

*В.В. Олексенко, К.А. Алиев, К.Д. Малыш*

## Мутации генов *BRCA* при наследственном раке молочной железы на территории Крыма

ФГАОУ ВО «Крымский Федеральный Университет имени В.И. Вернадского», Медицинская академия имени С.И. Георгиевского, г. Симферополь

**Введение.** Наследственная предрасположенность к развитию рака молочной железы (РМЖ), ассоциированная с герминальными мутациями генов репарации ДНК (*BRCA(1,2)*), характеризуется разнообразием вариантов полиморфизма, с тенденцией к определенной специфичности в различных популяционных группах населения. В регионах со смешанным популяционным составом, к которым относится и Крымский полуостров, вопрос о взаимосвязи мутаций с популяционной группой представляет не только научный интерес, но и имеет достаточно важное практическое значение с точки зрения разработки диагностических и прогностических критериев заболеваемости РМЖ. Целью исследования явилось определение частот встречаемости ряда мутаций генов *BRCA1* (5382insC, 4153delA, 185delAG) и *BRCA2* (6174delT) в двух популяционных группах больных РМЖ, проживающих на территории Крыма — славянской и крымско-татарской, и имеющих клинические признаки наследственного заболевания.

**Материалы и методы.** Исследованы 283 образца ДНК, выделенных из крови больных с клиническими признаками наследственного РМЖ, из них 208 — славянской, и 75 — крымско-татарской популяционных групп. Контрольную группу составили 256 образца ДНК, выделенных из крови здоровых женщин, из них 196 — славянской, и 60 — крымско-татарской популяционных групп. Исследование проводилось с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) методом аллельной дискриминации, с анализом кривых плавления. Морфологическую верификацию диагноза проводили набором методик для определения гистологического варианта и иммунофенотипирования опухоли по стандартной программе диагностики.

**Результаты.** Мутации выявлены в 23 случаях РМЖ, данные мутации были идентифицированы исключительно в славянской группе. Преобладала мутация 5382insC гена *BRCA1* (21/10,1%), и по одному случаю мутаций 185delAG гена *BRCA1* и 6174delT гена

*BRCA2*. В крымско-татарской популяционной группе данные мутации зарегистрированы не были. Иммуногистохимически у пациенток с выявленными мутациями в 86,4% случаев определялся трижды негативный РМЖ. В группе контроля был зарегистрирован только один случай мутации — 5382insC гена *BRCA1* в славянской популяционной группе (0,4%).

**Заключение.** Частота встречаемости «мутации-основателя» 5382insC гена *BRCA1* у больных РМЖ славянской популяционной группы соответствуют среднему российскому и европейскому уровню, частота других вариантов исследованных мутаций — 185delAG гена *BRCA1* и 6174delT гена *BRCA2*, регистрируется значительно реже, а мутация 4153delA в исследуемых выборках не наблюдалась. Отсутствие мутаций в исследованных маркерах популяционной группы крымских татар, в том числе имеющих наследственную предрасположенность к РМЖ, свидетельствует об отличиях в спектре мутаций и обуславливает необходимость продолжения исследований с расширением спектра мутаций, с перспективой полногенового (*BRCA1*), либо полногеномного секвенирования ДНК больных.

**Ключевые слова:** рак молочной железы, мутации, наследственность, популяционные группы Крыма

### Введение

Наследственная предрасположенность к возникновению рака молочной железы в значительной степени ассоциируется с герминальными мутациями в генах факторов репарации ДНК, среди которых гены *BRCA(1,2)* встречаются наиболее часто [1]. Нарушение их функции ассоциировано с повышенной вероятностью возникновения рака молочной железы (РМЖ) и рака яичников (РЯ), а также и к другим видам онкопатологии [2, 3, 4].

*BRCA(1,2)* (Breast cancer associated) являются генами, продуцирующими белки-супрессоры опухолевого роста, основной функцией ко-

