

Н.І. Кіцера
 Я.В. Шпарик
 Б.Т. Білинський
 О.В. Тріль
 М.С. Машалига
 О.О. Олексяк
 Т.Б. Качмар
 Е.Т. Косенко
 Н.О. Лукавецький
 І.О. Довганик
 О.І. Кашин
 А.В. Шолох

ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України»

Львівський державний онкологічний регіональний лікувально-діагностичний центр

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів

Лабораторія «Євролаб», Київ, Україна

Ключові слова: рак молочної залози, рак яєчника, мутації BRCA1/2, жінки, родовід, Львівська область.

АНАЛІЗ МУТАЦІЙ У ГЕНАХ BRCA1/2 У ХВОРИХ НА СІМЕЙНИЙ/СПАДКОВИЙ РАК МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ, ЯКІ ПРОЖИВАЮТЬ У ЛЬВІВСЬКІЙ ОБЛАСТІ (УКРАЇНА)

Резюме Проведено аналіз найпоширеніших мутацій у генах BRCA1/2 жінок із раком молочної залози (РМЗ) і раком яєчника (РЯ), які мають обтяжений сімейний анамнез щодо цих патологій. Досліджено родоводи 78 пацієнток та зразки їх ДНК. Молекулярно-генетичним методом визначали наявність 7 мутацій BRCA1 (185delAG, 4153delA, 5382InsC, 188del11, 5396+1G>A, 185InsA, 5331G>A) і 3 мутацій у BRCA2 (6174delT, 6293C>G, 6024delTA). Мутації гена BRCA1 виявлено у 3 хворих (3,8%): у 2 випадках діагностовано мутацію 5382InsC, в 1 — 185delAG. У родинах кожної з цих пацієнток було ще принаймні по 2 випадки РМЗ або РЯ. Спектр виявлених мутацій узгоджується зі спектром, який спостерігали у аналогічних пацієнток в Україні і сусідніх країнах інші дослідники. Проаналізовані нами на наявність мутацій генів BRCA1/2 хворі з РМЗ та РЯ належать до різних груп: спадкового BRCA1/2-залежного (3,8%), спадкового BRCAx-залежного (12,8%) та сімейного (83,3%) захворювання. Детальний клініко-генеалогічний аналіз є визначальним для призначення молекулярно-генетичного дослідження.

ВСТУП

Упродовж останніх двох десятиліть досягнуто значного прогресу в розумінні етіології та патогенезу злоякісних пухлин різних локалізацій. Зокрема доведено, що в основі виникнення частини з них лежать складні взаємодії генетичних факторів і чинників довкілля [6], причому за оцінкою провідних онкогенетиків на спадкові фактори припадає до 30% випадків розвитку злоякісних пухлин. Зокрема, за даними А. Knudson, у 15% саме генетичні чинники є основними, а ще у 15% визначальною є взаємодія різноманітних канцерогенів і генетичних факторів [37, 38]. З розвитком молекулярно-генетичних технологій відкрилися широкі перспективи для об'єктивного визначення генетичного компонента схильності до цієї патології. Дотепер накопичено багато даних про вплив різних поліморфних генів на ризик виникнення злоякісних пухлин [23, 44, 46]. Однак, незважаючи на досягнуті успіхи світової наукової спільноти в галузі вивчення геному людини і в розробці методів аналізу ДНК, як і раніше відомо відносно небагато генів, які в сукупності тільки частково пояснюють окремі ланки патогенезу деяких мультифакторних захворювань, до яких належать злоякісні пухлини [1, 35, 52].

Рак молочної залози (РМЗ) — одна з найпоширеніших злоякісних пухлин, яка в структурі онкологічної захворюваності жіночого населення України займає 1-ше місце, становлячи 19,6%. Упродовж

останнього десятиліття в Україні щороку захворює понад 15 000 жінок. Ризик виникнення РМЗ протягом життя становить у жінок до 10% [3]. За даними статистичного управління у Львівській області, на 1 січня 2011 року проживало 2 526 378 осіб, у тому числі 1 332 405 жінок (52,7%). Щороку у Львівській області на РМЗ захворюють 650–700 осіб, 99% з яких жінки. Стандартизовані показники захворюваності на РМЗ у Львівській області становлять 50,09 на 100 тис. жіночого населення і є дещо нижчими за середні по Україні — 57,53 [14, 33]. Вивчення поширеності і характеру генетичних маркерів схильності до РМЗ може дати необхідну інформацію для скринінгових досліджень, сприяти ранній діагностиці і профілактиці цієї патології [36, 48].

За даними Н. Lynch [40], критеріями виділення спадкового раку (РМЗ, зокрема) є такі ознаки: 1) факт сімейного накопичення; 2) вертикальна передача захворювання; 3) ранній вік початку захворювання; 4) двосторонність або поліфокусність ураження, специфічні пухлинні асоціації. За визначенням Р.Ф. Гарькавцевої, спадковий рак (у тому числі РМЗ) характеризується трьома кардинальними ознаками: 1) факт сімейного накопичення пухлин; 2) троє і більше хворих з пухлинами серед родичів I та II ступеня спорідненості; 3) ранній вік настання захворювання [4].

