

МРНТИ 34.15.23

<https://doi.org/10.26577/EJE.2022.v73.i4.06>

Г.С. Жунусова^{1*}, Н.А. Омарбаева², С.Е. Абдикерим¹, К. Ергали¹,
А.С. Жунусова¹, Н.В. Мить¹, Д.Р. Кайдарова², Л.Б. Джансугурова¹

¹РГП «Институт генетики и физиологии КН МНВО РК», Казахстан, г. Алматы

²АО «Казахский научно-исследовательский институт онкологии и радиологии», Казахстан г. Алматы

*e-mail: gulnur_j@mail.ru

КОРРЕЛЯЦИЯ ГЕНОТИПА И ФЕНОТИПА ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У МОЛОДЫХ ЖЕНЩИН-КАЗАШЕК

Рак молочной железы занимает лидирующие позиции по заболеваемости и смертности от рака среди женщин как в мире, так и в Казахстане. В настоящее время для более точной диагностики и успешной терапии заболевания широко используются современные методы генотипирования. В данной работе проведен анализ вклада генетических вариантов гена BRCA2 в патогенез и клиническую гетерогенность рака молочной железы в популяции молодых этнических казашек до 40 лет. Всего было обследовано 200 пациенток. С использованием секвенирования нового поколения (NGS) и последующего биоинформационного анализа обнаружены редкие патогенные варианты у пациенток с РМЖ. Все патогенные варианты встретились в гетерозиготном состоянии. Всего выявлено 12 патогенных вариантов в гене BRCA2 у 22 пациенток, среди которых были нонсенс-мутации, инсерции, делеция, приводящая к сдвигу рамки считывания, делеции внутри рамки считывания. Анализ ассоциации между мутационным статусом и клиническими особенностями заболевания показал, что существует связь между проявлением ряда клинико-морфологических признаков и наличием патогенных мутаций в гене BRCA2 у пациенток. Дальнейшие исследования в области генетики РМЖ будут способствовать получению более точной картины взаимодействия генотипа и фенотипа при данном заболевании.

Ключевые слова: рак молочной железы, секвенирование нового поколения, патогенные мутации, BRCA2.

G.S. Zhunussova^{1*}, N.A. Omarbayeva², S.E. Abdikerim¹, K. Yergali¹, A.S. Zhunussova¹,
N.V. Mit¹, D.R. Kaidarova², L.B. Djansugurova¹

¹RSE "Institute of Genetics and Physiology of the CS MNVO RK", Kazakhstan, Almaty

²JSC "Kazakh Research Institute of Oncology and Radiology", Kazakhstan, Almaty

*e-mail: gulnur_j@mail.ru

Genotype and phenotype correlation of breast cancer in young kazakh women

Breast cancer occupies a leading position in incidence and mortality from cancer among women worldwide and in Kazakhstan. Currently, modern genotyping methods are widely used for more accurate diagnosis and successful treatment of the disease. In this study, we analyzed the contribution of genetic variants of the BRCA2 gene to the pathogenesis and clinical heterogeneity of breast cancer among young ethnic Kazakh women under 40 years of age. 200 patients were examined. Using next-generation sequencing (NGS) and subsequent bioinformatic analysis, rare pathogenic variants were found in patients with breast cancer. All pathogenic variants met in the heterozygous state. 12 pathogenic variants in the BRCA2 gene were identified in 22 patients, among which were nonsense, frameshift indels, and inframe deletions. An analysis of the association between the mutational status and the disease's clinical features showed a relationship between the manifestation of a number of clinical and morphological features and the presence of pathogenic mutations in the BRCA2 gene in patients. Further research in the field of breast cancer genetics will contribute to obtaining a more accurate picture of the interaction of genotype and phenotype in this disease.

Key words: breast cancer, next-generation sequencing, pathogenic mutations, BRCA2.

Г.С. Жүнісова^{1*}, Н.А. Омарбаева², С.Е. Әбдікерім¹, К. Ергали¹,
А.С. Жүнісова¹, Н.В. Мить¹, Д.Р. Қайдарова², Л.Б. Жансүгірова¹

¹ШЖҚ «Генетика және физиология институты ҚРБҒМ ҒК», Қазақстан, Алматы қ.

²«Қазақ онкология және радиология ғылыми-зерттеу институты» АҚ, Қазақстан, Алматы қ.

*e-mail: gulnur_j@mail.ru

Жас қазақ әйелдеріндегі сүт безі қатерлі ісігінің генотип пен фенотип корреляциясы

Сүт безінің қатерлі ісігі әлемде де, Қазақстанда да әйелдер арасында қатерлі ісікке шалдығу мен өлім-жітім бойынша жетекші орынға ие. Қазіргі уақытта ауруды дәлірек диагностикалау және сәтті емдеу үшін осы заманғы генотиптеу әдістері кенінен қолданылады. Бұл жұмыста BRCA2 генінің генетикалық нұсқаларының 40 жасқа дейінгі жас этникалық қазақтар популяциясындағы сүт безі қатерлі ісігінің патогенезі мен клиникалық гетерогенділігіне қосқан үлесіне талдау жүргізілді. Барлығы 200 науқас тексерілді. Жаңа буынғы секвенирлеу (NGS) және кейінгі биоинформатикалық талдауды пайдалана отырып, СБІ шалдыққан науқастарда сирек кездесетін патогендік нұсқалар табылды. Барлық патогендік нұсқалар гетерозиготалы күйде кездесті. Барлығы 22 науқастың BRCA2 генінде 12 патогендік нұсқа анықталды, олардың арасында нонсенс-мутация, инсерция, оқылу шеңберінің өзгеруіне алып келетін делеция, оқылу шеңберінің ішіндегі делеция айқындалды. Мутациялық күй мен аурудың клиникалық ерекшеліктері арасындағы байланысты талдау бірқатар клиникалық-морфологиялық белгілердің көрінісі мен науқастарда BRCA2 генінде патогендік мутациялардың болуы арасында байланыс бар екенін көрсетті. РМЖ генетикасы саласындағы одан әрі зерттеулер осы ауруда генотип пен фенотиптің өзара әрекеттесуінің дәлірек көрінісін алуға ықпал етеді.

