

С.А. Бехтерева<sup>1,2</sup>, Е.Н. Имянитов<sup>3,4</sup>, А.В. Важенин<sup>1,2</sup>, А.С. Доможирова<sup>1,2</sup>, С.В. Яйцев<sup>1,2</sup>

## Молекулярная диагностика билатерального рака молочной железы

<sup>1</sup>ГБУЗ «Челябинский областной клинический онкологический диспансер»,

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск

<sup>3</sup>ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург

<sup>4</sup>ГБОУ ВПО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» Минздрава России,  
Санкт-Петербург

**Проблема первичной множественности злокачественных опухолей остаётся актуальной в онкологии в связи с ростом числа больных полинеоплазиями, особенно молочной железы. Современные генетические исследования используют «генетически обогащённые» случаи рака, к которым относят, в том числе, и первично-множественные злокачественные опухоли молочной железы. Практически каждая опухоль обладает индивидуальным набором соматических мутаций, генетические механизмы возникновения рака молочной железы весьма разнообразны. Проведённое многоцентровое исследование демонстрирует роль рецессивных детерминант предрасположенности к билатеральному раку молочной железы без семейного анамнеза. Полученные данные могут быть использованы в клинической практике в целях вторичной профилактики рака молочной железы.**

**Ключевые слова:** первично-множественные злокачественные опухоли, билатеральный рак молочной железы, генетические исследования, рецессивные детерминанты, профилактика

В 2014 г. в РФ заболеваемость первично-множественными опухолями (ПМО) составила 24,8 на 100000 населения (выявлено 36174 больных ПМР), что составляет 6,4% от всех впервые выявленных больных злокачественными новообразованиями (ЗНО). В Челябинской области в 2014 г выявлено 1232 больных ПМО, что составило 8,3% от всех впервые выявленных больных ЗНО в Челябинской области, или 35,2 на 100000 населения [4]. Информация о первично-множественных опухолях в официальных формах не разбита по нозологическим группам и недостаточна для анализа, что делает эту проблему ПМР всё более актуальной. Нельзя не учитывать экономические затраты на лечение второй, третьей и последующих опухолей.

Рак молочной железы в настоящее время - самая распространённая злокачественная

опухоль у женщин. В структуре онкологической заболеваемости в России рак молочной железы (РМЖ) занимает 4-е место в общей структуре заболеваемости и 1-е место в структуре заболеваемости у женщин, и частота его неуклонно растёт [1, 2, 3, 5, 7, 8]. В Челябинской области в 2014 г. заболеваемость раком молочной железы составила 88,14 на 100000 женского населения [3]. На долю РМЖ среди всех ПМО приходится от 8% до 21,9% [2, 4, 6, 7, 14]. При этом поражёнными могут быть не только разные органы различных систем, но и парные, а также мультицентрически один орган [2, 7, 8, 9]. Метахронные опухоли выявляются чаще (69,6%), чем синхронные (22,7%) [2, 6, 7, 8]. По данным ОНЦ РАМН, первично-множественный мультицентричный рак молочной железы составил 5,7% [7].

Для оценки риска развития рака молочной железы у ближайших родственников больных ЗНО молочной железы используется выявление мутаций, что позволяет подтвердить генетический диагноз и идентифицировать носителей мутаций, сформировать группы риска [1, 4, 7, 8, 10 - 14].

Молекулярный патогенез рака молочной железы состоит во взаимодействии факторов риска, таких как наследственные факторы – зародышевые мутации BRCA1, BRCA2, p53, CHEK2, NBS1, ATM, мутации CDH1 (для лобулярных карцином), амплификация ERBB/Her2, imbalance репродуктивных и гормональных факторов: гормональная контрацепция, длительная ЗГТ, отсутствие детей или их малочисленность, поздний возраст первых родов, непродолжительное грудное вскармливание, раннее начало менструаций, поздняя менопауза, постменопаузальное ожирение, высокий рост, низкий уровень физической активности, повышенная эстрогенная нагрузка. Большую роль как фактор риска выполняет ионизирующая радиация (особенно у больных туберкулёзом) [9]. В ответ на воздействие факторов риска происходит повреждение специфических сигнальных каскадов – активация онкоге-

нов (повышенная экспрессия, амплификация), инактивация супрессорных генов (пониженная экспрессия, потери аллелей, т.д.). Именно ЗНО такой локализации, как рак молочной железы, присуща «хромосомная нестабильность». Практически каждая опухоль обладает индивидуальным набором соматических мутаций, генетические механизмы возникновения РМЖ весьма разнообразны. Современные генетические исследования используют «генетически обогащённые» случаи рака, к которым относят «семейный рак» или ПМО. Доля наследственного рака молочной железы, по данным литературы, составляет 5-10% [1, 7, 9, 15].

