ovarian and breast cancer determined by next-generation sequencing

O.I. Brovkina¹, M.G. Gordiev², R.F. Enikeev², M.O. Druzhkov², L.Kh. Shigapova³, E.I. Shagimardanova³,
O.A. Gusev³, V.V. Kosiy¹, D.S. Khodyrev¹, A.G. Kedrova¹, R.Sh. Khasanov⁴, A.G. Nikitin¹

¹Federal Research Clinical Center for specialized types of health care and medical technologies FMBA;
28 Orekhoviy Av., Moscow 115682, Russia;

²Republican Clinical Dispensary, Ministry of Health of Russia; 29 Siberian Tract, Kazan 420029, Republic of Tatarstan, Russia;

³Kazan (Volga Region) Federal University, Ministry of Education of Russia;
18 Kremlevskaya St., Kazan 420008, Republic of Tatarstan, Russia;

in collaboration with the Institute of Physical and Chemical Research RIKEN; 1-7-22 Suehiro-cho, Tsurumi-ku 230-0045
Yokohama City, Kanagawa Japan;

⁴Kazan State Medical Academy – branch of the Russian Medical Academy of Postgraduate Education;
11 Mushtari St., Kazan 420012, Republic of Tatarstan, Russia

Introduction. Development of hereditary ovarian cancer (OC) and breast cancer (BC) is caused by genetic abnormalities in the DNA reparation system consisting of more than 100 genes. However, currently in the majority of medical centers in Russia, diagnosis of hereditary OC and BC consists of determination of the most frequent mutations (8 points) in the BRCA1 and BRCA2 genes using polymerase chain reaction (PCR). Moreover, these mutations are common in Slavic population while in other populations they are rare or altogether absent.

The study objective is to perform a population analysis of mutations in the reparation system genes which must be considered during chemotherapy prescription.

Materials and methods. Using next-generation sequencing (NGS), we analyzed reparation system genes in 139 blood samples of Tatar female patients with hereditary OC and BC.

To compare mutation rates, 67 blood samples from Slavic female patients examined at the Federal Research Clinical Center FMBA (Moscow) in 2014–2016 were analyzed by real-time PCR.

Results. Real-time PCR has shown a 5382insC (NM_007300.3:c.5329dup) mutation in 36 % of Slavic patients. The same mutation was observed only in 7 % of Tatar women. Performed NGS analysis of 139 Tatar female patients with hereditary BC and OC has identified 61 mutations in the reparation system genes, one third of which (28 %) didn't belong to the BRCA1/BRCA2 genes.

Conclusion. The NGS method allowed to identify rare mutations characterizing different ethnic groups facilitating prescription of optimal chemotherapy.

Key words: hereditary breast cancer, hereditary ovarian cancer, mutation, BRCA1/BRCA2 genes, genes of DNA reparation system.

Введение

Рак яичников (РЯ) наряду со злокачественными опухолями шейки и тела матки является одним из распространенных заболеваний онкологической природы [1]. Карцинома яичников составляет 6–8 % из числа всех онкологических заболеваний и 20–25 % среди злокачественных опухолей женских половых органов. Развитие РЯ обусловлено гормональными и генетическими факторами, при этом генетическая предрасположенность выявляется в 15–20 % случаев РЯ [2].

Несмотря на то что распространенность наследственного РЯ не так широка, прогноз выживаемости пациентов с данной патологией является неблагоприятным. Патогенез наследственного РЯ обусловлен в первую очередь мутациями в генах репарации, а с появлением нового поколения таргетных препаратов (PARP-ингибиторов) выявление мутаций BRCA1/BRCA2 у пациентов значительно улучшает общую выживаемость [3, 4].

