

УО «Гродненский государственный медицинский университет»
УЗ «Гродненская университетская клиника»
Международный центр наследственных опухолей, кафедра
генетики и патологии, Померанский медицинский университет,
Щецин, Польша



Герминальные мутации в генах BRCA1 и BRCA2 у женщин с клиническими признаками наследственного рака молочной железы

Василькевич М.И.

Савоневич Е.Л., Абдрашитов В.В., Степура Т.Л.,
Ашурик О., Гронвальд Я.

Гродно, 2021

Введение

Наследственные мутации являются причиной развития рака молочной железы (РМЖ) в **10-15%** случаев

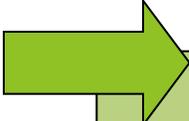
Наследственные формы РМЖ :

- ✓ ранний возраст развития заболевания, в среднем на 15 лет раньше, чем в общей популяции
- ✓ высокая частота билатерального и первично-множественного поражения
- ✓ Менделевские законы наследования как по женской, так и по мужской линиям

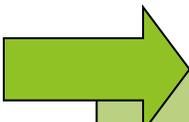
Требуют индивидуального диагностического и лечебного подхода

Введение

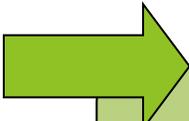
Особое внимание следует уделять обследованию женщин в следующих случаях:



отягощенный семейный анамнез (наличие двух и более родственниц с раком органов репродуктивной системы)



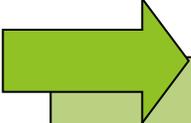
вертикальный вариант передачи заболевания в семье (мать - дочь)



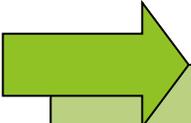
наличие в семье больных с первично-множественными опухолями, включая поражение парных органов (билатеральный рак молочных желез)

Введение

Особое внимание следует уделять обследованию женщин в следующих случаях:



наличие в семье лиц, заболевших в молодом возрасте - до 40 лет



наличие в семье больных с необычно благоприятным течением заболевания, даже при запущенных стадиях



наличие в семье признаков наследственных синдромов Гарднера, Пейтца-Егерса, невоид-базально-клеточной карциномы, Штейна-Левенталья, Тернера, нейрофиброматоза.

Введение

Обследование при подозрении на наследственный раковый синдром:

1. Сбор онкологического анамнеза у кровных родственников и составление родословной

При составлении родословных принимаются во внимание:

- локализация опухолей
- возраст возникновения заболевания
- наличие первично-множественных форм опухолей



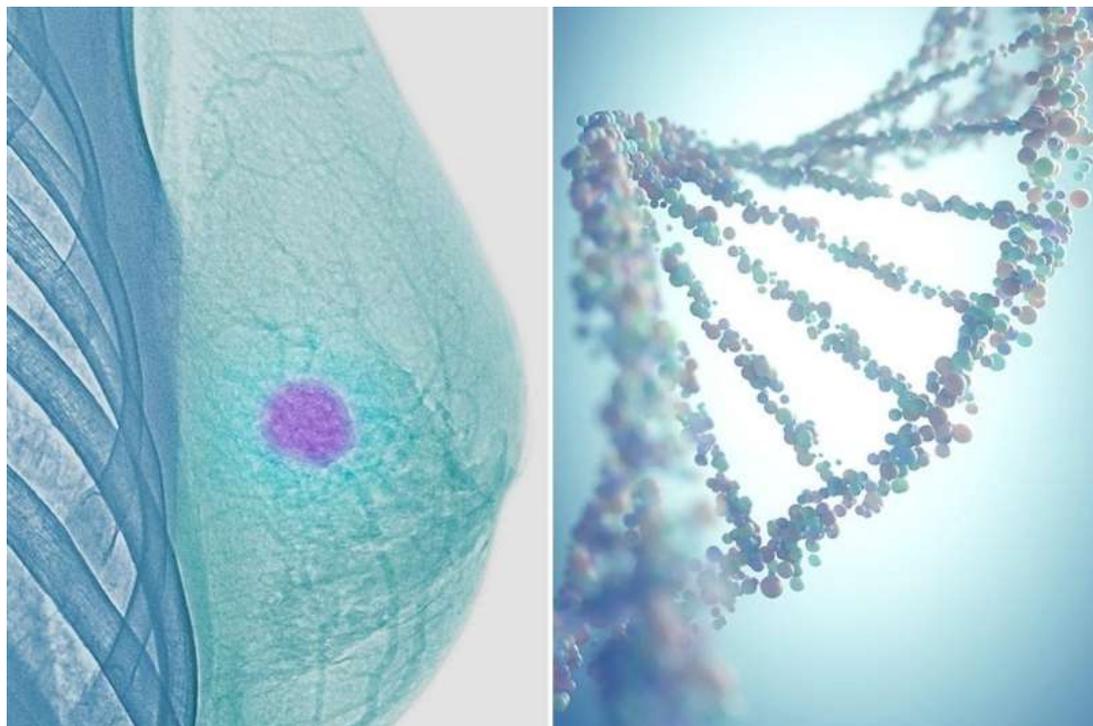
2. Лабораторная диагностика - исследование ДНК