Скорее всего, ПМО не являются случайным совпадением, а их развитие представляет закономерный, генетически обусловленный процесс, подтверждённый клинически и экспериментально.

Эти данные подчёркивают необходимость комплексного подхода в диагностике ПМО с обязательным применением молекулярно-диагностических и иммуногистохимических методов исследования при диагностике первой опухоли.

В зарубежных клиниках разработана целая программа профилактических мероприятий (в том числе и проведение профилактических операций у практически здоровых носителей мутаций), что позволило значительно снизить заболеваемость ПМО [1].

**Цель исследования:** Провести многосторонний анализ ПМО МЖ в динамике с 1999 по 2008 гг. по данным ГБУЗ «Челябинский областной клинический онкологический диспансер». Провести анализ частоты билатерального рака молочной железы с изучением некоторых мутаций в данной группе больных на базе НИИ онкологии имени Н.Н. Петрова.

### Материалы и методы

Проведён ретроспективный анализ историй болезни и амбулаторных карт 2800 больных раком молочной железы, получивших лечение в Челябинском областном клиническом онкологическом диспансере на протяжении 10 лет (с 1999 по 2008 г.). Методом сплошной выборки ПМО с локализацией одной из опухолей в молочной железе выявлены у 294 больных, что составило 10,5%. При этом билатеральный рак составил 60% случаев (176 больных). При анализе полинеоплазий использовалась классификация Д.М. Абдурасулова и К.Е. Никишина по последовательности возникновения первично-множественных опухолей: метахронные, синхронные, синхронно-метахронные, метахронно-синхронные, метахронно-метахронные. За интервал метахронности принят один год [2]. Диагноз первично-множественного рака подтверждён гистологически в 100% наблюдений. 57 случаев из группы билатерального РМЖ вошли в многоцентровое рандомизированное исследование по идентификации редких аллелей.

### Результаты и обсуждение

Многосторонний анализ больных первично-множественным раком молочной железы (ПМР МЖ), лечившихся в ЧОКОД на протяжении 10 лет (1999-2008 гг.), показал, что преобладали метахронные опухоли — 169 случаев (57,2%), синхронные составили 115 случаев (39,1 %), метахронно-синхронные — 7 (2,4%), синхронно-метахронные 1 (0,4%), метахронно-метахронные — 2 (0,8%). У 14 больных выявлено по три опухоли, у 3 больных по четыре.

Средний интервал возникновения второй опухоли при метахронном развитии  $8,74 \pm 0,55$  года, третьей —  $6,9 \pm 1,47$  года.

Рак молочной железы чаще всего сочетался с раком другой молочной железы — в 176 случаях (60 %). У всех больных диагноз подтверждён гистологически. Для сравнения, за период с 1972 по 1993 г. билатеральный РМЖ составил 31,8% (93 больных). Чаще поражалась правая молочная железа (102 — 57,9%), при метахронном развитии — 114 (64,7%). Синхронное поражение наблюдалось в 62 случаях (35,2%). У 13 больных (7,4%) развилось по три опухоли, у 2 — по четыре (в 1 случае двусторонний рак молочной железы сочетался с злокачественной опухолью кожи при метахронно-синхронном развитии, в другом — с лимфогранулематозом и раком почки при метахронно-метахронном развитии). Преобладала вторая стадия как при синхронном, метахронном так и метахронно-синхронном развитии опухоли.

Возраст больных ПМР МЖ составил от 24 до 93 лет при среднем возрасте для синхронных опухолей  $47 \pm 0,5$  лет, для метахронных — для первой опухоли —  $46 \pm 1,00$  лет, для второй —  $52,1 \pm 0,55$  года.

Среди всех сочетаний рака молочной железы, как при двусторонней локализации, так и при сочетании с другими локализациями преобладал инфильтративный протоковый рак — в 208 (70,5%) из 294 случаев всех наблюдений, как при синхронном, так и метахронном развитии опухоли. Из редких гистологических форм встретились: медуллярный рак (3), слизистый рак (3), рак Педжета (2), веретенчатая саркома (1), злокачественная листовидная фиброаденома (1 случай).

