

М.А.Бермишева¹, Г.Ф.Зиннатуллина^{2,3}, Ш.Х.Ганцев³, В.А.Кочанова⁴, О.С.Попов⁴, Т.Доерк⁵,
Э.К.Хуснутдинова¹

ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ МУТАЦИИ 5382insC ГЕНА *BRCA1*

¹ Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Уфа, ² КОД МЗ Республики Башкортостан, Уфа,
³ Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, ⁴ Клиническая больница № 1, Стерлитамак,
⁵ Медицинская школа, Ганновер, Германия

Проведен анализ частоты выявления мутации с5266dupC (5382insC) гена *BRCA1* у больных раком молочной железы, проживающих в Республике Башкортостан и Тюменской области. Выявлена высокая частота мутации 5382insC в исследуемой выборке больных (4%).

Ключевые слова: рак молочной железы, генетика, *BRCA1*.

В структуре онкологической заболеваемости наблюдается тенденция к значительному увеличению случаев рака молочной железы. Статистические показатели последних лет свидетельствуют о том, что это заболевание занимает первое место в структуре онкопатологии женского населения большинства высокоразвитых стран мира и имеет тенденцию к неуклонному росту. Наряду с ростом заболеваемости происходит и увеличение смертности. При этом в структуре смертности от всех злокачественных новообразований женщин рак молочной железы имеет наибольший удельный вес, составляя в США 18%, а в странах Европы — 17% [1]. В России данный показатель в 1997 г. составил 17% [4]. Риск возникновения заболевания в течение жизни оценивается в среднем у женщин на уровне 11%. Частота заболевания РМЖ возрастает ежегодно на 1–2%. За период с 1980 по 2000 г. заболеваемость РМЖ в России повысилась почти на 70%. В этих условиях становится все более оправданным поиск факторов, оказывающих влияние на рост заболеваемости. Среди таких факторов все большее внимание привлекают генетические, среди которых особое место занимает ген РМЖ, *BRCA1*.

Различные мутации и полиморфные варианты гена *BRCA1* представлены в базе данных (Breast Cancer Information Core Database) [5]. Мутации сдвига рамки считывания, мутации сайта сплайсинга или нонсенс-мутации в большинстве случаев приводят к нарушению структуры белка и его функции. Спектр мутаций варьирует между популяциями. Две мутации (с5266dupC и с.68-

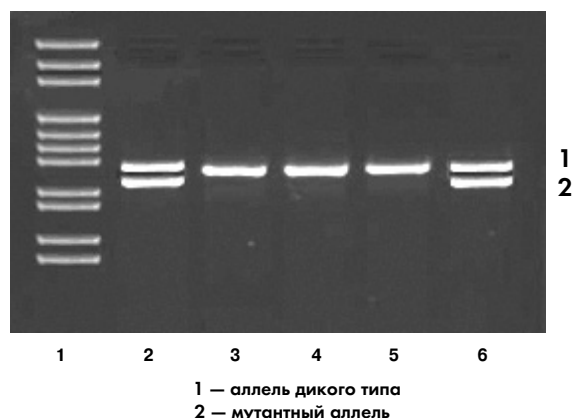
69delAG, т.е. 5382insC и 6174delT соответственно) были обнаружены в большинстве семей со случаями РМЖ или рака яичников у евреев Ашкенази. Популяционный спектр мутаций был описан для населения Нидерландов [11], Швеции [10], Франции [14], Испании [7], Чехии [12], Италии [13] и других. Две *BRCA1*-мутации — с.5266dupC и с.181T>G (300T>G) — встречаются с высокой частотой в странах Центральной и Восточной Европы [8, 9, 15].

В России изучение спектра мутаций гена *BRCA1*, наряду с другими исследованиями, проведено в популяции Московской и Ленинградской областей (семейные случаи заболевания) [2, 3]. Лидирующее положение по частоте встречаемости занимает мутация 5382insC. Полученные результаты имеют существенное значение для практической ДНК-диагностики наследственной предрасположенности к раку молочной железы и яичников в России, главным образом, у женщин русского этнического происхождения. Наличие мажорной мутации позволяет проводить скрининговые исследования в группах повышенного риска с целью своевременной первичной профилактики возникновения и развития данной патологии.

Целью нашего исследования было проведение анализа распространения мутации с.5266dupC (5382insC) в выборке больных раком молочной железы, проживающих на территории Республики Башкортостан и Тюменской области (башкиры, татары, русские, украинцы и другие) без учета случаев РМЖ в семьях.

Материал и методика

Материалом нашего исследования явились образцы ДНК больных РМЖ, находившихся на стационарном лечении в отделении маммологии Клинического онкологического диспансера г. Уфы и Стерлитамака Республики Башкортостан, и пациентки онкологического отделения Сургутской окружной клинической больницы Ханты-Мансийского автономного округа за период 2000–2007 гг. У исследуемой группы больных диагноз был в большинстве случаев верифицирован; для морфологической характеристики применена гистологическая классификация Международного противоракового



Детекция мутации 5382insC гена *BRCA1* методом ПДРФ-анализа.

