

УДК [618.19+618.11]-006.6-056.7-07

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ В ДИАГНОСТИКЕ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К НАСЛЕДСТВЕННОМУ РАКУ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ЯИЧНИКОВ У ЗДОРОВЫХ ЛИЦ В БЕЛОРУССКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

И.А. Курстак¹, С.А. Ляликов¹, О.Е. Кузнецов², М.В. Ершова²¹-УО "Гродненский государственный медицинский университет", Гродно, Беларусь²-УЗ "Гродненская областная клиническая больница", Гродно, Беларусь

Герминальные мутации гена BRCA обуславливают предрасположенность к раку молочной железы (РМЖ) и яичников (РЯ) в 80-90% случаев.

Объектом исследования при выполнении данной работы явились 417 человек, не имеющие онкологических заболеваний, которые были отобраны случайным образом (популяционный скрининг).

Методы исследования: статистический (анкетирование), молекулярно-биологический (полимеразная цепная реакция).

Риск обнаружения мутаций в генах BRCA у здоровых лиц в белорусской популяции повышается при наличии в роду двух и более родственниц I-II степени родства с онкопатологией, у одной из которых обязательно рак яичника или рак молочной железы; при существовании только одной родственницы с РЯ или РМЖ и отсутствии любой другой онкопатологии в семье; при любой онкопатологии, исключая РЯ и/или РМЖ, у членов семьи. Оптимальным возрастным критерием для отнесения здоровых лиц в группу риска по выявлению мутаций в генах BRCA является возраст возникновения РМЖ и/или РЯ у родственницы младше 44 лет.

Ключевые слова: рак молочной железы, рак яичника, мутация, BRCA, здоровые, прогноз.

Введение

В мире каждый год регистрируется около 8 миллионов новых случаев злокачественных новообразований, в Беларуси в 2011 году выявлено 44109 больных с диагнозом злокачественного новообразования, установленным впервые в жизни. Среди женского населения республики наиболее часто встречается рак молочной железы (РМЖ). Заболеваемость данной онкопатологией в 2011г. составила 76,7 вновь выявленных случаев на 100 тысяч женского населения [2,5]. В структуре онкологической заболеваемости женщин рак яичника (РЯ) занимает седьмое место [1]. Широкая распространенность онкологических заболеваний делает актуальным вопрос изучения профилактики и ранней диагностики злокачественных опухолей. Большую роль в развитии РМЖ и РЯ играют факторы внешней среды и особенности функционирования репродуктивной системы женщины. Однако, по литературным данным, от 10% до 60% диагностированного рака молочной железы и рака яичников следует отнести к наследственным формам [9].

Герминальные мутации в генах BRCA обуславливают наследственную предрасположенность к РМЖ и РЯ [16]. Эти гены высоко пенетрантны: по данным американских авторов, вероятность развития РМЖ у женщин-носительниц мутаций в гене BRCA1 на протяжении жизни составляет 80-85%. Пенетрантность данных генов зависит от возраста женщины (56-87% риска развития РМЖ в возрасте 70 лет и 33-50% - в возрасте 50 лет) [8,11].

Поиск мутаций в данных генах у здоровых лиц дает возможность сформировать группу с наследственной предрасположенностью к раку молочной железы и яичников и в данной группе проводить мероприятия, направленные на предупреждение развития и раннее выявление онкологической патологии [3,15]. Однако единого подхода в формировании группы риска среди здоровых лиц в популяции нет. Учеными разных стран на протяжении последних десяти лет сформулированы критерии для постановки генетического диагноза наследственного РМЖ и/или РЯ. Они очень разнообразны и базируются,

в основном, на количестве в семье родственниц I-II степени родства, страдающих РМЖ и/или РЯ; раннем возрасте манифестации заболевания у родственников и первичной множественности новообразований; наличии родственника первой степени родства, страдающего РМЖ и РЯ одновременно; обнаружении рака грудной железы в роду у мужчины [4,12,13]. Однако все вышеуказанные критерии для выявления наследственной предрасположенности к РМЖ и/или РЯ установлены эмпирически.

Цель исследования: объективно оценить прогностическую значимость клинико-генетических признаков в диагностике предрасположенности к наследственному раку молочной железы и яичников у здоровых лиц в белорусской популяции.