Түйін сөздер: сүт безінің қатерлі ісігі, жаңа буынғы секвенирлеу, патогендік мутациялар, BRCA2.

Введение

Рак молочной железы (РМЖ) занимает первое место в списке наиболее часто встречающихся видов рака у женщин во всем мире и является ведущей причиной смертности от злокачественных новообразований среди женщин в Казахстане [1]. Согласно показателям онкологической службы Республики, Казахстан за 2020 год РМЖ занимает первое место в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями и насчитывает 14.5% среди больных обоих полов. В общей структуре причин смерти от онкозаболеваний для обоих полов РМЖ занимает третье место, следуя за раком легкого и раком желудка, и насчитывает 7.8% случаев. Однако среди женщин РМЖ является главенствующей причиной смерти от онкозаболеваний, составляя 16.9% случаев [2].

Заболеваемость этим видом рака остается на высоком уровне, несмотря на действующие государственные скрининговые программы. Основные перспективы в снижении таких высоких показателей заболеваемости и смертности связаны с созданием и совершенствованием методов диагностики, обладающих научно-обоснованной эффективностью. В этой связи особую важность приобретают программы скрининга для женщин, входящих в группы риска и имеющих генетическую предрасположенность к развитию РМЖ.

Одним из наиболее эффективных подходов для своевременного выявления заболевания у женщин из групп риска является внедрение в клиническую практику метода NGS – секвенирования нового поколения [3, 4]. Благодаря применению NGS-секвенирования был выявлен ряд полиморфизмов и мутаций, ассоциированных с развитием РМЖ [5-12]. К сожалению, в настоящее время имеется мало данных о спектре таких генетических вариантов в казахской популяции [13-14]. В то же время эти данные играют важную роль для своевременной диагностики и успешной терапии заболевания [15-16].

В связи с этим целью настоящей работы было установить роль патогенных генетических вариантов гена *BRCA2* в развитие РМЖ и выявить корреляцию с клинико-фенотипическими характеристиками у молодых (до 40 лет) женщин казахской популяции на основе технологии NGS-секвенирования.

Материалы и методы исследования

Сбор клинического материала

Сбор клинического материала и анкетирование проводились исключительно на добровольной основе с оформлением информированного согласия. Для проведения исследований было получено заключение этической комиссии АО «КазНИИОиР» (протокол №04 от 23.09.2020).

Объектами исследований были неродственные между собой пациенты с ранним началом развития рака молочной железы (200 женщин-казашек до 40 лет). Клинический материал представлял собой образцы периферической крови больных раком молочной железы (РМЖ). Верификация клинического диагноза гистологическими и лабораторно-инструментальными методами устанавливались квалифицированными врачами-онкологами АО «КазНИИОиР». Кровь из локтевой вены для обследования в количестве 5 мл была собрана в условиях стационара в вакуумные пробирки с антикоагулянтом ЭДТА/заморожена при -20°C для дальнейшего молекулярно-генетического исследования.

Выделение ДНК

ДНК выделяли с использованием набора реагентов ReliaPrep™ Blood gDNA Miniprep Syst (производство Promega, США) в соответствии с протоколом, предоставленным фирмой-производителем набора с помощью спектрофотометра (NanoDropOne, Thermo Scientific™) и флуориметра Qubit (Invitrogen). Использовали ДНК с коэффициентом чистоты $K=1,7-1,8$.

Подготовка ДНК-библиотек и проведение высокопроизводительного секвенирования (NGS) на платформе Illumina

ДНК-библиотеки готовили по рекомендованному протоколу TruSight Rapid Capture (Illumina). Далее проводили их качественную оценку и количественную оценку с использованием наборов Agilent High Sensivity DNA Kit биоанализаторе.

Таргетное секвенирование более чем 17 экзонов и прилегающих к ним интронов (50 п 94 генов (255 kb генома человека), вовлеченных в канцерогенез, было выполнено на платформе MiSeq с использованием панели TruSightCan. Таргетная панель генов включала: *AIP, AIAPC, ATM, BAP1, BLM, BMPR1A, BRCA1, BRCA2, BRIP1, BUB1B, CDC73, CDKN1C, CDKN2A, CEBPA, CEP57, CHEK2, CYLD, DDB2, DICE1, DIS3L2, EGFR, EPCAM, ERCC2, ERCC3, ERCC4, ERCC5, EXT1, EXT2, EZR, FANCA, FANCB, FANCC, FANCD2, FANCF, FANCG, FANCI, FANCL, FANCM, FANCD1, FLCN, GATA2, GPC3, HNF1A, HRAS, KIT, MLL2, MEN1, MET, MLH1, MSH2, MSH6, MUTYH, NBN, NF1, NF2, NSD1, PALB2, PHOX2B, PMS2, PRF1, PRKAR1A, PTCH1, PTEN, RAD51, RAD51B, RB1, RECQL4, RET, RHBDF2, RUN*

SBDS, SDHAF2, SDHB, SDHC, SDHD, SLX4, SMAD4, SMARCB1, STK11, SUFU, TMEM127, TP53, TSC1, TSC2, VHL, WRN, WTI, XPA, XPC.

