

А. Клинические исследования

© Коллектив авторов, 2022
УДК 618.19+618.11-007.6
DOI 10.37469/0507-3758-2022-68-1-48-54

Вопросы онкологии, 2022. Том 68, № 1

И.Р. Миннихметов^{1,2}, Э.М. Кагирова^{1,2}, О.И. Машиков², Р.И. Хусаинова^{1,2}

Поиск патогенных изменений в генах *BRCA1/2* у пациентов с раком молочной железы и яичников с использованием технологии массового параллельного секвенирования

¹ ГБУЗ «Республиканский медико-генетический центр», Уфа

² ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Уфа

Цель исследования — изучение спектра и частоты патогенных изменений в генах *BRCA1/2* у женщин с раком молочной железы (РМЖ) и яичников (РЯ), проживающих в Республике Башкортостан.

Материалы и методы. В качестве материала использованы препараты опухолевой ткани 70 женщин с тройным негативным раком молочной железы (ТНРМЖ) и 50 женщин с серозным типом злокачественных новообразований яичника в Республике Башкортостан с применением технологии секвенирования нового поколения (NGS).

Результаты. Идентифицировано 27 патогенных и вероятно патогенных вариантов в генах *BRCA1/2* (15 в гене *BRCA1* и 12 — в гене *BRCA2*) у 38,0% женщин с РЯ и 40% пациентов с ТНРМЖ. Мутации с.181T>G (rs886040898) и с.5266dupC (rs80357906) в гене *BRCA1* встречались у женщин как с ТНРМЖ, так и РЯ, остальные патогенные изменения не пересекались. В гене *BRCA1* выявлено 7 патогенных и 1 вероятно патогенный вариант у женщин с ТНРМЖ, наиболее частой оказалась мутация с.5266dupC, которая встречалась у 17,14% женщин. Вторая по частоте мутация с.181T>G- выявлена у 4,29% женщин с ТНРМЖ, третья (с.3700_3704del) — у 2,86%. Мутации с.1918C>T, с.3779T>G, с.5453A>G, с.68_69delAG обнаружены в единичных случаях. Патогенный вариант с.5266dupC в гене *BRCA1* также оказался самым частым у пациенток с РЯ (10%). Мутация с.4035delA встретила у двух пациенток, остальные 7 мутаций обнаружены в единичных случаях. В гене *BRCA2* было идентифицировано 5 патогенных изменений и 2 вероятно патогенных вариантов у пациенток с ТНРМЖ, а также 4 патогенных и 2 вероятно патогенных вариантов у женщин с РЯ, каждая мутация выявлена только у одной женщины и является уникальным вариантом, не встречающимся у других пациентов.

Выводы. Полученные результаты демонстрируют высокую эффективность NGS технологии для молекулярного профилирования опухолевой ткани.

Ключевые слова: рак молочной железы, рак яичников, *BRCA1*, *BRCA2*, NGS

Введение

Рак молочной железы (РМЖ) и рак яичников (РЯ) — распространенные онкологические многофакторные заболевания, которые являются чрезвычайно гетерогенным по своим клиническим, морфологическим и молекулярно-генетическим характеристикам. РМЖ является наиболее распространенным видом злокачественных новообразований (ЗНО), в 2020 г. примерно 685 000 женщин умерли от данного заболевания (<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer>). Летальные исходы от РЯ в 2020 г. составили 207 252 случая. 5-летняя выживаемость женщин при таком диагнозе составляет всего 40%, а рецидив заболевания отмечается в 80% случаев (<https://gco.iarc.fr/today>).

В Республике Башкортостан в структуре ЗНО РМЖ находится на первом месте и составляет 23,0%, РЯ — 5,3%. Среди подтипов РМЖ одним из самых агрессивных и наиболее часто встречающихся у пациентов молодого возраста является тройной негативный рак молочной железы (ТНРМЖ), при котором наблюдаются самые низкие показатели выживаемости по сравнению с другими подтипами РМЖ ($p < 0,0001$). Данный подтип характеризуется отсутствием экспрессии рецепторов эстрогенов, прогестерона и HER2-neu, составляя 12–20% от всей группы РМЖ.

Большую часть (90%) злокачественных опухолей яичников составляет серозный тип эпителиального рака.