Анализ некоторых факторов риска рака молочной железы в группе больных с ПМР МЖ показал, что для больных ПМР МЖ более характерно наступление менопаузы до 55 лет (64,8% - 162 случая), причём, для метахронных опухолей средний возраст наступления менопаузы составил 47,8 года. Возраст наступления менопаузы нами оценен у 85% (250 случаев) больных исследуемой группы. Интересен тот факт, что такие факторы риска как бесплодие, малое число

родов, большое число абортот также оказались незначимыми в исследуемой группе больных ПМР МЖ.

Число беременностей составило от 0 до 20 при среднем значении 6 беременностей. У 294 больных ПМР МЖ наступило 466 беременностей, родов 186, абортот 266, выкидышей 14. Бесплодие - 9 случаев (3%), 1 беременность - 11 случаев (3%).

Оценить наследственный анамнез нам удалось лишь у 27 пациентов (16%).

Наследование чаще шло по материнской линии: от матери к дочери в 9 случаях (32%), от тётти в 5 (17,9%), от бабушки к внучке в 4 случаях (14,2%). Наследование по отцовской линии имело место быть лишь в 2 случаях (7%) (от отца и от деда).

Из 176 больных билатеральным раком молочной железы 57 (32%) больных вошли в многоцентровое молекулярно-диагностическое исследование по идентификации редких рецессивных аллелей с повышенным риском развития рака молочной железы. Всего в исследование было включено 360 больных билатеральным раком молочной железы (273 случая из НИИ онкологии им. Петрова, 30 случаев из НИИ онкологии г. Томска). Исследовалось 3 группы больных:

360 больных двусторонним раком молочной железы, 1851 больная с односторонним РМЖ, 1305 здоровых женщин.

В эксперименте были выявлены биаллельные мутации aa и их связь с отягощённым семейным анамнезом у матери. Эти данные представлены на рис. 1.

Была определена частота с.2515\_2519 delAAGTT гомозиготной мутации в Holliday junction resolvase, Gen 1 в различных группах. Эти данные представлены в табл. 1.

Делеция Gen 1 с.2515\_2519delAAGTT была выявлена посредством гелеэлектрофореза с использованием затравок TGGGAAAGCTAAGTACACAA и CATAAGATCTGACACACTG.

Частота мутации Gen 1 с.2515\_2519delAAGTT у больных билатеральным РМЖ составила 3,1% против 1,4% в группе здоровых женщин. Данные отягощённого семейного анамнеза по РМЖ у матери имели место у 280 из 360 женщин.

Связь мутации Gen 1 с.2515\_2519delAAGTT с наличием РМЖ у матери представлена в табл. 2. Все больные с биаллельной мутацией Gen 1 с.2515\_2519delAAGTT не имели вертикальной передачи предрасположенности к болезни.

