ГЕНЫ *BRCA1/BRCA2*: ПОПУЛЯЦИОННЫЕ РАЗЛИЧИЯ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ СИНДРОМОВ, ВЫЯВЛЯЕМЫЕ МЕТОДОМ СЕКВЕНИРОВАНИЯ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ

А.Г. Никитин[1], О.И. Бровкина[1], М.Г. Гордиев[2], Р.Ф. Еникеев[2], Д.Д. Сакаева[3], М.О. Дружков[2], Л.Х. Шигапова[4, 5], Е.И. Шагимарданова[4, 5], О.А. Гусев[4, 5], Д.С. Ходырев[1], Р.Ш. Хасанов[6]

[1]ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России»; Россия, 115682 Москва, Ореховый бульвар, 28;
[2]ГАУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер» Министерства здравоохранения Республики Татарстан; Республика Татарстан, 420029 Казань, Сибирский тракт, 29;
[3]ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет»; Республика Башкортостан, 450076 Уфа, ул. Заки Валиди, 32;
[4]ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»; Россия, 420000 Казань, ул. Кремлевская, 18;
[5]Институт физико-химических исследований RIKEN; Япония, Префектура Канагава, 230-0045 Йокогама, Tsurumi-ku, Suehiro-cho 1-7-22;
[6]Казанская государственная медицинская академия – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации; Республика Татарстан, 420012 Казань, ул. Муштари, 11

***Контакты:** Алексей Георгиевич Никитин avialn@gmail.com*

Введение. *Развитие наследственных онкологических синдромов обусловлено генетическими нарушениями в системе репарации ДНК, состоящей из более чем 100 генов. Однако в настоящее время в большинстве медицинских центров России диагностика наследственного рака яичников и молочной железы представляет собой определение наиболее частых мутаций (8 точек) в генах BRCA1 и BRCA2 с помощью методов полимеразной цепной реакции. При этом данные мутации являются частыми для славянской популяции, в то время как в остальных этических популяциях России они встречаются реже или не встречаются вообще.*
Цель исследования *– популяционный анализ мутаций в генах BRCA1 и BRCA2.*
Материалы и методы. *Методом секвенирования нового поколения (next generation sequencing, NGS) были проанализированы гены BRCA1 и BRCA2 в 1094 образцах крови пациенток с наследственным раком яичников и молочной железы.*
Результаты. *В результате проведенного методом NGS анализа были выявлены 87 патогенных мутаций генов BRCA1/BRCA2 у 230 пациенток, при этом обнаружено выраженное различие в частотах встречаемости мутаций между различными этносами: славянами, татарами, башкирами и чувашами. Была создана публичная база данных частот мутаций и полиморфизмов генов BRCA1/BRCA2 в различных этносах, впоследствии размещенная в Интернете по адресу https://oncobrca.ru.*
Выводы. *Появилась возможность с помощью метода NGS выявить редкие мутации, характерные для различных этносов, что дает возможность назначать оптимальную химиотерапию и разработать диагностические методы популяционного скрининга носительства мутаций генов BRCA1/BRCA2.*

Ключевые слова: *рак яичников, рак молочных желез, секвенирование нового поколения, мутации генов BRCA1/BRCA2*

Для цитирования: *Никитин А.Г., Бровкина О.И., Гордиев М.Г. и др. Гены BRCA1/BRCA2: популяционные различия наследственных онкологических синдромов, выявляемые методом секвенирования нового поколения. Онкопатология 2020;3(1–2):22–32.*

DOI: 10.17650/2618-7019-2020-3-1-2-22-32

CC BY

BRCA1/BRCA2 genes: population differences in hereditary cancer syndromes detected by next generation sequencing

A.G. Nikitin[1], O.I. Brovkina[1], M.G. Gordiev[2], R.F. Enikeev[2], D.D. Sakayeva[3], M.O. Druzhkov[2], L.Kh. Shigapova[4, 5], E.I. Shagimardanova[4, 5], O.A. Gusev[4, 5], D.S. Khodyrev[1], R.Sh. Khasanov[6]

[1]Federal Scientific and Clinical Center for Specialized Medical Assistance and Medical Technologies of the Federal Medical Biological Agency of Russia; 28 Orekhovyy Boulevard, Moscow 115682, Russia;
[2]Republican Clinical Oncology Center, Ministry of Health of the Republic of Tatarstan; 29 Sibirskiy Trakt, Kazan 420029, Republic of Tatarstan;
[3]Bashkir State University; 32 Zaki Validi St., Ufa 450076, Republic of Bashkortostan;

[4]Kazan (Volga region) Federal University; 18 Kremlevskaya St., Kazan 420000, Russia;
[5]Institute of Physical and Chemical Research RIKEN; 1-7-22 Suehiro-cho, Tsurumi-ku, Yokohama 230-0045, Kanagawa Prefecture, Japan;
[6]Kazan State Medical Academy, branch of the Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Ministry of Health of Russia; 11 Mushtari St., Kazan 420012, Republic of Tatarstan