В настоящее время общепризнанным является факт, что в молекулярный патогенез РМЖ и РЯ вовлекается огромное количество разнообразных генов, регулирующих механизмы клеточной

пролиферации, репарации ДНК, межклеточных взаимодействий, клеточного старения и апоптоза. Известно, что присутствие мутаций в генах *BRCA1* или *BRCA2* может увеличить вероятность рака молочной железы более чем в 5 раз, а рака яичников — в 10–28 раз. Частота встречаемости мутаций в двух генах *BRCA* в российской популяции — 1:800–1:1000, при этом их спектр и частота зависят от географической и этнической принадлежности пациентов [1].

Гены *BRCA1/2* относятся к группе генов-супрессоров, вовлеченных в процесс гомологичной репарации двунитевых разрывов ДНК. Наличие клинически значимых мутаций в генах *BRCA1* или *BRCA2* вызывает потерю функции белков, кодируемых этими генами, в результате чего нарушается основной механизм репарации двунитевых разрывов ДНК. Так, *BRCA1/2*-ассоциированные опухоли обычно имеют высокую степень злокачественности и характеризуются агрессивным течением, но в то же время обладают высокой чувствительностью к химиотерапевтическим препаратам [2].

Молекулярная диагностика опухолей является неотъемлемой частью современной клинической онкологии. Развитие знаний о механизмах онтогенеза новообразований, а также создание современных технологий формируют новые тенденции в молекулярной диагностике онкопатологии.

Наиболее значительным прогрессом в диагностике молекулярного патогенеза заболеваний человека в целом и в онкологии в частности стало внедрение технологии высокопроизводительного секвенирования нового поколения (NGS, next generation sequencing). Фундаментальным достижением последних лет является использование нового класса таргетных, молекулярно-ориентированных препаратов, создаваемых для воздействия на определенные, заранее установленные внутриклеточные молекулярные мишени, имеющие ключевое значение для жизнедеятельности опухолевой клетки. Использование NGS-технологии позволяет ускорить процесс идентификации патогенных изменений в таргетных генах, проводить раннюю диагностику опухолевого процесса, определять прогноз развития заболевания и подбирать наиболее эффективные варианты терапии. Изучение молекулярных особенностей механизма развития злокачественных опухолей и их ассоциация с клиническими проявлениями делает диагностику этих заболеваний более информативной, а также лежит в основе создания методов персонализированной терапии и оценки риска рецидива.

До сих пор не определен спектр и частота патогенных изменений в различных популяциях, продолжается идентификация новых, ранее не

описанных вариантов в генах *BRCA1/2*, а также изучение функциональной значимости локусов с неизвестной клинической ролью в патогенезе РМЖ и РЯ. Определение спектра и частот мутаций в генах *BRCA1/2* в этнически подразделенных регионах является актуальной задачей, имеющей высокую научно-практическую значимость.

Цель работы — анализ спектра и частоты патогенных изменений в генах *BRCA1/2* у женщин с РМЖ и РЯ из Республики Башкортостан.

Материалы и методы

Материалом настоящего исследования послужили образцы опухолевой ткани 120 пациенток, среди которых 70 с трижды негативным РМЖ по данным иммуногистохимического исследования (PR, ER, HER2-neu) и 50 женщин с серозным типом злокачественных новообразований яичника. Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике ГБУЗ РМГЦ. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Образцы опухолевой ткани фиксировались в формалине и закладывались в парафин (ФФЗП или FFPE). Исследование проводилось в лаборатории молекулярно-генетической диагностики ГБУЗ РМГЦ (г. Уфа). Патоморфологом проводился отбор опухолевого материала по окрашенным срезам ФФЗП тканей для выделения ДНК. Выделение ДНК из ткани проводилось с использованием набора QiaGen FFPE TissueKit (QIAGEN, Германия) по протоколу производителя. Измерение концентрации полученной ДНК осуществляли с использованием набора Qubit 1x dsDNA HS Assaykit (Invitrogen, США) на флуориметре Qubit 4 (Invitrogen, Сингапур).

Опухолевый материал 41 пациента (13 с РМЖ и 28 с РЯ) исследовался на платформе GeneReader с использованием панели GeneReadQIAact BRCA Advanced DNA UMI Panel (QIAGEN, Германия). Материал 63 пациенток (44 с РМЖ и 19 с РЯ) секвенировался на платформе MiSeq с использованием панели Соло-тест ABC. ДНК 16 пациенток (13 с РМЖ и 3 с РЯ) анализировался на обеих платформах на приборе MiSeq (Illumina).

