

МУТАЦИИ В ГЕНАХ — СУПРЕССОРАХ ОПУХОЛЕВОГО РОСТА И ИХ СВЯЗЬ С ФЕНОТИПИЧЕСКИМИ ОСОБЕННОСТЯМИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ЖЕНЩИН МОЛОДОГО ВОЗРАСТА

© Л.А. Гордеева¹, И.Е. Лойко², Е.Н. Воронина³, Е.Е. Кутонова⁴, Е.Г. Поленок¹, С.А. Мун¹,
Н.Е. Вержбицкая², И.Л. Васильченко^{2,4}, М.Л. Филипенко³, А.Н. Глушков¹

¹ Федеральный исследовательский центр угля и углехимии СО РАН (Институт экологии человека СО РАН), Кемерово;

² Областной клинический онкологический диспансер, Кемерово;

³ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск;

⁴ Кемеровский государственный университет, Кемерово

Для цитирования: Гордеева Л.А., Лойко И.Е., Воронина Е.Н., и др. Мутации в генах — супрессорах опухолевого роста и их связь с фенотипическими особенностями рака молочной железы у женщин молодого возраста // Экологическая генетика. — 2018. — Т. 16. — № 3. — С. 62–71. doi: 10.17816/ecogen16362-71.

Поступила в редакцию: 02.08.2018

Принята к печати: 14.09.2018

✿ Изучали частоты встречаемости мутаций в генах *BRCA1* 5382insC (rs80357906), *CHEK2* 1100delC (rs555607708) и *BLM* с.1642 C>T (rs200389141) и их связь с фенотипическими особенностями рака молочной железы (РМЖ) у 104 женщин молодого возраста. Мутация *BRCA1* 5382insC была выявлена у 9,6 % больных РМЖ. Наличие мутации *BRCA1* 5382insC сопряжено с отсутствием экспрессии эстрогеновых рецепторов ($\chi^2 = 18,48$, $d(f) = 1$, $p < 0,0001$), опухолевого рецептора HER2/нео ($\chi^2 = 5,61$, $d(f) = 1$, $p < 0,02$) и с высокой частотой встречается при трижды негативном фенотипе опухоли ($\chi^2 = 17,42$, $d(f) = 3$, $p < 0,001$). При отсутствии носительства мутации *BRCA1* 5382insC (спорадический РМЖ) у женщин наблюдался преимущественно эстроген-рецептор-позитивный РМЖ ($p = 0,001$). Мутации в генах *CHEK2* 1100delC и *BLM* с.1642 C>T в исследуемой выборке молодых женщин с РМЖ отсутствовали. Наши результаты подтверждают целесообразность обнаружения мутации *BRCA1* 5382insC у больных РМЖ для оптимизации тактики лечения и у здоровых молодых женщин для ранней диагностики РМЖ.

✿ **Ключевые слова:** рак молочной железы; мутация; ген *BRCA1*; ген *CHEK2*; ген *BLM*; фенотип опухоли.

MUTATIONS IN TUMOR SUPPRESSOR GENES AND THEIR RELATIONSHIP WITH PHENOTYPIC FEATURES OF BREAST CANCER IN YOUNG AGE WOMEN

© L.A. Gordeeva¹, I.L. Lojko², E.N. Voronina³, E.E. Kutonova⁴, E.G. Polenok¹, S.A. Mun¹,
N.E. Verzhbitskaja², I.L. Vasilchenko^{2,4}, M.L. Filipenko³, A.N. Glushkov¹

¹ Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry of Siberian Branch of RAS (Institute of Human Ecology SB RAS), Kemerovo, Russia;

² Regional Clinical Oncological Hospital, Kemerovo, Russia

³ Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia;

⁴ Kemerovo State University, Kemerovo, Russia

For citation: Gordeeva LA, Lojko IL, Voronina EN, et al. Mutations in tumor suppressor genes and their relationship with phenotypic features of breast cancer in young age women. *Ecological genetics*. 2018;16(3):62-71. doi: 10.17816/ecogen16362-71.

Received: 02.08.2018

Accepted: 14.09.2018

✿ **Background.** Breast cancer (BC) is the most common oncological disease in women in the world. The aim of study is to investigate the frequencies of mutations in *BRCA1* 5382insC (rs80357906), *CHEK2* 1100delC (rs555607708) and *BLM* с.1642 C>T (rs200389141) genes and their relationship with the phenotypic features of BC in 104 young age women. **Materials and methods.** We studied 104 young age women with breast cancer. Typing of mutations *BRCA1* 5382insC, *CHEK2* 1100delC and *BLM* с.1642 C>T genes were performed by real-time PCR followed by melting analysis. **Results.** The *BRCA1* 5382insC mutation was detected in 9.6% of BC patients. The *BRCA1* 5382insC mutation was correlated with the lack of expression of estrogen receptors ($\chi^2 = 18.48$, $d(f) = 1$, $p < 0.0001$), the HER2/neo tumor receptor ($\chi^2 = 5.61$, $d(f) = 1$, $p < 0.02$). The *BRCA1* 5382insC mutation was more often in the “triple negative” BC ($\chi^2 = 17.42$, $d(f) = 3$, $p < 0.001$). Luminal A subtype of disease was observed the predominantly in non-carriers of the mutation *BRCA1* 5382insC (sporadic breast cancer).

The founder mutations in the *CHEK2* 1100delC and *BLM* c.1642 C>T genes were absent in young age women with BC.

Conclusion. Our results confirm the high significance of detecting the *BRCA1* rs80357906 mutation in young age women with BC for optimization of treatment tactic and for early diagnosis of BC.

✿ **Keywords:** breast cancer; mutation; *BRCA1* gene; *CHEK2* gene; *BLM* gene; tumor phenotype.

ВВЕДЕНИЕ

Рак молочной железы (PMЖ) представляет собой самое распространенное онкологическое заболевание у женщин в мире. Отмечено, что за последние десятилетия наблюдается заметная тенденция «омоложения рака», при этом у людей репродуктивного возраста рак является второй по частоте причиной смерти [1]. Среди больных PMЖ только 5–7 % женщин заболевают в возрасте менее 40 лет. У этих женщин рак клинически протекает более агрессивно, с высокой вероятностью рецидива и смертности [2, 3] и имеет биологические особенности на генотипическом и фенотипическом уровнях [4].