Развитие наследственного рака молочной железы (РМЖ), как и в случае с наследственным РЯ, обусловлено генетическими нарушениями в системе репарации дезорибонуклеиновой кислоты (ДНК) [5]. В настоящее время в большинстве медицинских центров РФ диагностика наследственного РМЖ представляет собой определение наиболее частых мутаций (8 точек) в генах BRCA1, BRCA2 с помощью методов полимеразной цепной реакции (ПЦР), хотя в мировой литературе описано более 1000 мутаций гена BRCA1 и для многих популяций имеется свой собственный набор частых мутаций. Поэтому существующий на данный момент отечественный подход к генетической диагностике РМЖ и РЯ выявляет только мутации, характерные для славянских популяций, населяющих территорию России [6, 7], и не учитывает остальные мутации

в генах BRCA1/BRCA2, а также других генах системы репарации, обнаружение которых позволило бы выбрать оптимальную тактику лечения [8].

Репарация 2-цепочечных разрывов играет существенную роль в поддержании геномной стабильности: нарушение функциональной активности белков, участвующих в данном виде репарации, приводит к различным формам онкологических заболеваний. В механизмах репарации 2-цепочечных разрывов задействован ряд генов: APC, MUTYH, CDK4, ATM, BRCA1, BRCA2, FANCI, FANCL, PALB2, RAD51B, RAD51C, RAD54L, RAD51D, CHEK1, CHEK2 и др.

Чекпойнт-киназа 2 (продукт гена CHEK2) представляет собой серин-треониновую киназу, которая активируется в ответ на повреждение ДНК и играет важную роль в передаче сигнала белкам репарационной системы. Определенные мутации в CHEK2 ассоциированы с повышенным риском развития РМЖ у женщин [9]. Показано, что герминальная мутация с. 1100delC в гене CHEK2 увеличивает риск возникновения РМЖ в 2 раза [10]. Несмотря на то что в северо-европейских популяциях (финской, голландской) [11, 12] мутация с. 1100delC является довольно частой (~3 %), в южно-европейских популяциях она обнаруживается редко (~0,5 %) [11]. У носителей этой мутации повышен риск развития билатерального РМЖ и мужского РМЖ [9]. У женщин, гомозиготных по данной мутации, риск РМЖ в 6 раз выше по сравнению с гетерозиготными по данной мутации пациентками.

RAD51C — один из важных генов в процессе гомологичной рекомбинации. Биаллельные миссенс-мутации в этом гене приводят к развитию фенотипа, характерного для анемии Фанкони [13]. Чаще всего мутации RAD51C обнаруживаются в семьях с наследственным РЯ [13, 14], случаи выявления мутаций RAD51C

в семьях с наследственным РМЖ редки, однако данная информация справедлива лишь для финских и испанских популяций, где проводились широкомаштабные исследования. Для других популяций частота мутаций *RAD51C* при наследственных РЯ и РМЖ не установлена.

Продукт гена *MUTYH* также участвует в поддержании геномной стабильности, предотвращая конверсию G:C → T:A. Такие конверсии вызваны окислительным повреждением, формирующим 8-оксо-7,8-дигидро-2-дезоксигуанозин (8-охоG), что приводит к ошибочному включению аденина, который, если не будет восстановлен гликозилазой *MUTYH*, может привести к замене G:C на T:A [15]. На настоящий момент широко известно, что наличие мутаций в гене *MUTYH* ассоциировано с повышенным риском колоректального рака, однако данные о влиянии мутаций гена *MUTYH* на развитие РМЖ противоречивы [15, 16].

После внедрения в клиническую практику PARP-ингибитора олапариба откроются новые возможности в лекарственной терапии ряда онкологических заболеваний, обусловленных нарушениями в генах системы репарации 2-цепочечных разрывов ДНК. В настоящее время в разработке находятся более 10 новых молекул PARP-ингибиторов, многие лекарственные средства проходят III фазу клинических испытаний — велипариб (veliparib, производство AbbVie), талазопариб (talazoparib, Medivation). Для ряда препаратов получено одобрение Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food & Drug Administration, FDA) — это нирапариб (niraparib, Tesaro), рукапариб (rucaparib, Clovis Oncology) и олапариб (olaparib, AstraZeneca). С момента появления PARP-ингибиторов предпринимаются попытки расширить область их применения за счет поиска новых биомаркеров, которые могли бы служить показаниями для их назначения. Проводятся или уже завершены клинические испытания эффективности PARP-ингибиторов для разных видов рака в зависимости от статуса мутаций *BRCA1/BRCA2* и генов системы репарации (например, *ENGOT-OV16/NOVA*, *TOPARP*, *AVANOVA2*, см. на сайте <https://clinicaltrials.gov>), которые показали значительное увеличение времени до прогресса для PARP-ингибиторов в подгруппах пациентов с такими нарушениями, как транслокации/делеции *BRCA1/BRCA2*, и патогенными мутациями в генах репарации, что увеличивает долю пациентов, кому показана данная таргетная терапия, с 17 до 70 % (мутации *BRCA1* — 12 %, *BRCA2* — 7 %, нарушения в генах системы репарации — 50–60 %).