торых является восстановление поврежденных структур ДНК и, следовательно, обеспечение стабильности генетического материала каждой клетки [5, 6]. Большинство изменений, выявленных в ходе изучения всей последовательности генов BRCA(1,2) являются частными и обнаруживаются только спорадически [7], при этом, ряд специфических мутаций, которые неоднократно обнаруживаются в различных популяционных группах, обогащенных генетическими изолятами, объединены единой генетической детерминантой, так называемой founder-мутацией (мутацией основателя) [8, 9]. Например, для популяционной группы евреев-ашкенази были определены мутации 5382insC, 185delAG гена BRCA1, 6174delT гена BRCA2 [10], у жителей Исландии распространена мутация 999del5 гена BRCA2 [11]. Во франко-канадской популяции Квебека основными мутациями при РМЖ и РЯ являются 4446C>T/Arg1443X гена BRCA1, 8765delAG гена BRCA2 [12]. В Российской Федерации наиболее распространенными являются мутации 5382insC, C61G, 185delAG, 4153delA, 2080delA гена BRCA1 [1, 13]. В связи с подобными различиями оценка риска развития РМЖ и других видов онкопатологии при скрининге мутаций будет зависеть от наиболее информативного и репрезентативного для конкретной популяционной группы перечня.

Крым является регионом со смешанной популяционной структурой населения, с превалированием славянской и крымско-татарской популяционных групп. Клинико-генеологический анализ, проведенный О.В. Петровой и др. [14], основанный на изучении родословных в различных популяциях региона, послужил предпосылкой к настоящему исследованию, обозначив ведущим предиктором развития РМЖ в крымско-татарской этнической группе воздействие наследственных факторов риска: рекуррентный риск развития РМЖ, у потомков, в семьях из крымско-татарской популяции, в 17 раз превышал популяционную частоту заболевания и в 3 раза превышал рекуррентный риск в славянской популяции. При этом изучение частот встречаемости вариантов генов BRCA(1,2) у больных НРМЖ Республики Крым до настоящего времени не проводилось.

Понимание популяционных особенностей мутаций в генах BRCA, с учетом высокого уровня заболеваемости РМЖ в мире, представляет интерес и с диагностической точки зрения, и с позиции прогноза заболевания. Исследование частот распространенных вариантов мутаций генов BRCA(1,2) в славянской и крымско-татарской популяциях Крыма и явилось целью данного исследования.

## Материалы и методы

В основную группу были включены пациентки двух популяционных групп — славянской и крымско-татарской, с гистологически верифицированным диагнозом рак молочной железы с клиническими признаками наследственного злокачественного новообразования (всего 283 женщины, 208 — славянской, и 75 — крымско-татарской), которым было проведено специализированное лечение на базе ГБУЗРК «Крымский республиканский онкологический диспансер имени В.М. Ефетова» в период с 2010 по 2019 гг. Включение в группы пациенток проводилось при наличии в семье двух и более родственников I–II степени родства с РМЖ и/или РЯ; при раннем (<45 лет) возрасте манифестации заболевания; синхронных формах РМЖ; первично-множественных опухолях.

Критериями исключения послужили РМЖ у мужчин, метастатический РМЖ, рак *in situ*. Отнесение к популяционной группе проводилось на основании самоидентификации лица к определенной этнической группе (не менее, чем в двух поколениях в роду все родственники должны считать себя относящимися к данной группе).

Контрольную группу представили 256 здоровых женщин (славянки 196 лиц и крымско-татарские татарки — 60) по возрасту и менструальной функции, сопоставимые с больными РМЖ основной группы.

В основной группе средний возраст больных составил 43,6±9,8 года, и контрольной группе — 43,1±7,4 года ( $p>0,05$ ). В табл. 1 продемонстрировано, что группы сравнения не отличаются по возрастному критерию.

Все пациенты добровольно согласились на участие в данном исследовании, подписав добровольное согласие. На данную работу получено одобрение Комитета по этике учреждения, на базе которого проводилось исследование (ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», протокол №12 от 14.04.2016 г.).

Исследование мутаций генов BRCA проведено на оборудовании Центра коллективного пользования «Молекулярная биология» Медицинской академии им. С.И. Георгиевского (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского». Образцы ДНК выделялись из цельной крови фенол-хлороформным методом [15]. Определение мутаций проводилось с помощью «Наборов для анализа однонуклеотидных полиморфизмов методом SNP экспресс РВ» производства ООО НПФ «Литех», Москва (BRCA1 5382insC, lot 03/S138/18, BRCA1 185delAG, lot 03/S137/18, BRCA1 4153delA, lot 07/S168/18, BRCA2 6174delT, lot 03/S139/18), методом ПЦР в реальном времени в присутствии красителя SYBR Green, с анализом кривых плавления, в объеме 25 мкл, с использованием термоциклера CFX-96 (BioRad, USA).