ДНК-диагностика мутаций обеспечивает:

- подтверждение генетической предрасположенности к онкозаболеваниям
- оценку риска развития патологии у прямых родственников
- позволяет определить тактику ведения, возможность профилактики и ранней диагностики

Введение

В настоящее время к числу генов, ассоциированных с развитием РМЖ, относят:



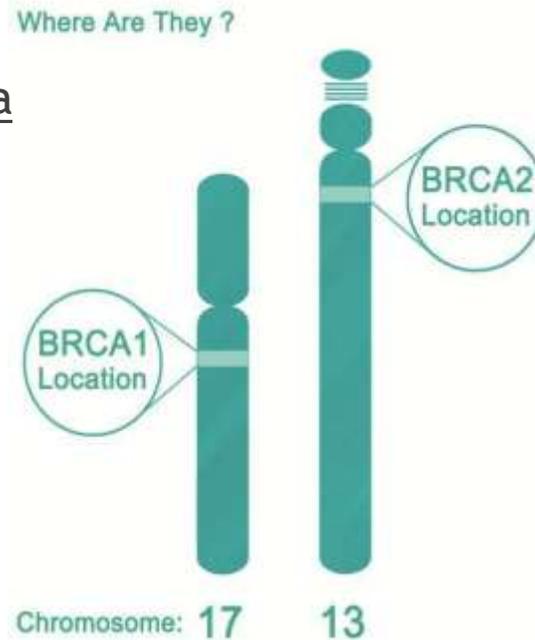
- **BRCA1**
- **BRCA2**
- **CHEK2**
- **p53**
- **ATM**
- **NBS1**

Введение

Согласно современным представлениям, гены BRCA1 и BRCA2 проявляют себя как классические опухолевые супрессоры. Функция этих генов вовлечена в репарацию двуниевых разрывов ДНК путем гомологичной рекомбинации, необходимой для поддержания стабильности генома

► С поломкой в гене BRCA1 связывают развитие синдрома наследственного рака молочной железы и яичников (HBOC - hereditary breast ovarian cancer)

► У женщин с наследственной мутацией гена BRCA1 риск развития РМЖ в течение жизни ассоциирован с возрастом и достигает 55-70% к возрасту 70 лет



► Потеря функции гена BRCA2 связана с синдромом наследственного рака молочной железы (HBC - hereditary breast cancer)

► Риск развития РМЖ для носителей мутации в гене BRCA2 составляет 45-70%. При этом риск развития РМЖ в общей популяции не превышает 12%

► Пик заболеваемости раком молочной железы у носителей мутации в гене BRCA1 приходится на возраст от 30 до 40 лет

Введение

- ▶ При наличии у носительницы мутации отягощенного семейного анамнеза **риски развития опухоли** в молочной железе возрастают: для носителей мутаций в гене **BRCA1 до 87%**, при мутации **BRCA2 - до 84%**
- ▶ Риск развития контрлатерального РМЖ у носителей мутации коррелирует с молодым возрастом выявления первой опухоли, локализацией мутации в гене, приемом тамоксифена, проведением двухсторонней аднексэктомии