Материал и методы

Объектом исследования при выполнении данной работы явились 417 волонтеров, отобранные случайным образом, не имеющие онкологических заболеваний. Возраст обследованных составил от 21 до 81 года. Все обследуемые были распределены в 2 группы. Первую группу составили 124 человека, обратившиеся самостоятельно, чтобы обследоваться на наличие мутаций в генах BRCA. Критерием включения в данную группу было наличие РМЖ и/или РЯ у родственников I-II степени родства. Во вторую группу вошли 293 волонтера. Критерием исключения из данной группы было наличие РМЖ и/или РЯ среди их родственников I-II степени родства.

Всем респондентам было проведено анкетирование в Центре диагностики наследственных опухолей УЗ "Гродненская областная клиническая больница". Анкета содержала информацию о количестве случаев онкологических заболеваний в семье, виде онкопатологии и возрасте ее возникновения у родственников с указанием степени родства. Родословная была составлена на основании анамнестических данных о четырех поколениях. Кровь для выявления мутаций забиралась с информированного согласия обследуемого. Всем респондентам выполнено ДНК-тестирование образцов крови на нали-

чие мутаций в генах BRCA1 (185delAG, 300T>G, 4153delA, 5382insC) и BRCA2 (6174delT). Источником ДНК являлись лейкоциты периферической крови. ДНК выделялась с помощью набора реагентов для выделения ДНК из клинического материала "ДНК-сорб-В". Молекулярно-генетическое исследование проводилось методом полимеразной цепной реакции. Электрофоретическое разделение продуктов амплификации осуществлялось в 2% агарозном геле с последующей визуализацией в УФ свете после окрашивания бромидом этидия.

С помощью стандартных методов доказательной медицины были рассчитаны отношение шансов (ОШ), относительный риск (ОР), 95% доверительные интервалы (ДИ) для данных показателей и абсолютное увеличение риска (атрибутивный риск (АР)). Статистический анализ полученных данных проводился с использованием программы Statistica 8.0.

Результаты и обсуждение

Проведено сравнение частоты встречаемости мутаций у 124 здоровых лиц при разном количестве в их семье родственников I-II степени родства с РМЖ и/или РЯ со здоровыми лицами в популяции, у которых отсутствуют родственники с РМЖ и/или РЯ. Распределение мутаций в группах представлено в таблице 1.

Таблица 1 - Характеристика распространенности мутаций генов BRCA у здоровых родственников в зависимости от наличия и отсутствия родственников с РМЖ и/или РЯ в роду

Здоровые лица, у которых:	Мутация в гене BRCA		ОШ	95% ДИ ОШ	ОР	95% ДИ ОР	АР (%)
	есть	нет					
только одна родственница с РМЖ	5	42	4,86	1,48-16,03	4,45	1,35-14,58	77,5
только одна родственница с РЯ	2	16	5,11	0,98-25,57	4,65	0,91-24,04	79,3
две и более родственницы с онкопатологией, хотя бы у одной из которых РМЖ	10	46	8,88	3,22-24,50	7,47	2,71-20,49	86,6
две и более родственницы с онкопатологией, хотя бы у одной из которых РЯ	6	20	12,26	3,46-39,95	9,66	3,03-30,87	89,6
нет родственников с РМЖ и/или РЯ	7	286					

Наибольший риск выявления мутаций у здоровых родственников наблюдался при наличии в роду двух и более родственников с онкопатологией, у одной из которых обязательно РЯ (АР=89,6%; ОР=9,66). Частота встречаемости мутаций у данной категории здоровых родственников составила 23,1%, что достоверно выше, чем у лиц без родственников с РМЖ и/или РЯ - 2,4% ($p < 0,0001$). При наличии только одной родственницы с РМЖ или РЯ у здорового человека вероятность выявления мутации возрастает в 4,45 (ОР=4,45; 95% ДИ 1,35-14,58) и 4,65 (ОР=4,65; 95% ДИ 0,91-24,04) раз, соответственно; двух и более родственниц, если хотя бы у одной из них РМЖ, - в 7,47 (ОР=7,47; 95% ДИ 2,71-20,49) раза.

Популяционная частота встречаемости мутаций у здоровых лиц в разных странах отличается и колеблется от 0,2% до 1,52% [7, 10]. По результатам анкетирования у 81 здорового человека не было родственников в семье с любой онкопатологией, у 212 были родственники I-II степени родства с любой онкопатологией (кроме РМЖ и РЯ). Распределение мутаций в данных двух группах представлено в таблице 2.