Морфологическую верификацию диагноза проводили набором методик для определения гистологического варианта и иммунофенотипирования опухоли по стандартной программе диагностики. Биопсийный и операционный материал фиксировали в забуференном нейтральном формалине на протяжении не более 18–36 часов (в зависимости от объема материала), проводили обезвоживание и пропитывание парафином с соблюдением стандартного протокола, разработанного для материала ткани молочной железы в гистопроцессоре Bond™-maX (Leica Microsystems, Германия). После заключения в парафин, на ротационном микротоме Leica RM 2255 (Leica Microsystems, Германия) изготавливали срезы толщиной 4 мкм, окрашивали гематоксилином и эозином с помощью набора для окрашивания (Diapath, Италия) строго по инструкции к растворам реагентов. Из блока с наиболее репрезентативным фрагментом опухоли готовили четыре среза на высокоадгезивные стекла X-tra Adhesive (Leica Microsystems, Германия). На них проводились ИГХ-реакции с ядерным маркером пролифе-

**Таблица 1. Возраст пациентов основной и контрольной группы**

Возраст (в годах)	Основная группа n=283		Контрольная группа n=256		p
	Абс.	%	абс.	%	
26 — 35	58	20,5	61	23,8	0,35
36 — 45	123	43,5	108	42,2	0,76
46 — 55	61	21,5	64	25,0	0,34
56 — 71	41	14,5	23	9,0	0,49
Средний возраст	43,6±9,8		43,1±7,4		

**Таблица 2. Характеристики больных НРМЖ с учетом популяционной составляющей**

Характеристики	Славянская популяционная группа n=208		Крымско-татарская популяционная группа n=75		p
	Абс.	%	Абс.	%	
Средний возраст (лет)	43,4±8,5	-	41,2±9,7	-	0,27
Возраст (лет): - до 45 лет - после 45 лет	130 78	62,5 37,5	51 24	68 32	0,39
	Стадия				
I	42	20,2	17	22,7	0,65
II	101	48,6	36	48,0	0,93
III	65	31,3	22	29,3	0,76
	ИГХ- статус				
Позитивные	125	60,1	60	80	0,0019
Отрицательные	83	39,9	15	20	0,0003
Тройной негатив	69	33,2	8	10,7	0,0002

рации Ki-67, рецепторам к эстрогенам (ER) и прогестерону (PR) (также с ядерной экспрессией), а также герцептест на мембранную экспрессию рецептора эпидермального фактора роста человека HER2/neu. Реакции ИГХ окрашивания ставили в приборе Bond™-maX (Leica Microsystems, Германия) в соответствии с протоколом в инструкции применения антител, ставили позитивные и негативные контроли, проводили внутрилабораторный контроль качества реакции. Использовались клоны антител, Dako Denmark A/S, Дания. Оценивали реакцию в соответствии с обновленными с клиническими рекомендациями ASCO CAP и руководством по интерпретации.

Полученные в ходе исследования данные вносили в таблицу пакета Microsoft Office Excel 2007. Статистическую оценку данных изучали при помощи лицензионной программы «Statistica 6.0». Различия в исследуемых группах были проанализированы с помощью двустороннего критерия хи-квадрат [16]. Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы (об отсутствии значимых межгрупповых различий) принимали равный 0,05. Статистически значимым для всех показателей считался критерий  $p \leq 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

В гене BRCA1 из исследованных вариантов мутаций в группе больных РМЖ преобладала мутация 5382insC — 21 случай (91,3%), и 185delAG — 1 случай (4,3%). В группе контроля выявлен один случай мутации 5382insC (0,5%). Мутация BRCA1 4153delA в исследуемых выборках не выявлена. В гене BRCA2 мутация 6174delT обнаружена в основной группе в

одном случае (4,3%). Все обнаруженные варианты мутаций выявлены в славянских популяционных группах (основной и контроля). В группах крымских татар ни одного из исследованных вариантов мутаций не обнаружено.

По данным иммуногистохимического исследования BRCA1 — ассоциированные опухоли молочной железы чаще характеризовались трижды негативными (ТН) биологическим типом (86,4% против 22,3%, ( $p=0,00001$ ), при сравнении со случаями РМЖ, у больных с клиническими признаками РМЖ, без носительства мутации. В славянской популяции наследственный рак молочной железы (НРМЖ) был чаще представлен ER — негативными — 39,9% (83), либо ТН опухолями — 33,2% (69). В большинстве случаев, молекулярно-биологический фенотип опухолей в крымско-татарской популяционной группе, был представлен ER — позитивными вариантами — 80% (60), а объем ТН опухолей, от общей выборки составил чуть более 10% (8/10,7%) ( $p=0,0002$ ) (табл. 2).