Библиотеки ДНК с молярностью 4мМ подвергались кластерной генерации в проточные ячейки. Были проведены 600 циклов секвенирования в соответствии с парными концами фрагментов в разных направлениях с использованием MiSeq картриджа (MiSeqReagent Kit v3.) на платформе MiSeq (Illumina) [17].

Анализ данных NGS-секвенирования и биоинформационная обработка

Данные NGS были проанализированы с помощью программного обеспечения MiSeqReporter v.2.4. Генетические варианты аннотированы в соответствии с принятой номенклатурой Human Genome Variation Society [18] на основе рекомендаций международной организации по изучению генома человека HGNC [19]. Для интерпретации использовались геномные базы данных: Single Nucleotide Polymorphism Database dbSNP [20], ClinVar database [21], LOVD – Leiden Open Variation Database, открытая база данных вариаций Ляйдена [22] и каталог соматических мутаций, встречающихся при раке (Catalogue of Somatic Mutations in Cancer, COSMIC) [23]. Для визуализации вариантов применено ПО Integrative Genomics Viewer. Для оценки популяционной частоты генетических вариантов использовались базы данные «1000 геномов» (1000 Genomes project) [24], проект секвенирования экзома (Exome Sequencing Project database, ESP6500) [25] и Консорциум по агрегации экзома (Exome Aggregation Consortium – ExAC) [26]. *In Silico* биоинформационные инструменты, такие как SIFT (Sorting Intolerant From Tolerant) и PolyPhen-2 (Polymorphism Phenotyping-2) были использованы для предсказания потенциальных патогенных эффектов миссенс-вариантов на структуру и функцию белка [27].

Результаты секвенирования, представленные выровненными последовательностями в виде VCF-файлов, анализировались с использованием программного обеспечения Variant Studio Data Analysis v.2.2. (Illumina). В качестве допустимого порогового значения качества секвенирования (Q-score) был выбран показатель 30, что соответствует уровню частоты ошибок 1:1000. Для исключения нуклеотидных вариантов низкого качества были установлены следующие параметры фильтрации: глубина считывания $>50x$, глубина альтернативного считывания $>20x$ и

показатель качества >100. Варианты, удовлетворяющие критериям указанных параметров фильтрации, были включены в исследование.

Все этапы биоинформационного анализа процессинга и вычислительные расчеты выполнялись с использованием рабочей станции HPZ440 (Intel (R) Xeon (R) CPU E5-1603 v. 2.80GHz 2.80Gb, 64Gb RAM) на базе «Института генетики и физиологии» КН МНВО РК.

Методы статистической обработки результатов

Для проведения статистического анализа использовали критерий суммы рангов Уилкоксо на (Wilcoxonrank-sumtest) и критерий хи-квадрата (chi-square test). С использованием этих тестов были проанализированы демографические и клиничко-патологические характеристики. Описательные статистические данные были суммированы частотными распределениями для категориальных переменных для непрерывных переменных. Тест суммы ранга Уилкоксо на исполь-

зовался для сравнения непрерывных переменных, а критерий хи-квадрат-для сравнения категориальных переменных. Результаты считались статистически значимыми при значении $p < 0,05$. Все статистические тесты были двусторонними при уровне значимости 5%. Данные были проанализированы и осуществлены с использованием программного обеспечения R версии 3.6.0 (W.N. Venables, D.M. Smith и R Core Team).

Результаты и обсуждение

Клиничко-морфологическая характеристика рака молочной железы у женщин молодого возраста

В ходе исследования был собран клинический материал и подробные анкетные данные, а также изучен семейный анамнез пациенток с ранним развитием РМЖ.

Результаты анализа клиничко-морфологических характеристик пациенток с РМЖ представлены на рисунке 1.

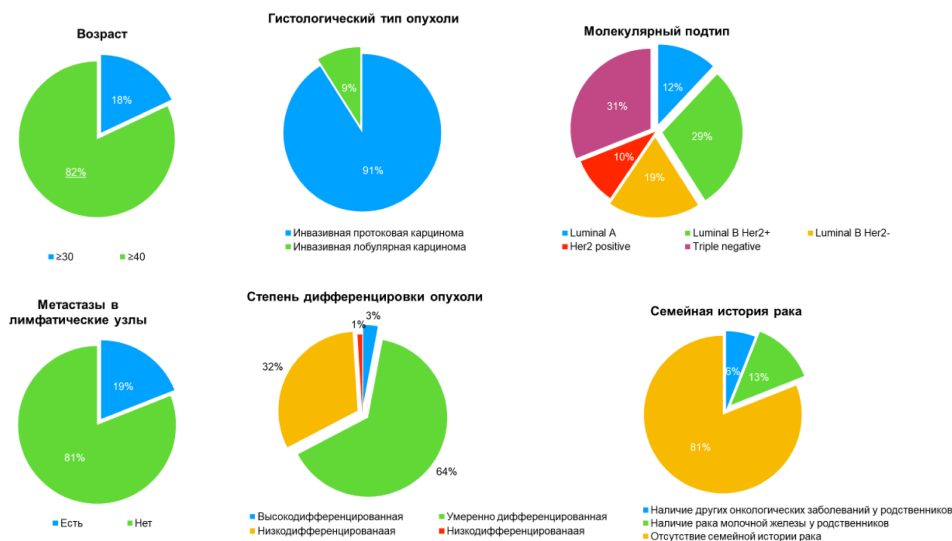


Рисунок 1 – Клиничко-морфологические особенности исследованной группы.