Background. *The development of hereditary cancer syndromes is associated with genetic defects in the DNA repair system, which includes more than 100 genes. In the majority of medical centers in Russia, the diagnosis of hereditary ovarian and breast cancer is based on the detection of the most common BRCA1 and BRCA2 gene mutation (8 loci) using polymerase chain reaction. However, these mutations are common for the Slavic population, while in other ethnic groups, they can be less frequent.*
Objective: *to perform population analysis of mutations in the BRCA1 and BRCA2 genes.*
Materials and methods. *We used next generation sequencing (NGS) to analyze BRCA1 and BRCA2 gene mutations in 1,094 patients with hereditary ovarian and breast cancers.*
Results. *Using NGS, we identified 87 pathogenic mutations in the BRCA1/BRCA2 genes in 230 patients; there was a significant difference in the frequency of mutations between different ethnic groups studied (Slavs, Tatars, Bashkirs, and Chuvash). We have developed a public database of BRCA1/BRCA2 gene mutations and polymorphisms and their prevalence in different ethnic groups; this database is available at https://oncobrca.ru.*
Conclusions. *NGS allows the detection of rare mutations typical of different ethnic groups, which is crucial for choosing an optimal chemotherapy regimen and developing screening methods, aimed at the identification of BRCA1/BRCA2 mutation carriers in the population.*

Key words: *ovarian cancer, breast cancer, next generation sequencing, BRCA1/BRCA2 gene mutations*

For citation: *Nikitin A.G., Brovkina O.I., Gordiev M.G. et al. BRCA1/BRCA2 genes: population differences in hereditary cancer syndromes detected by next generation sequencing. Onkopatologiya = Oncopathology 2020;3(1–2):22–32. (In Russ.).*

ВВЕДЕНИЕ

Рак яичников (РЯ) наряду со злокачественными опухолями шейки и тела матки является одним из распространенных заболеваний онкологической природы [1]. Карцинома яичников составляет 6–8 % всех онкологических заболеваний и 20–25 % злокачественных опухолей женских половых органов. Развитие РЯ обусловлено гормональными и генетическими факторами, при этом генетическая предрасположенность выявляется в 15–20 % случаев [2].

Несмотря на то, что распространенность наследственного РЯ не так широка, прогноз выживаемости пациенток с данной патологией неблагоприятен. Патогенез наследственного РЯ обусловлен в первую очередь мутациями в генах репарации, а с появлением нового поколения таргетных препаратов (PARP-ингибиторов) выявление мутаций *BRCA1/BRCA2* у пациенток значительно улучшает общую выживаемость [3, 4].

Развитие наследственного рака молочной железы (РМЖ), как и в случае с наследственным РЯ, обусловлено генетическими нарушениями в системе репарации ДНК [5]. В настоящее время в большинстве медицинских центров РФ диагностика наследственного РМЖ представляет собой определение наиболее частых мутаций (8 точек) в генах *BRCA1*, *BRCA2* с помощью методов полимеразной цепной реакции (ПЦР), хотя в мировой литературе описано более 1000 мутаций гена *BRCA1* и во многих популяциях присутствует свой собственный набор частых мутаций. Поэтому существующий на данный момент отечественный подход к генетической диагностике РМЖ и РЯ выявляет только мутации, характерные для славянских популяций, населяющих территорию России [6, 7], и не учитывает остальные мутации в *BRCA1/BRCA2* и других генах системы репарации, обнаружение которых позволило бы выбрать оптимальную тактику лечения [8].

Репарация двухцепочечных разрывов играет существенную роль в поддержании геномной стабильности: нарушение функциональной активности белков, участвующих в данном виде репарации, приводит к различным формам онкологических заболеваний. В механизмах репарации двухцепочечных разрывов задействован ряд генов: *APC, MUTYH, CDK4, ATM, BRCA1, BRCA2, FANCI, FANCL, PALB2, RAD51B, RAD51C, RAD54L, RAD51D, CHEK1, CHEK2* и др., наиболее изученными из которых на данный момент являются *BRCA1* и *BRCA2*.

После внедрения в клиническую практику PARP-ингибитора олапариба открылись новые возможности в лекарственной терапии ряда онкологических заболеваний, обусловленных нарушениями в генах системы репарации двухцепочечных разрывов ДНК. В настоящее время в разработке находятся более 10 новых молекул PARP-ингибиторов, многие лекарственные средства проходят III фазу клинических испытаний (veliparib (AbbVie), talazoparib (Medivation)), ряд препаратов получил одобрение Food and Drug Administration (niraparib (Tesaro), rucaparib (Clovis Oncology) и olaparib (AstraZeneca)). С момента появления PARP-ингибиторов предпринимаются попытки расширить область их применения за счет поиска новых биомаркеров, которые могли бы служить показаниями для их назначения. Проводятся или уже завершены клинические

испытания эффективности PARP-ингибиторов для разных видов рака в зависимости от статуса мутаций *BRCA1/BRCA2* и генов системы репарации (например, ENGOT-OV16/NOVA, TOPARP, AVANOVA2, см. https://clinicaltrials.gov), которые показали значительное увеличение времени до прогрессирования заболевания для PARP-ингибиторов в подгруппах пациентов с такими нарушениями, как транслокации/делеции *BRCA1/BRCA2* и патогенные мутации в генах репарации, что увеличивает долю пациентов, которым показана данная таргетная терапия, с 17 до 70 % (мутации *BRCA1* – 12 %, мутации *BRCA2* – 7 %, нарушения в генах системы репарации – 50–60 %).