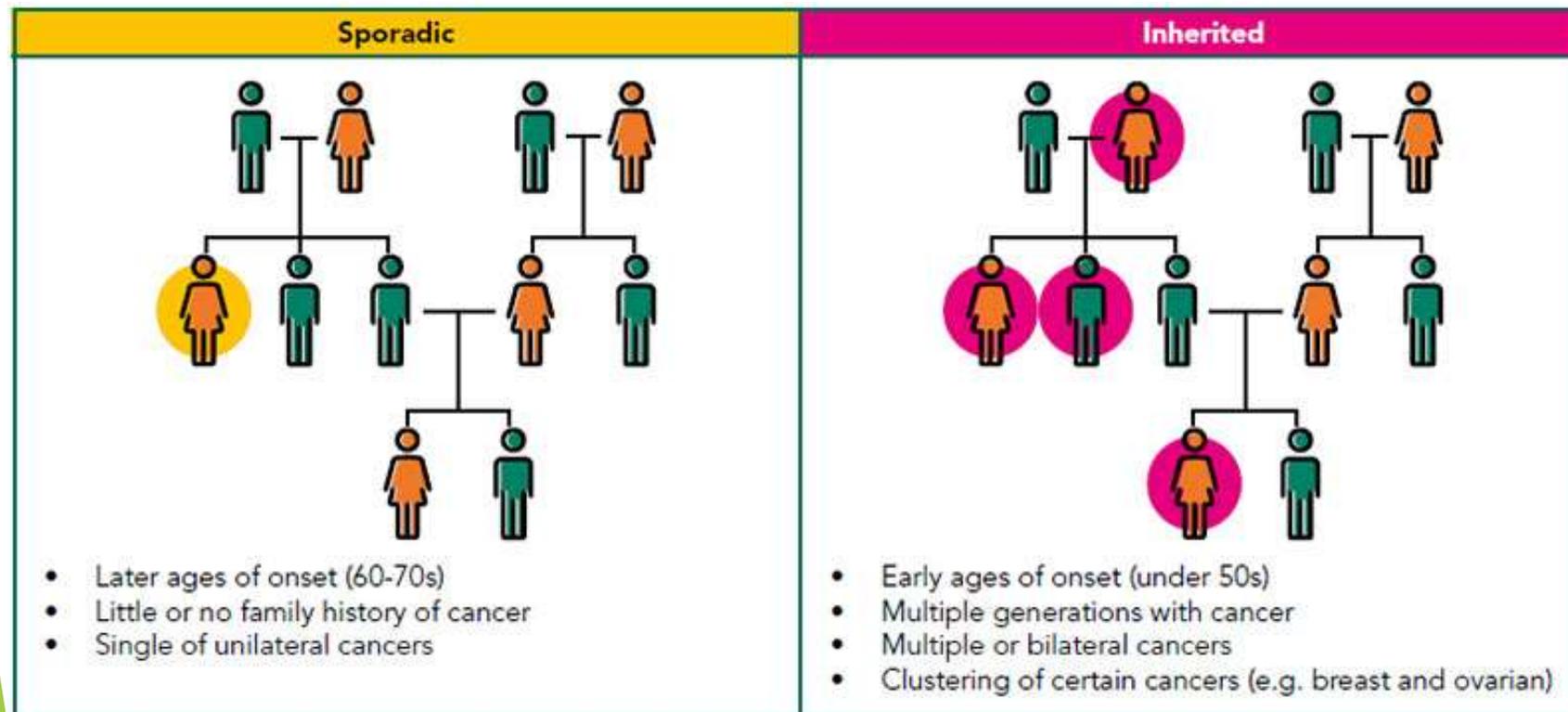


Figure 2 Red-Flags for Hereditary Cancers

Цель исследования

Оценка роли и особенностей герминальных мутаций BRCA1 и BRCA2 в развитии РМЖ у женщин в Гродненской области



Для увеличения вероятности обнаружения генетических поломок, ассоциированных с развитием РМЖ, мы сконцентрировали наше внимание на пациентках с ранним, билатеральным и первично-множественным раком