Спадковий РМЗ, за даними різних авторів, становить у різних країнах від 5–10% [7] до 10–30% від усіх випадків РМЗ [17, 18]. Активно досліджуються групи генів, які можуть спричинити його виникнення. До таких відносять перш за все гени *BRCA1* та *BRCA2* (*BRCA1/2*). Продукти цих генів беруть участь у процесах репарації ДНК, регуляції клітинного циклу, диференціації клітин та апоптозу. Наявність мутації в генах *BRCA1/2* може призвести до помилок репарації ДНК і, відповідно, до виникнення пухлин, зокрема РМЗ [44, 51]. Мутації в генах *BRCA1/2* характеризуються високою пенетрантністю. Ризик виникнення РМЗ у носіїв цих мутацій становить, за даними різних авторів, до 50–90%. Аналіз структурних змін в цих генах у жінок з обтяженим сімейним анамнезом може сприяти ранній діагностиці захворювань [6, 48].

Дотепер виявлено понад 1000 мутацій генів *BRCA1/2* [21]. У різних регіонах та в представників різних етнічних груп спектр і частота мутацій генів *BRCA1/2* є різною [34, 56]. Зокрема, мутація 5382insC широко розповсюджена в Європі [31]. Вважають, що ця мутація відповідальна за виникнення приблизно 2,5% РМЗ, однак у групі «високого ризику» (сімейний онкологічний анамнез, білатеральне ураження, виникнення РМЗ у молодому віці) вона виявляється в 10% пацієнток. Мутації 5382insC (*BRCA1*) та 6174delT (*BRCA2*) були виявлені в сім'ях хворих на РМЗ, рак яєчника (РЯ), рак простати у євреїв-ашкеназі [7, 34]. Проведені польськими вченими дослідження у 64 жінок із РМЗ, які мають сімейний анамнез, показали, що мутації генів *BRCA1/2* присутні у двох третин обстежених. У половини обстежених виявлено мутацію *BRCA1* 5382insC. Крім того, діагностовано 3 нових мутації — *BRCA1* 2991del5, *BRCA2* 6238ins2del21 та 8876delC [47]. У Данії серед 119 жінок, хворих на РМЗ, виявлено 24 (20%) носіїв мутації, де мутації *BRCA1* встановлено в 13 пацієнток, а мутації *BRCA2* — в 11 осіб [19]. У Канаді найчастіше трапляється мутація *BRCA1* C4446T, а *BRCA2* — 8765delAG [54]. Дуже низька частота мутації генів *BRCA1/2* у В'єтнамі, де виявлено лише 2 носії (вони не мали обтяженості щодо онкоанамнезу) серед 259 випадків РМЗ [29]. У вибірці 60 пацієнток-якуток із діагностованим РМЗ не виявили жодної мутації в цих генах [16]. Л.М. Захарцева та співавтори в Україні серед 99 пацієнток, хворих на РМЗ, знайшли 9 (9,1%) носіїв мутації генів *BRCA1/2* та наголосили на тому, що наявність мутації у молодих жінок асоціюється із агресивнішим перебігом цього захворювання та зменшує 3-річну виживаність на 25% [57].

Дотепер молекулярно-генетичні дослідження при РМЗ у Львівській області не проводилися, а в Україні є відомості лише про поодинокі дослідження впливу групи генів на виникнення РМЗ [2, 15, 57]. Оскільки в генофонді української популяції присутній компонент, який характерний для європейського населення, то метою нашої роботи було проведення аналізу найпоширеніших мутацій у ге-

нах *BRCA1/2* серед жінок із РМЗ, які мають обтяжений спадковий анамнез щодо цієї патології.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Матеріалом нашого дослідження були зразки ДНК 75 пацієнток із діагнозом РМЗ і 3 хворих на РЯ, які знаходилися на лікуванні у Львівському державному онкологічному регіональному лікувально-діагностичному центрі з червня 2008 по листопад 2011 р. Кожна жінка підписала інформовану згоду на проведення молекулярно-генетичного аналізу для визначення мутацій в генах *BRCA1/2*. Дані про кожен пацієнтку заносили в спеціально розроблену карту.

ДНК виділяли із лімфоцитів периферичної крові стандартним методом фенольно-хлороформної екстракції. Номенклатура мутацій подається згідно з базою даних BIC (Breast Cancer Information Core). Молекулярно-генетичним методом (лабораторія «EuroLab», Київ) визначали наявність 7 мутацій у гені *BRCA1* (185delAG, 4153delA, 5382insC, 188del11, 5396+1G>A, 185insA, 5331 G>A) і 3 мутацій у гені *BRCA2* (6174delT, 6293C>G, 6024delTA), які відповідають за спадкову форму РМЗ. Визначення мутацій проводили методами аельспецифічної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), ПДРФ-аналізу (поліморфізм довжин рестрикційних фрагментів).