Целью данной **работы** являлись анализ методом секвенирования нового поколения (next generation sequencing, NGS) мутаций в генах *BRCA1/BRCA2* у пациенток с наследственными онкологическими синдромами и создание публичной базы данных с информацией о встречаемости этих мутаций в различных этнических выборках, что позволит расширить знания о генетических основах РМЖ, РЯ и других видов рака с помощью объединения информации о вариантах *BRCA1/2* и соответствующих клинических данных со всей территории России, а также поможет в интерпретации мутаций, встречающихся при анализе российских популяций.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена в соответствии с требованиями GCP (Good Clinical Practice) и Хельсинкской декларацией по защите прав человека.

Исследование включало 1094 образца крови от пациенток с наследственным РЯ и РМЖ, проходивших обследование и лечение в ГАУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер» Министерства здравоохранения Республики Татарстан (г. Казань) в 2014–2016 гг. Критериями включения были как минимум 2 из следующих 3: молодой возраст возникновения РМЖ и РЯ (до 50 лет), отягощенный семейный анамнез (наличие 1 и более РМЖ или РЯ у родственниц I или II линии родства), первично-множественный РМЖ и РЯ (табл. 1).

Включенные в панель гены: *BRCA1*, *BRCA2*.

ДНК из цельной периферической крови выделяли с помощью набора QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Германия) на автоматической станции QIAcube (Qiagen, Германия). Концентрацию ДНК измеряли на спектрофотометре NanoVue Plus (GE Healthcare, Нидерланды), она составляла 30–50 нг/мкл. Подготовку библиотек для NGS осуществляли с помощью NimblGen SepCapEZ Choice (Roche, Швейцария) по протоколу, рекомендованному производителем. NGS проводили на приборе MiSeq (Illumina, США). Картирование прочтений на референсную последовательность генома человека (hg19) выполняли при помощи алгоритма BWA-MEM, качество исходных данных, выравнивания, обогащения и покрытия целевых регионов проверяли с помощью FastQC, BAMQC и NGSrich. Среднее покрытие составило 314×, доля корректно картированных прочтений – 99,5 %, доля целевых регионов с покрытием выше 100× – 96,5 %.

Таблица 1. *Клинические и демографические характеристики изучаемой выборки*
Table 1. *Clinical and demographic characteristics of patients studied*

Возраст пациенток, лет Patient age, years	Возраст манифестации заболевания, лет Age at disease onset, years	Типы опухолей в зависимости от рецепторного статуса (HER2, ER, PR) Types of tumors depending on their receptor status (HER2, ER, PR)	Этническая принадлежность Ethnicity
Наследственный рак молочной железы (*n* = 711) Hereditary breast cancer (*n* = 711)			
49,4 ± 11,6	47,1 ± 11,3	Трижды негативный (*n* = 275, 39 %) Triple-negative (*n* = 275, 39 %) HER2$^+$ (*n* = 215, 30 %) ER$^+$, PR$^+$, HER2$^-$ (*n* = 172, 24 %)	Славяне (*n* = 380) Slavs (*n* = 380) Татары (*n* = 293) Tartars (*n* = 293) Башкиры (*n* = 27) Bashkirs (*n* = 27) Другие (*n* = 11) Other (*n* = 11)
Наследственный рак яичников (*n* = 383) Hereditary ovarian cancer (*n* = 383)			
54,7 ± 9,9	53,9 ± 9,3	–	Славяне (*n* = 204) Slavs (*n* = 204) Татары (*n* = 174) Tartars (*n* = 174) Другие (*n* = 5) Other (*n* = 5)

Примечание. *ER – рецепторы эстрогенов, PR – рецепторы прогестерона.*
Note. *ER – estrogen receptors; PR – progesterone receptors.*

Дедупликацию, рекалибровку и поиск нуклеотидных вариаций выполняли с помощью GATK4, полученный VCF-файл обрабатывали с помощью программы SnpSift (глубина прочтения более 10) и аннотировали с помощью SnpEff (анализ всех транскриптов), ANNOVAR (анализ частот аллелей в ExAC, 1000G и ESP6500, алгоритмы проверки функциональной значимости SIFT, PolyPhen2, MutationTaster, FATMM, CADD, DANN, M-CAP, REVEL), баз данных dbSNP, ClinVar, HGMD Professional 2019.1, BRCA Exchange.

Для обеспечения возможности работы с большим количеством исходных данных был реализован вычислительный конвейер на базе облачной инфраструктуры Mail.ru с автоматическим распределением нагрузки по необходимому числу контейнеров, что дало возможность быстро и эффективно обрабатывать данные любого размера от таргетных панелей до экзомов и геномов без ограничений по числу образцов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате NGS были обнаружены 27 446 нуклеотидных вариантов (однонуклеотидные замены, короткие вставки/делеции размером до 50 п. н.), из них 87 мутаций у 230 пациенток являлись патогенными (табл. 2).

