

<sup>1</sup>Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ

<sup>2</sup>КЗ «Черкаський обласний онкологічний диспансер» Черкаської обласної ради

<sup>3</sup>ДУ «Референс-центр з молекулярної діагностики МОЗ України», Київ

# ОЦІНКА АСОЦІАЦІЇ КЛІНІКО-ПАТОЛОГІЧНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ ПУХЛИННОГО ПРОЦЕСУ З РЕЗУЛЬТАТАМИ КЛІНІКО-ГЕНЕАЛОГІЧНОГО ОБСТЕЖЕННЯ ХВОРИХ НА РАК ЯЄЧНИКА ТА ГРУДНОЇ ЗАЛОЗИ — НОСІЇВ МУТАЦІЇ 5382insC У ГЕНІ BRCA1



О.В. Палійчук<sup>1,2</sup>, З.І. Россоха<sup>3</sup>,  
Ф.М. Галкін<sup>2</sup>, Л.З. Полішук<sup>1</sup>

Адреса:

Палійчук Ольга Володимирівна  
03022, Київ, вул. Васильківська, 45  
Інститут експериментальної патології,  
онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького  
НАН України  
E-mail: oncology@2upost.com

**Ключові слова:** рак яєчника, рак грудної залози, клінічна та генеалогічна характеристика, гени BRCA1/2, мутації 5382insC BRCA1.

Проведено комплексні клініко-патологічні, клініко-генеалогічні, патоморфологічні, молекулярно-генетичні дослідження у 23 хворих на рак яєчника (РЯ) I–IV стадії (за FIGO) і 21 пацієнтки з раком грудної залози (РГЗ) I–II стадії (за TNM). Здійснено аналіз геномної ДНК периферичної крові (до початку лікування) для визначення мутацій 185delAG та 5382insC у гені BRCA1, мутації 6174delT у гені BRCA2. Контролем слугували результати клінічного та молекулярно-генетичного дослідження ДНК периферичної крові 55 здорових жінок без пухлинної патології в анамнезі. Видалені пухлини проаналізовано за гістологічним типом, ступенем диференціювання. У хворих на РГЗ визначили молекулярний підтип утворення шляхом імуногістохімічного дослідження експресії гормональних рецепторів до естрогену (ER) і прогестерону (PR) та епідермального фактора росту пухлин II типу (HER2/neu). Результати показали, що у пацієнток із РЯ та РГЗ із родин з агрегацією пухлинної патології достовірних відмінностей репродуктивно-менструальної функції не виявлено. У геномній ДНК периферичної крові відзначено лише мутацію 5382insC у гені BRCA1. На підставі одержаних результатів проаналізовано клінічні, клініко-патоморфологічні характеристики пухлин та їхній зв'язок із результатами клініко-генеалогічного та молекулярно-генетичного досліджень індивідуально у кожної хворої, в якій визначено мутації в гені BRCA1. Ця мутація виявлена у 3 (13%) із 23 пацієнток із серозним РЯ і 4 (19%) хворих на інфільтративний протоковий РГЗ люмінального молекулярного підтипу. В обох групах обстежених було більше хворих на рак родичів по материнській, ніж по батьківській лінії. У жінок контрольної групи мутацій у генах BRCA1 та BRCA2 не визначено. Підтверджено асоціацію мутації 5382insC у гені BRCA1 з розвитком спадкового синдрому РЯ/РГЗ і первинно-множинних пухлин органів жіночої репродуктивної системи.

## ВСТУП

Питання щодо клініко-патологічних і молекулярних особливостей раку яєчника (РЯ) і раку грудної залози (РГЗ) та їхнє значення для встановлення клініко-патологічних ознак пухлин та оцінки прогнозу перебігу онкологічної хвороби не втрачають актуальності. Це зумовлено високою захворюваністю на РЯ та РГЗ, остаточно невизначеними патогенетичними механізмами і труднощами ранньої

діагностики РЯ, неточною оцінкою індивідуального прогнозу РЯ та РГЗ попри активні пошуки нових цитостатичних препаратів і впровадження у клінічну практику нових схем лікування хворих [1–6]. Однак завдяки розвитку молекулярно-біологічних технологій та їх застосуванню в онкологічній практиці доведено, що особливості пухлинних процесів асоційовані з молекулярно-генетичними змінами пухлинних клітин, які у свою чергу визначають індивідуальну біологіч-