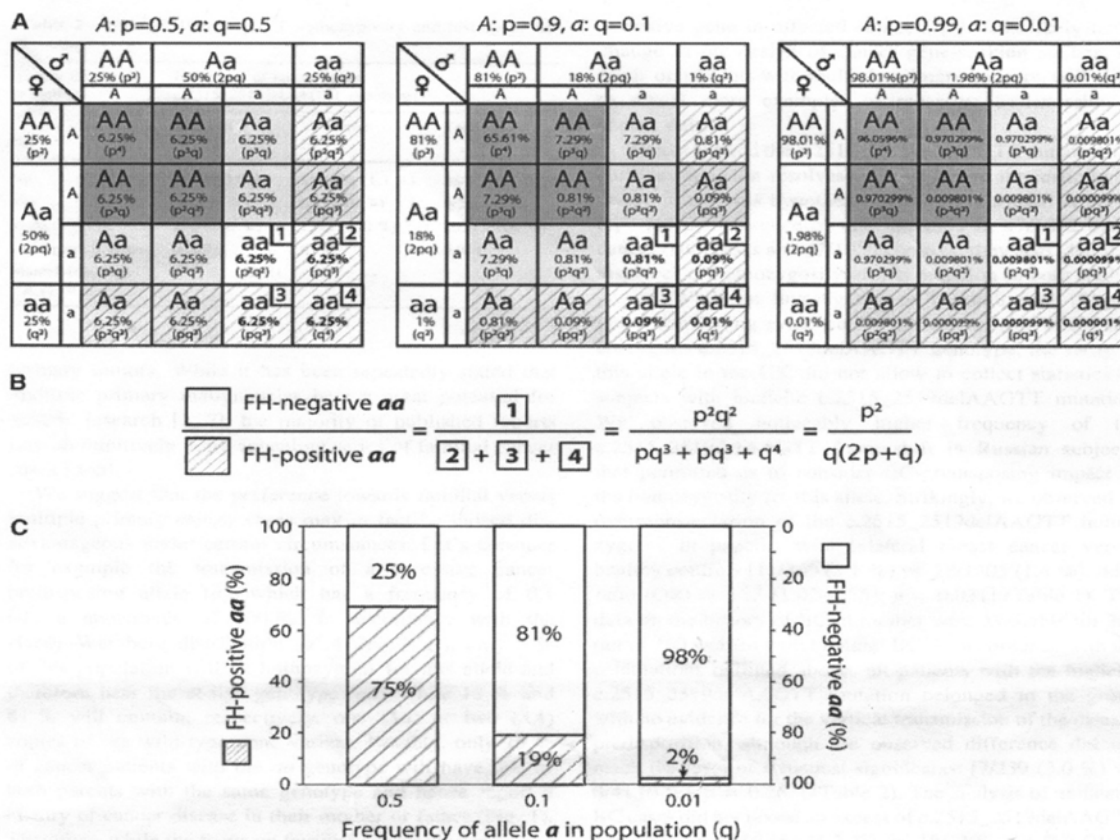


Рис. 1. Связь частоты биаллельных мутаций aa с отягощённым семейным анамнезом у матери

**Таблица 1. Частота гомозиготных генотипов с.2515\_2519del AAGTT при двустороннем раке молочной железы, одностороннем раке молочной железы и в контрольных группах**

Статус GEN 1	Двусторонний рак груди	Односторонний рак груди	Контрольные группы
Гомозиготы с.2515_2519del AAGTT	11 (3.1%)	23 (1.2%)	18 (1.4%)
Другие генотипы	349 (96.9%)	1,828 (98.8%)	1,287 (98.6%)
Гомозиготы дикого типа	277 (76.9%)	1,513 (81.7%)	1,078 (92.6%)
Гетерозиготы	72 (20.0%)	315 (17.0%)	209 (16.0%)
Итого	360 (100%)	1,851 (100%)	1,305 (100%)

**Таблица 2. Гомозиготность с.2515\_2519del AAGTT и история рака молочной железы у матери**

История рака у матери	Частота гомозиготных генотипов с.2515_2519del AAGTT		
	Двусторонний рак груди	Односторонний рак груди	Итого
Нет	7/239 (3.0%)	21/1558 (1.3%)	28/1797 (1.5%)
Имеется	0/41 (0%)	0/215 (0%)	0/256 (0%)
Итого	280 (100%)	1773 (100%)	2053 (100%)
Значение $p$ $\chi^2$ -квдрата	0,267	0,087	0,044
Значение $p$ Mantel-Haenzel	0,041		

Проведённое многоцентровое исследование демонстрирует роль рецессивных детерминант предрасположенности к билатеральному раку молочной железы без семейного анамнеза, в то время как внимание обычно сосредоточено на кластер-эффекте «семейного рака» для идентификации доминантных предрасполагающих мутаций путём анализа сцепления обширных родословных. Полученные данные могут быть использованы в клинической практике, в целях вторичной профилактики рака молочной железы.

#### Выводы:

1. Частота ПМО МЖ по данным популяционного ракового регистра Челябинской области составляет 10,3%, что выше, чем при других локализациях рака женской репродуктивной системы (5,4% для гинекологического рака).
2. Наиболее часто встречается билатеральный рак молочной железы (60% - 176 случаев), что позволило рассматривать эту группу для участия в многоцентровом молекулярно-генетическом исследовании.
3. Изменение структуры исследования генов, сосредоточение внимания на ПМО как «генетически обогащённых» случаях рака позволит выявить больше примеров рецессивных генов.
4. Проведенный генетический эксперимент показал:

- чем меньше частота биаллельных гомозиготных мутаций *aa*, тем меньше вероятность отягощённого семейного анамнеза по РМЖ у матери;
- частота с.2515\_2519delAAGTT гомозиготной мутации в Holliday junction resolvase, Gen 1 у больных двусторонним РМЖ составила 3,1% (для сравнения частота BRCA1 и BRCA2 составляет 5%);
- все больные с биаллельной мутацией с.2515\_2519delAAGTT не имели вертикальной передачи предрасположенности к болезни.