Распределение мутаций по различным этносам оказалось неоднородным, так, для татар и башкир одной из частых мутаций была BRCA1:p.Q1721*, которая ни разу не встретилась среди славян. Напротив, мутация BRCA1:p.R1751* встречалась только у славян, но не у представителей тюркских народов. Аналогичная этноспецифичность обнаружилась и для ряда других мутаций; это позволяет предположить, что широко распространенная ПЦР-панель из 8 частых мутаций (табл. 3) не отражает истинного распределения патогенных мутаций *BRCA1/BRCA2* в российских популяциях (например, мутация BRCA2:6174delT из этой панели в нашей выборке не встретилась ни разу), что подтверждается результатами исследования OVATAR фирмы AstraZeneca, и необходима разработка новых диагностических тест-систем для скрининга носительства частых мутаций в генах *BRCA1/BRCA2*.

Предлагаемая нами панель из 8 мутаций приведена в табл. 4. С учетом полученных результатов мы считаем, что в РФ необходимо проведение исследования по изучению распространенности при наследственных видах рака герминальных мутаций в панели генов (в том числе генов системы репарации), а также для идентификации патогенных вариантов, приводящих к развитию онкологических заболеваний, причем это исследование должно включать несколько тысяч пациентов для увеличения статистической мощности и крупную выборку популяционного контроля для оценки популяционных частот.

Определенные особенности прослеживались при анализе гена *BRCA1* у пациенток татарского происхождения. Ген *BRCA1* (17q21, NM_007300.3) состоит из 24 экзонов, которые участвуют в кодировании 1864 аминокислот соответствующего белка [9]. Белок BRCA1 содержит несколько функциональных доменов, при этом наиболее часто мутации наблюдаются в аминокислотах доменных BRCT и RING, а также в аминокислотах, кодируемых экзонами 11–13 [10, 11].

При анализе локализации мутаций в гене *BRCA1* пациенток татарского происхождения было обнаружено, что 36 % мутаций приходятся на экзон 11, что может быть объяснено относительно большим размером данного экзона. Экзоны 11–13 занимают более 40 % комплементарной ДНК (кДНК) гена *BRCA1* и кодируют последовательности ядерной локализации, а также сайты связывания для нескольких белков, таких как белок ретинобластомы (RB), cMyc, Rad50 и Rad51. Несмотря на то что экзоны 11–13 содержат значительное количество патогенных мутаций (что также подтвердилось нашими данными), очень мало известно о структуре и функциях этого региона по сравнению с регионами, кодирующими домены RING и BRCT.

Больше половины (52 %) мутаций, обнаруженных нами при анализе гена *BRCA1*, присутствовали в экзонах 20/21. Данный результат мы считаем неожиданным, так как последовательность экзонов 20/21 составляет менее 5 % последовательности кДНК гена *BRCA1*. Примечательно, что некоторые мутации в этом регионе (p.Gln1742* и p.Arg1772*) встретились более 1 раза у неродственных пациенток. Следует отметить, что в этом же регионе кДНК расположена мутация p.Gln1777Profs*74, известная как 5382insC. Возможно, полученные результаты можно объяснить генетическими особенностями популяции татар, однако гипотеза требует дальнейшего изучения с привлечением выборки не менее 500–600 человек и анализа гаплотипов этого хромосомного локуса.

Экзоны 20/21 входят в регион, кодирующий домен BRCT. Было показано, что этот домен связывается с двунитевыми разрывами ДНК как напрямую, так и с помощью фактора репликации RFCp140, и распознает 5'-фосфат в месте разрыва ДНК. Мутации в домене BRCT приводят к потере способности белка распознавать фосфолиганды [12]. На сегодняшний момент каких-либо закономерностей в расположении мутаций и наличии «горячих точек» в гене *BRCA1* не выявлено. Существуют, однако, доказанные многочисленными исследованиями мутации с «эффектом основателя», характерные для определенных популяций, таких как евреи-ашкеназы, финны и др. Для многих популяций мутации с данным эффектом либо не характерны за счет огромного генетического разнообразия населения (африканские и афроамериканские популяции), либо исследованы слабо (азиатские популяции). Примечательно, что в последнее время

Таблица 2. *Обнаруженные патогенные мутации у пациенток с наследственным раком молочной железы и яичников*

Table 2. *Pathogenic mutations found in patients with hereditary breast and ovarian cancer*