ну гетерогенність новоутворень. У цьому контексті привертають до себе увагу мутації в генах-супресорах *BRCA1* та *BRCA2*. Встановлено, що вони належать до генів схильності виникнення раку [7–9], хоча у нормі ці гени відіграють важливу роль у репарації порушень ДНК і підтримці стабільності геному, виконуючи роль супресорів пухлинного росту у багатьох біологічних тканинах. Проте мутації в цих генах сприяють втраті супресорної функції, що призводить до порушень мітотичного циклу і транскрипційних механізмів клітин [10]. Завдяки розвитку молекулярно-генетичних досліджень та їхньому впровадженню у клінічну практику визначено роль мутацій у генах *BRCA1* та *BRCA2* щодо схильності до розвитку раку органів жіночої репродуктивної системи (ОЖРС), кишкового та інших органів. Гермінальні мутації у високопенетрантних генах, до яких належать гени *BRCA1* та *BRCA2*, можуть викликати спадкові форми неоплазій, у тому числі первинно-множинну патологію у декількох поколіннях. Найбільш часто виявляють мажорні, тобто домінуючі за частотою, мутації *185delAG* і *5382insC* у гені *BRCA1* та мутацію *6174delT* у гені *BRCA2* [11–15]. Однак даних про зв'язок вказаних мутацій у генах *BRCA1* та *BRCA2* із клініко-патологічними особливостями пухлинного процесу та результатами клініко-генеалогічного обстеження хворих із первинно-множинною пухлинною патологією недостатньо.

Мета дослідження: визначити мутації в генах *BRCA1* та *BRCA2* у хворих на РЯ та РГЗ і провести аналіз їх асоціації з клініко-патологічними особливостями раку ОЖРС.

**ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ**

У дослідження залучено 23 хворих на РЯ I–IV стадії та 21 пацієнтку з РГЗ I–II стадії, у родоводах яких були хворі в основному на рак ОЖРС. Аналізували результати клінічного і клініко-генеалогічного обстеження хворих і жінок контрольної групи (55 практично здорових жінок без онкологічної патології та без хворих на рак родичів у родоводах) за клініко-генеалогічними картами, в яких відображали родовід, кількість хворих на рак родичів, перенесені хвороби, стан здоров'я. Розповсюдженість пухлинного процесу визначали за класифікацією FIGO у пацієнток із РЯ та класифікацією TNM — у хворих на РГЗ. Проведено хірургічне, комплексне і комбіноване лікування у Черкаському обласному онкологічному диспансері за стандартами лікування, прийнятими в Україні, відповідно до стадії та гістологічної структури пухлин. Видалені утворення аналізували за гістологічним типом, ступенем диференціювання. У хворих на РГЗ визначали молекулярний підтип

пухлин шляхом імуногістохімічного дослідження експресії гормональних рецепторів до естрогену (estrogen receptor — ER) та прогестерону (progesterone receptor — PR) і епідермального фактора росту пухлин II типу (human epidermal growth factor receptor-2 — HER2/neu) із застосуванням моноклональних антитіл фірми «DakoCytomation», Данія (відповідно клони 1D5, PgR636, c-erbB2). У хворих і жінок контрольної групи проведено молекулярно-генетичне дослідження геномної ДНК периферичної крові на наявність мутацій *185delAG* та *5382insC* у гені *BRCA1*, мутації *6174delT* у гені *BRCA2*. Зразки крові для молекулярно-генетичного дослідження брали до початку лікування.

Молекулярно-генетичні дослідження периферичної крові проводили з дотриманням алгоритму: виділення ДНК із лейкоцитів периферичної крові, ампліфікація досліджуваних фрагментів ДНК, електрофоретичний розподіл ампліфікаційних фрагментів або аналіз рестрикційних фрагментів у агарозному гелі. На першому етапі такого дослідження проводили виділення сумарної чи загальної геномної ДНК із лейкоцитів периферичної крові зі 100 мкл крові. Для цього використовували стандартний комерційний набір із сорбентом, принцип дії якого полягає в тому, що після попереднього лізису клітин крові вивільнена ДНК фіксується на сорбенті. Це полегшує процес виділення та зменшує її втрати при подальшому очищенні. Після фіксації на сорбенті ДНК відмивали спеціальними розчинами для отримання очищеної ДНК із мінімальними домішками.

На другому етапі молекулярно-генетичного дослідження збільшували кількість копій досліджуваних фрагментів генів для того, щоб зробити можливим подальше визначення делеційного варіанта чи однонуклеотидної заміни. Для збільшення кількості копій фрагмента досліджуваної ДНК використовували полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР). При проведенні ПЛР відбувається синтез комплементарних ланцюгів досліджуваного фрагмента ДНК у штучних умовах, що досягається завдяки оптимальним температурним умовам та оптимальному співвідношенню реагентів у пробірці.