Геномная ДНК, выделенная из ФФЗП тканей, отвечала качественным и количественным критериям фирм-производителей панелей секвенирования нового поколения (GeneReadQIAact BRCA Advanced DNA UMI Panel). Подготовка библиотек проводилась согласно протоколам фирм-производителей. Валидация и нормализация библиотек проведена на основе показаний флуориметра Qubit 4 (Invitrogen, Сингапур). Для образцов, исследуемых на приборе GeneReader, анализ результатов проведен на платформе QIAGEN Clinical Insight (QCI).

Результаты

В результате проведенных исследований идентифицировано 25 патогенных вариантов у женщин с РМЖ и РЯ — 14 в гене *BRCA1* и 9 — в гене *BRCA2*. Мутации с.181T>G (rs886040898) и с.5266dupC (rs80357906) в гене *BRCA1* встречались у женщин как с РМЖ, так и РЯ, остальные патогенные изменения не пересекались (таблица).

Спектр и частоты патогенных изменений в генах *BRCA1/2* у пациентов с РМЖ и РЯ

Ген	Локусы	dbSNP	Абсолютное число		Частота				Эффект
			РМЖ	РЯ	РМЖ	РЯ	OncoBRCA	gnomAD	
<i>BRCA1</i>	c.117T>G	rs886040898		1		0,0200	0	0	stopgain
	c.181T>G	rs28897672	3	1	0,0429	0,0200	0,0027	0,000032	missense
	c.1918C>T	rs886039981	1	0	0,0143	0	0,0002	0	stopgain
	c.3143delG	rs886040100	0	1		0,0200	0,0004	0,000004	frameshiftdel
	c.3700_3704del	rs80357609	2	0	0,0286	0	0,001	0,000004	frameshiftdel
	c.3743_3752del	–	0	1		0,0200	0	0	frameshiftdel
	c.3779T>G	rs886038025	1		0,0143	0	0	0	stopgain
	c.4035delA	rs80357711	0	2	0	0,0400	0,0047	0,0005	frameshiftdel
	c.4810C>T	rs80357352	0	1	0	0,0200	0	0,000004	stopgain
	c.5161C>T	rs878854957	0	1	0	0,0200	0,0021	0	stopgain
	c.5266dupC	rs80357906	12	5	0,1714	0,1000	0,0383	0,0004	frameshiftins
	c.5453A>G	rs80357477	1	0	0,0143	0	0	0	missense
	c.68_69delAG	rs80357914	1	0	0,0143	0	0	0,000227	frameshiftdel
	c.814G>T	rs886040321	0	1	0	0,0200	0	0	stopgain
*c.1291_1295delTTACT	–	1	0	0,0143	0	0	0	frameshiftdel	
<i>BRCA2</i>	c.-39-1_-39del	rs758732038	1	0	0,0143	0	0	0,000008	spliceacceptorvariant
	c.2990T>G	rs397507649	0	1	0	0,0200	0	0	stopgain
	c.3847_3848delGT	rs80359405	1	0	0,0143	0	0	0,000054	frameshiftdel
	c.51_52delAC	rs80359483	0	1	0	0,0200	0	0,000007	frameshiftdel
	c.5156A>T	rs1179768667	1		0,0143	0	0	0	missense
	c.8021delA	rs397507952	0	1	0	0,0200	0	0,000011	frameshiftdel
	c.8023A>G	rs397507954	1	0	0,0143	0	0	0,000004	missense
	c.8754+1G>A	rs397508006	0	1	0	0,0200	0,0008	0,000004	splicedonorvariant
	c.9097delA	rs397507419	1	0	0,0143	0	0	0,000007	frameshiftdel
	*c.1287delA	–	1	0	0,0143	0	0	0	frameshiftdel
	*c.728delA	–	0	1	0	0,0200	0	0	frameshiftdel
	*c.9463_9464insG	–	0	1	0	0,0200	0	0	frameshiftins

* Вероятно патогенные варианты по предсказательным программам

В гене *BRCA1* выявлено 7 патогенных изменений и один вероятно патогенный вариант у женщин с РМЖ. При ТНРМЖ наиболее частой оказалась мутация c.5266dupC, которая встречалась у 17,14% женщин. Вторая по частоте мутация c.181T>G выявлена у 4,29% женщин с ТНРМЖ, третья c.3700_3704del — 2,86%. Мутации c.1918C>T, c.3779T>G, c.5453A>G, c.68_69delAG обнаружены в единичных случаях, частота которых составила 1,43%.