1 — маркер молекулярного веса; 2, 6 — образцы с мутацией 5382insC гена *BRCA1* в гетерозиготном состоянии; 3, 4, 5 — образцы без мутации (аллель дикого типа).

союза (шестое издание, 2002 г.). Данные о каждой пациентке, собранные из всех возможных источников, заносились в специально разработанную нами формализованную карту (ФК), на основании которой создана компьютерная база данных. ФК заполнялась индивидуально на каждого пациента для последующего занесения в генетический регистр. Возраст пациенток колебался от 26 лет до 81 года.

ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции.

Поиск мутации проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим ПДРФ-анализом (изучением полиморфизма длин рестрикционных фрагментов) с использованием эндонуклеаз рестрикции *DdeI* или *ScrFI* (рисунок) и дальнейшим секвенированием (для подтверждения наличия мутации).

Исследования выполнены на базе лаборатории по изучению рака молочной железы Ганноверской медицинской школы (Ганновер, Германия) и лаборатории молекулярной генетики человека Института биохимии и генетики УНЦ РАН (Уфа, Россия).

Результаты и обсуждение

Нами были исследованы образцы ДНК 372 больных раком молочной железы и 19 больных раком яичников. Выявлено 15 носителей инсерции цитозина в позиции 5382 среди больных раком молочной железы (4%) и у одной пациентки в группе больных раком яичников (5%). Для шести носителей мутации установлены семейные случаи заболевания РМЖ, в одном случае — раком яичников. Средний возраст заболевания для носительниц данной мутации составил 41 год, тогда как средний возраст пациентов без мутации — 51 год. В одном случае имело место билатеральное поражение молочных желез. Необходимо отметить, что группа носительниц мутации была

Клинико-морфологическая характеристика рака молочной железы у носителей мутации 5382insC гена *BRCA1*

Номер пробы	Семейные случаи заболевания	Возраст, в котором установлен диагноз	Клиническая стадия заболевания	Билатеральные поражения молочных желез	Менопаузальный статус	Степень злокачественности	Поражение лимфатических узлов	Гистология	Национальность
3	Нет	37	IIB	Нет	Пременопауза	Gx	Да	Инфильтрирующий протоковый РМЖ	Украинка
139	Нет	33	IIIA	Нет	Пременопауза	нд	Да	Инфильтрирующая протоковая карцинома МЖ	Татарка
156	Нет	40	I	Нет	нд	нд	Нет	нд	Татарка
183	Нет ²	61	IIA	Нет	Постменопауза	нд	Нет	нд	Татарка
239	Нет	52	I	Нет	Постменопауза	G2	Нет	нд	Русская
254	Да ¹	40	IIA	Нет	Пременопауза	нд	Нет	Солидный РМЖ	Русская
269	Да ¹	44	IIB	Нет	Пременопауза	G2	Да	Аденокарцинома МЖ	Русская
280	Нет	55	IIA	Нет	нд	G2	Нет	Инфильтрирующий протоковый РМЖ	Мордва
310	Нет	41/45	IIA	Да	Пременопауза	G3	Нет	Дольковый РМЖ	Русская
319	Да ¹	58	IIIB	Нет	Постменопауза	G2	Да	Инфильтрирующий дольковый РМЖ	Русская
325	Нет	41	IIA	Нет	Пременопауза	нд	Нет	Инфильтрирующий протоковый РМЖ	Русская
031	Да ¹	48	IIB	Нет	нд	нд	нд	нд	Русская
037	Нет	26	IIIB	Нет	нд	нд	нд	нд	Мари
042	Да ^{0,5}	40	нд	Нет	нд	нд	нд	нд	Русская
046	Да ¹	40	IIA	Нет	нд	нд	нд	нд	Татарка

Примечание: ^{0,5} вторая степень родства, ¹ первая степень родства, ² рак яичников у родственников первой степени родства; нд — нет данных.

неоднородна по этническому составу (русские, украинцы, татары, мордва и мари). Клинические и морфологические особенности рака молочной железы у носителей изученной мутации гена *BRCA1* представлены в таблице.

Наши результаты хорошо согласуются с мировыми данными: во-первых, отмечено более раннее начало заболевания у носителей 5382insC; во-вторых, более чем в 50% случаев у больных РМЖ отсутствует поражение лимфатических узлов [16]. Ранее установлено, что у носителей мутаций гена *BRCA1* преобладает негативный статус рецепторов эстрогенов и прогестерона. Также отмечено, что опухоли, ассоциированные с мутациями генов *BRCA1* и *BRCA2*, имеют более высокую степень злокачественности (преимущественно степень III) в сравнении со спорадическими случаями РМЖ [16]. В одной из недавних работ было показано, что для *BRCA1*-ассоциированного РМЖ характерен высокий уровень развития контралатерального РМЖ, в силу чего авторы поддерживают идею о проведении превентивной мастэктомии [6].