Однако, полученные данные не являются достаточными для того, чтобы утверждать окончательную роль с.2515\_2519delAAGTT гомозиготной мутации в Holliday junction resolvase, Gen 1 в патогенезе РМЖ, так как рассматриваемые группы малочисленны, а собрать большие группы среди генетически однородного населения достаточно трудно.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Акуленко Л.В. О наследственном раке органов репродуктивной системы: клинические лекции. – Москва. – 2012. – 134 с.
2. Важенин А.В., Бехтерева Е.И., Бехтерева С.А., Гюлов Х.Я. Очерки первичной множественности злокачественных опухолей. – Челябинск, 2000. – 215 с.
3. Важенин А.В., Тюков Ю.А., Пшиченко С.В. Заболеваемость и смертность от злокачественных новообразований, организация онкологической помощи населению Челябинской области в 2014 году.

4. Казубская Т.П. Клинико-генетический анализ первично-множественных злокачественных новообразований // Высокие технологии в онкологии: материалы VI Всероссийского съезда онкологов. Том 2. – Москва, 2005. – С. 327-328.
5. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2014 г.- Москва. – 2015 г. – 236 с.
6. Летагин В.П., Лактионов К.П., Высоцкая И.В., Котов В.А. Рак молочной железы. – Москва, 1996.
7. Паяниди Ю.Г., Сельчук В.Ю. и др. Первично-множественные злокачественные новообразования половых органов у женщин: пути профилактики // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2010. – № 1. – С. 51-54.
8. Сорокин В.М. Риск возникновения множественных злокачественных опухолей у больных раком молочной железы // Онкология. – 2000. – Т. 2. – № 3. – С. 157-161.
9. Чиссов В.И., Трахтенберг А.Х. Первично-множественные злокачественные опухоли: руководство для врачей. – Москва: Медицина, 2000 – 336 с.
10. Bilateral breast cancer: (Pap). 6 Congr.Eur.Soc.Surg. Oncol/ Helsinki, June 10-13, 1992/Veloso V, Maria N, Gomes D. et al// Eur.J.Surg.Oncol./1992; 11(Suppl.) : 27.
11. CHEK2 Breast Cancer Case-Control Consortium. CHEK2\*1100delC and susceptibility to breast cancer: a collaborative analysis involving 10860 breast cancer cases and 9065 controls from 10 studies // Amer. J. Hum. Genet. – 2004. – Vol. 74. – P. 1175-1182.
12. Grudinina N.A., Golubkov V.I., Tikhomirova O.S. et al. Prevalence of widespread BRCA1 gene mutations in patients with familial breast cancer from St. Petersburg// Russ. J. Genet. – 2005. – Vol. 41. – P. 318-322.
13. Papp J., Raicevic L., Milasin J. Et. Al. Germline mutation analysis of BRCA 1 and BRCA2 genes in Yugoslav breast/ovarian cancer families // Oncol.Rep. – 1999. - № 6. – P. 1435-1438.
14. Tereschenko I.V., Basham V.M., Ponder B.A., Pharoah P.D. BRCA1 and BRCA2 mutations in Russian familial breast cancer // Hum. Mutat. – 2002. – Vol. 19. – P. 184.
15. Zarate M.E. Carcinome primitive bilateral de mama // Rev.cubana med. – 1980. – Vol. 19. – № 2. – P. 121-129.

*S.A. Bekhtereva<sup>1,2</sup>, E.N. Imyanitov<sup>3,4</sup>, A.V. Vazhenin<sup>1,2</sup>,  
A.S. Domozhirova<sup>1,2</sup>, S.V. Yaitsev<sup>1,2</sup>*

### **Molecular diagnostics of bilateral breast cancer**

<sup>1</sup>Chelyabinsk Regional Clinical  
Oncology Center, Chelyabinsk

<sup>2</sup>South Ural State Medical University, Chelyabinsk

<sup>3</sup>N.N. Petrov Research Institute of Oncology,  
St. Petersburg

<sup>4</sup>I.I. Mechnikov North-West State Medical University  
St.-Petersburg

The problem of primary multiplicity of malignant tumors remains actual in oncology due to growing number of patients with polyneoplasia especially of the breast. Modern genetic studies use “genetically enriched” cases of cancer, which include in particular primary-multiple malignant tumors of the breast. Practically every tumor has an individual set of somatic mutations and genetic mechanisms of breast cancer appearance are very different. The multicentre study shows the role of recessive determinants of the predisposition to bilateral breast cancer without a family history. The obtained data could be used in clinical practice as a secondary prevention of breast cancer.

Key words: primary-multiple malignant tumors, bilateral breast cancer, genetic studies, recessive, prevention

Поступила в редакцию 22.11.2016 г.