Целью данной работы является анализ встречаемости мутаций в генах системы репарации пациенток татарского происхождения с наследственными РЯ и РМЖ для подбора оптимальной лекарственной терапии.

Работа выполнена в соответствии с требованиями GCP (Good Clinical Practice) и Хельсинкской декларацией по защите прав человека.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование включало 139 образцов крови от пациенток из татарской популяции с наследственным РЯ и РМЖ, проходивших обследование и лечение в ГАУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер Минздрава Республики Татарстан» (Казань) в 2014–2016 гг., и 67 образцов крови от пациенток славянского происхождения, проходивших обследование в Федеральном научно-клиническом центре ФМБА России (Москва) в 2014–2016 гг. Критериями включения были как минимум 2 из 3 критериев: молодой возраст возникновения РМЖ и РЯ (до 50 лет), отягощенный семейный анамнез (наличие одного и более РМЖ или РЯ у родственниц 1-й или 2-й линии родства), первично-множественные РМЖ и РЯ, а также самоидентификация больных к татарскому этносу (не менее чем в 2 поколениях в роду все родственники должны принадлежать к татарскому этносу).

Включенные в панель гены: *TP53*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, *EPCAM*, *APC*, *MUTYH*, *CDKN2A*, *CDK4*, *ATM*, *KIT*, *PDGFRA*, *CDH1*, *CTNNA1*, *PRSS1*, *SPINK1*, *BRCA1*, *BRCA2*, *FANCI*, *FANCL*, *PALB2*, *RAD51B*, *RAD51C*, *RAD54L*, *RAD51D*, *CHEK1*, *CHEK2*, *BRIP1*, *PPP2R2A*, *BARD1*, *PARP1*, *STK11*, *XRCC3*.

ДНК из цельной периферической крови выделялась с помощью набора QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen) на автоматической станции QIAcube (Qiagen). Концентрация ДНК измерялась на спектрофотометре NanoVue Plus (GE Healthcare) и составляла 30–50 нг/мкл. Подготовка библиотек для секвенирования осуществлялась с помощью набора NimbleGen SepCapEZ Choice (Roche) по протоколу, рекомендованному производителем. Секвенирование проводилось на приборе MiSeq (Illumina). Картирование прочтений на референсную последовательность генома человека (Hg19) проводилось при помощи алгоритма BWA-MEM, качество исходных данных, выравнивания, обогащения и покрытия целевых регионов проверялось с помощью программ FastQC, BAMQC и NGSrich. Среднее покрытие составило 714×, доля корректно картированных прочтений — 99,5 %, доля целевых регионов с покрытием выше 100× — 96,5 %.

Поиск нуклеотидных вариаций выполнялся с помощью GATK HaplotypeCaller + UnifiedGenotyper, полученный объединенный VCF-файл обрабатывался SnpSift (глубина прочтения — более 10) и аннотировался с помощью SnpEff (анализ всех транскриптов), ANNOVAR (анализ частот аллелей в ExAC, 1000G и ESP6500, алгоритмы проверки функциональной значимости SIFT, PolyPhen2, MutationTaster, FATMM,

CADD, DANN, Eigen), баз данных dbSNP, ClinVar, HGMD Professional 2017.1, VIC.