Все мутации, кроме c.3779T>G и c.5453A>G (p.Asp1818Gly), хорошо описаны в доступной литературе и достаточно часто встречаются у пациентов из различных стран мира и России.

Вариант c.3779T>G (p.Leu1260Ter) описан в базе ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar>) как герминальная нонсенс мутация в одной семье с РМЖ/РЯ без указания популяционной принадлежности пациента.

Вариант c.5453A>G (p.Asp1818Gly), приводящий к замене аспарагиновой кислоты на глицин в положении 1818 белка BRCA1 (p.Asp1818Gly), выявлен у лиц, страдающих неуточненным РМЖ и/или яичников. Сообщалось, что этот вариант имеет противоречивые или недостаточные данные для определения влияния на функцию белка BRCA1 (PMID: 20516115, 30209399). Последующие экспериментальные исследования показали,

что этот вариант приводит к полному пропуску экзона 22 (также известного в литературе как экзон 23) и образованию усеченного белкового продукта (p.Gly1803GlnfsX11), что нарушает С-концевой домен BRCT белка BRCA1, который важен для активности репарации ДНК. Этот вариант был классифицирован как патогенный только в середине 2021 г. [3].

Делеция c.1291_1295delTTACT, приводящая к сдвигу рамки считывания (p.L431fs), отмечена программным обеспечением QCI по интерпретации результатов как вероятно патогенная. Данная замена в базе данных ClinVar и российской базе OncoBRCA (<https://oncobrca.ru>) не аннотирована. Однако к подобному изменению аминокислотной последовательности в 431 положении белка BRCA1 приводят три ранее описанных патогенных изменения: NM_007294.4(BRCA1):c.1292_1295del (p.Leu431fs), NM_007294.4(BRCA1):c.1292del (p.Leu431fs) и NM_007294.3(BRCA1):c.1292dupT (p.Leu431Phefs), что предполагает идентичное изменение свойств белка и при варианте c.1291_1295delTTACT (p.L431fs) и позволяет оценить выявленное нами изменение как патогенное.

У пациентов с РЯ обнаружено 10 патогенных вариантов в гене *BRCA1*. Наиболее частой мутацией, которая встречалась у 10% пациенток с РЯ, оказалось патогенное изменение c.5266dupC, идентифицированное у 17,14% пациентов с РМЖ. Мутация c.4035delA встретила у двух пациенток, остальные мутации: c.117T>G, c.181T>G, c.3143delG, c.3743_3752del, c.4035delA, c.4810C>T, c.5161C>T, c.814G>T обнаружены в единичных случаях.

Вариант c.181T>G, выявленный у пациентов с РМЖ (4,29%) и РЯ (2%), также широко представлен среди семейных форм РМЖ/РЯ у российских пациентов и в популяциях мира, является самой частой мутацией у пациентов из Словакии [4].

Патогенное изменение c.4035delA (rs80357711, p.E1345fs) описано в базах данных OncoBRCA и gnomAD с частотами менее 1%, тогда как в нашей выборке женщин с РЯ его частота достигла 4%, ранее у пациентов из РБ данная мутация не была выявлена.

Мутация c.117T>G (rs886040898, p.Cys39Trp) представлена в базе данных ClinVar и описана Институтом Бротмана Бати Вашингтонского университета в 2019 г. (BrotmanBatyInstitute, UniversityofWashington) как миссенс вариант, соответствующий функциональной классификации «потеря функции» (lossoffunction), выявлена при РМЖ и РЯ, а также раке поджелудочной железы. Изменение не описано у российских пациентов (в базе OncoBRCA и доступной литературе).

Вариант c.3143delG (rs886040100), выявленный у одного пациента с РЯ, является очень редкой мутацией, описанной с частотой delG=0.000004 (1/251006, GnomAD_exome) как герминальный патогенный вариант при наследственных формах РМЖ/РЯ.