Пошук мутацій відбувався за допомогою методу ПЛР та аналізу точки температурного плавлення T_m отриманих ампліконів. Реакцію ПЛР проводили з використанням реактивів фірми «Синтол» (Росія), яка виробляє реактиви з необхідними флуоресцентними барвниками для аналізу точки температурного плавлення T_m (барвник EvaGreen). Реакцію ПЛР проводили у 0,2 мл пробірках типу «Еппендорф» (Німеччина) у термоциклері ABI GeneAmp® PCR System 9700 за допомогою градієнтного протоколу. Сканування екзонів 2; 20 гена *BRCA1* та екзона 2 гена *BRCA2* проводили за допомогою методу аналізу точки температурного плавлення T_m отриманих ампліконів. Зміщення точки плавлення свідчило про зміни в нуклеотидній послідовності амплікону. Аналіз точки T_m проводили за допомогою приладу ABI 7000 Sequence Detection System (ABI, США). Зчитування показників флуоресценції проводили на каналі барвника SYBR Green на кожному з інтервалів. Наявність зсуву T_m свідчила про наявність мутації, ідентифікацію мутації здійснювали методом рестриктного розщеплення.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У кожній з 78 обстежених хворих на РМЗ і РЯ були дані щодо випадків цієї онкопатології в близькородичних родичів (від 1 до 5 випадків), окрім пробанда. У деяких сім'ях загальна кількість злоякісних пухлин у родовах сягала до 7–9 випадків. Проте ми враховували лише РМЗ, РЯ і рак матки, і встановили, що, окрім пробанда, по 1 випадку цих злоякісних пухлин було в 45 (57,7%) родин, по 2 —

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

в 23 (29,5%), по 3 — в 4 (5,1%), по 4 — в 5 (6,4%), а в 1 родині було 5 таких випадків (1,3%).

У досліджуваній групі було 58 (74,4%) жінок, які проживали в місті, та 20 (25,6%) — у селі. Вік пацієнток коливався від 29 до 74 років, причому 38 (48,7%) були старшими 50 років. Середній вік манифестації хвороби становив $51,2 \pm 5,7$ року (медіана — 52 роки). За гістологічною формою РМЗ переважала інфільтруюча протокова аденокарцинома — 58 (74,4%); інфільтруюча часточкова аденокарцинома становила 12 випадків (15,4%), інші види (низкодиференційована, тубулярна та медулярна карцинома) — 8 (10,3%). Випадки РЯ були діагностовані як помірнодиференційована карцинома. У більшості хворих (понад 70%) була виявлена II–III стадія захворювання.

Наш аналіз виявив 3 випадки мутацій гена *BRCA1* серед 78 хворих на РМЗ та РЯ (3,8%), які мали сімейний анамнез, обтяжений онкопатологією (зокрема випадками РМЗ, РЯ і раку матки). Жодна з аналізованих нами мутацій гена *BRCA2* не була виявлена.

Випадок 1. У пацієнтки **В.** з РМЗ (діагноз встановлено у 59 років) була виявлена мутація в гені *BRCA1* 5382InsC. У родині, окрім пробанда, було ще 9 випадків злоякісних пухлин (рисунок). Усі злоякісні пухлини спостерігалися по лінії матері. Від РМЗ померли мати пробанда у віці 53 років та двоюрідний брат у віці 60 років. Від інших злоякісних пухлин у цій родині померли троє сестер і брат матері пробанда (рак нирки, матки, неуточнених внутрішніх органів та лейкемія) та двоюрідні брат і сестра пробанда (рак гортані та внутрішніх органів).

Випадок 2. У пацієнтки **А.** з діагностованим у 30 років РМЗ була виявлена мутація в гені *BRCA1* 5382InsC. У родині на РМЗ хворіли мати і тітка по материнській лінії, на рак матки — тітка по лінії батька. Мати пацієнтки у віці 45 років перенесла операцію з приводу білатерального РМЗ і на момент складання родоводу мала 61 рік та не мала ознак прогресування захворювання.

Випадок 3. У пацієнтки **К.** була виявлена мутація в гені *BRCA1* 185delAG. У неї було діагностовано РЯ у віці 54 років та РМЗ у віці 69 років. У родині було ще 6 випадків злоякісних пухлин по лінії матері, зокрема РЯ, від якого померли мати пробанда у віці 48 років та бабуся у віці 75 років. На РЯ хворіє рідна сестра пробанда. Крім того, від злоякісних захворювань померли тітка (рак піхви), дядько (рак легенів), двоюрідна сестра (пухлина мозку). Доньці пацієнтки, яка проживає в Північній Америці, у віці 35 років (2007 рік) провели молекулярно-генетичне дослідження на предмет наявності мутацій у генах *BRCA1/2*. Встановлено, що донька, як і мати, також є носієм мутації гені *BRCA1* 185delAG.

