

ИССЛЕДОВАНИЕ ЧАСТОТЫ МУТАЦИЙ ГЕНОВ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К РАКУ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ BRCA1, BRCA2 И CHEK2 У ОБЛУЧЁННЫХ ЖЕНЩИН

Проанализировано состояние генов BRCA1/2 и CHEK2 у облучённых женщин с раком молочной железы и облучённых женщин без онкологических патологий, а также у женщин-потомков I поколения от облучённых родителей в отдалённые сроки после радиационного воздействия. Не выявлено повышения частоты мутаций в изученных генах в исследуемых группах женщин.

Ключевые слова: рак молочной железы, гены предрасположенности, хроническое радиационное воздействие, ПЦР-амплификация.

Введение. Рак молочной железы является актуальной проблемой онкологии в связи с высоким ростом заболеваемости. Существуют как спорадические, так и генетически детерминированные случаи рака молочной железы. Причины возникновения данной онкологической патологии разнообразны. К ним относятся факторы, характеризующие функционирование репродуктивной системы организма женщины (менструальная, половая, детородная, лактационная функции, а также сопутствующие заболевания женской половой сферы) [1]. Также причинами развития рака могут быть как наследуемые мутации в генах предрасположенности (15 % случаев), так и мутации, возникшие под влиянием внешних факторов. Герминальные мутации таких генов, как BRCA1, BRCA2 и CHEK2, составляют около 45 % случаев наследственного рака молочной железы. Воздействие ионизирующей радиации играет большую роль в инициации и развитии рака молочной железы.

Гены BRCA1 и BRCA2 являются опухолевыми супрессорами, отвечают за ДНК-репарацию, выступают в качестве регуляторов транскрипции генов, участвуют в поддержании целостности генома, принимают участие в активации гена p53 и его гена-мишени p21 [2; 3]. Ген CHEK2 также является супрессором опухолевого роста, участвует в поддержании целостности генома, обладая киназной активностью, фосфорилирует множество белков, в частности p53 и BRCA1. При участии гена CHEK2 осуществляются такие защитные реакции, как остановка клеточного цикла, репарация ДНК и апоптоз [4].

Целью данного исследования является оценка частоты мутаций в генах предрасположенности к раку молочной железы BRCA1, BRCA2 и CHEK2 у женщин, подвергшихся хроническому радиаци-

онному воздействию в результате деятельности производственного объединения «Маяк».

Материалы и методы. Радиоактивные сточные воды ПО «Маяк» сбрасывались в р. Течу с 1949 г. Это привело к сильному радиоактивному загрязнению речной системы и облучению жителей прибрежных населённых пунктов [5].

Для обнаружения мутаций в генах BRCA1/2 было сформировано 4 группы: облучённые женщины с раком молочной железы, облучённые женщины без онкопатологии, необлучённые женщины и женщины — потомки I поколения от облучённых родителей. К каждой облучённой женщине с раком молочной железы методом «копия—пара» была подобрана облучённая женщина без рака и контроль. Женщины внутри каждой группы были одного возраста, национальности и проживали в сходных условиях. Для исследования генов CHEK2 было сформировано 2 группы: облучённые женщины и необлучённые женщины сходного возраста, национальности и условий жизни. Возраст людей определён на момент забора крови, который проводился через 50 лет после облучения.

Проводилось выделение ДНК из клеток венозной крови (1 мл) с помощью наборов «ДНК-экспресс-кровь» («Литех», Россия), ПЦР-амплификация исследуемых фрагментов ДНК (тест-системы «SNP-экспресс», ООО «Литех»), а затем горизонтальный электрофорез в агарозном геле. Окраска гелей производилась бромистым этидием с дальнейшей УФ-детекцией.

Статистический анализ проводился с использованием программы SPSS v.13. Для анализа частоты гинекологических заболеваний, частоты мутаций, для сравнения репродуктивной функции в группах, для определения зависимости частоты мутаций от полученной дозы использовался U-критерий Манна — Уитни.

Результаты и обсуждение. Было проведено сравнение частот мутаций в группе облучённых женщин с раком молочной железы с группой облучённых женщин без онкологических патологий и группой необлучённых (табл. 1).

Не выявлено достоверных различий в частоте мутаций в генах BRCA1/2 в группах женщин, подвергшихся хроническому облучению, с реализованным раком молочной железы по сравнению с облучёнными женщинами без онкологических патологий и группой необлучённых.

В связи с тем, что мутации в генах BRCA1 и BRCA2 являются герминальными, возникая в родительских клетках, они передаются следующему поколению. Поэтому были исследованы жен-

щины-потомки I поколения от облучённых родителей (табл. 2). Все мутации гена BRCA1 найдены в локусе 5382insC, что согласуется с данными о распространённости этой мутаций в России и Восточной Европе [6].

Была обнаружена 1 мутация 1100delC в группе облучённых женщин. Частота на группу составила 2,6 %.

В ходе нашей работы была исследована частота гинекологических заболеваний и репродуктивная функция у женщин (табл. 3).

Отмечено, что количество родов в группе облучённых с раком молочной железы достоверно ниже по сравнению с группой облучённых без рака и группой необлучённых.