Патогенный вариант c.4810C>T (p.Gln1604Ter) также является редким, в российских базах данных не описан, обнаружен у одной пациентки с РЯ. В этой же позиции в ClinVar описано изменение с неизвестной клинической значимостью c.4810C>G, приводящее к замене глутамина на глутаминовую кислоту (p.Gln1604Glu).

Патогенный вариант c.5161C>T (p.Q1721X) встречавшийся у российских пациентов, указанный в базе данных OncoBRCA, редок, приводит к преждевременной терминации синтеза белка.

Нонсенс мутация c.814G>T (p.Glu272Ter), расположенная в кодирующем экзоне 9 гена *BRCA1*, приводит к потере функции из-за преждевременного усечения белка или нонсенс-опосредованного распада мРНК. Таким образом, это изменение интерпретируется как патогенное.

Вариант c.3743_3752del, который не описан в литературе и не аннотирован в базе ClinVar, выявлен у пациентки 52 лет с серозным типом РЯ татарской этнической принадлежности с III стадией заболевания с рецидивом. Патогенность аннотирована СолоТестом, приводит к сдвигу рамки считывания p.Ala1248ValfsTer13.

В гене *BRCA2* было идентифицировано 5 патогенных и 2 вероятно патогенных варианта у пациенток с РМЖ, а также 4 патогенных и 2 вероятно патогенных варианта у женщин с РЯ, каждая мутация выявлена только у одной женщины и является уникальным вариантом, не встречающимся у других пациенток (см. таблицу).

Среди них 7 — редкие ранее описанные мутации с патогенным эффектом: c.-39-1_-39del, c.3847_3848delGT, c.51_52delAC, c.8021delA, c.8023A>G, c.8754+1G>A, c.9097delA, выявленные в различных популяциях мира.

Вариант c.2990T>G (p.Leu997Ter), аннотированный в ClinVar как патогенный, в доступной литературе не описан. Выявлен у пациентки с РЯ 68 лет, татарского происхождения с IV стадией заболевания и метастазами по плевре, в большой сальник, с инвазией в печень и желчный пузырь.

Миссенс мутация c.5156A>T (p.Asn1719Ile) описана в ClinVar как единственный случай обнаружения среди 264690 людей. В нашем исследовании данное изменение выявлено у женщины с ТНРМЖ 49 лет, татарской этнической принадлежности с ПА стадией заболевания и метастазами в легких, подмышечных и субпекторальных лимфоузлах.

Особый интерес представляют ранее неопи- санные изменения с вероятно патогенным эф- фектом. Делеция с.1287delA приводит к сдвигу рамки считывания р.Asp430fs. Это изменение последовательности гена *BRCA2* в базе дан- ных ClinVar не аннотировано. Однако, к сдвигу рамки считывания р.Asp430fs с патогенным эф- фектом приводит замена с.1288del (р.Asp430fs). Учитывая одинаковый эффект мутаций на уров- не белка, предполагаем, что выявленное измене- ние является патогенным.

Замену с.728del (р.Asn243fs) сервис QCI определяет как вероятно патогенную, в то время как ClinVar этот вариант относит к па- тогенным изменениям. Необходимо отметить, что к сдвигу рамки считывания в 243 положи- нии аминокислотной последовательности гена *BRCA2* приводят ещё два изменения, аннотиро- ванные в ClinVar как патогенные: с.728_729del (р.Asn243fs) и с.728dup (р.Asn243fs).

Инсерция с.9463_9464insG (р.Phe3155fs) при- водит к сдвигу рамки считывания. Это изменение последовательности гена *BRCA2* в базе данных ClinVar не аннотировано. Однако, в 9463 поло- жении нуклеотидной последовательности гена *BRCA2* зафиксирована другая замена, приводящая к сдвигу рамки считывания и обладающая пато- генным эффектом: с.9463_9467delinsGAATGATC (р.Phe3155_Gln3156delinsGluTer).

Среди выявленных патогенных изменений в гене *BRCA1* с наибольшей частотой выявлены инсерции/делеции нуклеотидов — 7 вариантов (46,7%), приводящие к сдвигу рамки считыва- ния при транскрипции мРНК, 6 (40%) нонсенс мутаций приводящие к преждевременному окон- чанию трансляции (stopgain), и к образованию абnormally укороченного белка, миссенс-мута- ции составили 13,3%. В гене *BRCA2* также чаще встречались мутации сдвига рамки считывания — 58,3%, по два варианта миссенс-мутации (16,7%) и мутации сайта сплайсинга (16,7%), один раз идентифицирована нонсенс мутация (8,3%). Все обнаруженные изменения приводят к изменению или потере функции белка.