Согласно современным представлениям PMЖ — сложное полигенное заболевание, связанное с комбинированным эффектом многих генетических вариантов с разной частотой встречаемости и пенетрантности [5]. Термином «супрессоры опухолевого роста» принято обозначать гены (*BRCA1/2*, *TP53*, *CHEK2*, *BLM*, *NBS1*, *ATM* и др.), нормальная функция которых связана с подавлением опухолевого роста и поддержанием стабильности генетического аппарата клетки [6]. Большинство из них отвечает за механизмы репарации двухцепочечных разрывов и межнитевых сшивок ДНК посредством гомологичной рекомбинации [7]. Мутации в отдельных генах ассоциированы с наследственной предрасположенностью к PMЖ, составляющей от 5 до 15 % всех случаев рака. В настоящее время наиболее востребована ДНК-диагностика мутаций в генах *BRCA*, *CHEK2* и *BLM* в связи с их высокой частотой встречаемости (3–5 %) в общей популяции российских женщин с PMЖ [8].

На примере отдельных стран и этносов продемонстрировано, что дефект в высокопенетрантных генах *BRCA1/2* преимущественно связан со специфическими мутациями, передающимися из поколения в поколение, так называемый эффект основателя (founder effect). Такие мутации в гене *BRCA1* встречаются в 1,5–2 раза чаще, чем в гене *BRCA2* [9]. Наиболее распространенной мутацией гена *BRCA1* у больных PMЖ в российской популяции является вариант *5382insC* (rs80357906), который составляет примерно 80 % от всех мутаций *BRCA1* [10].

Наследственные формы PMЖ также могут быть обусловлены мутациями в генах *CHEK2* и *BLM*, характеризующихся средней пенетрантностью. Так, мутация в гене *CHEK2* 1100delC (rs555607708) имеет высокую встречаемость у больных PMЖ Северо-Западного региона России. Сообщается, что он может

влиять на риск развития рака в *BRCA*-негативных семьях с множеством случаев PMЖ [11]. Гетерозиготное носительство мутаций в гене *BLM* связано с повышенным риском развития рака разной локализации (колоректального, предстательной железы, PMЖ и т. д.) [12]. Гомозиготные мутации в гене *BLM* встречаются в основном у евреев-ашкенази и вызывают редчайшее заболевание — синдром Блума [13]. Как показали исследования, у славянских народов мутация в гене *BLM* c.1642 C>T (Q548X, rs200389141) может служить причиной наследственно обусловленного PMЖ [13].

Молекулярный фенотип карцином молочной железы чрезвычайно гетерогенен и во многом связан с рецепторным статусом опухолевых клеток и степенью экспрессии гена *HER2*. В соответствии с рецепторным статусом выделяют две группы карцином — эстроген-рецептор-положительные и эстроген-рецептор-отрицательные. Отсутствие рецепторов эстрогенов (ER) и прогестерона (PR) в опухолевых клетках коррелирует с неблагоприятным прогнозом и рецидивом рака [14]. Опухоли с гиперэкспрессией гена *HER2* (кодирует тирозинкиназу семейства рецептора эпидермального фактора роста EGFR/ErbB), отвечающего за контроль механизмов клеточной пролиферации, адгезии и ангиогенеза, отличаются агрессивным течением и ранним метастазированием [15]. Выделяют еще один фенотип PMЖ — трижды негативный (ER(-)/PR(-)/HER2(-)), по некоторым данным, он коррелирует с мутациями в гене *BRCA1* [8]. Факторы риска для трижды негативного и *HER2*-ассоциированного PMЖ менее изучены [4]. Кроме того, недостаточно изучено влияние герминальных мутаций в генах — супрессорах опухолевого роста с клинической картиной течения PMЖ.

Одним из факторов, влияющих на риск PMЖ у женщин молодого возраста, является состояние фертильности. Как показали исследования, ранние роды у носителей мутаций *BRCA* не защищают от PMЖ. До сих пор остается много противоречий в оценке влияния репродуктивного поведения женщин на риск развития PMЖ у носительниц герминальных мутаций в генах *BRCA* [16]. Поэтому расширение знаний о клинико-анамнестических данных молодых женщин с PMЖ — носителей мутаций в генах — супрессорах опухолевого роста имеет научный и практический интерес. Особенно это актуально для Кузбасса, поскольку ранее такие исследования не проводились.

Цель работы — изучить частоту встречаемости мутаций в генах *BRCA1 5382insC* (rs80357906),

CHEK2 1100delC (rs555607708) и *BLM* с.1642 С>Т (Q548X, rs200389141) и их связь с фенотипическими особенностями РМЖ у женщин молодого возраста.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследована выборка больных женщин с гистологически подтвержденным диагнозом РМЖ ($n = 104$), возраст которых варьировал от 25 до 40 лет включительно. Все женщины находились на лечении в ГБУЗ «Кемеровский областной клинический онкологический диспансер» с 2012 по 2017 г. Из них 85 (81,7 %) женщин имели первичный РМЖ, 19 (18,3 %) — первично-множественный метакронный рак. У 100 (96,1 %) женщин менструальный статус был сохранен, 4 (3,8 %) женщины находились в менопаузе после химиотерапевтического лечения. У 2 (1,9 %) женщин РМЖ был диагностирован на фоне беременности (обе беременности прерваны), у 1 (1,0 %) женщины — во время грудного вскармливания, остальные женщины (98,1 %) были вне беременности и грудного вскармливания. Рецепторный статус опухолевой ткани устанавливали путем иммуногистохимического опре-

деления рецепторов ER, PR, HER2/нео и Ki67. Все обследуемые женщины являлись жительницами Кемеровской области и имели славянское происхождение. Перед забором материала (цельная периферическая кровь) все пациентки дали информированное согласие на проведение исследования. Исследование проводили с соблюдением условий конфиденциальности и добровольности.

ДНК из лимфоцитов периферической крови выделяли с помощью метода фенол-хлороформной экстракции с последующим осаждением этанолом, образцы ДНК хранили при -20°C .