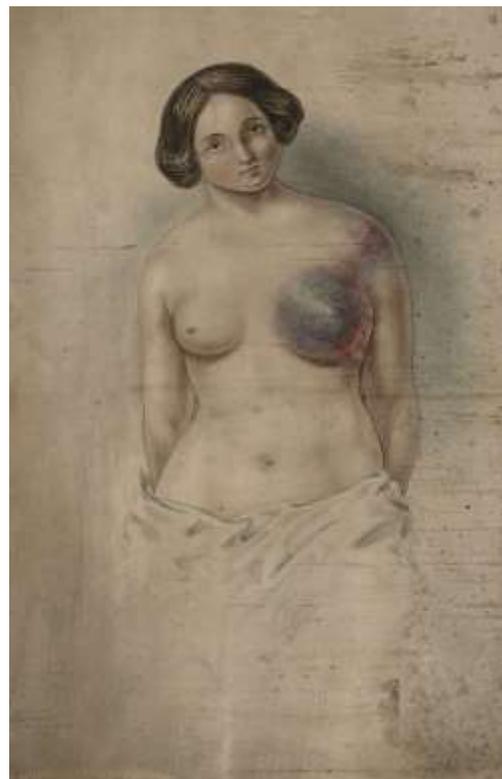
Материалы и методы

В исследование включены пациентки Гродненской университетской клиники:

- 22 - с ранним РМЖ
- 8 - с билатеральным РМЖ
- 41 - с первично-множественным РМЖ

Средний возраст пациенток $45,4 \pm 9,2$ лет

Включение пациенток в исследуемую группу было проведено с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности с оформлением информированного согласия на участие в исследовании