Ген Gene	Мутация Mutation	Экзон Exon	Комплементарная ДНК Complementary DNA	Белок Protein	Функция Function	dbSNP	Число мутаций, *n* Number of mutations, *n*				
							Славяне Slavs	Татары Tartars	Башкиры Bashkirs	Другие Other	Всего* Total*
BRCA1	17:41209079T>TG	19	c.5266dupC	p.Q1756fs	Frameshift ins	rs80357906	55	32	3	2	84
BRCA1	17:41258504A>C	4	c.181T>G	p.C61G	Missense	rs28897672	4	7	0	0	9
BRCA1	17:41243512CT>C	10	c.4035delA	p.E1345fs	Frameshift del	rs80357711	5	1		1	7
BRCA1	17:41215382G>A	18	c.5161C>T	p.Q1721X	Stop gain	rs878854957		4	2	2	7
BRCA1	17:41209095G>A	19	c.5251C>T	p.R1751X	Stop gain	rs80357123	7	0	0	0	7
BRCA1	17:41245586CT>C	10	c.1961delA	p.K654fs	Frameshift del	rs80357522	6	0	0	0	6
BRCA2	13:32906576C>CAA	10	c.961_962insAA	p.Q321fs	Frameshift ins	–	1	4	1		4
BRCA1	17:41226348C>T	14	c.4675G>A	p.E1559K	Missense	rs80356988	4	0	0	0	4
BRCA2	13:32950929G>A	21	c.8754+1G>A		Splicing	rs397508006	2	0	0	2	4
BRCA1	17:41243843GTTTAC>G	10	c.3700_3704del	p.V1234fs	Frameshift del	rs80357609	1	3	0	0	4
BRCA2	13:32911388ACT>A	11	c.2897_2898del	p.T966fs	Frameshift del	rs80359361	0	2	0	1	3
BRCA1	17:41276044ACT>A	2	c.68_69del	p.E23fs	Frameshift del	rs386833395	3	0	0	0	3
BRCA1	17:41223242G>C	15	c.4689C>G	p.Y1563X	Stop gain	rs80357433	3	0	0	0	3
BRCA2	13:32912240G>GA	11	c.3749dupA	p.E1250fs	Frameshift ins	rs397507683	0	3	0	0	3
BRCA2	13:32906915AAAAG>A	10	c.1301_1304del	p.K434fs	Frameshift del	rs80359277	2	0	0	0	2
BRCA1	17:41244404AC>A	10	c.3143delG	p.G1048fs	Frameshift del	rs886040100	1	1	0	0	2
BRCA1	17:41243917ACT>A	10	c.3629_3630del	p.E1210fs	Frameshift del	rs80357589	0	0	0	2	2

Продолжение таблицы 2
Continuation of the table 2

Ген Gene	Мутация Mutation	Экзон Exon	Комплементарная ДНК Complementary DNA	Белок Protein	Функция Function	dbSNP	Число мутаций, *n* Number of mutations, *n*				
							Славяне Slavs	Татары Tartars	Башкиры Bashkirs	Другие Other	Всего* Total*
BRCA1	17:41201137C>G	21	c.5406+1G>C		Splicing	–	0	2	0	0	2
BRCA1	17:41215969C>T	16	c.5075-1G>A		Splicing	rs1800747	2	0	0	0	2
BRCA1	17:41234451G>A	12	c.4327C>T	p.R1443X	Stop gain	rs41293455	2	0	0	0	2
BRCA2	13:32921034G>A	13	c.7007+1G>A		Splicing	rs397507891	0	2	0	0	2
BRCA2	13:32954050G>A	23	c.9117G>A	p.P3039P	Synonymous	rs28897756	1	1	0	0	2
BRCA2	13:32911297TAAAC>T	11	c.2806_2809del	p.K936fs	Frameshift del	rs80359351	2	0	0	1	2
BRCA2	13:32906625A>ATG	10	c.1010_1011insTG	p.N337fs	Frameshift ins	–	0	0	0	1	1
BRCA1	17:41222939A>G	15	c.4986+6T>C		Splicing	rs80358086	1	0	0	0	1
BRCA1	17:41276061A>G	2	c.53T>C	p.M18T	Missense	rs80356929	1	0	0	0	1
BRCA2	13:32907434A>T	10	c.1819A>T	p.K607X	Stop gain	rs80358471	1	0	0	0	1
BRCA1	17:41244839A>T	10	c.2709T>A	p.C903X	Stop gain	–	1	0	0	0	1
BRCA1	17:41197774A>T	23	c.5513T>A	p.V1838E	Missense	rs80357107	1	0	0	0	1
BRCA2	13:32936733A>T	17	c.7879A>T	p.I2627F	Missense	rs80359014	1	0	0	0	1
BRCA1	17:41244296AAGCAT>A	10	c.3247_3251del	p.M1083fs	Frameshift del	–	1	0	0	0	1
BRCA1	17:41251880ACT>A	7	c.457_458del	p.S153fs	Frameshift del	rs397509185	0	0	0	1	1
BRCA1	17:41244056ACTAGTATCTTC>A	10	c.3481_3491del	p.E1161fs	Frameshift del	rs80357877	0	1	0	0	1
BRCA2	13:32911605AT>A	11	c.3114delT	p.Y1038fs	Frameshift del	–	0	0	0	1	1
BRCA2	13:32953959AT>A	23	c.9027delT	p.Y3009fs	Frameshift del	rs80359742	0	0	0	1	1
BRCA1	17:41246073ATC>A	10	c.1473_1474del	p.Q491fs	Frameshift del	–	1	0	0	0	1