Частота мутацій *BRCA1/2* у нашому дослідженні дещо нижча, ніж в інших дослідженнях, які проводилися в Україні та сусідніх країнах (Росії, Польщі). В Україні повідомлено про оригінальні результати трьох груп дослідників щодо частоти мутацій генів

BRCA у хворих на РМЗ. Слід зауважити, що у двох із них [2, 57] наявність мутації гена *BRCA* визначали не молекулярно-генетичним, а імуногістохімічним методом (за відсутністю експресії білків *BRCA*), що не дає можливості визначити конкретну мутацію гена і адекватно порівняти результати різних досліджень. За даними Н.В. Бородай, мутації *BRCA1* відповідальні за виникнення захворювання у 12 з 15 (80%) обстежених хворих зі спадковим РМЗ і у 19 з 26 (73%) при сімейному РМЗ [2]. Натомість у дисертаційній роботі Расса Хоссейна описано молекулярно-генетичний метод, за допомогою якого вивчали частоту трьох мутацій — 5382insC та 185delAG у гені *BRCA1* і 6174delT у гені *BRCA2* (саме вони найпоширеніші в популяції євреїв-ашкеназі). При обстеженні 120 хворих на РМЗ мутації *BRCA1/2* були виявлені у 13 (11,40%). У 10 пацієнток була виявлена мутація 5382insC у гені *BRCA1* (8,33%), у 2 пацієнток (із 45 обстежених) — мутація 185delAG у гені *BRCA1* (4,44%), у 1 пацієнтки (із 49 обстежених) — мутація 6174delT у гені *BRCA2* (2,04%) [15].

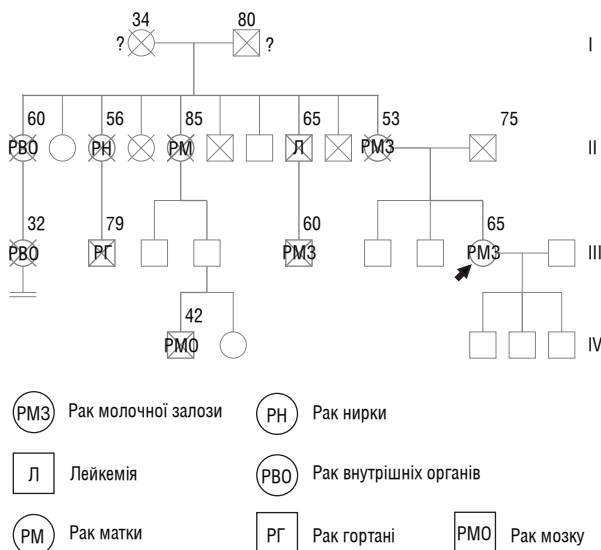


Рисунок. Родовід пробанда **В.** — злоякісні пухлини в родині

Загальновідомим прикладом виникнення мутацій у генах *BRCA* є ефект родоначальника в етнічній популяції євреїв-ашкеназі. Дві найчастіших мутації *BRCA1* 185delAG та *BRCA2* 6174delT трапляються у 2–2,5% членів популяції [24, 45, 50]. Третьою за частотою є мутація *BRCA1* 5382insC, виявлена у 0,12–0,32% популяції євреїв-ашкеназі [25, 50]. Натомість у сім'ях з Центральної та Західної Європи з численними випадками РМЗ та РЯ остання зі згаданих мутацій трапляється в 2–4 рази частіше, ніж 185delAG [30].

За підсумком 6 досліджень, у Росії було виявлено 23 родини з мутаціями *BRCA1*, причому в 16 випадках це була мутація *BRCA1* 5382insC [5, 11, 12, 27, 28, 53]. За даними ще двох інших російських досліджень, зазначена мутація трапляється в 94% усіх виявлених носіїв мутацій *BRCA1* [39, 49]. Ця мутація переважає і серед хворих з деяких інших кра-

їн Європи — Литви (63%) [22], Чехії (37–40%) [26, 41], Німеччини (22%) [42]. R. Janavičius [34] підсумував дані щодо найчастіших мутацій у різних країнах і етнічних групах Європи: у 13 з 28 проаналізованих (зокрема, у всіх найближчих сусідів України) мутація *BRCA1* 5382insC була переважаючою за частотою. Жодна інша мутація (у тому числі *BRCA1* 185delAG) не мала такої поширеності. За даними метааналізу F. Wang та співавторів [55], в якому підсумовано 29 досліджень з усього світу, спадковий РМЗ найчастіше зумовлений мутацією *BRCA1* 5382insC. Крім того, до поширених належать мутації *BRCA1* 185delAG, 3819del5, 4153delA та *BRCA2* 4075delGT та 5802del4. У 2011 р. польські генетики [20] повідомили результати великого аналізу поширеності мутацій *BRCA1* у 7 різних провінціях країни (обстежено понад 16 тис. анонімних здорових осіб і 1845 хворих на РМЗ без врахування сімейного анамнезу). Абсолютну більшість серед мутацій становила *BRCA1* 5382insC — її виявили в 0,17% здорових і 1,9% загальної групи хворих на РМЗ.

Деякі вчені припускають, що біологічні особливості спадкового РМЗ можуть бути зумовлені не тільки місцем проживання, а й етнічним походженням хворих [10]. У більшості публікацій (крім широковідомих досліджень, проведених серед євреїв-ашкеназі) не вказується етнічний розподіл носіїв мутацій *BRCA*. Відносно ж вища частота мутацій, яка виявлена в Росії, може пояснюватися і тим, що більшість досліджених там хворих були жителями Москви і Санкт-Петербурга, у яких частка єврейського населення відносно вища, ніж в усій Росії (0,8% проти 0,2%) [8].