Средний возраст на момент постановки диагноза составил $34,6 \pm 4,4$. Самой молодой пациентке на момент постановки диагноза было 20 лет. У 37 пациентов (18,4%) РМЖ был диагностирован в возрасте до 30 лет. У 26 (13,0%) пациенток отмечен отягощенный семейный анализ по РМЖ, у 12 (6,0%) – по другим онкопатологиям. По гистологическому признаку опухолей

преобладающим типом являлась инвазивная протоковая карцинома. По степени дифференцировки опухоли преобладали умеренная и низкая степень дифференцировки. У большинства пациентов на момент постановки диагноза выявлена II стадия рака. Анализ молекулярного подтипа опухолей позволил выявить следующие субтипы: тройной негативный, люминальный В,

люминальный A, Her2 положительный тип. Преобладающими были тройной негативный и люминальный В субтипы. Также было проанализировано наличие метастазов у пациенток: у 36 пациенток (18,0%) выявилось метастатическое поражение регионарных лимфатических узлов, у 15 (6,7%) пациенток метастатическое поражение печени, метастатическое поражение легких обнаружено у 22 (9,82%) пациенток, костные поражения – у 23 (10,27%) пациенток, у 15 пациенток (6,70) обнаружены метастазы в центральную нервную систему. У некоторых пациенток при первичном обращении метастазы не обнаруживались, однако в течение полугода наблюдалось быстрое прогрессирование и появление метастазов. Эти пациентки считались как имеющие метастазы.

Генетическая характеристика мутаций в гене BRCA2 у женщин молодого возраста с раком молочной железы

По результатам биоинформатического анализа данных NGS у 200 пациенток среднее покрытие составило 217,8X и доля целевых регионов с глубиной покрытия не менее 20 ридов составила 96,7%, что обеспечило высокое качество прочтения.

Было выявлено 35 патогенных вариантов у 53 пациенток, что составляет 26,5% от всей когорты. Патогенные значения выявленных мутаций подтвердились базами данных ClinVar (NCBI), BIC и LOVD. Среди выявленных патогенных вариантов 4 (11,5%) регистрируются как новые мутации, не зарегистрированные в известных базах данных. Все выявленные патогенные мутации были в гетерозиготном состоянии. Все патогенные варианты были редкими. Для 29 вариантов данные об их популяционной частоте

неизвестны в базах данных 1000G, ESP6500 и ExAC. Большинство патогенных мутаций были найдены в генах *BRCA1/BRCA2*.

Далее нами проведено детальное изучение выявленных вариантов гена *BRCA2*, поскольку значительное количество всех известных случаев РМЖ связано с мутациями именно в этом гене. Этот ген является опухолевым супрессором и играет важную роль в репарации двуниевых разрывов ДНК. Потеря функциональной активности этого гена в результате мутации приводит к нарушению регуляции клеточного цикла, процессов дифференцировки и апоптоза. Это способствует возникновению хромосомной нестабильности, следствием которой и является рак.

В результате было выявлено и отфильтровано 1259 вариантов в гене *BRCA2*, из которых 442 оценены как миссенс варианты (смысловые), 795 – как синонимические замены нуклеотидов, 13 вариантов, приводящих к сдвигу рамки считывания (делеции/инсерции), 6 нонсенс-вариантов (варианты стоп кодона), 3 делеции внутри рамки считывания (inframe deletion). Не было обнаружено вариантов в сайте сплайсинга, вариантов, нарушающих старт кодона (start lost), и интронных вариантов.

Характеристика идентифицированных патогенных вариантов приведена в Таблице 1. Все патогенные варианты находились в кодирующих участках гена *BRCA2* и встретились в гетерозиготном состоянии, а также ранее регистрировались в зарубежных исследованиях и базах данных ClinVar, LOVD. В целом в базе данных dbSNP были индексированы 99,89% вариантов, в каталоге COSMIC (Catalogue of somatic mutations in cancer) были зарегистрированы – 66,67%.

Таблица 1 – Характеристика редких патогенных вариантов в гене *BRCA2*, обнаруженных у пациентов с раком молочной железы

№	Характеристика варианта	Геномная позиция	Аминокислотная позиция	Частота по базам данных			Клиническое значение по базам данных	Число больных, чел.
				1000G	Esp6500	ExAC		
1	Делеция со сдвигом рамки считывания	g.30338TC	p.Q2157fs*18	0	0	0	патогенная мутация	1
2	Нонсенс мутация	g.52897G>A	p.W2725X	0	0	0	патогенная мутация	1
3	Делеция со сдвигом рамки считывания	g.26684_26687del	p.A938fsX21	0	0,03	0	патогенная мутация	2

Продолжение таблицы

4	Делеция со сдвигом рамки считывания	g.69663del	p.T3085fsX19	0	0	0	патогенная мутация	3
5	Делеция со сдвигом рамки считывания	g.46076CT	p.L2523fsX15	0	0	0	патогенная мутация	2
6	Делеция со сдвигом рамки считывания	g.26318del	p.M815fsX10	0	0	0	патогенная мутация	1
7	Нонсенс мутация	g.29934G>T	p.E2020*	0	0	0	патогенная мутация	1
8	Делеция со сдвигом рамки считывания	c. 9409dup	p.T3137fsX13	0	0	0	ClinVar-НД, LOVD-ВНЗ	3
9	Делеция со сдвигом рамки считывания	g.30521_30524del	p.T2214_Tyr2215insX	0	0	0	патогенная мутация	1
10	Нонсенс мутация	g.84239G>T	p.E3096*	0	0	0	патогенная мутация	1
11	Нонсенс мутация	g.88010A>T	p.K3326*	0,44	0,65	0,7	LOVD, ClinVar- ВД, ВНЗ	3
12	Делеция внутри рамки считывания	g.176470del	p.N1382del	0	0,07	0,01	ClinVar- ВНЗ	3

Примечание: НД – нет данных (не описан); ВНЗ-вариант неясного (неопределенного) значения; ВД = возможно доброкачественная