Низкая степень дифференцировки опухоли (G3) превалировала в группе герминальных мутаций BRCA1 — 54,5% ( $p=0,038$ ), а в группе больных без мутаций преобладала умеренная степень опухолевой дифференцировки — 63,1% ( $p=0,02$ ).

Результаты сравнения индекса опухолевой пролиферативной активности Ki-67 у пациентов с мутацией BRCA1 и в группе НРМЖ без мутации демонстрируют более высокие показатели индекса для BRCA1 — ассоциированного РМЖ: 86,4% против 52,3% ( $p=0,001$ ).

В нашем исследовании носительство мутации BRCA1 не было ассоциировано с высокой частотой первично-множественных опухолей у больных в группе с BRCA1 — ассоциированным РМЖ и НРМЖ: 13,6% против 15,4%, соответственно.

Обнаружение различий частот встречаемости мутаций генов BRCA для разных популяционных групп Крыма не является неожиданным. В различных регионах и популяционных группах Европы и Азии варианты и частоты мутаций этих генов отличаются значительно [17, 18]. Исследованные в нашей работе мутации BRCA1 5382insC, 4153delA, 185delAG описаны впервые в популяционной группе евреев-ашкенази [10], однако позднее они оказались достаточно распространенными в Европе в целом. Мутация 5382insC является преобладающей (до 80% от всех регистрируемых мутаций BRCA1) в странах восточной Европы [1, 18]. В Западной Европе вклад исследованных нами мутаций в общую мутационную картину снижен. Если в Польше мутация 5382insC встречается с высокой частотой, достигая у пациентов с РМЖ 30% [19], то в Германии эта величина составляет 4% [20], в Италии — около 3% [8], в скандинавских странах, а также в Испании и Португалии не встречается [8]. При этом спектр регистрируемых мутаций для разных популяционных групп Западной Европы в значительной степени индивидуален [17, 18].

Спектр мутаций у жителей Российской Федерации (РФ) можно охарактеризовать пятью наиболее часто проявляющимися мутациями — 5382insC, C61G, 185delAG, 4153delA, 2080delA гена BRCA1, при этом ведущим вариантом полиморфизма является мутация 5382insC, расположенная в 20 экзоне гена BRCA1. Данный вариант полиморфизма достигает до 80% среди всех мутаций гена BRCA1, и до 60% от общего объема мутаций в генах BRCA(1,2) [2, 10, 21, 22, 23, 24, 25, 26]. Также отмечены следующие варианты мутаций в гене BRCA1: 4153delA [10, 21, 23, 26], Cys61Gly [21, 23, 27], 185delAG [21, 23, 24, 27]. В нескольких российских исследованиях также выявлены мутации 2080delA, 3819delGTAAA, 3875delGTCT в гене BRCA1 [10, 21, 22, 27, 25] и мутация 6174delT в гене BRCA2 [21, 23, 24, 27].

На Дальнем Востоке среди смешанного населения без подразделения на популяционные группы мутация 5382insC регистрируется у 10%

больных РМЖ, а мутация 4153delA — 0,9% среди больных РМЖ, другие виды исследованных нами мутаций не выявлены [28]. В Сибири в славянской популяционной группе мутация 5382insC регистрируется у 6% пациенток с РМЖ, 4153delA и 185delAG — по 2,2%. При этом в автохтонных популяционных группах Сибири (Бурятия, Тыва, Алтай) эти мутации не встречаются [29]. В Башкирии в славянской популяционной группе мутация 5382insC встречается в 6% случаев с РМЖ, в башкирской — в 2,7% [30]. В Татарстане в славянской популяционной группе суммарная частота мутаций BRCA1 5382insC, 4153delA, 185delAG у больных РМЖ достигает 27% [31], а в популяционной группе казанских татар эта величина ниже [32], либо данные мутации не выявлены [33]. Можно было бы предполагать, что у автохтонного населения Средней Азии частота преобладающей в славянской популяции мутации 5382insC должна быть невысокой, однако в Ферганской долине она достигает 8,7% [34], при том, что до 90% населения относится к популяциям автохтонного населения Узбекистана.