Продолжение таблицы 2

Continuation of the table 2

Ген Gene	**Мутация** Mutation	**Экзон** Exon	**Комплементарная ДНК** Complementary DNA	**Белок** Protein	**Функция** Function	**dbSNP**	**Число мутаций, *n*** Number of mutations, *n*				
							Славяне Slavs	**Татары** Tartars	**Башкиры** Bashkirs	**Другие** Other	**Всего*** Total*
BRCA1	17:41256249C>A	6	c.331G>T	p.E111X	Stop gain	–	1	0	0	0	1
BRCA1	17:41215890C>A	17	c.5152+1G>T		Splicing	rs80358094	1	0	0	0	1
BRCA2	13:32914137C>A	11	c.5645C>A	p.S1882X	Stop gain	rs80358785	1	0	0	0	1
BRCA2	13:32914800C>A	11	c.6308C>A	p.S2103X	Stop gain	rs80358870	1	0	0	0	1
BRCA2	13:32954022C>CA	23	c.9090dupA	p.T3030fs	Frameshift ins	rs397507419	0	1	0	0	1
BRCA2	13:32906565C>CA	10	c.951dupA	p.T317fs	Frameshift ins	rs80359770	1	0	0	0	1
BRCA2	13:32954009C>CAGTT	23	c.9076_9077insAGTT	p.Q3026fs	Frameshift ins	–	1	1	0	0	1
BRCA1	17:41276047C>CT	2	c.66dupA	p.E23fs	Frameshift ins	rs80357783	1	0	0	0	1
BRCA2	13:32914647C>G	11	c.6155C>G	p.S2052X	Stop gain	rs786202461	0	1	0	0	1
BRCA1	17:41258472C>T	4	c.212+1G>A		Splicing	rs80358042	1	0	0	0	1
BRCA1	17:41226347C>T	14	c.4675+1G>A		Splicing	rs80358044	0	1	0	0	1
BRCA1	17:41209068C>T	19	c.5277+1G>A		Splicing	rs80358150	0	1	0	0	1
BRCA2	13:32915112CAA>C	11	c.6621_6622del	p.T2207fs	Frameshift del	–	0	1	0	0	1
BRCA2	13:32890556CAG>C	2	r. spl	–	Splicing	rs1064794852	0	1	0	0	1
BRCA2	13:32912899CAT>C	11	c.4408_4409del	p.I1470fs	Frameshift del	rs80359446	1	0	0	0	1
BRCA2	13:32907408CATCTT>C	10	c.1794_1798del	p.T598fs	Frameshift del	rs276174813	0	1	0	0	1
BRCA1	17:41246037CG>C	10	c.1510delC	p.R504fs	Frameshift del	rs80357908	0	0	0	1	1
BRCA1	17:41245330CT>C	10	c.2217delA	p.K739fs	Frameshift del	–	1	0	0	0	1
BRCA2	13:32903604CTG>C	8	c.657_658del	p.T219fs	Frameshift del	rs80359604	0	0	0	1	1

Продолжение таблицы 2
Continuation of the table 2

Ген Gene	Мутация Mutation	Экзон Exon	Комплементарная ДНК Complementary DNA	Белок Protein	Функция Function	dbSNP	Число мутаций, *n* Number of mutations, *n*				
							Славяне Slavs	Татары Tartars	Башкиры Bashkirs	Другие Other	Всего* Total*
BRCA2	13:32912171CTGAA>C	11	c.3680_3683del	p.L1227fs	Frameshift del	rs80359396	1	0	0	0	1
BRCA1	17:41246531CTT>C	10	c.1015_1016del	p.K339fs	Frameshift del	–	1	1	0	0	1
BRCA2	13:32914766CTT>C	11	c.6275_6276del	p.L2092fs	Frameshift del	rs11571658	1	0	0	0	1
BRCA1	17:41245630G>A	10	c.1918C>T	p.Q640X	Stop gain	rs886039981	0	1	0	0	1
BRCA1	17:41245210G>A	10	c.2338C>T	p.Q780X	Stop gain	rs80356945	1	0	0	0	1
BRCA1	17:41244145G>A	10	c.3403C>T	p.Q1135X	Stop gain	rs80357136	1	0	0	0	1
BRCA1	17:41243941G>A	10	c.3607C>T	p.R1203X	Stop gain	rs62625308	1	0	0	0	1
BRCA1	17:41226471G>A	14	c.4552C>T	p.Q1518X	Stop gain	rs80356881	1	0	0	0	1
BRCA2	13:32932019G>A	16	c.7758G>A	p.W2586X	Stop gain	rs80359004	1	0	0	0	1
BRCA2	13:32907420G>GA	10	c.1806dupA	p.G602fs	Frameshift ins	rs80359306	1	0	0	0	1
BRCA2	13:32911442G>GA	11	c.2951dupA	p.E984fs	Frameshift ins	rs80359365	1	0	0	0	1
BRCA2	13:32918745G>GA	12	c.6893dupA	p.E2298fs	Frameshift ins	rs886040933	0	0	0	1	1
BRCA2	13:32929255G>GAC	14	c.7265_7266insAC	p.C2422_V2423delinsX	Stop gain	–	0	1	0	0	1
BRCA2	13:32921023G>GT	13	c.6998dupT	p.V2333fs	Frameshift ins	rs754611265	1	0	0	0	1
BRCA1	17:41226515GA>G	14	c.4507delT	p.S1503fs	Frameshift del	–	1	0	0	0	1
BRCA2	13:32954272GA>G	24	c.9247delA	p.K3083fs	Frameshift del	rs397508041	1	0	0	0	1
BRCA2	13:32893347GAAACCATCTTATAATC>G	3	c.202_217del	p.K68fs	Frameshift del	rs1064792960	1	0	0	0	1
BRCA1	17:41242952GCTTTTTAC>G	11	c.4185+1_4185+8delGTAAAAAG		Splicing	–	0	1	0	0	1