Для ПЦР в реальном времени использовали тер-моциклер DTrime («ДНК-технология»). ПЦР проводилась с помощью набора «Онкогенетика BRCA» («ДНК-технология») при условиях, рекомендуемых производителем. Данным набором детектируются 7 мутаций в гене *BRCA1* (185delAG, 4153delA, 5382insC, 3819delGTAAG, 3875delGTCT, 300T>G, 2080delA) и 1 мутация в гене *BRCA2* (6174delT).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты секвенирования 139 образцов крови пациенток с наследственным РМЖ можно разделить на 2 группы: 1) патогенные и 2) предположительно патогенные. В 1-й группе было выявлено 39 мутаций у 54 пациенток (см. таблицу). Ко 2-й группе были отнесены 22 мутации, присутствующие у 28 пациенток.

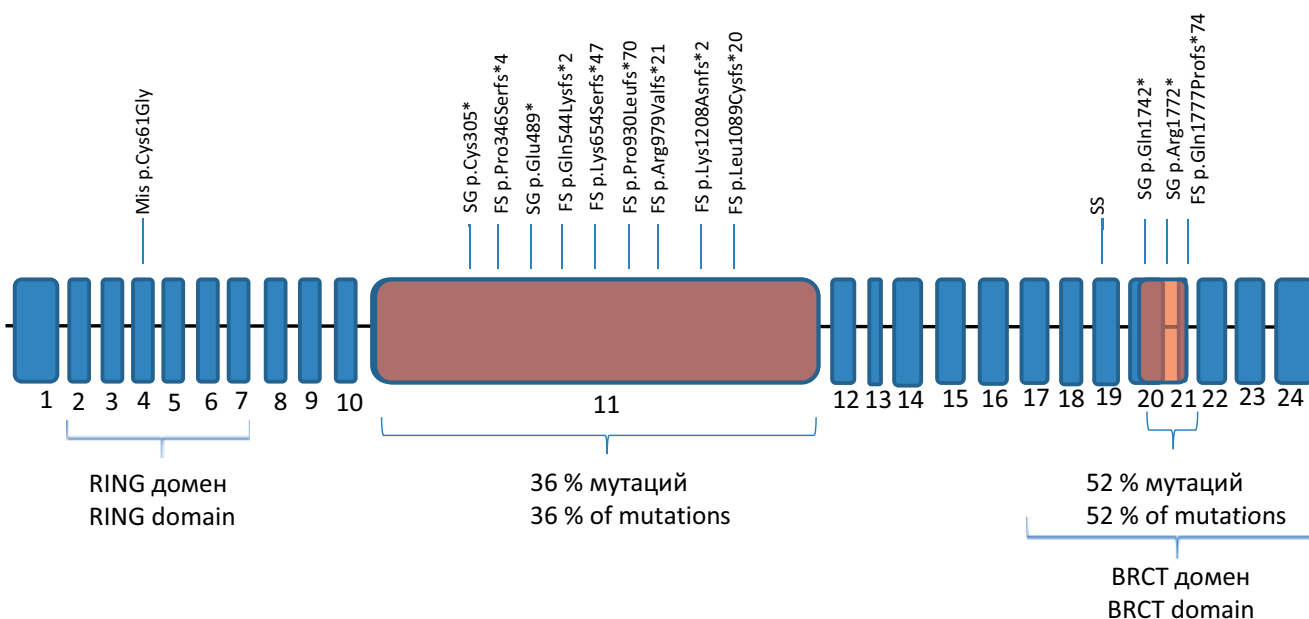
Из обнаруженных патогенных мутаций 72 % присутствуют в генах *BRCA1/BRCA2*, остальные были найдены в других генах системы репарации. При этом у 15 пациенток именно мутации других генов были патогенными (база данных HGMD Professional 2017.1) и участвовали в процессе канцерогенеза, в то время как патогенных изменений в последовательностях генов *BRCA1/BRCA2* у этих пациенток обнаружено не было.

При анализе гена *BRCA1* прослеживались определенные особенности у пациенток татарского происхождения, что отражено на рисунке. Ген *BRCA1* (17q21,

NM_007300.3) состоит из 24 экзонов, которые участвуют в кодировании 1864 аминокислот соответствующего белка [17]. Белок *BRCA1* содержит несколько функциональных доменов, при этом наиболее часто мутации наблюдаются в аминокислотах доменов BRCT и RING, а также в аминокислотах, кодируемых 11–13-м экзонами [18, 19].