Для дослідження поліморфізму генів *BRCA1* та *BRCA2* використовували мультиплексну ПЛР (ампліфікацію). У генах *BRCA1* та *BRCA2* проводили ідентифікацію трьох мутацій (*185delAG* і *5382insC* — у *BRCA1* та *6174delT* — у *BRCA2*). При аналізі мутацій у цих генах, на відміну від інших генів, наприклад *GSTT1* та *GSTM1*, відбувається ампліфікація як мутантного алеля, так і алеля «дикого» типу. Отримані амплікони мають різну молекулярну масу, тому можуть бути розділені методом горизонтального електрофорезу в агарозному гелі. На третьому етапі молекулярно-генетичного дослідження проводили рестрикційний аналіз продуктів ПЛР та аналіз розподілу досліджуваних фрагментів у 1,5% агарозному гелі шляхом горизонтального електрофорезу.

Після лікування хворі на РЯ та РГЗ підлягали диспансерному спостереженню. Усі пацієнтки і жінки контрольної групи є українками і тривалий період проживали у Черкаській області.

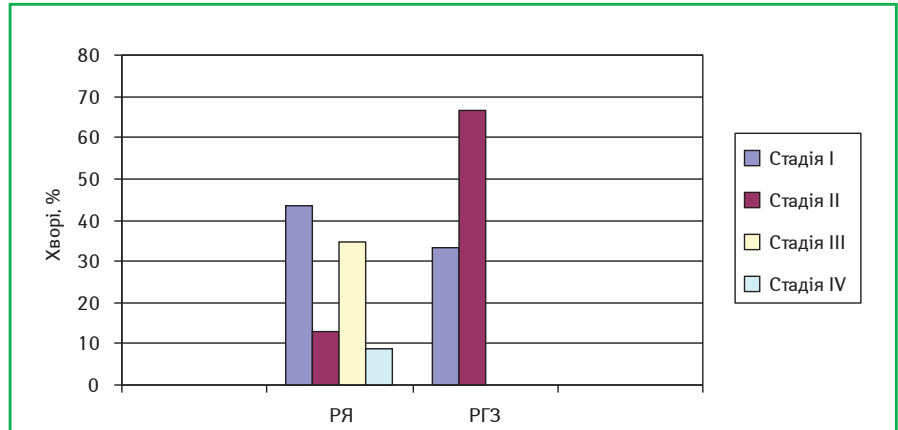
**Таблиця 1.** Загальні відомості про вікові особливості та стан оваріально-менструальної функції у хворих на РЯ та РГЗ

Показники		РЯ, n (%) (N=23)	РГЗ, n (%) (N=21)	Контрольна група, n (%) (N=55)
Кілівання віку, років		29–62		19–65
Вік	до 35 років	5 (21,7)	5 (23,8)	20 (36,4)
	36–49 років	23 (100,0)	21 (100,0)	20 (36,4)
	старше 50 років	13 (56,6)	11 (52,4)	15 (27,2)
Менархе	до 12 років	6 (26,1)	4 (19,0)	20 (36,4)
	12–15 років	23 (100,0)	21 (100,0)	35 (63,6)
	старше 15 років	7 (30,4)	0	0
Кількість пологів	0	0	0	20 (36,4)
	1–2	23 (100,0)	21 (100,0)	20 (36,4)
	≥3	3 (13,0)	2 (9,5)	15 (27,2)
Кількість абортів	0	18 (78,3)	16 (76,2)	0
	1–3	23 (100,0)	21 (100,0)	55 (100,0)
Кількість викиднів	не було	22 (95,7)	21 (100,0)	0
	1–2	23 (100,0)	21 (100,0)	0
	≥3	1 (4,3)	0	0
Кількість днів менструації	до 3	0	9 (42,9)	0
	4–6	23 (100,0)	21 (100,0)	55 (100,0)
	≥7	3 (13,0)	0	0
Регулярність менструального циклу	регулярний (24–32 дні)	23 (100,0)	21 (100,0)	55 (100,0)
	нерегулярний	3 (13,0)	2 (9,5)	0
Менопауза (n=32)	до 5 років	4 (50,0)	4 (44,4)	5 (33,3)
	5–10 років	8 (100,0)	9 (90,9)	5 (33,3)
	більше 10 років	0	2 (22,2)	5 (33,3)
Операції на ОЖРС в анамнезі	не було (n=38)	20 (87,0)	18 (85,6)	0
	На придатках матки (n=4) на грудній залозі (n=2)	23 (100,0)	21 (100,0)	0