Щодо України, то за даними перепису 1897 р., на українських землях мешкало понад 3 млн євреїв, і усі вони вважали себе ашкеназі. У наступні роки чисельність єврейського населення значно зменшилася внаслідок міграційних та етнічних процесів (передусім холокосту в роки Другої світової війни) [9]. За даними Всеукраїнського перепису населення 2001 р., євреї становили 0,2% (103,3 тис.), що уп'ятеро менше, ніж у 1989 р. На Львівщині частка євреїв менша за 0,2%, тоді як у Києві, наприклад, становить 0,7%. Галичина є одним із найодноманітніших з етнічної точки зору регіонів України, де майже 95% становлять українці і лише 3 етнічні групи (росіяни, білоруси і поляки) перевищують 0,2%. Відносно менша частка етнічної групи, яка характеризується високою частотою мутацій *BRCA*, може своєю чергою зменшувати ймовірність виявлення вказаних мутацій у хворих Львівщини [13].

На сьогодні відомо багато різних мутацій генів *BRCA1/2*. Визначення первинної послідовності ДНК методом секвенування генів дає можливість визначити будь-які мутації (у тому числі дотепер невідомі) названих генів. Наприклад, у сестри-близнючки нашої хворої X у Великобританії виявлено рідкісну мутацію гена *BRCA2* с.6405_6409delCTTAA (р.Asn2135fs). Проте ми не пов'язуємо низьку час-

тоту мутації в обстеженій групі пацієнток із аналізованим спектром, бо вивчали 10 найпоширеніших у нашому регіоні та Європі мутацій. Врешті, виявлені нами мутації (двічі *BRCA1* 5382insC та *BRCA1* 185delAG) є серед найпоширеніших у Центральній і Східній Європі.

З іншого боку, активно дискутується питання спадкових, але *BRCA*-незалежних (так званих *BRCAx*) пухлин, коли є чіткі ознаки спадкового РМЗ, а мутації генів *BRCA1/2* не виявлені. Мутації *BRCAx*-генів можуть спричиняти не менше 70% спадкового РМЗ [43]. Сучасні методи молекулярної біології дають можливість розділити їх на кілька підгруп [32]. Можна припустити, що значна частина наших обстежених належить саме до групи *BRCAx*, оскільки за наявності сімейного анамнезу щодо РМЗ у 75 пацієнток із 78 не було виявлено жодної із 10 досліджуваних нами мутацій, які спричиняють абсолютну більшість *BRCA*-залежних РМЗ у Центральній і Східній Європі.

Сім'ї зі спадковою схильністю, зумовленою успадкуванням *BRCA*-мутації, гетерогенні як щодо обтяженості на РМЗ або РЯ, так і за кількістю хворих на рак членів сім'ї. Ці родини можуть різнитися за наявністю мутації в одному з генів схильності, властивістю самої мутації, а також успадкуванням інших низькопенетрантних генетичних варіантів. Дуже актуальним є вивчення генетичних причин модифікації ризику виникнення РМЗ або РЯ.

Серед обстежених нами 78 жінок із обтяженим сімейним анамнезом щодо РМЗ і РЯ у 13 пацієнток (16,7%) мали місце одночасно 2 або 3 критерії спадкового РМЗ (за наведеними раніше критеріями Р.Ф. Гарькавцевої і Н. Lynch [4, 40]), проте лише у 3 (3,8%) було діагностовано мутації в гені *BRCA1*. У 10 (12,8%) пацієнток (4 з них віком до 40 років та 6 віком 50 років і старші) мутації *BRCA1/2* не були виявлені; можливо, це були пацієнтки з *BRCAx*.

З трьома ознаками спадкового РМЗ [4] в обстеженій нами групі було 5 жінок, включаючи пацієнтку А. з діагностованою мутацією *BRCA1*. У 8 випадках пацієнтки відповідали двом критеріям спадкового РМЗ (без ознаки маніфестації захворювання в молодому віці); лише у 2 з них було виявлено мутації (діагноз раку встановлено у них у віці 54 і 59 років), а ще у 6 жінок (віком 50 років і старших) мутації не були виявлені. У решти 65 (83,3%) пацієнток ймовірно були сімейні випадки даного захворювання, хоча зустрічався ранній вік початку хвороби, вертикальний або горизонтальний тип передачі хвороби, а кількість хворих родичів із РМЗ і/або РЯ, окрім пробанда, становила 1–2 випадки.

Оскільки проведення молекулярно-генетичного тестування генів *BRCA1/2* залишається дорогим, вважаємо, що рекомендації такого тестування хворій доцільні лише за умови добре зібраного клініко-генеалогічного анамнезу і наявності певних клінічних характеристик, які дають можливість запідозрити спадковий РМЗ (сімейний харак-

тер накопичення, білатеральний РМЗ, РМЗ у родичів чоловічої статі, молодий вік тощо). Дуже важливими є морфологічні характеристики (зокрема рецепторний статус) пухлин, що є темою для окремого детального розгляду.