Всего было выявлено 12 патогенных вариантов (Таблица 1) у 22 пациенток, 6 из выявленных генетических вариантов являлись повторяющимися (рекуррентными). Спектр выявленных патогенных вариантов в гене *BRCA2* представлен на рисунке 2. Самым частым типом мутацией (50%) оказалась делеция, приводящая к сдвигу рамки считывания. Доли других типов мутаций оказались следующими: нонсенс-мутации

– 27,27%, делеции внутри рамки считывания– 13,64%, инсерции – 9,09%. Чаще всего (n=3) мутации наблюдались в следующих геномных позициях: g.69663del (p.T3085fsX19), c. 9409dup (p.T3137fsX13), g.88010A>T (p.K3326*), g.176470del (p.N1382del). 6 отдельных патогенных вариантов (50%) встретились в единичных случаях. Все выявленные патогенные варианты были редкими, с частотой менее 1%.

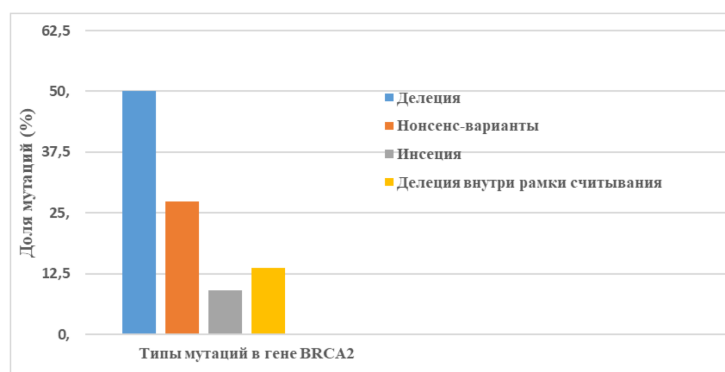


Рисунок 2 – Спектр идентифицированных патогенных вариантов в гене *BRCA2*

Ассоциация между клинико-фенотипическими характеристиками и наличием патогенных мутаций в гене *BRCA2* у пациентов с РМЖ

Для того чтобы определить вклад выявленных нами патогенных мутаций гена *BRCA2* в

развитие РМЖ, мы проанализировали клинико-фенотипический статус пациентов – носителей *BRCA2*-мутаций (таблица 2). В группу носителей вошли все пациенты, у которых была обнаружена 1 или более патогенных мутаций в гене *BRCA2*.

Таблица 2 – Ассоциация выявленных патогенных мутаций в гене *BRCA2* с экспрессией биомаркеров и с прогностическими факторами

№	Характеристика варианта	Геномная позиция	Аминокислотная позиция	Частота по базам данных			Клиническое значение по базам данных	Число больных, чел.
				1000G	Esp6500	ExAC		
1	Делеция со сдвигом рамки считывания	g.30338TC	p.Q2157fs*18	0	0	0	патогенная мутация	1
2	Нонсенс мутация	g.52897G>A	p.W2725X	0	0	0	патогенная мутация	1
3	Делеция со сдвигом рамки считывания	g.26684_26687del	p.A938fsX21	0	0,03	0	патогенная мутация	2
4	Делеция со сдвигом рамки считывания	g.69663del	p.T3085fsX19	0	0	0	патогенная мутация	3
5	Делеция со сдвигом рамки считывания	g.46076CT	p.L2523fsX15	0	0	0	патогенная мутация	2
6	Делеция со сдвигом рамки считывания	g.26318del	p.M815fsX10	0	0	0	патогенная мутация	1
7	Нонсенс мутация	g.29934G>T	p.E2020*	0	0	0	патогенная мутация	1
8	Делеция со сдвигом рамки считывания	c. 9409dup	p.T3137fsX13	0	0	0	ClinVar-НД, LOVD-ВНЗ	3
9	Делеция со сдвигом рамки считывания	g.30521_30524del	p.T2214_Tyr2215insX	0	0	0	патогенная мутация	1
10	Нонсенс мутация	g.84239G>T	p.E3096*	0	0	0	патогенная мутация	1
11	Нонсенс мутация	g.88010A>T	p.K3326*	0,44	0,65	0,7	LOVD, ClinVar- ВД, ВНЗ	3
12	Делеция внутри рамки считывания	g.176470del	p.N1382del	0	0,07	0,01	ClinVar- ВНЗ	3

Примечание: НД – нет данных (не описан); ВНЗ-вариант неясного (неопределенного) значения; ВД = возможно доброкачественная

Из таблицы 2 видно, что почти все изученные нами биомаркеры и прогностические критерии развития РМЖ показали ассоциацию с наличием мутаций в гене *BRCA2*, поскольку показатель OR оказался больше 1. Так, у пациенток-носительниц патогенных мутаций в гене *BRCA2* наблюдается

ассоциация с такими клиническими особенностями, как развитие эстроген/прогестерон-позитивных опухолей, наличие метастазов, а также повышается вероятность смерти от РМЖ. Хотя статистический анализ показал недостоверность выявленных ассоциаций, мы предполагаем, что

это можно объяснить недостаточным объемом имевшейся выборки. Дальнейшие исследования в области генетики РМЖ будут способствовать получению более точной картины взаимодействия генотипа и фенотипа при данном заболевании.

Следует также отметить, что в нашей выборке большая часть пациенток с мутациями в гене *BRCA2* не имела наследственно отягощенный семейный анамнез по онкологическим заболеваниям. Лишь небольшой процент пациенток имели родственников (1 и 2 степени родства), имевших РМЖ либо другие виды рака. Это позволяет предположить наличие экологической составляющей в развитии РМЖ. Неблагоприятная экологическая обстановка в местах проживания пациенток может приводить к утере гетерозиготности в соматических клетках, что провоцирует развитие рака.