Мутации в генах *BRCA1* 5382insC (rs80357906), *CHEK2* 1100delC (rs555607708) и *BLM* с.1642 С>Т (Q548X, rs200389141) выявляли с помощью метода асимметричной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с использованием флуоресцентно меченного олигонуклеотидного зонда, комплементарного исследуемому участку ДНК (рис. 1).

Для постановки ПЦР применяли амплификатор CFX96 (BioRad, США). Последовательность праймеров и зондов представлена в табл. 1.

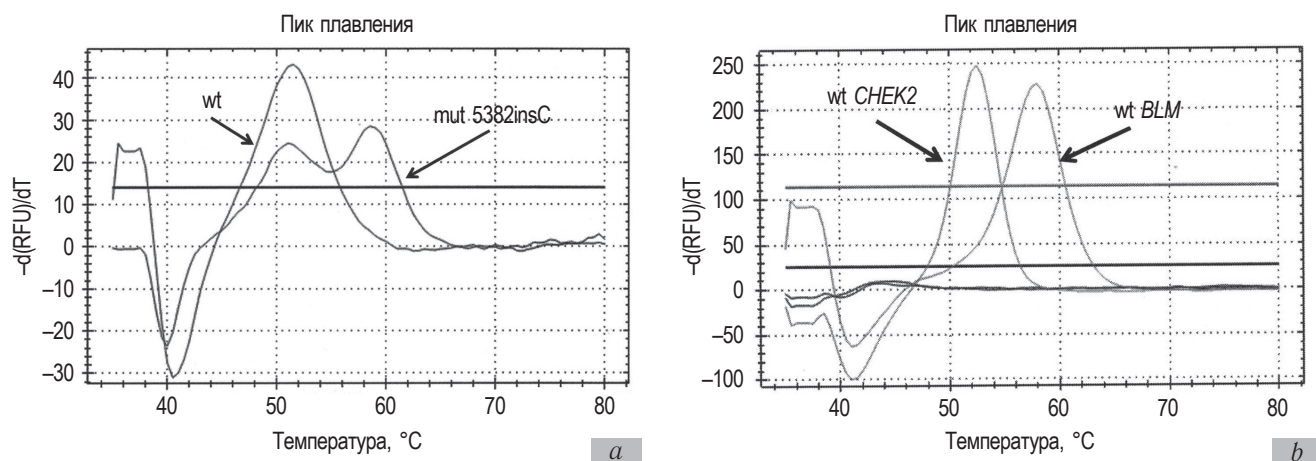


Рис. 1. Кривые плавления продуктов амплификации генов *BRCA1* 5382insC (a), *CHEK2* 1100delC и *BLM* с.1642С>Т; (b): wt — отсутствие мутации, генотип «норма»; mut5382insC — наличие мутации

Fig. 1. Melting curves of the amplification products of *BRCA1* 5382insC (a), *CHEK2* 1100delC and *BLM* с.1642С>Т genes; (b): wt — absence of mutation, genotype “norm”, mut5382insC — presence of mutation)

Таблица 1

Последовательность праймеров и зондов, используемых в исследовании

Table 1

Sequence of primers and probes used in the study

Ген/мутация	Праймеры	Последовательность праймеров	Последовательность зондов
<i>BRCA1</i> 5382insC (rs76171189)	0,1 мМ	5'-GTCAATGGAAGAAACCACCAAG-3'	5'-Fam-AGCAAGAGAATCCCCAGG-BHQ-3'
	1 мМ	5'-TGAGGGACCGACCTTACC-3'	
<i>CHEK2</i> 1100delC (rs555607708)	0,1 мМ	5'-GGTCTCTCCCAAATCTTGGAG-3'	5'-Rox-TGGAGTGCCCAAATCATAATC-BHQ-3'
	1 мМ	5'-TTCAACATTATCCCTTTTGACTG-3'	
<i>BLM</i> с.1642С>Т (rs200389141)	0,1 мМ	5'-ACATACTGCTTCAATAAATGACTTA-3'	5'-Rox-AGAGAAACCTAACCTTCCT-BHQ-3'
	1 мМ	5'-TATTGATAATTTTGACATAGATGAC-3'	

Реакцию амплификации проводили в следующих условиях: начальная денатурация (96 °C — 3 мин); затем 54 цикла, включающих денатурацию при 96 °C — 6 с, отжиг праймеров при 62 °C — 6 с и последующую элонгацию при 72 °C — 6 с; регистрировали кривые плавления в диапазоне температур 30–70 °C, повышая температуру на 0,5 °C в каждом цикле от начальной температуры, каждый шаг фиксировали флуоресцентный сигнал в диапазоне, соответствующем интервалу флуорофора. Общий объем реакционной смеси составил 20 мкл: 10 mM Трис-НСl (рН 8,9), 55 mM КCl; 2,5 mM MgCl₂, 0,01 % Tween 20, 0,2 mM dNTP, 20–100 ng ДНК, 1 ед. акт. KlenTaq-ДНК-полимеразы, растворы олигонуклеотидных праймеров и зондов в следующих концентрациях: лимитирующий праймер — 0,1 mM, избыточный праймер — 1 mM и зонд — 0,1 mM.

Статистический анализ полученных результатов выполняли с помощью пакета программ Statistica for Windows v.8.0 (StatSoft, Inc.). Гипотезу о равенстве генеральных средних количественных признаков проверяли с помощью *U*-критерия Манна–Уитни.

При сравнении частот изучаемых признаков применяли критерий χ^2 Пирсона и двусторонний точный тест Фишера (при $n < 5$). Нулевую гипотезу отвергали при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Изучали распределение частот встречаемости мутаций в генах *BRCA1* 5382insC (rs80357906), *CHEK2* 1100delC (rs555607708) и *BLM* c.1642 C>T (Q548X, rs200389141) у молодых женщин с РМЖ. Мутация *BRCA1* 5382insC выявлена у 9,6 % (10/104) больных РМЖ, у остальных женщин — 90,4 % (94/104) — она отсутствовала. Тестирование мутаций *CHEK2* 1100delC и *BLM* c.1642 C>T у женщин с РМЖ показало их отсутствие (0/104) в исследуемой выборке.