Таким образом, нами идентифицировано 27 патогенных вариантов в генах *BRCA1/2* у женщин с РМЖ и РЯ, проживающих в Респу- блике Башкортостан. У пациентов с РМЖ вы- явлено 8 изменений патогенного характера в гене *BRCA1* и 12 — у женщин с РЯ. В гене *BRCA2* было идентифицировано 5 патогенных и один вероятно патогенный вариант у пациен- ток с РМЖ, а также 4 патогенных и 2 вероятно патогенных варианта у женщин с РЯ. Мутации с.181T>G (р.C61G) и с.5266dupC (р.Q1756fs) в гене *BRCA1* встречались у женщин как с РМЖ, так и РЯ, остальные патогенные изменения не пересекались.

Мутации в гене *BRCA1* выявлены у 22 жен- щин с РМЖ (22/70=31,43%), в гене *BRCA2* — у 6 (6/70=8,57%), всего у 28 пациенток с тройным негативным РМЖ идентифицированы патоген- ные изменения, что составило 40%.

Мутации в гене *BRCA1* выявлены у 13 жен- щин с РЯ (13/50=26%), в гене *BRCA2* — у 6 (6/50=12%), в целом у 19 пациенток с серозным типом РЯ идентифицированы патогенные изме- нения, что составило 38%.

Результаты нашего исследования демонстри- руют высокую эффективность массового парал- лельного секвенирования для скрининга мута- ций в таргетных генах *BRCA1/2* в опухолевой ткани пациентов с РМЖ и РЯ. Существующие в настоящее время ПЦР наборы для определения частых патогенных вариантов содержат порядка 8–12 мутаций, а в нашем исследовании удалось идентифицировать 27 клинически значимых ва- рианта в генах *BRCA1* и *BRCA2*, что является показателем эффективности NGS технологии для молекулярного профилирования опухолей и назначения таргетной терапии. Кроме этого, учитывая, что в патогенез РМЖ и РЯ вовлечены порядка 10 генов, поиск патогенных изменений с использованием расширенной таргетной NGS панели представляется необходимым условием для оптимизации алгоритмов молекулярно-гене- тических исследований онкопатологии с учетом региональных и этнических особенностей гено- фонда коренных народов в этнически подразде- ленных регионах мира и России.

Обсуждение

В ранее проведенном исследовании М.А. Бер- мишевой и соавт. (2018) наиболее часто встре- чающейся мутацией у пациенток с РМЖ из Башкортостана является мутация с.5266dupC в гене *BRCA1* (3,3%), она определена у пред- ставителей разных этнических групп (тюркского, финно-угорского и славянского происхождения). По нашим данным частота данной мутации до- стигла 17% у пациентов с РМЖ и 10% — с РЯ, что отличается от ранее полученных резуль- татов для пациентов из Республики Башкортостан, что, вероятно, связано с выборкой, куда были включены только женщины с РМЖ с трижды негативным иммуногистохимическим статусом и серозным типом РЯ. Второй причиной может быть использование нами технологии высоко- производительного секвенирования, которая яв- ляется более чувствительным методом по срав- нению с другими технологиями анализа ДНК. С помощью NGS нами было выявлено 48 мутаций, среди которых 25 вариантов мы могли бы вы- явить анализируя наши образцы только методом ПЦР на частые мутации. Таким образом, 48%

найденных мутаций будут пропущены без использования секвенирования нового поколения.

Также данными авторами проведен анализ частоты гетерозиготного носительства мутации с.5266dupC в гене *BRCA1* в разных популяциях России. Показано, что она встречается в популяциях центрально-европейской части России и не характерна для жителей других регионов. Мутация с.5266dupC выявлена в этнических группах русских Белгородской области (0,4%), мордвы (0,5%), татар (0,5%). В популяциях коми, чувашей, марийцев, удмуртов и башкир (Волго-Уральский регион), якутов (Сибирь), чеченцев (Северный Кавказ) она не обнаружена [5].