Таблица 2 - Характеристика распространенности мутаций генов BRCA у здоровых лиц в зависимости от наличия и отсутствия родственников с любой онкопатологией

Здоровые лица, у которых:	Мутация в гене BRCA		ОШ	95% ДИ ОШ	ОР	95% ДИ ОР	АР (%)
	есть	нет					
есть родственники с любой онкопатологией в семье *	6	206	2,33	0,28-19,68	2,29	0,27-19,29	58,2
нет родственников с любой онкопатологией в семье	1	80					

Примечание: * - у родственников отсутствует РМЖ и РЯ

Частота встречаемости мутаций у здоровых лиц без родственников с онкопатологией в семье составила 1,2%, при наличии любой онкопатологии у членов семьи, связанных родством I-II степени, - 2,8% ($p=0,42$). Наличие у здорового человека родственников I-II степени родства увеличивает риск выявления мутации в 2,33 раза по сравнению со случаем, когда у здорового человека отсутствуют родственники с любой онкопатологией.

По данным литературы, в группу риска по наличию мутаций, предрасполагающих к развитию наследственного РМЖ и/или РЯ, относятся здоровые лица, имеющие родственников, у которых РМЖ и/или РЯ был диагностирован в возрастном интервале от 35 до 50 лет [4, 12, 14]. Однако эти возрастные критерии были определены экспертным путем и не обоснованы статистически. Для определения точки разделения возрастной шкалы и объективной оценки связи возраста возникновения РМЖ и/или РЯ у родственницы с риском обнаружения мутации генов BRCA у здоровых пробандов мы использовали ROC-анализ. Площадь под кривой равна 0,603, 95% ДИ 0,489 - 0,734 ($p=0,14$), т.е. имеется только тенденция к достоверности отличия от нулевой гипотезы ($s=0,5$). Максимально удаленная от диагонали точка на ROC-кривой соответствует возрасту 44 года (чувствительность - 51%, специфичность - 73%) (рисунок 1).

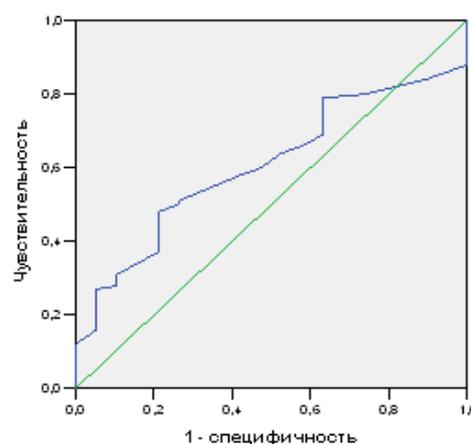


Рисунок 1 - Связь наличия мутации в генах BRCA у здоровых лиц с возрастом возникновения РМЖ и/или РЯ у родственницы

Таким образом, оптимальным возрастным критерием для отнесения здоровых родственников в группу риска по выявлению мутаций в генах BRCA является возраст возникновения РМЖ и/или РЯ у родственницы младше 44 лет.

Мы не анализировали влияние на риск обнаружения мутаций у здоровых лиц первичной множественности новообразований у родственников и наличие в роду случаев рака грудной железы у мужчины, так как в данных группах недостаточно положительных мутаций в генах BRCA для корректного статистического анализа.

Выводы

На основании полученных данных можно сформулировать и ранжировать прогностические критерии в диагностике предрасположенности к наследственному РМЖ и РЯ у здоровых лиц в белорусской популяции.

Риск обнаружения мутаций у лиц без онкозаболеваний повышается:

- при наличии в роду двух и более родственников I-II степени родства с онкопатологией, у одной из которых обязательно РЯ (АР=89,6%; ОР=9,66);

- при наличии двух и более родственников I-II степени родства, у одной из которых обязательно РМЖ (АР=86,6%; ОР=7,47);

- при существовании только одной родственницы с РЯ или РМЖ и отсутствии любой другой онкопатологии в семье (АР=79,3%; ОР=4,65 и АР=77,5%; ОР=4,45, соответственно);

- при наличии любой онкопатологии, исключая РЯ и/или РМЖ, у членов семьи, связанных родством I-II степени (АР=58,2%; ОР=2,29).

Оптимальным возрастным критерием для отнесения здоровых лиц в группу риска по выявлению мутаций в генах BRCA является возраст возникновения РМЖ и/или РЯ у родственницы младше 44 лет (чувствительность - 51%, специфичность - 73%).