Таблица 1

Частота мутаций в генах BRCA1 и BRCA2

Группа	Кол-во человек	Количество мутаций				Всего мутаций	Частота мутаций, %
		BRCA1			BRCA2		
		5382 insC	185 delAG	4153 delA	6174 delT		
Облучённые с с-г	40	2	0	0	0	2	5
Облучённые без с-г	40	1	0	0	0	1	2,5
Необлучённые	40	1	0	0	0	1	2,5

Таблица 2

Частота мутаций в генах BRCA1/2 в группах облучённых женщин и женщин-потомков I поколения от облучённых родителей

Группа	Кол-во человек	Количество мутаций				Всего мутаций	Частота мутаций, %
		BRCA1			BRCA2		
		5382 insC	185 delAG	4153 delA	6174 delT		
Все облучённые	80	3	0	0	0	3	3,75
Потомки I поколения	37	2	0	0	0	2	5,40

Таблица 3

Репродуктивная функция у исследуемых женщин

Параметр	Облучённые с с-г	Облучённые без с-г	Необлучённые
Средний возраст начала менструации, лет	15,8±0,6 ($y = 1,9$) (13–18)	16,1±0,5 ($y = 1,6$) (14–18)	15,3±0,4 ($y = 2,2$) (13–18)
Средний возраст менопаузы, лет	49,1±0,9 ($y = 2,4$) (45–52)	48,5±1,3 ($y = 3,7$) (40–52)	47,8±0,9 ($y = 5,1$) (42–50)
Среднее число родов	2,5±0,3 ($y = 1,9$)* (1–9)	3,3±0,3 ($y = 2,2$)** (1–10)	3,9±0,4 ($y = 2,0$) (2–9)
Среднее число абортотв	6,6±1,8 ($y = 5,0$) (2–17)	6,8±0,8 ($y = 2,7$) (1–10)	6,4±0,7 ($y = 3,8$) (2–10)
Среднее число выкидышей	1,5±0,5 ($y = 0,7$) (1–2)	1,0±0,5 ($y = 0,7$) (0–1)	1,7±0,7 ($y = 1,1$) (1–3)

* $p = 0,01$ — при сравнении группы облучённых с с-г с контрольной группой;

** $p = 0,034$ — при сравнении групп облучённых с с-г и облучённых без с-г.

Таблица 4

Зависимость частоты мутаций от дозы облучения

Параметр	Облучённые с с-г (n = 40)		Облучённые без с-г (n = 40)		Необлучённые
	Доза, Гр		Доза, Гр		
	< 0,05	> 0,05	< 0,05	> 0,05	
Количество человек	23 (57,6 %)	17 (42,4 %)	30 (75 %)	10 (25 %)	40
Количество мутаций	1	1	1	0	1

По остальным критериям статистически значимых различий между группами не обнаружено.

Не обнаружено статистически значимых различий в группах по частоте гинекологических заболеваний. Однако в группе потомков снижена частота воспалительных заболеваний, что можно объяснить более молодым возрастом женщин, входящих в данную группу.

Выводы и заключение. 1. Не выявлено повышения частоты мутаций в генах предрасположенности к раку молочной железы BRCA1 и BRCA2 в исследуемых группах облучённых женщин с реализованным раком молочной железы по сравнению с облучёнными женщинами без онкологической патологии и необлучёнными женщинами.

2. Не обнаружено повышения частоты мутаций в исследуемых генах у женщин-потомков I поколения от облучённых родителей по сравнению с облучёнными женщинами.

3. Не выявлено повышения частоты мутаций в гене CHEK2 у облучённых женщин по сравнению с группой необлучённых.

4. Не выявлено зависимости частоты рака молочной железы от патологии репродуктивной системы у облучённых женщин.

5. Не выявлено зависимости частоты мутаций в исследуемых группах от полученной дозы облучения (табл. 4).

Можно предположить, что случаи рака молочной железы у женщин, подвергшихся радиационному воздействию, обусловлены преимущественно не мутациями в генах предрасположенности к данному типу рака BRCA1/2 и CHEK2, а воздей-

ствием внешних факторов, в частности ионизирующего излучения, которое играет важную роль в инициации и промоции рака молочной железы.

Список литературы

1. Dunning, A. M. Common BRCA1 variants and susceptibility to breast and ovarian cancer in the general population / A. M. Dunning, M. Chiano, N. R. Smith [et al.] // Hum. Molec. Genet. 1997. Vol. 6. P. 425–436.
2. Wang, Y. BASC, a super complex of BRCA1-associated proteins involved in the recognition and repair of aberrant DNA structures // Genes Dev. 2000. Vol. 14. P. 927–939.
3. Welsh, P. L. BRCA1 and BRCA2 and the genetics of breast and ovarian cancer / P. L. Welsh, M. C. King // Hum. Molec. Genet. 2001. Vol. 10. P. 705–713.
4. Meijers-Heijboer, H. Low-penetrance susceptibility to breast cancer due to CHEK2(*)1100delC in non-carriers of BRCA1 or BRCA2 mutations / H. Meijers-Heijboer, A. van den Ouweland, J. Klijn [et al.] // Nat. Genet. 2002. Vol. 31. P. 55–59.
5. Медико-биологические и экологические последствия радиоактивного загрязнения реки Течи / под ред. А. В. Аклеева, М. Ф. Киселёва. М., 2001. С. 24–27.
6. Карпухин, А. В. Частоты олигонуклеотидных полиморфизмов и мутаций в гене BRCA 1 при наследственно обусловленном раке молочной железы и/или яичников / А. В. Карпухин, Н. И. Поспехова, Л. Н. Любченко [и др.] // Докл. Акад. наук. 2002. Т. 383, № 5. P. 1–4.