При анализе локализации мутаций в гене *BRCA1* пациенток татарского происхождения было обнаружено, что 36 % мутаций приходится на 11-й экзон, что может быть объяснено относительно большим его размером. Экзоны 11–13-й занимают более 40 % кДНК гена *BRCA1* и кодируют последовательности ядерной локализации, а также сайты связывания для нескольких белков, таких как белок ретинобластомы (RB), белки репарации сМус, Rad50 с Rad51. Несмотря на то, что 11–13-й экзоны содержат значительное количество патогенных мутаций (что также подтвердилось нашими данными), очень мало известно о структуре и функциях этого региона по сравнению с регионами, кодирующими домены RING и BRCT.

В 20–21-м экзонах присутствовало 52 % мутаций, обнаруженных нами при анализе гена *BRCA1*. Данный результат мы считаем неожиданным, так как последовательность 20–21-го экзона составляет менее 5 % последовательности кДНК гена *BRCA1*. Примечательно, что некоторые мутации в этом регионе (*p. Gln1742** и *p. Arg1772**) встретились более 1 раза у неродственных пациентов. Следует отметить, что в этом же регионе кДНК расположена мутация *p. Gln1777Profs*74*, известная как 5382insC. Возможно, полученные результаты можно



Расположение мутаций в гене *BRCA1*, найденных у пациенток татарского происхождения. Mis – миссенс-мутация, SG – нонсенс-мутация, FS – мутация сдвига рамки считывания, SS – мутация в сайте сплайсинга

Mutations in the *BRCA1* gene found in Tatar women. Mis – missense mutation, SG – stop-gain mutation, FS – frame shift mutation, SS – mutation in the splice site

Обнаруженные патогенные мутации у пациенток татарского происхождения с наследственным раком молочной железы и яичников
Identified pathogenic mutations in Tatar female patients with hereditary ovarian and breast cancers