Окончание таблицы 2

End of the table 2

Ген Gene	Мутация Mutation	Экзон Exon	Комплементарная ДНК Complementary DNA	Белок Protein	Функция Function	dbSNP	Число мутаций, *n* Number of mutations, *n*				
							Славяне Slavs	Татары Tartars	Башкиры Bashkirs	Другие Other	Всего* Total*
BRCA2	13:32936761GT>G	17	c.7908delT	p.C2636fs	Frameshift del	–	1	1	0	0	1
BRCA2	13:32953534GT>G	22	c.8836delT	p.L2946fs	Frameshift del	–	0	0	0	1	1
BRCA2	13:32914109GTAAT>G	11	c.5618_5621del	p.V1873fs	Frameshift del	rs80359526	0	0	0	1	1
BRCA1	17:41243584T>A	10	c.3964A>T	p.K1322X	Stop gain	rs80357343	1	1	0	0	1
BRCA2	13:32914366T>A	11	c.5874T>A	p.C1958X	Stop gain	–	1	0	0	0	1
BRCA2	13:32913778T>G	11	c.5286T>G	p.Y1762X	Stop gain	–	1	0	0	0	1
BRCA2	13:32914069T>TA	11	c.5578dupA	p.I1859fs	Frameshift ins	rs397507790	0	1	0	0	1
BRCA2	13:32914939T>TA	11	c.6448dupA	p.I2149fs	Frameshift ins	rs1010863706	1	0	0	0	1
BRCA1	17:41243571T>TGCCTCATTTGTTTGGAAGAACCAATCAA	10	c.3976_3977insTTGATTGGTTCTTCCAAACAAATGAGGC	p.H1326fs	Frameshift ins	–	0	0	0	1	1
BRCA1	17:41244016TA>T	10	c.3531delT	p.F1177fs	Frameshift del	rs80357621	1	0	0	0	1
BRCA2	13:32912353TAATA>T	11	c.3862_3865del	p.N1288fs	Frameshift del	rs80359412	1	0	0	0	1
BRCA1	17:41243788TAGAC>T	10	c.3756_3759del	p.L1252fs	Frameshift del	rs80357868	1	0	0	0	1
BRCA1	17:41243775TC>T	10	c.3772delG	p.E1258fs	Frameshift del	–	1	0	0	0	1
BRCA1	17:41244341TTGAA>T	10	c.3203_3206del	p.I1068fs	Frameshift del	rs886040102	0	1	0	0	1

**Мутации, обнаруженные у пациентов, родившихся от смешанных браков, учитывались в обеих национальностях.*

**Mutations found in patients born from mixed marriages were counted in both nationalities.*

Таблица 3. *Панель из частых мутаций*
Table 3. *Panel of the most common mutations*

Мутация Mutation	Число мутаций в выборке, *n* Number of mutations in the sample, *n*
BRCA1:5382insC	87
BRCA1:300T>G	9
BRCA1:4153delA	9
BRCA1:2080delA	6
BRCA1:185delAG	4
BRCA1:3819delGTAAA	4
BRCA1:3875delGTCT	1
BRCA2:6174delT	0

Таблица 4. *Виды мутаций в разных этнических группах, %*
Table 4. *Mutations in different ethnic groups, %*

Мутация Mutation	Славяне (*n* = 581) Slavs (*n* = 581)	Татары (*n* = 419) Tartars (*n* = 419)	Башкиры (*n* = 27) Bashkirs (*n* = 27)	Чуваши (*n* = 22) Chuvash (*n* = 22)	Все All
BRCA1:5382insC	8,5	5,0	10,0	3,0	6,7
BRCA1:300T>G	0,6	1,0	0	0	0,7
BRCA1:4153delA	0,75	0,2	0	0,2	0,7
BRCA1:p.R1751*	1,0	0	0	0	0,5
BRCA1:p.Q1721*	0	1,0	5,0	0	0,5
BRCA1:2080delA	0,9	0	0	0	0,46
BRCA1:p.E1250fs	0,6	1,0	0	0	0,38
BRCA1:p.E1559K	0,6	0,2	0	0	0,38

именно в азиатских популяциях обнаруживаются раннее неописанные мутации в гене *BRCA1* [13, 14]. Мы обратили внимание на мутацию 5280C>T (NM_007294.3:c.5161C>T) в экзоне 19 гена *BRCA1*, которая была обнаружена в одной из обследованных китайских семей у 2 пациенток и описана в 2012 г. как новая [13]. Эта же мутация была обнаружена у неродственных татарских пациенток. При наличии большего числа пациенток – носительниц мутации 5280C>T необходимо исследовать гаплотипы пациенток с данной мутацией для анализа особенностей наследования у татарских женщин.

При анализе спектра мутаций в гене *BRCA1* у пациенток татарского происхождения было выявлено, что 65 % всех мутаций относятся к мутациям сдвига рамки считывания. Преобладающее количество такого типа мутаций в гене *BRCA1* подтверждается другими работами в этой области. При наличии нонсенс-мутаций или сдвига рамки считывания, приводящего к преждевременной терминации трансляции, существует высокий риск развития РЯ и РМЖ, так как данные мутации ведут к потере функций белка.

С помощью метода NGS появилась возможность выявить редкие мутации, характерные для различных этносов, что дает возможность оптимизировать диагностическую и лечебную тактику пациентов из данной популяции.

ВЫВОДЫ

Проведенный методом NGS анализ 1094 образцов крови от больных наследственным РМЖ и РЯ выявил 87 патогенных мутаций генов *BRCA1/BRCA2* у 230 пациенток, при этом было обнаружено выраженное различие в частотах встречаемости мутаций между различными этносами: славянами, татарами, башкирами и чувашами.