На ближайших к Крымскому полуострову территориях частота встречаемости исследованных нами мутаций также неоднородна. На территории Украины у больных РМЖ в смешанной популяции частота мутации 5382insC у больных РМЖ в среднем составляет 4,7% [35]. На Кубани (Краснодарский край) мутация 5382insC у пациенток с РМЖ достигает 19,1% [36], но в рядом расположенной Республике Адыгея эта мутация составляет лишь 1,9% [37]. На территории Турции, для которой характерен свой спектр мутаций при РМЖ, мутация BRCA1 5382insC, по сообщениям разных источников, встречается среди больных РМЖ либо редко — 1,9% [38], либо не встречалась вообще [39]. На территории Румынии частота встречаемости мутации 5382insC среди больных РМЖ — 10% [40].

Полученные нами результаты по исследованию мутаций генов BRCA(1,2) хорошо согласуются с их распространенностью на сопредельных Крыму территориях. В целом, выявление 11,1% исследованных мутаций среди больных РМЖ славянской популяции согласуется с цифрами, наблюдаемыми в среднем в Восточной Европе [17]. Отсутствие этих мутаций среди пациенток крымско-татарской популяционной группы также согласуется с низким уровнем либо отсутствием данных мутаций среди ряда популяционных групп как Европы, так и Азии.

В целом результаты распределения мутаций в евро-азиатском регионе, включая Крымский полуостров, свидетельствуют об ограниченности диагностического значения исследования отдельных мутаций BRCA в качестве прогно-

стического в различных популяционных группах. При этом значимость ряда мутаций в генах BRCA(1,2), регистрируемых в качестве минорных, также может быть неоднозначной, учитывая местоположение мутации и функциональное значение данного участка гена [41, 42]. Однако важность регистрации мутаций в генах репарации ДНК, к которым относятся гены BRCA(1,2), как важного предиктора ранней диагностики и специфического лечения, обуславливает необходимость продолжения исследований по распределению различных мутаций в разных популяционных группах. Результаты, полученные для Крыма с его смешанным популяционным составом, представляются в этом отношении основой для дальнейших исследований.

Определение мутаций в крымско-татарской этнической группе, вероятнее всего, требует использование полногеномного, либо полногеномного секвенирования. По всей вероятности, использование детекции точечных мутаций в ранее известных генах не охватывает спектр НРМЖ в данной популяционной группе. По этой причине, проведение исследования по идентификации дополнительных генов, а соответственно, выявление возможно нового гена высокого риска РМЖ, является следующим шагом в реализации решения данной проблемы. Также, следует рассмотреть наследственную предрасположенность к РМЖ у крымских татар, в свете полигенного воздействия.

Известно, что, действуя совместно, генетические варианты могут обеспечивать мультипликативный эффект, в отношении риска развития рака [43]. Аргументом в пользу вышеизложенного, является факт преобладания в крымско-татарской популяционной группе, с отягощенным наследственным анамнезом, гормонозависимых опухолей, что не вписывается в классическую картину трижды негативных опухолей с мутацией BRCA1, чаще проявляясь при полиморфизме генов BRCA2 и CHEK2.

### Выводы

Впервые установлена ведущая мутация гена BRCA1 у больных РМЖ, проживающих в Крыму и принадлежащих к славянской популяционной группе: такой мутацией является 5382insC гена BRCA1. В славянской популяции НРМЖ был чаще представлен иммуногистохимически ЭР-негативными (39,9%), либо трижды негативными опухолями (33,2%). В крымско-татарской популяционной группе НРМЖ был представлен ЭР-позитивными вариантами (80%). Отсутствие наиболее известных мутаций гена BRCA1 у обследованных представительниц крымско-татарской группы не исключает наличия других

изменений в этом или других генах и требует дополнительных исследований, включающих полногеномное или полногеномное секвенирование.

*Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.*

*Работа выполнена при поддержке грантом Государственного Совета Республики Крым молодым ученым Республики Крым. Постановление Президиума Государственного Совета Республики Крым от 01.02.2017 г. № п368-1/17.*