Ген Gene	Координата генома человека Hg19 Human genome coordinate Hg19	Транскрипт:кДНК Transcript:cDNA	Белок Protein	Количество обнаруженных мутаций Number of identified mutations
BRCA1	chr17:41215382	NM_007300.3:c.5224C>T	p.Gln1742*	2
BRCA1	chr17:41209079	NM_007300.3:c.5329dup	p.Gln1777Profs*74	9
BRCA1	chr17:41258504	NM_007300.3:c.181T>G	p.Cys61Gly	2
BRCA1	chr17:41246513	NM_007300.3:c.1034_1035insC	p.Pro346Serfs*4	1
BRCA1	chr17:41245587	NM_007300.3:c.1961del	p.Lys654Serfs*47	2
BRCA1	chr17:41209095	NM_007300.3:c.5314C>T	p.Arg1772*	2
BRCA1	chr17:41243924	NM_007300.3:c.3624del	p.Lys1208Asnfs*2	1
BRCA1	chr17:41244614	NM_007300.3:c.2934del	p.Arg979Valfs*21	1
BRCA1	chr17:41244282	NM_007300.3:c.3266del	p.Leu1089Cysfs*20	1
BRCA1	chr17:41215890	NM_007300.3:c.5215+1G>T	- (сайт сплайсинга)	1
BRCA1	chr17:41244761	NM_007300.3:c.2787del	p.Pro930Leufs*70	1
BRCA1	chr17:41246083	NM_007300.3:c.1465G>T	p.Glu489*	1
BRCA1	chr17:41245918	NM_007300.3:c.1630del	p.Gln544Lysfs*2	1
BRCA1	chr17:41246633	NM_007294.3:c.915T>A	p.Cys305*	1
BRCA2	chr13:32900279	NM_000059.3:c.468dup	p.Lys157*	1
BRCA2	chr13:32906625	NM_000059.3:c.1010_1011insTG	p.Asp339Leufs*11	1
BRCA2	chr13:32906576	NM_000059.3:c.965_966dup	p.Val323Lysfs*2	2
BRCA2	chr13:32907409	NM_000059.3:c.1796_1800del	p.Ser599*	1
BRCA2	chr13:32968950	NM_000059.3:c.9381G>A	p.Trp3127*	1
BRCA2	chr13:32968836	NM_000059.3:c.9269del	p.Phe3090Serfs*14	1
BRCA2	chr13:32972745	NM_000059.3:c.10095_10096insT	p.Ser3366*	2
BRCA2	chr13:32906843	NM_000059.3:c.1231del	p.Ile411Tyrfs*19	1
BRCA2	chr13:32915113	NM_000059.3:c.6622_6623del	p.Asn2208Tyrfs*16	1
BRCA2	chr13:32915062	NM_000059.3:c.6574del	p.Met2192Trpfs*14	1
BRCA2	chr13:32914265	NM_000059.3:c.5773del	p.Gln1925Argfs*38	1
CDH1	chr16:68844220	NM_004360.4:c.808T>G	p.Ser270Ala	2
MUTYH	chr1:45800146	NM_001128425.1:c.74G>A	p.Gly25Asp	1
MUTYH	chr1:45800167	NM_001128425.1:c.53C>T	p.Pro18Leu	1
MUTYH	chr1:45797228	NM_001128425.1:c.1187G>A	p.Gly396Asp	2
MUTYH	chr1:45798269	NM_001128425.1:c.667A>G	p.Ile223Val	1
CHEK2	chr22:29091857	NM_001005735.1:c.1229del	p.Thr410Metfs*15	1
CHEK2	chr22:29099504	NM_001005735.1:c.1022_1026del	p.Tyr341Cysfs*12	1
CHEK2	chr22:29090060	NM_001005735.1:c.1550G>A	p.Arg517His	1
CHEK2	chr22:29130389	NM_001005735.1:c.319+2T>A	- (сайт сплайсинга)	2
RAD51C	chr17:56801399	NM_058216.2:c.905-2_905-1del	- (сайт сплайсинга)	1
MSH2	chr2:47630353	NM_000251.2:c.23C>T	p.Thr8Met	1
FANCI	chr15:89838324	NM_001113378.1:c.2635C>T	p.Arg879*	1

*Стоп-кодон.

Примечание. Hg19 – геном человека, кДНК – кодирующая ДНК.

*Stop codon

Note. Hg19 – genome human, cDNA – coding DNA.

объяснить генетическими особенностями популяции татар, однако гипотеза требует дальнейшего изучения с привлечением выборки не менее 500–600 человек и анализа гаплотипов этого хромосомного локуса.

Экзоны 20–21-й входят в регион, кодирующий домен BRCT. Было показано, что этот домен связывается с двунитевыми разрывами ДНК как напрямую, так и с помощью фактора репликации RFCp140, и распознает 5' — фосфат в месте разрыва ДНК. Мутации в домене BRCT приводят к потере способности белка распознавать фосфолиганды [20]. На сегодняшний момент каких-либо закономерностей в расположении мутаций и наличия «горячих точек» в гене *BRCA1* не выявлено. Существуют, однако, доказанные многочисленными исследованиями мутации с «эффектом основателя», характерные для определенных популяций, которые составляют евреи ашкенази, финны и др. Мутации с данным эффектом для многих популяций либо нехарактерны за счет огромного генетического разнообразия населения (африканские и афроамериканские популяции), либо исследованы слабо (азиатские популяции). Примечательно, что в последнее время именно в азиатских популяциях обнаруживаются ранее неописанные мутации в гене *BRCA1* [21, 22]. Мы обратили внимание на мутацию *5280C>T* (*NM_007294.3: c. 5161C>T*) в 19-м экзоне гена *BRCA1*, которая была обнаружена в одной из обследованных китайских семей у 2 пациенток и описана в 2012 г. как новая [21]. Эта же мутация была обнаружена у 2 неродственных татарских пациенток. При наличии большего количества пациенток-носительниц мутации *5280C>T* следует исследовать гаплотипы пациенток с данной мутацией для анализа особенностей наследования у женщин татарского происхождения.