Частота гетерозиготного носительства мутации с.5266dupC в гене *BRCA1* в восточноевропейских странах составляет 0,3–0,5% [6]. Считается, что данная мутация имеет единого предка, возникла в регионе Балтии около 1800 лет назад и впоследствии получила широкое распространение во многих популяциях мира [7].

Мутации с.5266dupC, с.181T>G и с.4034delA в гене *BRCA1* часто встречаются в Западном и Центральном регионах России [8]. Они также оказались самыми частыми патогенными изменениями у пациентов с РМЖ/РЯ в нашем исследовании, наряду с мутацией с.3700_3704del (rs80357609), выявленной у 2,9% женщин с РМЖ, которая также встречается в популяциях России и мира.

По данным авторов, которые провели анализ PUBMED, EMBASE, BIC и SIMBA в сочетании с поиском неопубликованных данных среди исследователей из Ближнего Востока, Северной Африки и Южной Европы, с целью определения спектра и частот мутаций в генах *BRCA1/2*, распространенными патогенными вариантами, обнаруженными в четырех или более странах, были с.5266dup (p.Gln1756Profs), с.181T>G (p.Cys61Gly), с.68_69del (p.Glu23Valfs), с.5030_5033del (p.Thr1677Ilefs), с.4327C>T (p.Arg1443Ter), с.5251C>T (p.Arg1751Ter), с.1016dup (p.Val340Glyfs), с.3700_3704del (p.Val1234Glnfs), с.4065_4068del (p.Asn1355Lysfs), с.1504_1508del (p.Leu502Alafs), с.843_846del (p.Ser982Dy). Ser267Lysfs) и с.3607C>T (p.Arg1203Ter) в гене *BRCA1* и с.2808_2811del (p.Ala938Profs), с.5722_5723del (p.Leu1908Argfs), с.9097dup (p.Leu1908Argfs), с.9097dup (p.Thr1333Ilnfs) и с.5946del (p.Ser1982Argfs) в гене *BRCA2* [9].

В нашем исследовании мутации с.4034delA и с.181T>G гена *BRCA1* встречаются у женщин с РЯ и не выявлены у женщин с РМЖ, как и в более ранних исследованиях больных РМЖ из РБ, ниже таковых, чем в Белоруссии — 11,9%, Латвии — 9,1%, Польше — 2% [10, 11]. Наши результаты согласуются с данными других ис-

следований, где показано, что в России эти мутации встречаются значительно реже, чем странах Европы и Северной Америки. У пациенток с РЯ, проходивших лечение в Москве, частота ее возрастает до 2,5%, в Санкт-Петербурге — до 2%. У женщин татарской этнической группы с наследственными формами РМЖ или РЯ данный патогенный вариант не обнаружен [12].

Заключение

Таким образом, результаты проведенных исследований вносят вклад в расширение знаний о спектре и частотах мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* этнически подразделенном регионе России. Обнаружены важные сведения о наличии редких и новых патогенных вариантов и об эффективности использованных таргетных NGS панелей для диагностики патогенных вариантов в исследованных генах.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии в статье конфликта интересов.

Финансирование

Исследование проведено при поддержке кампании ООО АстраЗенека Фармасьютикалз.

ЛИТЕРАТУРА

- Balmana J, Diez O, Rubio IT, Cardoso F. BRCA in breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines // Ann Oncol. 2011;22(Suppl. 6):vi31–vi34. doi:10.1093/annonc/mdr373
- Любченко Л.Н., Батенева Е.И., Абрамов И.С. и др. Наследственный рак молочной железы и яичников // Злокачественные опухоли. 2013;2:53–61. doi:1100.18027/2224-5057-2013-2-53-61
- Rouleau E, Lefol C, Moncoutier V et al. A missense variant within BRCA1 exon 23 causing exon skipping // Cancer Genet Cytogenet. 2010;202(2):144–146. doi:10.1016/j.cancergencyto.2010.07.122
- Konecny M, Kosova K, Tilandyova P et al. The results of multigene panel sequencing in Slovak HBOC families // Neoplasma. 2021;68(3):652–664. doi:10.4149/neo_2021_201204N1307
- Бермишева М.А., Богданова Н.В., Гилязова И.Р. и др. Этнические особенности формирования генетической предрасположенности к развитию рака молочной железы // Генетика. 2018;54(2):233–242. doi:10.7868/S0016675818020042
- Bogdanova NV, Antonenkova NN, Rogov YI et al. High frequency and allele-specific differences of BRCA1 founder mutations in breast cancer and ovarian cancer patients from Belarus // Clin. Genet. 2010;78:364–372. doi:10.1111/j.1399-0004.2010.01473.x
- Hamel N, Feng B-J, Foretova L et al. On the origin and diffusion of BRCA1 с.5266dupC in European populations // Eur. J. Hum. Genet. 2011;19:300–306. doi:10.1038/ejhg.2010.203