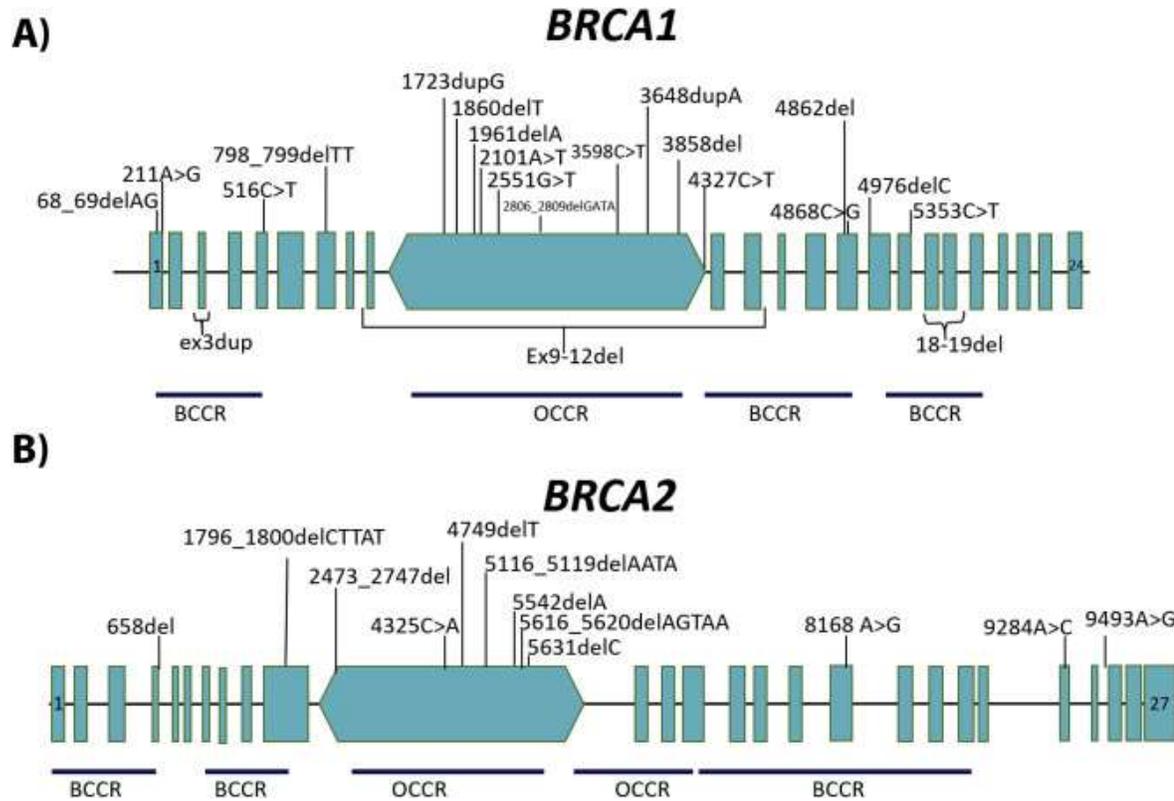
Материалы и методы

Характеристика пациенток	Монолатеральный рак, до 50 лет	Билатеральный рак	Первично-множественный рак с поражением МЖ
Количество пациенток	22	8	41 (4 синхр. и 37 метахр.)
Возраст установления диагноза РМЖ	41,2±7,4 года (от 28 до 50 лет)	Первая опухоль МЖ - 42,4±9,4 лет (от 31 до 59 лет) Контрлатеральный РМЖ - 48,3±11,1 (от 40 до 68 лет) Временной интервал между опухолями 8,2±5,3 лет (от 1 до 17 лет)	Диагноз РМЖ - 48,4±9 лет (от 32 до 73 лет) ➤ у 3 женщин РМЖ был второй опухолью ➤ у 9 женщин (22%) было билатеральное поражение молочных желез
Семейный онкоанамнез	Каждая вторая пациентка 50% имела отягощенный семейный анамнез по РМЖ и/или РЯ в 1-2й линии родства	Косвенные признаки семейного рака имели 3 пациентки 37,5%	23 женщины 56% с полинеоплазией имели отягощенный семейный онкоанамнез по РМЖ и/или РЯ в 1-2й линии родства

Материалы и методы

Все образцы ДНК были выделены из лейкоцитов периферической крови. Выполнен анализ 13 значимых мутаций в генах BRCA1 и BRCA2

- BRCA1 (с.5266dupC, с.4035delA, с.5251C>T, с.181T > G, с.676delT, с.68_69delAG, с.3700_3704delGTAAA, с.1687C > T, с.3756_3759delGTCT)
- BRCA2 (с.658_659delGT, с.7910_7914delCCTTT, с.3847_3848delGT, с.5946delT).



Материалы и методы

- ▶ Определения мутаций с.5266dupC и с.4035delA в гене BRCA1 проводилив НИЧ ГрГМУ методом аллель-специфичной олигонуклеотидной полимеразной цепной реакции
- ▶ Мутации BRCA1 (с.5251C>T, с.181 T>G, с.676delT, с.68_69delAG, с.3700_3704delGTAAA, с.1687C>T, с.3756_3759delGTCT) и BRCA2 (с.658_659delGT, с.7910_7914delCCTTT, с.3847_3848delGT, с.5946delT) были генотипированы с использованием наборов TaqMan (Applied Biosystems/Life Technologies, Carlsbad, CA) на Roche LightCycler 480 в лаборатории Международного центра изучения наследственных опухолей Поморского медицинского университета (РП). Для валидации полученных результатов проводили прямое секвенирование ДНК по Сангеру. Использовали наборы BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Life Technologies), согласно протокола производителя. Результаты секвенирования анализировали на генетическом анализаторе ABI Prism 3100 (Life Technologies)



Результаты

- У 32 из 71 пациенток (45%) обнаружена одна из значимых патогенных мутаций в гене BRCA1 или BRCA2

BRCA1

5382insC - 19 (27%)

4153delA - 8 (11%)

886delGT - 2 (3%)

единичные случаи других ген. дефектов - 3 (4%)

- Средний возраст в группе носителей мутации составил $43,4 \pm 9,3$ лет (от 30 до 73 лет)