При анализе спектра мутаций в гене *BRCA1* у пациенток татарского этногенеза было выявлено, что 65 % всех мутаций относятся к мутациям сдвига рамки считывания. Преобладающее количество такого типа мутаций в гене *BRCA1* подтверждается другими исследованиями в этой области. При наличии нонсенс-мутаций или сдвига рамки считывания, приво-

дящего к преждевременной терминации трансляции, существует высокий риск развития РЯ и РМЖ, так как данные мутации ведут к потере функций белка.

По результатам анализа ПЦР в реальном времени среди женщин славянского происхождения в 36 % случаев была выявлена мутация *5382insC* (*NM_007300.3: c. 5329dup*). Эта же мутация обнаруживалась лишь в 7 % случаев у татарских женщин. Таким образом, подтверждается предположение о том, что ПЦР-наборы, которые используют в РФ для поиска мутаций в генах *BRCA1/BRCA2*, не столь эффективны в отношении пациенток татарского происхождения и, возможно, других этносов, отличных от славянского. Пять из восьми частых мутаций не встретились ни разу ни в татарской, ни в славянской выборке (общий размер выборки — 206 человек).

С помощью метода NGS появилась возможность выявить редкие мутации, характерные для различных этносов, что дает возможность оптимизировать диагностическую и лечебную тактику пациентов из данной популяции.

Выводы

В результате проведенного NGS-анализа 139 пациенток татарского происхождения с наследственными РМЖ и РЯ было выявлено 39 мутаций в генах системы репарации, 1/3 из которых (28 %) детектирована не в генах *BRCA1/BRCA2*. Таким образом, в нашем исследовании мы подтверждаем необходимость анализа совокупности генов репарационной системы.

Были выявлены особенности, присущие мутациям в гене *BRCA1* у татарских женщин, больных РЯ и РМЖ: более 50 % мутаций была сосредоточена в 20–21-м экзонах, входящих в состав BRCT домена. Однако возможные причины этой особенности требуют дальнейшего изучения.