Исходя из полученных результатов, далее анализировали клинично-anamnestические особенности женщин с РМЖ только в зависимости от носительства мутации *BRCA1* 5382insC (табл. 2). Сравнительный анализ проводили между двумя группами больных: женщинами с наличием мутации *BRCA1* 5382insC и женщинами с отсутствием мутации (спорадический РМЖ).

Таблица 2

Клинично-anamnestическая характеристика больных раком молочной железы в зависимости от наличия мутации *BRCA1* 5382insC

Table 2

Clinical and anamnetic characteristics of breast cancer patients depending on presence of *BRCA1* 5382insC mutation

Параметры	Группы больных РМЖ		<i>p</i>
	Носители мутации <i>BRCA1</i> 5382insC, <i>n</i> = 10 (%)	Спорадический РМЖ, <i>n</i> = 94 (%)	
Возраст (лет): Me (Q25–Q75)	37,0 (33,0–40,0)	37,0 (34,0–39,0)	0,79 ^a
≥25–30	1 (10,0)	8 (8,0)	
31–35	3 (30,0)	24 (26,4)	
36–40	6 (60,0)	62 (65,6)	
Унилатеральный РМЖ	10 (100)	84 (89,4)	0,99
Билатеральный РМЖ	–	3 (3,2)	
Нет данных	–	7 (7,4)	
Стадии опухоли (TNM):			0,72
T1	1 (10,0)	17 (18,1)	
T2	5 (50,0)	49 (52,1)	
T3	4 (40,0)	28 (29,8)	
T4	–	–	
Региональное метастазирование:			0,99
N ₀	4 (40,0)	34 (36,2)	
N _{1–3}	6 (60,0)	59 (62,8)	
Нет данных	–	1 (1,0)	
Отдаленные метастазы:			н/с
M ₀	10 (100)	94 (100)	
M ₁	–	–	
ER-статус:			<0,0001
положительный	–	68 (72,3)	
негативный	8 (80,0)	24 (25,5)	
нет данных	2 (20,0)	2 (2,2)	

Окончание табл. 2 (Table 2 (continued))

Параметры	Группы больных РМЖ		p
	Носители мутации <i>BRCA1</i> 5382insC, n = 10 (%)	Спорадический РМЖ, n = 94 (%)	
PR-статус:			
положительный	1 (10,0)	61 (64,9)	0,004
негативный	7 (70,0)	31 (33,0)	
нет данных	2 (20,0)	2 (2,1)	
HER2-статус:			
положительный	2 (20,0)	61 (64,9)	0,02
негативный	6 (60,0)	30 (31,9)	
нет данных	2 (20,0)	3 (3,2)	
Молекулярный фенотип:			
люминальный тип А	—	42 (44,7)	0,001
люминальный тип В (HER2 ⁺)	3 (37,5)	22 (23,4)	
люминальный тип В (HER2 ⁻)	—	17 (18,0)	
трижды негативный	5 (62,5)	11 (11,7)	
нет данных	2 (20,0)	2 (2,1)	
Онкоанамнез родственников:			
РМЖ и/или РЯ, I–II линия	3 (30,0)	14 (14,9)	0,67
другой рак, I–II линия	2 (20,0)	19 (20,2)	
неотягощенный	4 (40,0)	36 (38,3)	
нет данных	1 (10,0)	25 (26,6)	
Беременность в анамнезе:			
Me (Q25–Q75)	2,0 (1,0–5,0)	3,0 (2,0–4,0)	0,93 ^a
Срочные роды:			
Me (Q25–Q75)	2 (1–2)	1,5 (1–2)	0,43 ^a
Индукцированные аборты:			
Me (Q25–Q75)	3,5 (2,0–5,0)	1,0 (1,0–3,0)	0,16 ^a
Самопроизвольные аборты:			
Me (Q25–Q75)	—	1,0 (1,0–2,0)	н/с
Гинекологическая патология:			
миома матки	1 (10,0)	5 (5,4)	0,10
кисты яичников	2 (20,0)	4 (4,2)	
эндометриоз	—	7 (7,4)	
полипы	1 (10,0)	3 (3,2)	
без патологии	2 (20,0)	41 (43,6)	
нет данных	4 (40,0)	34 (36,2)	

Примечание. Me — медиана; Q25–Q75 — интерквартильный размах; РЯ — рак яичников; ^a — использовали U-критерий Манна – Уитни; HER2 — рецептор эпидермального фактора роста; н/с — несравнимо

Сравнительный анализ показал, что у носителей мутации *BRCA1* 5382insC опухоли преимущественно не имели рецепторов к эстрогенам ($\chi^2 = 18,48$, $d(f) = 1$, $p < 0,0001$) и прогестерону ($\chi^2 = 9,04$, $d(f) = 1$, $p < 0,004$), а также рецептора Her2 ($\chi^2 = 5,61$, $d(f) = 1$, $p < 0,02$) в отличие от женщин со спорадическим РМЖ. Для *BRCA1* 5382insC-ассоциированного РМЖ статистически значимым был трижды негативный фенотип опухоли (ER(-)/PR(-)/HER2(-), Ki67 любой), который зарегистрирован у 62,5 % женщин с мутацией по сравнению с 11,7 % женщин со спорадическим РМЖ ($\chi^2 = 17,42$, $d(f) = 3$, $p = 0,001$). В то же вре-

мя женщины со спорадическим РМЖ чаще имели люминальный А-фенотип (ER(+)/PR(+)/HER2(-), Ki67 < 14 % — 44,7 %) и люминальный В-фенотип (ER(+)/PR(+)/HER2(-), Ki67 > 14 % — 18,0 %) по сравнению с носителями мутации *BRCA1* 5382insC (0 %). Для остальных параметров (степень злокачественности опухолевого процесса, репродуктивное поведение и сопутствующая гинекологическая патология) различия между двумя группами отсутствовали. Только три женщины имели сочетание признаков, характерных для наследственного РМЖ — мутация *BRCA1* 5382insC, молодой возраст и наличие родственников I–II линии с РМЖ (мать – бабушка).