Литература

1. Злокачественные новообразования в Беларуси / под ред. М.М. Сачек, А.И. Ларионова. - Минск: РНПЦ МТ, 2010. - 205 с.
2. Злокачественные новообразования в Беларуси 1995-2004 / Под ред. А.А. Граковича, И.В. Залуцкого. - Минск: БЕЛЦМТ, 2005.-180 с.
3. Имянитов, Е.Н. Наследственный рак молочной железы /

Е.Н. Имянитов // *Практ. онкология*. - 2010. - № 4. - С. 258-266.

4. Об онкогенетическом консультировании: Приказ Мин. Здрав. Респ. Беларусь, 27 дек. 2007 г. № 1018 // Бел. правовой портал [Электронный ресурс]. - 2008. - Режим доступа : <http://pravovy.info/docum09/page168.htm> - Дата доступа : 16.10.2012.

5. Океанов, А.Е. Статистика онкологических заболеваний в Респ-публике Беларусь (2002 - 2011) / Под ред. О.Г. Суконко. - Минск: РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова, 2012. - 333 с.

6. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1 / Y. Miki [et al.] // *Science*. - 1994. - Vol. 266. - P. 66-71.

7. Ashkenazi Jewish population frequencies for common mutations in BRCA1 and BRCA2 / B.B. Roa [et al.] // *Nat. Genet.* - 1996. Vol. 14. - P. 185-187.

8. BRCA 2 germline mutations in male breast cancer cases in breast cancer families / F. Couch [et al.] // *Nat. Gen.* - 1996. - Vol. 13. - P. 123-135.

9. Easton, D. BRCA1 and BRCA2 in Oxford desk reference / D. Easton, P. Pharaoh, D. Eccles // *Clin. Gen.* - 2009. - P. 426-429.

10. Frequency of BRCA1 mutation 5382insC in German breast cancer patients / J. Backe [et al.] // *Gynecol. Oncol.* - 1999. - Vol. 72. - P. 402-406.

11. Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families / D. Ford [et al.] // *Am. J. Hum. Genet.* - 1998. -Vol. 62. - P. 676-689.

12. Hereditary breast and ovarian cancer: new genes, new treatments, new concepts/ A. Meindl [et al.] // *Dtsch. Arztebl. Int.* - 2011. - Vol. 108(19). - P. 323-330.

13. Outcome of a structured surveillance programme in women with a familial predisposition for breast cancer / R.K. Schmutzler [et al.] // *Eur. J. Cancer Prev. Int.* - 2006. - Vol. 15(6). - P. 483-489.

14. Pathology of breast and ovarian cancers among BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: results from the Consortium of Investigators of Modifiers of BRCA1/2 (CIMBA) / N. Mavaddat [et al.] // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* - 2012. -Vol.21. - P. - 134-147.

15. Petrucelli, N. Hereditary breast and ovarian cancer due to mutations in BRCA1 and BRCA2 / N. Petrucelli, M.B. Daly, G.L. Feldman // *Genet Med.* - 2010. - Vol. 12(5). - P. 245-259.

16. The complete BRCA2 gene and mutations in chromosome 13q-Hnked kindreds / S.V. Tavtigian [et al.] // *Nature Genet.* - 1996. - Vol.12. - P. 333-337.

PROGNOSTIC VALUE OF CLINICAL AND GENETIC SIGNS IN THE DIAGNOSIS OF PREDISPOSITION TO HEREDITARY BREAST AND OVARIAN CANCER IN HELTHY SUBJECTS IN THE BELARUSIAN POPULATION

I.A. Kurstak, S.A. Lialikau, A.Y. Kuzniatsov, M.V. Yershova

Educational Establishment "Grodno State Medical University", Grodno, Belarus
Health Institution "Grodno Regional Clinical Hospital", Grodno, Belarus

Germinal mutations of BRCA gene are responsible for predisposition to breast (BC) and ovarian (OC) cancer in 80-90% of cases.

The object of the investigation in this study was 417 people who do not have cancer; who were randomly selected (population screening).

Methods of investigation: statistics (questioning), molecular biology method (polymerase chain reaction).

The risk of mutations of BRCA genes in healthy subjects in the Belarusian population increases if two and more relatives of the I-II degree of relationship have an oncopathology, one of which has ovarian or breast cancer; if there is only one relative with OC or BC and no other oncopathology in the family; if family members have cancer other than OC and/or BC. OC and/or BC development in relatives younger than 44 years is the best age criterion to refer healthy subjects to the risk group of BRCA genes mutations.

Key words: breast cancer; ovarian cancer; mutation, BRCA, healthy subjects, prognosis.