Частота мутаций в генах *BRCA1, BRCA2* существенно различается между пациентками с РМЖ и РЯ славянского и татарского происхождения, что подтверждает необходимость NGS-анализа в случае отсутствия положительных результатов анализа ПЦР в реальном времени.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Scalia-Wilbur J., Colins B.L., Penson R.T., Dizon D.S. Breast Cancer Risk Assessment: Moving Beyond BRCA 1 and 2. *Semin Radiat Oncol* 2016;26(1):3–8. DOI: 10.1016/j.semradonc.2015.09.004.
- Имянитов Е.Н. Наследственный рак молочной железы: Практическая онкология 2010;11(4):258–266. [Имянитов Е.Н. Hereditary breast cancer. *Prakticheskaya onkologiya = Practical Oncology* 2010;11(4):258–266. (In Russ.)].
- Crafton S. M., Bixel K., Hays J.L. PARP inhibition and gynecologic malignancies: A review of current literature and on-going trials. *Gynecol Oncol* 2016;142(3):588–596. DOI: 10.1016/j.ygyno.2016.05.003.
- Livraghi L, Garber J.E. PARP inhibitors in the management of breast cancer: current data and future prospects. *BMC Med* 2015;13:188. DOI: 10.1186/s12916-015-0425-1.
- Foretova L., Machackova E., Navratilova M. et al. BRCA1 and BRCA2 mutations in women with familial or early-onset breast/ovarian cancer in the Czech Republic. *Hum Mutat* 2004;23(4):397–398. DOI: 10.1002/humu.9226.
- Хасанова А.И., Гордиев М.Г., Ратнер Е.Ю. и др. BRCA-ассоциированный рак молочной железы у представительниц татарской национальности на примере клинического случая. *Приволжский онкологический вестник* 2016;24(2):104–108. [Khasanova A.I., Gordiev M.G., Ratner E.Yu. et al. Clinical report of BRCA-associated breast cancer among representative of the tatar nationality group. *Privolzhskiy onkologicheskii vestnik = Oncology Bulletin of the Volga Region* 2016;24(2):104–108. (In Russ.)].
- Fackenthal J.D., Olopade O.I. Breast cancer risk associated with BRCA1 and BRCA2 in diverse populations. *Nat Rev Cancer* 2007;7(12):937–948. DOI: 10.1038/nrc2054.
- Matsuda S. Defective DNA repair systems and the development of breast and prostate cancer (Review). *Int J Oncol* 2013;42(1):29–34. DOI: 10.3892/ijo.2012.1696.
- Cybulski C., Wokolorzcyk D., Jakubowska A. et al. Risk of Breast Cancer in Women With a CHEK2 Mutation With and Without a Family History of Breast Cancer. *J Clin Oncol* 2011;29(28):3747–3752. DOI: 10.1200/JCO.2010.34.0778.
- Desrichard A., Bidet Y., Uhrhammer N., Bignon Y.-J. CHEK2 contribution to hereditary breast cancer in non-BRCA families. *Breast Cancer Res* 2011;13:R119. DOI: 10.1186/bcr3062.
- Friedrichsen D.M., Malone K.E., Doody D.R. et al. Frequency of CHEK2 mutations in a population based, case–control study of breast cancer in young women. *Breast Cancer Res* 2004;6(6):R629–R635. DOI: 10.1186/bcr933.
- Nevanlinna H., Bartek J. The CHEK2 gene and inherited breast cancer susceptibility. *Oncogene* 2006;25(43):5912–5919. DOI: 10.1038/sj.onc.1209877.
- Clague J., Wilhoite G., Adamson A. et al. RAD51C Germline Mutations in Breast and Ovarian Cancer Cases from High-Risk Families. *PLoS ONE* 2011;6(9):e25632. DOI: 10.1371/journal.pone.0025632.
- Lu W., Wang X., Lin H. et al. Mutation screening of RAD51C in high-risk breast and ovarian cancer families. *Fam Cancer* 2012;11(3):381–385. DOI: 10.1007/s10689-012-9523-9.
- Rennert G., Lejbkowitz F., Cohen I. et al. MutYH mutation carriers have increased breast cancer risk. *Cancer* 2012;118(8):1989–1993. DOI: 10.1002/cncr.26506.
- Boesaard E.P., Vogelaar I.P., Bult P. et al. Germline MUTYH gene mutations are not frequently found in unselected patients with papillary breast carcinoma. *Hered Cancer Clin Pract* 2014;12:21. DOI: 10.1186/1897-4287-12-21.
- Clark S.L., Rodriguez A.M., Snyder R.R. et al. Structure-Function of the Tumor Suppressor BRCA1. *Comput Struct Biotechnol J* 2012;1. DOI: 10.5936/csbi.201204005.
- Nelson A.C., Holt J.T. Impact of RING and BRCT Domain Mutations on BRCA1 Protein Stability, Localization, and Recruitment to DNA Damage. *Radiat Res* 2010;174(1):1–13. DOI: 10.1667/RR1290.1.
- Chai Y.L., Cui J., Shao N. et al. The second BRCT domain of BRCA1 proteins interacts with p53 and stimulates transcription from the p21WAF1/CIP1 promoter. *Oncogene* 1999;18(1):263–8. DOI: 10.1038/sj.onc.1202323.
- Clapperton J.A., Manke I.A., Lowery D.M. et al. Structure and mechanism of BRCA1 BRCT domain recognition of phosphorylated BACH1 with implications for cancer. *Nat Struct Mol Biol* 2004;11(6):512–518. DOI: 10.1038/nsmb775.
- Cao W., Wang X., Gao Y. et al. BRCA1 germ-line mutations and tumor characteristics in eastern Chinese women with familial breast cancer. *Anat Rec Hoboken NJ* 2007. 2013;296(2):273–278. DOI: 10.1002/ar.22628.
- Cao W.-M., Gao Y., Yang H.-J. et al. Novel germline mutations and unclassified variants of BRCA1 and BRCA2 genes in Chinese women with familial breast/ovarian cancer. *BMC Cancer* 2016;16:64. DOI: 10.1186/s12885-016-2107-6.