8. Sokolenko AP, Mitiushkina NV, Buslov KG et al. High frequency of BRCA1 5382insC mutation in Russian breast cancer patients // *Eur. J. Cancer*. 2006;42:1380–1384. doi:10.1016/j.ejca.2006.01.050
9. Laitman Y, Friebel TM, Yannoukakos D et al. The spectrum of BRCA1 and BRCA2 pathogenic sequence variants in Middle Eastern, North African, and South European countries // *Hum Mutat*. 2019;40(11):e1–e23. doi:10.1002/humu.23842
10. Menkiszak J, Gronwald J, Górski B et al. Hereditary ovarian cancer in Poland // *Int J Cancer*. 2003;106:942–945. doi:org/10.1002/ijc.11338
11. Plakhins G, Irmejs A, Gardovskis A et al. Genotype-phenotype correlations among BRCA1 4153delA and 5382insC mutation carriers from Latvia // *BMC Med Genet*. 2011;12:147–155. doi:10.17650/1994-4098-2014-0-2-8-11
12. Бровкина О.И., Гордиев М. Гены системы репарации: популяционные различия наследственных типов рака яичников и молочной железы, выявляемые методом секвенирования нового поколения // *Опухоли женской репродуктивной системы*. 2017;13(2):61–67. doi:10.17650/1994-4098-2017-13-2-61-67

Поступила в редакцию 22.11.2021 г.

I.R. Minniakhmetov^{1,2}, E.M. Kagirova^{1,2}, O.I. Mashkov²,
R.I. Khusainova^{1,2}

Search for pathogenic changes in *BRCA1/2* genes in patients with breast and ovarian cancer using mass parallel sequencing technology

¹ Republican Medical Genetic Centre, Ufa, Russia

² Bashkir State Medical University, Ufa, Russia

Purpose of the study. To study the spectrum and frequency of pathogenic changes in the *BRCA1/2* genes in women with breast and ovarian cancer living in the Republic of Bashkortostan.

Materials and methods. The material used were tumor tissue preparations of 70 women with triple negative breast cancer (TNBC) and 50 women with serous type of ovarian malignant neoplasms (OC), living in the Republic of Bashkortostan using the new generation sequencing technology (NGS).

Results. 27 pathogenic and probably pathogenic variants were identified in the *BRCA1/2* genes (15 in the *BRCA1* gene and 12 in the *BRCA2* gene) in 38.0% of women with OC and 40% of patients with TNBC. Mutations c.181T>G

(rs886040898) and c.5266dupC (rs80357906) in the *BRCA1* gene were found in women with both TNBC and OC, other pathogenic changes did not intersect. In the *BRCA1* gene, 7 pathogenic and 1 probably pathogenic variant were identified in women with TNBC, the most common mutation was c.5266dupC, which was found in 17.14% of women. The second most frequent mutation c.181T>G- was detected in 4.29% of women with TNBC, the third (c.3700_3704del) — in 2.86%. Mutations c.1918C>T, c.3779T>G, c.5453A>G, c.68_69delAG were found in isolated cases. The pathogenic variant c.5266dupC in the *BRCA1* gene was also the most frequent in patients with OC (10%). The c.4035delA mutation was found in two patients, the remaining 7 mutations were found in isolated cases. In the *BRCA2* gene, 5 pathogenic changes and 2 probable pathogenic variants were identified in patients with TNBC, as well as 4 pathogenic and 2 probable pathogenic variants in women with OC, each mutation was detected only in one woman and is a unique variant not found in other patients.

Conclusions. The results obtained demonstrate the high efficiency of NGS technology for molecular profiling of tumor tissue.

Key words: breast cancer, ovarian cancer, *BRCA1*, *BRCA2*, NGS