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведено тестирование трех герминальных мутаций в генах *BRCA1* (5382insC, rs80357906), *CHEK2* (1100delC, rs555607708) и *BLM* (c.1642C>T, rs200389141) у больных РМЖ молодого (репродуктивного) возраста. Обнаружена высокая частота встречаемости (9,6 %) «мутации-основателя» — *BRCA1* 5382insC у больных РМЖ в Кузбассе. По данным независимого исследования, в российской популяции частота мутации *BRCA1* 5382insC в случайной выборке больных РМЖ составляет 3,7 % (32/857) [17], что существенно ниже, чем в нашем исследовании ($p = 0,01$). Прежде всего такие отличия могут быть обусловлены возрастными особенностями обследуемой нами когорты (<40 лет). Полученные результаты соответствуют таковым в аналогичных исследованиях мутации *BRCA1* 5382insC у молодых больных РМЖ, выполненных ранее в Томске (10/104 против 11/145 соответственно, $p = 0,64$) [10] и Санкт-Петербурге (10/104 против 13/150 соответственно, $p = 0,82$) [11]. В то же время они отличаются от результатов в двух выборках больных РМЖ из Москвы: Москва-1 (10/104 против 30/117 соответственно, $p = 0,002$) [18] и Москва-2 (10/104 против 8/24 соответственно, $p = 0,006$) [19]. Анализ этих работ показал, что обследуемую выборку составили женщины молодого возраста с наследственно обусловленным РМЖ [18, 19]. Примечательно, что мутация *BRCA1* 5382insC характерна для наследственных форм РМЖ и значительно реже выявляется при ненаследственных опухолях той же локализации [6]. Только три женщины имели сочетание признаков, характерных для наследственного РМЖ, в нашем исследовании.

Нами не обнаружено какой-либо корреляции между носительством мутации *BRCA1* 5382insC и репродуктивным поведением (количеством беременностей, срочных родов, самопроизвольных и индуцированных аборт) обследуемых больных РМЖ. Это согласуется с результатами исследования из НИИ клинической онкологии «РОИЦ им. Н.Н. Блохина» [18]. До сих пор не сложилось единого мнения о влиянии репродуктивного поведения на риск развития РМЖ при наличии мутаций *BRCA1* 5382insC и при ее отсутствии. Причиной тому могут быть немногочисленные выборки, а также разные методологические подходы при проведении исследований. В то же время вероятность развития РМЖ на фоне беременности у носительниц мутации *BRCA1* 5382insC остается высокой, это обосновывает актуальность планирования и наблюдения беременности у женщин из группы риска.

Анализ связи клинических признаков злокачественного процесса в обследуемых группах больных РМЖ показал, что наличие мутации *BRCA1* 5382insC сопряжено с отсутствием экспрессии эстрогеновых рецепторов, опухолевого рецептора HER2/neo и коррелирует с высокой частотой трижды негативного фенотипа опухоли. Наши данные согласуются с результатами,

полученными в Томском НИИ онкологии [10]. Такие же результаты продемонстрировали исследователи из Санкт-Петербурга, однако они обнаружили, что при наследуемом РМЖ доля трижды негативного фенотипа опухоли может быть значительно ниже у носителей мутации *BRCA1* 5382insC, чем у носителей мутаций 4153delA и 185delAG гена *BRCA1* [20].

Согласно современным представлениям трижды негативный РМЖ является иммуногистохимическим суррогатом базальноподобного подтипа РМЖ [21]. Клинически этот фенотип РМЖ сопровождается выраженной семейной полинеоплазией, ранней диссеминацией, склонностью к обширным отдаленным метастазам (часто в головной мозг) и низкой продолжительностью жизни [22, 23]. Недавно крупное проспективное исследование у молодых женщин с РМЖ показало, в целом не существует значимых отличий в общей выживаемости больных с наличием мутаций *BRCA* и при их отсутствии. Однако выяснилось, что носители мутаций *BRCA* с трижды негативным РМЖ имеют преимущество в выживании в течение первых двух лет после постановки диагноза и лечения по сравнению с больными без мутаций. Это может быть связано с высокой чувствительностью *BRCA*-мутантных опухолей к химиотерапии, или же, возможно, они лучше распознаются иммунной системой [24]. Несмотря на то что при трижды негативном РМЖ спектр потенциальных молекулярных мишеней ограничен, опухольспецифический дефект в системе репарации ДНК в результате соматической инактивации нормального аллеля гена *BRCA1* обуславливает высокую чувствительность *BRCA1*-ассоциированных опухолей к цитостатическим препаратам, таким как препараты платины (цисплатин), ингибиторы топоизомеразы I и поли(ADP-рибоза)-полимеразы [25].

Нами обнаружено, что при отсутствии носительства мутации *BRCA1* 5382insC (спорадический РМЖ) женщины имели преимущественно эстроген-рецептор-позитивный РМЖ (люминальный А и В (HER2-) фенотипы). Как показали исследования, даже если у молодых женщин гистопатологические особенности опухоли молочной железы кажутся благоприятными (ER(+)/PR(+)-фенотип), прогноз выживаемости без рецидива опухоли у них хуже, чем у женщин старшего возраста [26, 27]. В этом случае предполагается, что молодой возраст служит независимым фактором риска прогноза РМЖ у больных с люминальным А и люминальным В (HER2-) фенотипами опухоли в отличие от больных с трижды негативным и HER2-сверхэкспрессирующим фенотипами [26].

Лечение эстроген-рецептор-позитивного рака требует персонализированного подхода. Антиэстрогеновая терапия связана с изменением активности ER (базисный препарат — тамоксифен) или снижением продукции эстрогенов у больных РМЖ [25, 28, 29]. По данным литературы, молодые женщины с люми-

нальным А и В (HER2-) подтипами опухоли могут быть резистентны к этому препарату, поэтому у них может отмечаться прогрессирование заболевания в первые пять лет [26, 27]. Для того чтобы обосновать целесообразность назначения тамоксифена таким больным, предлагается дополнительно исследовать характер распределения рецепторов эстрогенов-альфа и провести типирование мутации rs2228480 в 8-м экзоне гена *ESR1* в опухолевой ткани [30].