ВИСНОВКИ

1. Вперше в Україні досліджено широкий спектр мутацій *BRCA1/2* — 7 мутацій у гені *BRCA1* (185delAG, 4153delA, 5382InsC, 188del11, 5396+1G>A, 185InsA, 5331G>A) і 3 мутації у гені *BRCA2* (6174delT, 6293C>G, 6024delTA) у хворих на РМЗ і РЯ. Спектр виявлених нами мутацій узгоджується зі спектром, який спостерігали в Україні і сусідніх країнах інші групи дослідників.

2. Частота мутацій генів *BRCA1/2* серед 78 хворих на РМЗ і РЯ із обтяженим сімейним анамнезом становить 3,8% (3 випадки) і є дещо нижчою, ніж в інших дослідженнях, які проводили в Україні та сусідніх країнах (Росії, Польщі).

3. У 2 випадках діагностована мутація гена *BRCA1* (5382InsC), а в 1 — *BRCA1* 185delAG. У кожній з цих родин було ще принаймні по 2 випадки РМЗ або РЯ.

4. Проаналізовані нами на наявність мутацій генів *BRCA1/2* хворі з РМЗ та РЯ належать до різних груп: спадкового *BRCA1/2*-залежного (3,8%), спадкового *BRCAx*-залежного (12,8%) та сімейного (83,3%).

5. Детальний клініко-генеалогічний аналіз є визначальним для призначення молекулярно-генетичного дослідження.

ЛІТЕРАТУРА

1. Апанович НВ, Поспехова НИ, Логинова АН і др. Определение протяженных делеций в гене *BRCA1* при семейной форме рака молочной железы/яичников среди российских больных. Мед. генет. 2009; (9): 25–31.
2. Бородай НВ, Дацюк Ю, Лук'янова НЮ та ін. Спадковий рак молочної залози: клінічні, морфологічні та імуногістохімічні особливості. Онкологія 2007; 9 (2): 105–9.
3. Рак в Україні 2009–2010. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби. Бюл нац канцерреєстру в Україні 2011; (12): 50–1.
4. Гарькавцева РФ, Казубская ТП, Любченко ЛН і др. Наследственный рак: идентификация, генетическая гетерогенность, медико-генетическое консультирование. Вестн РАМН 2001; (9): 27–32.
5. Грудниина НА, Голубков ВИ, Татищева ЮА і др. Успехи в молекулярной диагностике наследуемых форм рака молочной железы в Санкт-Петербурге. В: Научн-практ симпозиум «Технологии генодиагностики в практическом здравоохранении» в рамках Международной конференции «Геномика, протеомика и биоинформатика для медицины», Москва 20–21 июня 2002 г. Сб трудов симпозиума. М, 2002: 165–7.
6. Иванов ВГ. Эпидемиологические факторы риска, ранняя диагностика рака молочной железы. Практ онкол 2002; 3 (1): 1–5.
7. Имянитов ЕН. Наследственный рак молочной железы. Практ онкол 2010; 11 (4): 258–66.
8. Итоги Всероссийской переписи населения 2002 года (В 14 т.). М, 2004.
9. Кабузан ВМ, Наулко ВІ. Євреї на Україні, в СРСР і світі: чисельність і розміщення. Укр істор ж 1991; (6): 56–68.

10. Логинова АН, Поспелова НИ, Любченко ЛН і др. Спектр мутаций в гене *BRCA1* при наследственных формах рака молочной железы и яичников в российских семьях. БЭБМ 2003; 136 (9): 315–7.

11. Мандельштам МЮ, Голубков ВИ, Ламбер ЕП і др. Поиск часто встречающихся мутаций в генах предрасположенности к раку молочной железы. Генетика 2001; 37 (12): 1681–6.

12. Мандельштам МЮ, Голубков ВИ, Ламбер ЕП і др. Частая мутация гена *BRCA1* у больных с семейными формами рака молочной железы в России. Тихоокеанский мед ж 2002; 1 (8): 59–60.

13. Національний склад населення України та його мовні ознаки, за даними Всеукраїнського перепису населення 2001 року/ За ред: ОГ Осауленка / К: Держкомстат, 2003; 245 с.

14. Петровська М. Оцінка сучасного медико-демографічного стану у Львівській області. Економічна та соціальна географія. Наук запис 2011; (1): 6.

15. Раци Х. Молекулярно-генетичні маркери раку молочної залози у осіб різних вікових груп [Автореф дис ... канд біол наук]. Київ: Наук. центр рад. мед. АМНУ, 2008. 20 с.

16. Фарахтидинова АР, Федорова СА, Николаева ТИ і др. Анализ мутаций в генах *BRCA1*, *CHEK2*, *NBS1* у больных раком молочной железы из республики Саха (Якутия). Якут мед ж 2009; 2: 91–3.

17. Abeliovich D, Kaduri L, Lerer I, et al. The founder mutation 185delAG and 5382insC in *BRCA1* and 6174delT in *BRCA2* appear in 60% of ovarian cancer and 30% of early-onset breast cancer patients among Ashkenazi women. Am J Hum Genet 1997; 60: 505–14.