Заключение

Таким образом, применение метода NGS секвенирования позволяет выявлять патоген-

ные варианты в генах, участвующих в развитии РМЖ. Выявление патогенных мутаций у пациенток является очень важным этапом, поскольку играет решающую роль в прогнозировании течения заболевания, подбора наиболее адекватных методов терапии и улучшении качества жизни.

Финансирование

Работа выполнена в рамках проекта АР09259034 «Изучение клинико-генетических аспектов раннего развития рака молочной железы на основе секвенирования нового поколения», финансируемой Министерством Высшего Образования и Науки Республики Казахстан.

Конфликт интересов

Авторы статьи подтверждают отсутствие конфликта интересов.

Литература

1. <https://onco.kz/o-rake/ponimanie-raka/statistika-raka/>
2. Kaidarova D, Dushimova Z, Shatkovskaya O, Ongarbayev B, Seisenbayeva G.T., Azhmagambetova A.E., Zhylkaidarova A.Zh., Lavrentyeva I.K., Sagi M.S. Indicators of the Oncology Service of the Republic of Kazakhstan for 2020: Statistical and Analytical Materials // eds. KIOR JSC. – 2021. – p. 366. doi: 10.52532/978-601-7548-11-7-2020-1-370.
3. Easton D.F., Pharoah P.D., Antoniou A.C., Tischkowitz M., Tavtigian S.V., Nathanson K.L., Devilee P., Meindl A., Couch F.J., Southey M., Goldgar D.E., Evans D.G., Chenevix-Trench G, Rahman N., Robson M., Domchek S.M., Foulkes W.D. Gene-Panel Sequencing and the Prediction of Breast-Cancer Risk // *N Engl J Med.* – 2015. – Vol. 372. – Pp. 2243-2257.
4. Caswell-Jin J.L., Gupta T., Hall E., Petrovchich I.M., Mills M.A., Kingham K.E., Koff R., Chun N.M., Levonian P., Leibensohn A.P., Ford J.M., Kurian A.W. Racial/ethnic differences in multiple-gene sequencing results for hereditary cancer risk // *Genet Med.* – 2018. Vol. 20. № 2. – Pp. 234-239. doi:10.1038/gim.2017.96
5. Lin P.H., Kuo W.H., Huang A.C., Lu Y.S., Lin C.H., Kuo S.H., Wang M.Y., Liu C.Y., Cheng F.T., Yeh M.H., Li H.Y., Yang Y.H., Hsu Y.H., Fan S.C., Li L.Y., Yu S.L., Chang K.J., Chen P.L., Ni Y.H., Huang C.S. Multiple gene sequencing for risk assessment in patients with early-onset or familial breast cancer // *Oncotarget.* – 2016. – Vol. 7. № 7. – Pp. 8310-8320. doi: 10.18632/oncotarget.7027.
6. Li L., Yi Z., Li C., Guan X., Xu B., Ma F. Integrative clinical genomics of early-onset breast cancer // *Journal of Clinical Oncology.* – 2018. – Vol. 36. № 15. – P. 1541. doi: 10.1200/JCO.2018.36.15_suppl.1541.
7. Gomez-Flores-Ramos L., Dean M., Jones K., Wang M., Villarreal-Garza C., Alvarez-Gomez R.M. Clinically Relevant Germline Mutations in a Cohort of Young Women with Breast Cancer: A Comprehensive Analysis of Hereditary-Cancer Genes from Whole-Exome Sequencing // *Preprints 2020, 20200807187*; doi: 10.20944/preprints202008.0718.v1.
8. Kast K., Rhiem K., Wappenschmidt B., Hahnen E., Hauke J., Bluemcke B. Prevalence of BRCA1/2 germline mutations in 21 401 families with breast and ovarian cancer // *J. Med. Genet.* – 2016. – Vol. 53. – Pp. 465-471.
9. Buys S.S., Sandbach J.F., Gammon A., Patel G., Kidd J., Brown K.L., Sharma L., Saam J., Lancaster J., Daly M.B. A study of over 35,000 women with breast cancer tested with a 25-gene panel of hereditary cancer genes // *Cancer.* – 2017. – Vol. 123. – Pp. 1721-1730. doi: 10.1002/cncr.30498.
10. Tedaldi G., Tebaldi M., Zampiga V., Danesi R., Arcangeli V., Ravegnani M., Cangini I., Pirini F., Petracci E., Rocca A., Falcini F., Amadori D., Calistri D. Multiple-gene panel analysis in a case series of 255 women with hereditary breast and ovarian cancer // *Oncotarget.* – 2017. – Vol. 8. № 29. – Pp. 47064-47075. doi: 10.18632/oncotarget.16791.
11. Kraus C., Hoyer J., Vasileiou G., Wunderle M., Lux M.P., Fasching P.A., Krumbiegel M., Uebe S., Reuter M., Beckmann M.W., Reis A. Gene panel sequencing in familial breast/ovarian cancer patients identifies multiple novel mutations also in genes others than BRCA1/2 // *Int J Cancer.* – 2017. – Vol. 140. № 1. – Pp. 95-102. doi: 10.1002/ijc.30428.