Тестирование больных РМЖ на наличие герминальных мутаций в генах *CHEK2* (1100delC, rs555607708) и *BLM* (с.1642C>T, rs200389141) показало их отсутствие в исследуемой выборке, то есть все женщины были гомозиготами по «нормальному» аллелю гена. В соответствии с данными литературы у здоровых российских женщин вероятность обнаружения мутаций в генах *CHEK2* и *BLM* составляет 0,2 %, тогда как у больных РМЖ мутации встречаются с частотой 2–5 % для *CHEK2* и 1,1 % для *BLM* соответственно [12, 13, 31]. Причем мутации в генах *CHEK2* и *BLM* чаще возникают у лиц с наследственной формой РМЖ, двусторонним поражением молочных желез и в раннем возрасте (до 40 лет) [13]. На наш взгляд, отсутствие первых двух клинических характеристик и небольшой объем выборки не позволили обнаружить данные мутации. По-видимому, тестирование герминальных мутаций в генах *CHEK2* (1100delC, rs555607708) и *BLM* (с.1642C>T, rs200389141) более целесообразно проводить у больных РМЖ при наличии таких критериев, как семейный онкологический анамнез, первично-множественный характер опухолевого процесса и ранний возраст развития болезни. Учитывая низкую частоту мутаций в генах *CHEK2* и *BLM*, необходимо дальнейшее проведение их скрининга на расширенной выборке больных РМЖ.

Таким образом, обнаружена высокая частота встречаемости мутации *BRCA1* 5382insC у молодых женщин с РМЖ в Кузбассе. Наличие мутации *BRCA1* 5382insC сопряжено с отсутствием экспрессии эстрогеновых рецепторов, опухолевого рецептора HER2/нео и с высокой частотой трижды негативного фенотипа опухоли. При отсутствии носительства мутации *BRCA1* 5382insC (спорадический РМЖ) у женщин наблюдался преимущественно эстроген-рецептор-позитивный РМЖ. Мутации в генах *CHEK2* (1100delC, rs555607708) и *BLM* (с.1642C>T, rs200389141) в исследуемой выборке молодых женщин с РМЖ отсутствовали. Результаты настоящего исследования подтверждают целесообразность выявления мутации *BRCA1* 5382insC у больных РМЖ для оптимизации тактики лечения и у здоровых молодых женщин для ранней диагностики РМЖ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Пароконная А.А. Молодой возраст: рак, беременность, фертильность // Практическая онкология. — 2017. — Т. 18. — № 2. — С. 206–211. [Parokonnaya AA. Young age: cancer, pregnancy, fertility. *Practical oncology*. 2017;18(2):206-217. (In Russ.)]. doi: 10.31917/1802206.

2. Azim HA Jr, Partridge AH. Biology of breast cancer in young women. *Breast Cancer Res*. 2014;16(4):427. doi: 10.1186/s13058-014-0427-5.
3. Lian W, Fu F, Lin Y, et al. The Impact of Young Age for Prognosis by Subtype in Women with Early Breast Cancer. *Sci Rep*. 2017;7(1):11625. doi: 10.1038/s41598-017-10414-x.
4. Имянитов Е.Н. Биология рака молочной железы // Практическая онкология. — 2017. — Т. 18. — № 3. — С. 221–231. [Imyanitov EN. Biology of breast cancer. *Practical oncology*. 2017;18(3):221-231. (In Russ.)]. doi: 10.31917/1803221.
5. Батенева Е.И., Мещеряков А.А., Крохина О.В., и др. Однонуклеотидные полиморфизмы: роль в развитии рака молочной железы и перспективы клинического применения // Злокачественные опухоли. — 2015. — № 2. — С. 3–12. [Bateneva EI, Meshcheryakov AA, Krokhnina OV, et al. Single nucleotide polymorphisms: role in breast cancer development and perspectives of clinical implications. *Malignant Tumours*. 2015;(2):3-12. (In Russ.)]. doi: 10.18027/2224-5057-2015-2-3-12.
6. Лаптиев С.А., Корженевская М.А., Имянитов Е.Н. Молекулярно-генетический «портрет» рака молочной железы // Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. — 2017. — Т. 24. — № 2. — С. 12–22. [Laptiev SA, Korzhenevskaja MA, Imyanitov EN. Molecular-genetic “portrait” of breast cancer. *The Scientific Notes of IPP-SPSMU*. 2017;24(2):12-22. (In Russ.)]. doi: 10.24884/1607-4181-2017-24-2-12-22.
7. Кашинцев А.А., Янус Г.А., Коханенко Н.Ю., и др. Встречаемость мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* у больных раком поджелудочной железы // Сибирский онкологический журнал. — 2013. — № 5(59). — С. 39–44. [Kashintsev AA, Yanus GA, Kokhanenko NYu, et al. Occurrence of *BRCA1* and *BRCA2* mutation in pancreatic cancer patients. *Siberian journal of oncology*. 2013;5(59):39-44. (In Russ.)]
8. Любченко Л.Н. Генетическое тестирование при наследственном раке молочной железы // Практическая онкология. — 2014. — Т. 15. — № 3. — С. 107–117. [Lyubchenko LN. Geneticheskoe testirovanie pri nasledstvennom rake molochnoj zhelezy. *Practical oncology*. 2014;15(3):107-117. (In Russ.)]
9. Батенева Е.И., Филиппова М.Г., Тюляндина А.С., и др. Результаты генетического скрининга герминальных мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* у больных раком молочной железы и больных раком яичников в российской популяции // Онкогинекология. — 2015. — № 3. — С. 34–39. [Bateneva EI, Filippova MG, Tyulyandina AS, et al. Results of the