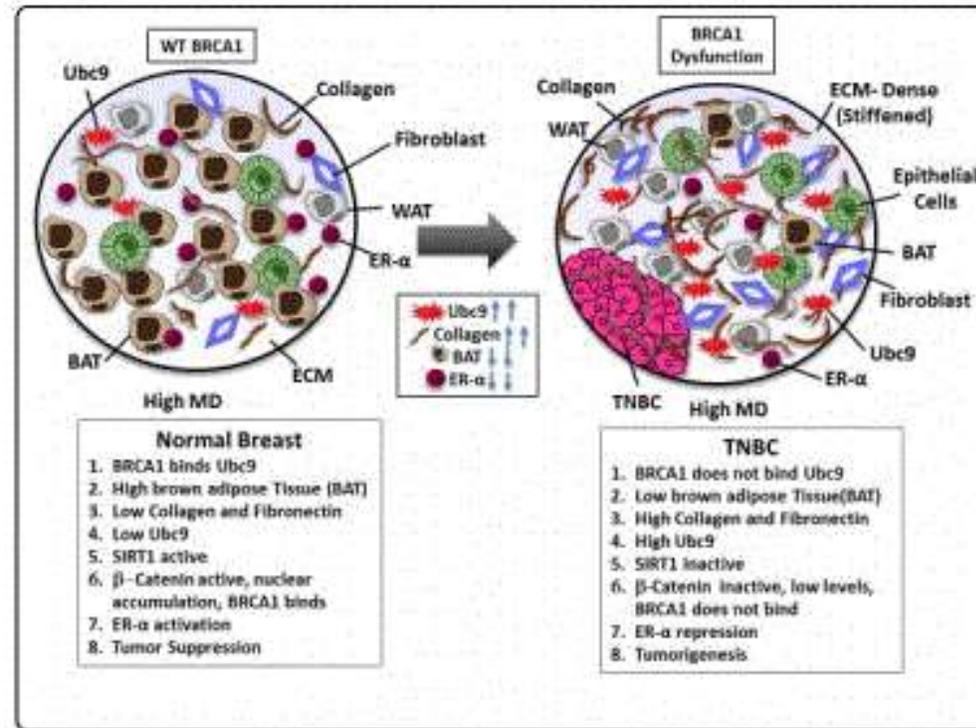


Figure 2. Working hypothesis showing how BRCA1 mutation/dysfunction in patients with dense breasts can promote TNBC development.

Результаты

▶ ЖЕНЩИНЫ с РМЖ и BRCA1/2wt (мутация не выявлена)

Средний возраст заболевания РМЖ - $47,2 \pm 8,8$ лет (от 28 до 68 лет)

▶ РАННИЙ РМЖ

У 7 из 22 молодых женщин с молатеральным РМЖ (32%) была выявлена герминальная мутация **BRCA1 5382insC**

▶ БИЛАТЕРАЛЬНЫЙ РМЖ

Наследственные мутации присутствовали у 3 из 8 женщин (**38%**) с билатеральным РМЖ

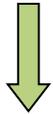
▶ ПОЛИНЕОПЛАЗИИ

У 22 из 41 пациентки с первично-множественным раком (54%) мутации **5382insC** и **4153delA** в гене BRCA1 встречаются примерно с одинаковой частотой - соответственно в **24%** и **20%** случаев

!!! У одной женщины с раком пищевода в 65 лет, раком молочной железы в возрасте 73 лет и колоректальным раком в 84 года установлено наличие мутации BRCA2 **886delGT**

Результаты

50 пациенток с отягощенным семейным анамнезом по РМЖ рмж и/или раку яичников в 1-2-й линии родства и клиническими признаками наследственного рака мутации в генах BRCA1 и BRCA2



Мутации гена BRCA1 встречались достоверно чаще при наличии трех и более признаков генетической предрасположенности к раку молочной железы



Исследуемые мутации в генах BRCA были обнаружены только только у 24 (48%)



Значительной части пациентов необходимо проведение углубленного генетического обследования, включающего определение полной нуклеотидной последовательности ряда генов, ассоциированных с развитием рака молочной железы, в том числе BRCA1 и BRCA2.

Выводы

- ▶ Наиболее востребованным в клинической практике на сегодняшний день является диагностика значимых мутаций в генах BRCA1 и BRCA2
- ▶ Необходимо продолжать изучение типичных для нашего населения мутаций в генах, ассоциированных с развитием РМЖ, особенно в группе молодых пациенток, так как настоящим исследованием генетическая предрасположенность подтверждена только у каждой третьей пациентки в возрасте до 50 лет
- ▶ Организация определения нескольких «основных» мутаций всем пациенткам с РМЖ является реальной задачей для лечебных учреждений областного уровня. Таким образом значительное количество наследственных РМЖ в нашем регионе может быть выявлено с помощью небольшого числа ПЦР тестов
- ▶ Применение данного диагностического подхода и профилактической риск-редуцирующей хирургии может способствовать в будущем снижению заболеваемости и смертности от рака молочной железы в Беларуси

**Благодарим за
внимание!**