12. Cock-Rada A.M., Ossa C.A., Garcia H.I., Gomez L.R. A multi-gene panel study in hereditary breast and ovarian cancer in Colombia // *Fam Cancer*. – 2018. – Vol. 17. № 1. – Pp. 23-30. doi: 10.1007/s10689-017-0004-z.
13. Балмуханов Т.С., Хансеитова А.К., Нигматова В.Г., Аширбеков Е.Е., Попова И.В., Прназарова А.Ж., Черушева А.С., Ходаева А.Ю., Талаева Ш.Ж., Айтхожина Н.А. Распространенность некоторых полиморфизмов в генах BRCA1 и BRCA2 при раке молочной железы среди населения Республики Казахстан // *Доклады Национальной Академии наук Республики Казахстан*. – 2012. № 2. – С.58-63.
14. Akilzhanova A.R., Nyshanbekkyzy B., Nurkina Z.M., Shtephanov I.I., Makishev A.K., Adylkhanov T.A., Rakhypbekov T.K., Ramanculov E.M., Momynaliev K.T. *BRCA1* and *BRCA2* Gene Mutations Screening In Sporadic Breast Cancer Patients In Kazakhstan // *Cent Asian J Glob Health*. – 2013. – Vol.2. № 1. – P. 29. doi:10.5195/cajgh.2013.29
15. Hata C., Nakaoka H., Xiang Y., Wang D., Yang A., Liu D., Liu F., Zou Q., Wei L., Zheng K. Inoue I., You H. Germline mutations of multiple breast cancer-related genes are differentially associated with triple-negative breast cancers and prognostic factors // *J Hum Genet*. – 2020. – Vol. 65. № 7. – Pp. 577-587. doi:10.1038/s10038-020-0729-7
16. Felix G.E.S., Zheng Y., Olopade O.I. Mutations in context: implications of BRCA testing in diverse populations // *Fam Cancer*. – 2018. – Vol. 17. № 4. – Pp. 471-483. doi:10.1007/s10689-017-0038-2
17. Feliubadaló L, Tonda R, Gausachs M, Trotta JR, Castellanos E, López-Doriga A, Teulé À, Tornero E, Del Valle J, Gel B, Gut M, Pineda M, González S, Menéndez M, Navarro M, Capellá G, Gut I, Serra E, Brunet J, Beltran S, Lázaro C. Benchmarking of Whole Exome Sequencing and Ad Hoc Designed Panels for Genetic Testing of Hereditary Cancer // *Sci Rep*. – 2017. – Vol. 7. – P. 37984. doi: 10.1038/srep37984.
18. Human Genome Variation Society (HGVS) www.hgvs.org/mutnomen
19. HUGO Gene Nomenclature Committee <https://www.genenames.org>
20. Single Nucleotide Polymorphism Database dbSNP <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>
21. ClinVar database <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>
22. LOVD – Leiden Open Variation Database, открытая база данных вариаций Ляйдена <http://www.lovd.nl/3.0/home>
23. Catalogue of Somatic Mutations in Cancer, COSMIC, <http://cancer.sanger.ac.uk/cancergenome/projects/cosmic/>
24. 1000 Genomes project, <http://www.1000genomes.org/>
25. Exome Sequencing Project database, ESP6500, <https://esp.gs.washington.edu>
26. Консорциум по агрегации экзому (Exome Aggregation Consortium – ExAC, <http://exac.broadinstitute.org>).
27. Liu X, Jian X, Boerwinkle E. dbNSFP v2.0: a database of human non-synonymous SNVs and their functional predictions and annotations. *Hum Mutat*. – 2013. – Vol.34 № 9. – Pp. 2393-2402. doi: 10.1002/humu.22376. Epub 2013 Jul 10.

References

1. <https://onco.kz/o-rake/ponimanie-raka/statistika-raka/>
2. Kaidarova D, Dushimova Z, Shatkovskaya O, Ongarbayev B, Seisenbayeva G.T., Azhmagambetova A.E., Zhylkaidarova A.Zh., Lavrentyeva I.K. and Sagi M.S. Indicators of the Oncology Service of the Republic of Kazakhstan for 2020: Statistical and Analytical Materials // eds. KIOR JSC. (2021): 366. doi: 10.52532/978-601-7548-11-7-2020-1-370.
3. Easton D.F., Pharoah P.D., Antoniou A.C., Tischkowitz M., Tavtigian S.V., Nathanson K.L., Devilee P., Meindl A., Couch F.J., Southey M., Goldgar D.E., Evans D.G., Chenevix-Trench G, Rahman N., Robson M., Domchek S.M. and Foulkes W.D. “Gene-Panel Sequencing and the Prediction of Breast-Cancer Risk.” *N Engl J Med* 372, (2015): 2243-2257.
4. Caswell-Jin J.L., Gupta T., Hall E., Petrovchich I.M., Mills M.A., Kingham K.E., Koff R., Chun N.M., Levonian P., Lebensohn A.P., Ford J.M. and Kurian AW. “Racial/ethnic differences in multiple-gene sequencing results for hereditary cancer risk” *Genet Med* 20, no 2 (2018): 234-239. doi:10.1038/gim.2017.96
5. Lin P.H., Kuo W.H., Huang A.C., Lu Y.S., Lin C.H., Kuo S.H., Wang M.Y., Liu C.Y., Cheng F.T., Yeh M.H., Li H.Y., Yang Y.H., Hsu Y.H., Fan S.C., Li L.Y., Yu S.L., Chang K.J., Chen P.L., Ni Y.H. and Huang CS. “Multiple gene sequencing for risk assessment in patients with early-onset or familial breast cancer” *Oncotarget* 7, no 7 (2016): 8310-8320. doi: 10.18632/oncotarget.7027.
6. Li L., Yi Z., Li C., Guan X., Xu B. and Ma F. “Integrative clinical genomics of early-onset breast cancer” *Journal of Clinical Oncology* 36, no 15 (2018): 1541. doi: 10.1200/JCO.2018.36.15_suppl.1541.
7. Gomez-Flores-Ramos L., Dean M., Jones K., Wang M., Villarreal-Garza C. and Alvarez-Gomez R.M. “Clinically Relevant Germline Mutations in a Cohort of Young Women with Breast Cancer: A Comprehensive Analysis of Hereditary-Cancer Genes from Whole-Exome Sequencing” Preprints 2020, 20200807187; doi: 10.20944/preprints202008.0718.v1.
8. Kast K., Rhiem K., Wappenschmidt B., Hahnen E., Hauke J. and Bluemcke B. “Prevalence of BRCA1/2 germline mutations in 21 401 families with breast and ovarian cancer” *J. Med. Genet*-53, (2016): 465-471.
9. Buys S.S., Sandbach J.F., Gammon A., Patel G., Kidd J., Brown K.L., Sharma L., Saam J., Lancaster J. and Daly M.B. “A study of over 35,000 women with breast cancer tested with a 25-gene panel of hereditary cancer genes” *Cancer* 123, (2017): 1721-1730. doi: 10.1002/ncr.30498.
10. Tedaldi G., Tebaldi M., Zampiga V., Danesi R., Arcangeli V., Ravegnani M., Cangini I., Pirini F., Petracci E., Rocca A., Falcini F., Amadori D. and Calistri D. “Multiple-gene panel analysis in a case series of 255 women with hereditary breast and ovarian cancer” *Oncotarget* 8, no 23 (2017): 47064-47075. doi: 10.18632/oncotarget.16791.
11. Kraus C., Hoyer J., Vasileiou G., Wunderle M., Lux M.P., Fasching P.A., Krumbiegel M., Uebe S., Reuter M., Beckmann M.W. and Reis A. “Gene panel sequencing in familial breast/ovarian cancer patients identifies multiple novel mutations also in genes others than *BRCA1/2*” *Int J Cancer* 140, no 1 (2017): 95-102. doi: 10.1002/ijc.30428.