### ЛИТЕРАТУРА

- Имянитов Е.Н. Наследственный рак молочной железы // Практическая онкология. — 2010. — Т. 11. — № 4. — С. 258-266.
- Любченко Л.Н., Батенева Е.И., Абрамов И.С. и др. Наследственный рак молочной железы и яичников // Злокачественные опухоли. — 2013. — №2. — С. 53-61. —doi: 10.18027/2224-5057-2013-2-53-61.
- Friedenson B. The BRCA1/2 pathway prevents hematologic cancers in addition to breast and ovarian cancers // BMC Cancer. — 2007. — Vol. 7. — P. 152. doi:10.1186/1471-2407-7-152.
- Semmler L., Reiter-Brennan C., Klein A. BRCA1 and breast cancer: a review of the underlying mechanisms resulting in the tissue-specific tumorigenesis in mutation carriers // J Breast Cancer. — 2019. — Vol. 22. — № 1. — P. 1-14. — doi:10.4048/jbc.2019.22.e6.
- Gorodetska I., Kozeretka I., Dubrovska A. BRCA Genes: The Role in Genome Stability, Cancer Stemness and Therapy Resistance // Journal of Cancer. — 2019. —Vol. 10. — № 9. — P. 2109-2127. — doi: 10.7150/jca.30410.
- Weinberg R.A. The biology of cancer. Second edition // Garland Science. — 2014. — P. 549-555.
- Easton D.F., Deffenbaugh A.M., Pruss D., Frye C. et al. A systematic genetic assessment of 1433 sequence variants of unknown clinical significance in the BRCA 1 and BRCA 2 breast cancer-predisposition genes // Am J Hum Genet. — 2007. — Vol. 81. — № 5. — P. 873-883.
- Janavicius R. Founder BRCA 1/2 mutation in the Europe: implications for hereditary breast-ovarian cancer prevention and control // EPMA. — 2010. — Vol. 1. — №3. — P. 397-412. — doi: 10.1007/s13167-010-0037-y.
- Rebbeck T.R., Friebel T.M., Friedman E. et al. Mutational spectrum in a worldwide study of 29,700 families with BRCA 1 or BRCA 2 mutations // Hum Mutat. — 2018. — Vol. 39. — № 5. — P. 593-620. — doi: 10.1002/humu.23406.
- Gayther S.A., Harrington P., Russell P. Frequently occurring germ-line mutations of the BRCA 1 gene in ovarian cancer families from Russia // Amer. J. Hum. Genet. — 1997. — Vol. 60. — P. 1239-1242.
- Neuhausen S.L. Founder populations and their uses for breast cancer genetics// Breast Cancer Res. — 2000. — Vol. 2. — P. 77-81.
- Tonin P.N., Mes-Masson A.-M., Narod S.A. et al. Founder BRCA1 and BRCA2 mutations in french canadian ovarian cancer cases unselected for family history // Clinical Genetics. — 1999. — Vol. 55. — № 5. — P. 318-324. — doi: 10.1034/j.1399-0004.1999.550504.x.