- genetic testing of germline mutations in genes *BRCA1* and *BRCA2* in patients with breast cancer and ovarian cancer in Russian population. *Onkoginekologija*. 2015;(3):34-39. (In Russ.)
10. Чердынцева Н.В., Писарева Л.Ф., Панфёрова Е.В., и др. Этнические аспекты наследственного рака молочной железы в регионе Сибири // Вестник РАМН. — 2014. — № 11–12. — С. 72–79. [Cherdyntseva NV, Pisareva LF, Ivanova AA, et al. Ethnic Aspects of Hereditary Breast Cancer in the Region of Siberia. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2014;(11-12):72-79. (In Russ.)]
 11. Соколенко А.П., Розанов М.Е., Митюшкина Н.В., и др. Наследственные мутации при ранних, семейных и билатеральных формах рака молочной железы у пациенток из России // Сибирский онкологический журнал. — 2008. — Т. 27. — № 3. — С. 43–49. [Sokolenko AP, Rozanov ME, Mityushkina NV, et al. Hereditary mutations in Russian patients with early, family and bilateral breast cancers. *Siberian journal of oncology*. 2008;27(3): 43-49. (In Russ.)]
 12. Кунсбаева Г.Б., Гилязова И.Р., Янкина М.А., и др. Поиск мутаций в гене синдрома Блума (*BLM*) у пациентов с раком предстательной железы // Медицинская генетика. — 2016. — № 5. — С. 7–9. [Kun-sbaeva GB, Gilyazova IR, Yankina MA, et al. Search for Bloom syndrome gene (*BLM*) mutations in prostate cancer patients. *Medical Genetics*. 2016;(5):7-9. (In Russ.)]
 13. Sokolenko AP, Iyevleva AG, Preobrazhenskaya EV, et al. High prevalence and breast cancer predisposing role of the *BLM* c.1642 C>T(Q548X) mutation in Russia. *Int J Cancer*. 2012;130(12):2867-73. doi: 10.1002/ijc.26342.
 14. Бит-Сава Е.М. Наследственные характеристики *BRCA1* 5382insC/*CHEK2*/*BLM*-ассоциированного рака молочной железы // Сибирский онкологический журнал. — 2014. — № 6. — С. 15–18. [Bit-Sava EM. Hereditary characteristics *BRCA1* 5382insC/*CHEK2*/*BLM*-associated breast cancer. *Siberian journal of oncology*. 2014;(6):15-18. (In Russ.)]
 15. Белохвостова А.С., Смирнова И.А., Енилеева А.А. Таргетная терапия в лечении HER2-позитивного рака молочной железы // Сибирский онкологический журнал. — 2013. — № 2 (56). — С. 39–44. [Belokhvostova AS, Smirnova IA, Enileeva AA. Target therapy in treatment of HER2-positive breast cancer. *Siberian journal of oncology*. 2013;2(56):39-44. (In Russ.)]
 16. Любченко Л.Н., Батенева Е.И., Воротников И.К., и др. Наследственный рак молочной железы: генетическая и клиническая гетерогенность, молекулярная диагностика, хирургическая профилактика в группах риска // Успехи молекулярной онкологии. — 2014. — № 2. — С. 16–25. [Lyubchenko LN, Bateneva YeI, Vorotnikov IK, et al. Hereditary breast cancer: genetic and clinical heterogeneity, genetic testing, prophylactic surgery. *Uspеhi molekulyarnoj onkologii*. 2014;(2):16-25. (In Russ.)]
 17. Sokolenko AP, Bogdanova N, Kluzniak W, et al. Double heterozygotes among breast cancer patients analyzed for *BRCA1*, *CHEK2*, *ATM*, *NBN/NBS1*, and *BLM* germ-line mutations. *Breast Cancer Res Treat*. 2014;145(2):553-62. doi: 10.1007/s10549-014-2971-1.
 18. Автомонов Д.Е., Пароконная А.А., Любченко Л.Н., и др. Анамнестические особенности *BRCA1*-ассоциированного рака молочной железы у женщин молодого возраста // Опухоли женской репродуктивной системы. — 2012. — № 3–4. — С. 54–57. [Avtomonov DE, Parokonnaya AA, Lyubchenko LN, et al. Anamnesis peculiarities of *BRCA1*-associated breast cancer in young women. *Opuholi zhenskoj reproduktivnoj sistemy*. 2012;(3-4):54-57. (In Russ.)]
 19. Наседкина Т.В., Громыко О.Е., Емельянова М.А., и др. Определение герминальных мутаций в генах *BRCA1*, *BRCA2* и *CHEK2* с использованием биочипов у больных раком молочной железы // Молекулярная биология. — 2014. — Т. 48. — № 2. — С. 243–250. [Nasedkina TV, Gromyko OE, Emelyanova MA, et al. Genotyping of *BRCA1*, *BRCA2* and *CHEK2* germ-line mutations in Russian breast cancer patients using diagnostic biochips. *Mol Biol*. 2014;48(2):243-250. (In Russ.)]. doi: 10.7868/S0026898414020141.
 20. Бит-Сава Е.М., Семиглазов В.Ф., Имянитов Е.Н. Генотип-фенотипические корреляции у больных раком молочной железы с мутациями *BRCA1* (4153delA, 185delAG, 5382insC) // Опухоли женской репродуктивной системы. — 2014. — № 2. — С. 8–11. [Bit-Sava YeM, Semiglazov VF, Imyanitov YeN. Genotype-phenotype correlations in patients with breast cancer and *BRCA1* mutations (4153delA, 185delAG, 5382insC). *Opuholi zhenskoj reproduktivnoj sistemy*. 2014;(2):8-11. (In Russ.)]
 21. Maksimenko J, Irmejs A, Nakazawa-Miklavcica M, et al. Prognostic role of *BRCA1* mutation in patients with triple-negative breast cancer. *Oncol Lett*. 2014;7(1):278-284. doi: 10.3892/ol.2013.1684.
 22. Поддубная И.В., Карселадзе Д.А. Клиническая характеристика тройного негативного рака молочной железы // Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. — 2010. — Т. 21. — № 1. — С. 71–76. [Poddubnaya IV, Karseladze DA. Clinical characteristics of triple negative breast cancer. *Journal of N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS*. 2010;21(1):71-76. (In Russ.)]
 23. Семиглазов В.Ф. Многоликая биология рака молочной железы: поиски адекватного лечения // Злокачественные опухоли. — 2016. — № 3. — С. 5–10. [Semiglazov VF. Diverse biology of breast cancer:

- search for adequate treatment. *Malignant tumours*. 2016;(3):5-10. (In Russ.). doi: 10.18027/2224-5057-2016-3-5-10.
24. Copson ER, Maishman TC, Tapper WJ, et al. Germline BRCA mutation and outcome in young-onset breast cancer (POSH): a prospective cohort study. *Lancet Oncol*. 2018;19(2):169-180. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30891-4.
25. Имянитов Е.Н. Фундаментальная онкология в 2016 году: обзор наиболее интересных открытий // Практическая онкология. — 2017. — Т. 18. — № 1. — С. 85–92. [Imyanitov EN. Basic science in oncology: year 2016 overview. *Practical oncology*. 2017;18(3):221-231. (In Russ.)]
26. Lian W, Fu F, Lin Y, et al. The impact of young age for prognosis by subtype in women with early breast cancer. *Sci Rep*. 2017;7(1):11625. doi: 10.1038/s41598-017-10414-x.
27. Ahn SH, Son BH, Kim SW, et al. Poor outcome of hormone receptor-positive breast cancer at very young age is due to tamoxifen resistance: nationwide survival data in Korea—a report from the Korean Breast Cancer Society. *J Clin Oncol*. 2007;25(17):2360-8. doi: 10.1200/JCO.2006.10.3754.
28. Жуков Н.В. Роль исключения функции яичников в адьювантной терапии больных раком молочной железы, позитивным по рецепторам эстрогенов. Есть ли она? // Злокачественные опухоли. — 2011. — № 1. — С. 68–72. [Zhukov N. The role of ovarian suppression in adjuvant therapy of estrogen receptor positive breast cancer? Is it exist? *Malignant Tumours*. 2011;(1):68-72. (In Russ.)]
29. Di Lascio S, Pagani O. New insights into endocrine therapy for young women with breast cancer. *Womens Health (Lond)*. 2015;11(3):343-54. doi: 10.2217/whe.15.2.
30. Слонимская Е.М., Вторушин С.В., Бабышкина Н.Н., Паталяк С.В. Роль морфологических и генетических особенностей строения рецепторов эстрогенов альфа в развитии резистентности к эндокринотерапии тамоксифеном у пациенток с люминальным раком молочной железы // Сибирский онкологический журнал. — 2014. — № 3 (56). — С. 39–44. [Slonimskaya EM, Vtorushin SV, Babyshkina NN, Patalyak SV. Role of morphological and genetic structural characteristics of estrogen receptor alpha in the development of resistance to endocrinotherapy with tamoxifen in patients with luminal breast cancer. *Siberian journal of oncology*. 2014;3(56):39-44. (In Russ.)]
31. Chekmariova EV, Sokolenko AP, Buslov KG, et al. CHEK2 1100delC mutation is frequent among Russian breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat*. 2006;100(1):99-102. doi: 10.1007/s10549-006-9227-7.

☞ Информация об авторах

Людмила Александровна Гордеева — канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории иммуногенетики. ФИЦ УУХ СО РАН (Институт экологии человека СО РАН), Кемерово. E-mail: gorsib@rambler.ru.

Илья Евгеньевич Лойко — врач-онколог, радиологическое отделение №1. ГБУЗ КО «Областной клинический онкологический диспансер», Кемерово. E-mail: LoikoIE@mail.ru.

Елена Николаевна Воронина — канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории фармакогеномики. Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск. E-mail: voronina_l@mail.ru.

Екатерина Евгеньевна Кутонова — магистрант кафедры генетики. Кемеровский государственный университет (КемГУ), Кемерово. E-mail: ihe@kemtel.ru.

Елена Геннадьевна Поленок — канд. фарм.-хим. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунохимии. ФИЦ УУХ СО РАН (Институт экологии человека СО РАН), Кемерово. E-mail: ihe@list.ru.

Стелла Андреевна Мун — канд. мед. наук, старший научный сотрудник лаборатории иммуногенетики, ФИЦ УУХ СО РАН (Институт экологии человека СО РАН), Кемерово. E-mail: stellamun@yandex.ru.

☞ Information about the authors

Lyudmila A. Gordeeva — PhD, Leading Researcher, Laboratory of Immunogenetics. FRC CCC SB RAS (Institute of Human Ecology SB RAS), Kemerovo, Russia. E-mail: gorsib@rambler.ru.

Ilija E. Lojko — Oncologist, Radiology Department No 1. Regional Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo, Russia. E-mail: LoikoIE@mail.ru.

Elena N. Voronina — PhD, Researcher, Laboratory of Pharmacogenomics. Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia. E-mail: voronina_l@mail.ru.

Ekaterina E. Kutonova — Graduate Student of the Department of Genetics. Kemerovo State University (KemSU), Kemerovo, Russia. E-mail: ihe@kemtel.ru.

Elena G. Polenok — PhD, Leading Researcher, Laboratory of Immunochemistry. FRC CCC SB RAS (Institute of Human Ecology SB RAS), Kemerovo, Russia. E-mail: ihe@list.ru.

Stella A. Mun — PhD, Senior Researcher, Laboratory of Immunogenetics. FRC CCC SB RAS (Institute of Human Ecology SB RAS), Kemerovo, Russia. E-mail: stellamun@yandex.ru.

✿ Информация об авторах

Наталья Евгеньевна Вержбицкая — канд. мед. наук, заведующая патолого-анатомическим отделением. ГБУЗ КО «Областной клинический онкологический диспансер», Кемерово. E-mail: 05-guz-okod@kuzdrav.ru.

Илья Леонидович Васильченко — канд. мед. наук, заведующий радиологическим отделением № 1. ГБУЗ КО «Областной клинический онкологический диспансер», Кемерово. E-mail: ivasi74@yandex.ru.

Максим Леонидович Филипенко — канд. биол. наук, заведующий лаборатории фармакогеномики. Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск. E-mail: max@niboch.nsc.ru.

Андрей Николаевич Глушков — д-р мед. наук, зам. директора. ФИЦ УУХ СО РАН (Институт экологии человека СО РАН), Кемерово. E-mail: ihe@list.ru.

✿ Information about the authors

Natalia E. Verzhbitskaja — PhD, Chief of the Anatomic Pathology Department. Regional Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo, Russia. E-mail: 05-guz-okod@kuzdrav.ru.

Ilija L. Vasilchenko — PhD, Chief of the Radiology Department No 1. Regional Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo, Russia. E-mail: ivasi74@yandex.ru.

Maxim L. Filipenko — PhD, Chief, Laboratory of Pharmacogenomics. Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia. E-mail: max@niboch.nsc.ru.

Andrey N. Glushkov — Doctor of Medical Sciences, Deputy Director. FRC CCC SB RAS (Institute of Human Ecology SB RAS), Kemerovo, Russia. E-mail: ihe@list.ru.