Была выявлена особенность мутаций в гене *BRCA1* у татарских женщин, больных РЯ и РМЖ: более половины мутаций были сосредоточены в экзонах 20/21, входящих в состав домена BRCT. Однако возможные причины этой особенности требуют дальнейшего изучения.

Частота мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* существенно отличается между больными РМЖ и РЯ славянского и татарского происхождения, что подтверждает необходимость анализа методом NGS в случае отсутствия положительных результатов анализа методом ПЦР в реальном времени.

В результате работы была создана публичная база данных частот мутаций и полиморфизмов генов *BRCA1/BRCA2* в различных этносах и размещена в Интернете по адресу https://oncobrca.ru.

REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА

1. Scalia-Wilbur J., Colins Bradley L., Penson Richard T., Dizon Don S. Breast cancer risk assessment: moving beyond *BRCA 1* and *2*. Semin Radiat Oncol 2016;26(1):3–8. DOI: 10.1016/j.semradonc.2015.09.004.
2. Имянитов Е.Н. Наследственный рак молочной железы. Практическая онкология 2010;11(4):258–66. [Imyanitov E.N. Hereditary breast cancer. Prakticheskaya onkologiya = Practical Oncology 2010;11(4):258–66. (In Russ.)].
3. Crafton S.M., Bixel K., Hays J.L. PARP inhibition and gynecologic malignancies: A review of current literature and ongoing trials. Gynecol Oncol 2016;142(3):588–96. DOI: 10.1016/j.ygyno.2016.05.003.
4. Livraghi L., Garber J.E. PARP inhibitors in the management of breast cancer: current data and future prospects. BMC Med 2015;13:188. DOI: 10.1186/s12916-015-0425-1.
5. 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(4):397–8. DOI: 10.1002/humu.9226.
6. Хасанова А.И., Гордиев М.Г., Ратнер Е.Ю. и др. *BRCA*-ассоциированный рак молочной железы у представительниц татарской национальности на примере клинического случая. Приволжский онкологический вестник 2016;24(2):104–8. [Khasanova A.I., Gordiev M.G., Ratner E.Yu. et al. *BRCA*-associated breast cancer in Tatar women: a case report. Privolzhskiy onkologicheskiy vestnik = Oncology Bulletin of the Volga region 2016;24(2):104–8. (In Russ.)].
7. Fackenthal J.D., Olopade O.I. Breast cancer risk associated with *BRCA1* and *BRCA2* in diverse populations. Nat Rev Cancer 2007;7(12):937–48. DOI: 10.1038/nrc2054.
8. Kitagishi Y., Kobayashi M., Matsuda S. Defective DNA repair systems and the development of breast and prostate cancer (review). Int J Oncol 2013;42(1):29–34. DOI: 10.3892/ijo.2012.1696.
9. Clark S.L., Rodriguez A.M., Snyder R.R. et al. Structure-function of the tumor suppressor *BRCA1*. Comput Struct Biotechnol J 2012;1(1). PII: e201204005.
10. Nelson A.C., Holt J.T. Impact of RING and BRCT domain mutations on *BRCA1* protein stability, localization, and recruitment to DNA damage. Radiat Res 2010;174(1):1–13. DOI: 10.1667/RR1290.1.
11. Chai Y.L., Cui J., Shao N. et al. The second BRCT domain of *BRCA1* proteins interacts with p53 and stimulates transcription from the p21WAF1/CIP1 promoter. Oncogene 1999;18(1):263–8. DOI: 10.1038/sj.onc.1202323.
12. Clapperton J.A., Manke I.A., Lowery D.M. et al. Structure and mechanism of *BRCA1* BRCT domain recognition of phosphorylated BACH1 with implications for cancer. Nat Struct Mol Biol 2004;11(6):512–8. DOI: 10.1038/nsmb775.
13. Cao W., Wang X., Gao Y. et al. *BRCA1* germ-line mutations and tumor characteristics in eastern Chinese women with familial breast cancer. Anat Rec (Hoboken) 2013;296(2):273–8. DOI: 10.1002/ar.22628.
14. Cao W.M., Gao Y., Yang H.J. et al. Novel germline mutations and unclassified variants of *BRCA1* and *BRCA2* genes in Chinese women with familial breast/ovarian cancer. BMC Cancer 2016;16:64. DOI: 10.1186/s12885-016-2107-6.

ORCID авторов / ORCID of authors
А.Г. Никитин / A.G. Nikitin: http://orcid.org/0000-0001-9762-3383
Л.Х. Шигапова / L.Kh. Shigapova: https://orcid.org/0000-0001-6292-6560
Е.И. Шагимарданова / E.I. Shagimardanova: https://orcid.org/0000-0003-2339-261X
Р.Ф. Еникеев / R.Ph. Enikeev: https://orcid.org/0000-0002-7225-4398

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа поддержана компанией AstraZeneca (грант ESR-17-12934).
Financing. This work was supported by AstraZeneca Company (grant ESR-17-12934).

Статья поступила: 04.11.2019. **Принята к публикации:** 06.12.2019.
Article submitted: 04.11.2019. **Accepted for publication:** 06.12.2019.