13. Sokolenko A.P., Iyevleva A.G., Mitiushkina N.V. et al. Hereditary breast-ovarian cancer Syndrome in Russia // *Acta Naturae*. — 2010. — Vol. 7. — № 4. — P. 31-35.
14. Петрова О.В., Сеферов Б.Д., Нор Г.С., Соркин В.М. Этнические особенности наследования предрасположенности к раку молочной железы // *Крымский терапевтический журнал*. — 2009. — Т. 1. — № 12. — С. 42-45.
15. Херрингтон С. Молекулярная клиническая диагностика. Методы / С. Херрингтон, Дж. Макги. — М., «Мир», 1999. — 1045 с.
16. Банержи А. Медицинская статистика понятным языком: вводный курс // М.: Практическая медицина, 2007. — 287 с.
17. Ferla R., Calo V., Cascio S. et al. Founder mutations in BRCA1 and BRCA2 genes // *Annals of Oncology*. — 2007. — Vol. 1. — Suppl. 6. — P. 93-98. —doi:10.1093/annonc/mdm234.
18. Karami F., Mehdiipour P. A comprehensive focus on global spectrum of BRCA1 and BRCA2 mutations in breast cancer // *BioMed Research International*. — 2013. — Vol. 2013. — P. 928562. — doi:10.1155/2013/928562.
19. Gorski B., Byrski T., Huzarski T. et al. Founder Mutations in the BRCA1 Gene in Polish Families with Breast-Ovarian Cancer // *Am. J. Hum. Genet.* — 2000. — Vol. 66. — P. 1963-1968.
20. Backe J., Hofferbert S., Skawran B. et al. Frequency of BRCA1 mutation 5382insC in German breast cancer patients // *Gynecol Oncol.* — 1999. — Vol. 72. — № 3. — 402-406.
21. Батенева Е.И., Мещеряков А.А., Любченко Л.Н., Кадочникова В.В. и др. Частота одиннадцати мутаций генов BRCA 1 и BRCA 2 в неотобранной выборке больных раком молочной железы россиянок // *Уральский медицинский журнал*. — 2011. — № 3. — С. 69-73.
22. Грудина Н.А., Голубков В.И., Тихомирова О.С. Преобладание широко распространенных мутаций в гене BRCA 1 у больных семейными формами рака молочной железы Санкт-Петербурга // *Генетика*. — 2005. — Т. 3. — № 41. — С. 405-10.
23. Федорова О.Е., Любченко Л.Н., Паяниди Ю.Г. и др. Использование биочипов при изучении распространенных мутаций в генах BRCA 1/2 и CHEK2 у больных органоспецифическим раком яичников и первично-множественными злокачественными новообразованиями с поражением яичников (российская популяция) // *Молекулярная биология*. — 2007. — №41. — С. 37-42.
24. Часовникова О.Б., Митрофанов Д.В., Демченко Д.О. и др. BRCA 1 и BRCA 2 мутации у больных раком молочной железы в сибирском регионе // *Сибирский онкологический журнал*. — 2010. — № 5. — С. 32-5.
25. Iyevleva A.G. Suspitsin E.N., Kroeze K., Gorodnova T.V. Non-founder BRCA 1 mutations in Russian breast cancer patients // *Cancer Lett.* — 2010. — Vol. 298. — № 2. — P. 258-63. — doi: 10.1016/j.canlet.2010.07.013.
26. Szabo C.I., King M.C. Population genetics of BRCA 1 and BRCA 2 // *Am J Hum Genet.* — 1997. — Vol. 60. — № 5. — P. 1013-20.
27. Любченко Л.Н. Наследственный рак молочной железы и/или яичников: ДНК-диагностика, индивидуальный прогноз, лечение и профилактика: автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.01.12/ Любченко Людмила Николаевна. — М., 2009. — 140 с.
28. Гулян И.С., Чернышева Н.Ю., Стенкова А.М. и др. Рак молочной железы: риск-ассоциированные мутации гена BRCA1 для скрининга жителей Приморья // *Тихоокеанский медицинский журнал*. — 2018. — № 1. — С. 44-47. — doi: 10.17238/PmJ1609-1175.2018.1.44-47.
29. 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.
30. Бермишева М.А., Зиннатуллина Г.Ф., Ганцев Ш.Х. и др. Частота выявления мутации 5382insC гена BRCA1 // *Вопросы онкологии*. — 2008. — Т. 54. — № 1. — С. 31-33.
31. Бровкина О.И., Гордиев М.Г., Еникеев Р.Ф. и др. Гены системы репарации: популяционные различия наследственных типов рака яичников и молочной железы, выявляемые методом секвенирования нового поколения // *Опухоли женской репродуктивной системы*. — 2017. — т.13. — №2. — С. 61-67. — doi: 10.17650/1994-4098-2017-13-2-61-67.
32. Бровкина О.И., Гордиев М.Г., Шигапова Л.Х. и др. Гены BRCA1 и BRCA2: популяционные особенности развития рака молочной железы у татарских женщин // *Медицинская генетика*. — 2016. — № 10. — С. 50-52.
33. Хасанова А.И., Гордиев М.Г., Ратнер Е.Ю. и др. BRCA-ассоциированный рак молочной железы у представительниц татарской национальности на примере клинического случая // *Поволжский онкологический вестник*. — 2016. — Т. 2. — № 24. — С. 104-108.
34. Мамарасулова Д.З., Мамадалиева Я.С., Эргашева З.А., Азизов Ю.Д. Оценка генетического риска развития рака яичника — мутации генов BRCA1 и BRCA2 в Андижанской области // *Клиническая онкология*. — 2016. — № 2. — С. 37-39.
35. Gorodetska I., Serga S., Levkovich N. et al. The frequency of BRCA1 founder mutation c.5266dupC (5382insC) in breast cancer patients from Ukraine // *Hereditary cancer in clinical practice*. — 2015. — Vol. 13. — P. 19. — doi: 10.1186/s13053-015-0040-3.
36. Порханова Н.В., Ткаченко Н.Н., Соколенко А.П. и др. Роль генетического скрининга в профилактике рака яичника // *Сибирский онкологический журнал*. — 2009. — № 2. — С. 163.
37. Анохина Е.Н. Этногеографические особенности распределения мутаций генов BRCA 1/2 при злокачественных новообразованиях женских репродуктивных органов // *Вестник Адыгейского Государственного Университета. Серия естественно-математических и технических наук*. — 2012. — Т. 2. — № 101. — С. 80-93.
38. Yazici H., Bitisik O., Akisik E. et al. BRCA1 and BRCA2 mutations in Turkish breast/ovarian families and young breast cancer patients // *Brit. J. Cancer*. — 2000. — Vol. 83. — № 6. — P. 737-742. — doi: 10.1054/bjoc.2000.1332.
39. Geredeli C., Yasar N., Sakin A. Germline Mutations in BRCA1 and BRCA2 in Breast Cancer Patients with High Genetic Risk in Turkish Population // *International Journal of Breast Cancer*. — 2019. — Vol. 2019. — P. 7. — doi: org/10.1155/2019/9645147.
40. Negură L., Carasevici E., Negură A. et al. Identification of a recurrent BRCA1 mutation in two breast/ovarian