18. Balmana J, Diez O. BRCA in breast cancer: ESMO Clinical Recommendations. Ann Oncol 2009; 20 (Suppl 4): 19–20.

19. Bergthorsson JT, Ejertsen B, Olsen JH, et al. *BRCA1* and *BRCA2* mutations status and cancer family history of Danish women affected with multifocal or bilateral breast cancer at a young age. J Med Genet 2001; 38: 361–8.

20. Brozek I, Cybulska C, Ratajska M, et al. Prevalence of the most frequent BRCA1 mutations in Polish population. J Appl Genet. 2011; 52 (3): 325–30.

21. Conzen SD, Grushko TA, Olopade OI. The Molecular Biology of Breast Cancer. Devita, Hellman & Rosenberg's Cancer: Principles & Practice of Oncology. 8th Edition, 2008: 1595–654.

22. Csokay B, Tihomirova L, Stengrevics A, et al. Strong founder effects in BRCA1 mutation carrier breast cancer patients from Latvia. Hum Mutat 1999; 14: 92.

23. Dzian A, Halasova E, Matakova T, et al. Lung Adenocarcinoma and Squamous Cell Carcinoma in association with Genetic Polymorphisms of GSTs in Slovak Population. Neoplasma 2012; 59 (2): 160–7.

24. Ferla R, Calò V, Cascio S, et al. Founder mutations in *BRCA1* and *BRCA2* genes. Ann Oncol 2007; 18 (Suppl 6): vi93–vi98.

25. Fodor FH, Weston A, Bleiweiss IJ, et al. Frequency and carrier risk associated with common *BRCA1* and *BRCA2* mutations in Ashkenazi Jewish breast cancer patients. Am J Hum Genet 1998; 63: 45–51.

26. Foretova L, Machackova E, Navratilova M, et al. *BRCA1* and *BRCA2* mutations in women with familial or early-onset breast/ovarian cancer in the Czech Republic. Hum Mutat 2004; 23: 397–8.

27. Gayther SA, Harrington P, Russell P, et al. UKCCCR Familial Ovarian Cancer Study Group. Rapid detection of regionally clustered germ-line BRCA1 mutations by multiplex heteroduplex analysis. Am J Hum Genetics 1996; 58: 451–6.

28. Gayther SA, Harrington P, Russell P, et al. Frequently occurring germ-line mutations of the BRCA1 gene in ovarian cancer families from Russia. Am J Hum Genetics 1997; 60: 1239–42.

29. Ginsburg OM, Dinh NV, To TV, et al. Family history, BRCA mutations and breast cancer in Vietnamese women. Clin Genet 2011; 80 (1): 89–92.

30. Hall MJ, Reid JE, Burbidge LA, et al. *BRCA1* and *BRCA2* mutations in women of different ethnicities undergoing testing for hereditary breast-ovarian cancer. Cancer 2009; 115: 2222–33.

31. Hamel N, Feng BJ, Foretova L, *et al.* On the origin and diffusion of *BRCA1*c.5266dupC (5382insC) in European populations. *Eur J Hum Genet* 2011; **19** (3): 300–6.

32. Hedenfalk I, Ringner M, Ben-Dor A, *et al.* Molecular classification of familial non-*BRCA1/BRCA2* breast cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003; **100** (5): 2532–7.

33. <http://www.lv.ukrstat.gov.ua/ukr/si/express/2011>

34. Janavicius R. Founder *BRCA1/2* mutations in the Europe: implications for hereditary breast-ovarian cancer prevention and control. *EPMA J* 2010; **1**: 397–412.

35. Julian-Reynier C. Genetic predisposition to breast and ovarian cancer: importance of test results. *Med Sci (Paris)* 2011; **27** (6–7): 657–61.

36. Kadaoui N, Guay M, Baron G, *et al.* Breast cancer screening practices for women aged 35 to 49 and 70 and older. *Can Fam Physician* 2012; **58** (1): 47–53.

37. Knudson AG. Genetics of Human Cancer. *Ann Rev Genet* 1986; **20**: 231–51.

38. Knudson AG. Cancer genetics. *Am J Med Genet* 2002; **111** (1): 96–102.

39. Loginova AN, Pospekhova NI, Lyubchenko LN, *et al.* Spectrum of mutations in *BRCA1* gene in hereditary forms of breast and ovarian cancer in Russian families. *Bull Exp Biol Med* 2003; **136**: 276–8.

40. Lynch H, Marcus J, Watson P, *et al.* Familial and hereditary breast cancer. *Endocrine-Related Cancer*. Amsterdam 1989: 9–15.

41. Machackova E, Foretova L, Lukesova M, *et al.* Spectrum and characterisation of *BRCA1* and *BRCA2* deleterious mutations in high-risk Czech patients with breast and/or ovarian cancer. *BMC Cancer* 2008; **8**: 140.

42. Meindl A. German Consortium for Hereditary Breast and Ovarian Cancer. Comprehensive analysis of 989 patients with breast or ovarian cancer provides *BRCA1* and *BRCA2* mutation profiles and frequencies for the German population. *Int J Cancer* 2002; **97**: 472–80.

43. Melchor L, Honrado E, Huang J, *et al.* Estrogen receptor status could modulate the genomic pattern in familial and sporadic breast cancer. *Clin Cancer Res* 2007; **13** (24): 7305–13.