Полученные в настоящем исследовании результаты подтверждают необходимость проведения ДНК-диагностики и медико-генетического консультирования как в группах повышенного риска (семейные случаи заболевания), так и у женщин, не отмечающих случаев заболевания у родственников, с целью повышения эффективности ранней диагностики, индивидуализации специфического лечения и, возможно, повышения уровня выживаемости больных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аксель Е.М., Двойрин В.В., Трапезников Н.Н. Заболеваемость и смертность от злокачественных новообразований населения России в 1992 г.—М., 1994.
2. Карпунин А.В., Логинова А.Н., Хомич Е.В., Поспехова Н.И. Наследственная предрасположенность к раку молочной железы // Мед. генетика.—2002.—Т. 6.—С. 254–259.
3. Мандельштам М.Ю. Молекулярно-генетический анализ моногенных форм атеросклероза и рака молочной железы у жителей Санкт-Петербурга: Автореф. дисс. ... д-ра биол. наук.—СПб., 2005.
4. Чиссов В.И., Старинский В.В., Ременник Л.В. Злокачественные новообразования в России в 1997 г. (заболеваемость и смертность).—М., 1999.
5. Breast Cancer Information Core (BIC) <http://research.nhgri.nih.gov/bic/>
6. Brekelmans C.T.M., Seynaeve C., Menke-Pluymers M. et al. Survival and prognostic factors in *BRCA1*-associated breast cancer // Ann. Oncol.—2006.—Vol. 17.—P. 391–400.

7. Diez O., Osorio A., Duran M. et al. Analysis of *BRCA1* and *BRCA2* genes in Spanish breast/ovarian cancer patients: a high proportion of mutations unique to Spain and evidence of founder effects // Hum. Mutat.—2003.—Vol. 22.—P. 301–312.
8. Gayther S.A., Harrington P., Russell P. et al. Frequently occurring germline mutations of the *BRCA1* gene in ovarian cancer in families from Russia // Amer. J. Hum. Genet.—1997.—Vol. 60.—P. 1239–1242.
9. Girzybowska E., Zientek H., Jasinska A. et al. High frequency of recurrent mutations in the *BRCA1* and *BRCA2* in Polish families with breast and ovarian cancer // Hum. Mutat.—2000.—Vol. 16.—P. 482–490.
10. Hakansson S., Johannson O., Johannson U. et al. Moderate frequency of *BRCA1* and *BRCA2* germline mutations in Scandinavian familial breast cancer // Amer. J. Hum. Genet.—1997.—Vol. 60.—P. 1068–1078.
11. Peelen T., van Vliet M., Petrij-Bosch A. et al. A high proportion of novel mutations in *BRCA1* with strong founder effects among Dutch and Belgian hereditary breast and ovarian cancer families // Ibid.—1997.—Vol. 60.—P. 1041–1049.
12. Pohlreich P., Zikan M., Stribma J. et al. High proportion of recurrent germline mutations in the *BRCA1* gene in breast and ovarian cancer patients from the Prague area // Breast Cancer Res.—2005.—Vol. 7.—P. 728–736.
13. Santarosa M., Viel A., Dolcetti R. et al. Low incidence of *BRCA1* mutations among Italian families with breast and ovarian cancer // Int. J. Cancer.—1998.—Vol. 78.—P. 581–586.
14. Stoppa-Lyonnet D., Laurent-Puig P., Essioux L. et al. *BRCA1* sequence variations in 160 individuals referred to a breast/ovarian family cancer clinic // Amer. J. Hum. Genet.—1997.—Vol. 60.—P. 1021–1030.
15. Van der Looij M., Szabo C., Besznyak I. et al. Prevalence of founder *BRCA1* and *BRCA2* mutations among breast and ovarian cancer patients in Hungary // Int. J. Cancer.—2000.—Vol. 86.—P. 737–740.
16. Wagner T.M.U., Moeslinger R.A., Huhr D. et al. *BRCA1*-related breast cancer in Austrian breast and ovarian cancer families: specific *BRCA1* mutations and pathological characteristics // Int. J. Cancer.—1998.—Vol. 7.—P. 354–360.

Поступила в редакцию 14.08.2007 г.

M.A.Bermisheva¹, G.F.Zinnatullina^{2,3}, Sh.Kh.Gantsev³,
V.A.Kochanova⁴, O.S.Popov⁴, T.Doer⁵, E.K.Khusnutdinova¹

APPRAISAL OF INCIDENCE OF C5266dupC (5382insC) MUTATION OF *BRCA1* IN BREAST CANCER PATIENTS

¹Institute of Biochemistry and Genetics, Research and Academic Center, Russian Academy of Sciences; ²Department of Mammology, the Ministry of Health, Republic of Bashkortan; ³Bashkir State Medical, Ufa; ⁴University; Clinical Hospital #1, Sterlitamak; ⁵Medical School, Hannover, Germany

The paper assesses c5266dupC (5382insC) mutation incidence among breast cancer patients, residents of the Republic of Bashkortan and Tyumen Region. It appeared as high as 4%.