12. Cock-Rada A.M., Ossa C.A., Garcia H.I. and Gomez L.R. “A multi-gene panel study in hereditary breast and ovarian cancer in Colombia” *Fam Cancer* 17, no 1 (2018): 23-30. doi: 10.1007/s10689-017-0004-z.
13. Balmukhanov T.S., Khanseitova A.K., Nigmatova V.G., Ashirbekov Ye.Ye., Popova I.V., Prnazarova A.ZH., Cherusheva A.S., Khodayeva A.YU., Talayeva SH.ZH. Aytkhozhina N.A. “Rasprostranennost’ nekotorykh polimorfizmov v genakh BRCA1 i BRCA2 pri rake molochnoy zhelezy sredi naseleniya Respubliki Kazakhstan [The prevalence of some polymorphisms in the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer among the population of the Republic of Kazakhstan]” *Doklady Natsional’noy Akademii nauk Respubliki Kazakhstan* no 2 (2012): 58-63. (In Russian)
14. Akilzhanova A.R., Nyshanbekkyzy B., Nurkina Z.M., Shtephanov I.I., Makishev A.K., Adylkhanov T.A., Rakhypbekov T.K., Ramanculov E.M. and Momynaliev KT. “BRCA1 and BRCA2 Gene Mutations Screening In Sporadic Breast Cancer Patients In Kazakhstan” *Cent Asian J Glob Health* 2, no 1 (2013): 29. doi:10.5195/cajgh.2013.29
15. Hata C., Nakaoka H., Xiang Y., Wang D., Yang A., Liu D., Liu F., Zou Q., Wei L., Zheng K. Inoue I. and You H. “Germline mutations of multiple breast cancer-related genes are differentially associated with triple-negative breast cancers and prognostic factors” *J Hum Genet* 65, no 7 (2020): 577-587. doi:10.1038/s10038-020-0729-7
16. Felix G.E.S., Zheng Y. and Olopade O.I. “Mutations in context: implications of BRCA testing in diverse populations” *Fam Cancer* 17, no 4 (2018): 471-483. doi:10.1007/s10689-017-0038-2
17. Feliubadaló L, Tonda R, Gausachs M, Trotta JR, Castellanos E, López-Doriga A, Teulé À, Tornero E, Del Valle J, Gel B, Gut M, Pineda M, González S, Menéndez M, Navarro M, Capellá G, Gut I, Serra E, Brunet J, Beltran S and Lázaro C. “Benchmarking of Whole Exome Sequencing and Ad Hoc Designed Panels for Genetic Testing of Hereditary Cancer” *Sci Rep* 7, (2017): 37984. doi: 10.1038/srep37984.
18. Human Genome Variation Society (HGVS) www.hgvs.org/mutnomen
19. HUGO GeneNomenclature Committee <https://www.genenames.org>
20. Single Nucleotide Polymorphism Database dbSNP <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>
21. ClinVar database <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>
22. LOVD – Leiden Open Variation Database, открытая база данных вариаций Ляйдена <http://www.lovd.nl/3.0/home>
23. Catalogue of Somatic Mutations in Cancer, COSMIC, <http://cancer.sanger.ac.uk/cancergenome/projects/cosmic/>
24. 1000 Genomes project, [http://www.1000genomes.org/Exome Sequencing Project database](http://www.1000genomes.org/Exome%20Sequencing%20Project%20database), ESP6500, <https://esp.gs.washington.edu>
25. Exome Sequencing Project database, ESP6500, <https://esp.gs.washington.edu>
26. Консорциум по агрегации экзома (Exome Aggregation Consortium – ExAC, <http://exac.broadinstitute.org>).
27. Liu X, Jian X, Boerwinkle E. “DbNSFP v2.0: a database of human non-synonymous SNVs and their functional predictions and annotations” *Hum Mutat* 34, no 9 (2013): 2393-2402. doi: 10.1002/humu.22376. Epub 2013 Jul 10.