44. Narod SA, Rodríguez AA. Genetic predisposition for breast cancer: *BRCA1* and *BRCA2* genes. *Salud Publica Mex* 2011; **53** (5): 420–9.

45. Neuhausen SL, Ozcelik H, Southey MC, *et al.* *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers in the Breast Cancer Family Registry: an open resource for collaborative research. *Breast Cancer Family Registry*. *Breast Cancer Res Treat* 2009; **116**: 379–86.

46. Nicholson S, Whitehouse H, Naidoo K, *et al.* Yin yang 1 in human cancer. *Crit Rev Oncog* 2011; **16** (3–4): 245–60.

47. Ratajska M, Brozek I, Senkus-Konefka E, *et al.* *BRCA1* and *BRCA2* point mutations and large rearrangements in breast and ovarian cancer families in Northern Poland. *Oncol Rep* 2008; **19** (1): 263–8.

48. Smith KL, Isaacs C. *BRCA* mutation testing in determining breast cancer therapy. *Cancer J* 2011; **17** (6): 492–9.

49. Sokolenko AP, Mitiushkina NV, Buslov KG, *et al.* High frequency of *BRCA1* 5382insC mutation in Russian breast cancer patients. *Eur J Cancer* 2006; **42**: 1380–84.

50. Struwing JP, Hartge P, Wacholder S, *et al.* The risk of cancer associated with specific mutations of *BRCA1* and *BRCA2* among Ashkenazi Jews. *N Engl J Med* 1997; **336**: 1401–1408.

51. Suspitsin EN, Sherina NY, Ponomariova DN, *et al.* High frequency of *BRCA1*, but not *CHEK2* or *NBS1* (*NBN*), founder mutations in Russian ovarian cancer patients. *Hered Cancer Clin Pract* 2009; **7** (1): 5.

52. Tan MH, Mester JL, Ngeow J, *et al.* Lifetime Cancer Risks in Individuals with Germline *PTEN* Mutations. *Clin Cancer Res* 2012; **18** (2): 400–7.

53. Tereschenko IV, Basham VM, Ponder BA, Pharoah PD. *BRCA1* and *BRCA2* mutations in Russian familial breast cancer. *Hum Mutat* 2002; **19** (2): 184.

54. Tonin PN. The limited spectrum of pathogenic *BRCA1* and *BRCA2* mutations in the French Canadian breast and breast-ovarian cancer families, a founder population of Quebec, Canada. *Bull Cancer* 2006; **93** (9): 841–6.

55. Wang F, Fang Q, Ge Z, *et al.* Common *BRCA1* and *BRCA2* mutations in breast cancer families: a meta-analysis from systematic review. *Mol Biol Rep* 2012; **39** (3): 2109–18.

56. Yoon SY, Thong MK, Taib NA, *et al.* Genetic counseling for patients and families with hereditary breast and ovarian cancer in a developing Asian country: an observational descriptive study. *Fam Cancer* 2011; **10** (2): 199–205.

57. Zakhartseva LM, Gorovenko NG, Podolskaya SV, *et al.* Breast cancer immunohistochemical features in young women with *BRCA 1/2* mutations. *Exp Oncol* 2009; **31** (3): 174–8.

ANALYSIS OF MUTATIONS IN *BRCA1/2* GENE IN PATIENT WITH FAMILY/HEREDITARY BREAST CANCER FROM LVIV REGION (UKRAINE)

N. Kitsera, Ya. Shparyk, B. Bilynskyi,
O. Tril, M. Mashalyga, O. Oleksyak, T. Kachmar,
E. Kosenko, N. Lukavetskyi, I. Dovganuk,
A. Kashyn, A. Sholokh

Summary. *The most common mutations in the genes BRCA1/2 among women with breast cancer (BC) and ovarian cancer (OC) who are burdened with family history of this pathology were analyzed. 78 patients pedigrees and DNA samples were studied Using molecular-genetic method it was determined the presence of seven mutations in the gene BRCA1 (185delAG, 4153delA, 5382InsC, 188del11, 5396+G>A, 185InsA, 5331 G>A) and 3 gene mutations in BRCA2 (6174delT, 6293S>G, 6024delTA). Mutations in the genes BRCA1/2 were found in 3 patients (3.8%). In 2 cases diagnosed mutation of the gene BRCA1 (5382InsC), and one — BRCA1 185delAG. In each of these families were still at least 2 cases of BC or OC. The spectrum of detected mutations is consistent with the spectrum that is observed in Ukraine and neighboring countries. We analyzed the presence of mutations of genes BRCA1/2 patients with BC and OC refer to different groups: the hereditary BRCA1/2- (3.8%), BRCAx- (12.8%) and family (83.3 %). Good collected clinical and genealogical analysis is crucial for the purpose of molecular genetic research.*

Key Words: breast cancer, mutation *BRCA1/2*, women, family tree, Lviv region (Ukraine).

Адреса для листування:

Кіщера Н.І.
79008, Львів, МСП-169, вул. Лисенка, 31а
ДУ «Інститут спадкової патології АМН України»
E-mail: nkitsera@gmail.com