- cancer predisposition families with distinct phenotypes, by using allele-specific multiplex-PCR // *Revista Română de Medicină de Laborator*. — 2010. — Vol. 18. — № 2/4. — P. 53-61.
41. Clark S.L., Rodriguez A.M., Snyder R.R. et al. Structure-function of the tumor suppressor BRCA1 // *Computational and Structural Biotechnology Journal*. — 2012. — Vol.1. — № 1. — P. 1 — 6. — doi: 10.5936/csbj.201204005.
  42. Fackenthal J.D., Olopade O.I. Breast cancer risk associated with BRCA1 and BRCA2 in diverse populations // *Nature reviews cancer*. — 2007. — Vol. 7. — P. 937-948. —doi:10.1038/nrc2054.
  43. Brodie S.G., Xu X., Qiao W. et al. Multiple genetic changes are associated with mammary tumorigenesis in BRCA 1 conditional knockout mice // *Oncogene*. — 2000. — Vol. 20. — P. 7514–7523.

of occurrence of the “founder mutation” 5382insC *BRCA1* gene mutation in breast cancer patients from Slavic population group corresponds to the average Russian and European levels, the frequency of other variants of the studied mutations, 185delAG *BRCA1* gene and 6174delT *BRCA2* gene, is recorded much less frequently, and the 4153delA mutation was not observed in the studied samples. The absence of mutations in the studied markers of the Crimean Tatars population group, including those with a hereditary predisposition to breast cancer, indicates differences in the mutation spectrum and necessitates the continuation of studies with an expansion of the mutation spectrum, with the prospect of full-genome (*BRCA1*) or genome-wide DNA sequencing of patients.

Key words: breast cancer, mutations, heredity, Crimean population groups

Поступила в редакцию 14.05.2020 г.

*V.V. Oleksenko, K.A. Aliev, K.D. Malyi*

### **BRCA genes mutations' of hereditary breast cancer in Crimea**

V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Medical academy named after S.I. Georgievsky, Simferopol

**Introduction.** The hereditary predisposition to the growth of breast cancer (BC), associated with germline mutations of DNA genes repair (*BRCA(1,2)*), is characterized by a variety of polymorphism variants, with a tendency to a certain specificity in different population groups. In regions with a mixed population composition, such as Crimean Peninsula, the problem of the relationship of specific mutations and a population group is not only of scientific interest, but also has rather important practical significance from the point of view of diagnostic and prognostic criteria design for the breast cancer incidence. The aim of the study was to determine the frequency of occurrence of *BRCA1* (5382insC, 4153delA, 185delAG) and *BRCA2* (6174delT) genes mutations in two population groups having a breast cancer and living in the Crimea — Slavic and Crimean Tatar, with clinical signs of a hereditary disease. **Materials and methods.** 283 DNA samples were studied, collected from the blood of patients with clinical signs of hereditary breast cancer, of which 208 were Slavic and 75 were Crimean Tatar population group. The control group consisted of 256 DNA samples collected from the blood of healthy women, of which 196 were Slavic and 60 were Crimean Tatar population group. The study was carried out using real-time polymerase chain reaction (PCR-RT) by allelic discrimination, with the analysis of melting curves. Morphological verification of the diagnosis was carried out by a set of methods for determining the histological variant and tumor immunophenotyping according to the standard diagnostic program. **Results.** Mutations were detected in 23 breast cancer cases; these mutations were determined exclusively in the Slavic group. The 5382insC *BRCA1* gene mutation was prevailed (21/10,1%), and 185delAG *BRCA1* mutations one case and 6174delT *BRCA2* mutation one case were obtained. None of the gene mutation was not registered in the Crimean Tatar population group. Immunohistochemically triple negative breast cancer was determined in 86.4% of mutations cases. Only one case of mutation was recorded in the control group — 5382insC of the *BRCA1* gene in the Slavic population group (0,4%). **Conclusion** The frequency