**РЕЗУЛЬТАТИ  
ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ**

Загальні відомості стосовно віку, стану менструальної функції, операцій (за даними анамнезу) у хворих на РЯ та РГЗ, а також у жінок групи контролю представлено у табл. 1. Як видно, вік хворих на РЯ і РГЗ коливався в однаковому діапазоні (29–62 і 27–63 роки відповідно). Слід відзначити, що у 30,4% пацієток із РЯ вік менархе перевищував 15 років, тоді як у хворих на РГЗ (81,0%) і жінок контрольної групи (63,6%) менструації найчастіше починалися в період 12–15 років. За репродуктивним статусом хворих і кількістю операцій на ОЖРС за даними анамнезу достовірних змін не встановлено ( $p > 0,05$ ).

Розподіл хворих за стадіями подано на рис. 1, згідно з яким у пацієток переважав РЯ I і III стадії та РГЗ I–II стадії. Відповідно до розповсюдженості пухлинного процесу і результатів морфологічного дослідження видалених пухлин проводили терапію згідно зі стандартами лікування онкологічних хворих, прийнятими в Україні. Не конкретизуючи показання до лікування, наводимо загальні дані про методи терапії обстежених хворих — хірургічний, комбінований і комплексний (табл. 2). Як свідчать наведені дані, у більшості хворих на РЯ та РГЗ проводили комплексне лікування.



**Рис. 1.** Розподіл хворих на РЯ та РГЗ за розповсюдженістю пухлинного процесу (відповідно до FIGO та TNM класифікації)

Аналіз клініко-генеалогічних даних показав, що у родовах жінок контрольної групи злоякісні пухлини не діагностовано. Натомість у родовах пацієток із РЯ і РГЗ було 80 родичів I та II ступеня спорідненості, які хворіли на рак. Як свідчать дані табл. 3, кількість хворих на рак родичів I ступеня спорідненості становила 33 (41,2%), II ступеня спорідненості — 47 (58,8%). В обох групах обстежених нами пацієток більше було хворих на рак родичів по материнській, ніж по батьківській лінії.

Гістологічну структуру пухлин і ступінь диференціювання раку подано в табл. 4, з якої видно, що у хворих

на РЯ переважав серозний папілярний рак (56,5%), хоча і кількість пухлин залозистої структури була велика (43,5%). У пацієток із РГЗ 90,5% становив інфільтративний протоковий рак. У хворих на РЯ та РГЗ переважав високий ступінь диференціювання пухлин — 47,8 та 47,6%.

Проведене імуногістохімічне дослідження пухлин у хворих на РГЗ дозволило визначити експресію ER, PR і HER2/neu та встановити молекулярний підтип раку. Як видно з табл. 5, 42,9% пухлин мали люмінальний А підтип, 33,3% — люмінальний В підтип, 23,8% — базальний підтип (тричі рецептор-негативний). HER2/neu-позитивний молекулярний підтип у нашому дослідженні не детектовано. Кількісний розподіл молекулярних підтипів РГЗ відповідає даним літератури.

На підставі одержаних результатів нами проаналізовано клінічні, клініко-патоморфологічні характеристики пухлин та їх зв'язок із результатами клініко-генеалогічного та молекулярно-генетичного досліджень індивідуально у кожній хворій, в якій визначено мутації в гені *BRCA1* (табл. 6). Вік пацієток із РЯ був у діапазоні 48–51 років. Розповсюдженість пухлинного процесу у хворих на РЯ відповідала стадії рТ3CN0M0. Морфологічне дослідження встановило, що пухлини яєчника мали гістологічну будову серозного папілярного раку і серозної аденокарциноми з низьким ступенем диференціювання (G3). Вік пацієток із РГЗ коливався від 31 до 46 років, а розповсюдженість пухлинного процесу характеризувалася як рТ1N0M0 (n=3) і рТ2bN0M0 стадії (n=1). Гістологічна будова пухлин відповідала інфільтративному протоковому РГЗ різного ступеня диференціювання (G1, G2, G3), люмінальному А і В молекулярним підтипам.

Враховуючи дані літератури про значення мутацій у гені *BRCA1* (*5382insC*, *185delAG*) та *BRCA2* (*6174delT*) у схильності до розвитку РЯ та РГЗ, нами прове-

**Таблиця 2.** Загальна характеристика методів лікування обстежених хворих на РЯ та РГЗ

Методи лікування	РЯ I–IV стадії, n (%) (N=23)	РМЗ I–II стадії, n (%) (N=21)
Хірургічний метод	1 (4,3)	3 (14,3)
Комбінований		
Хірургічний + променева терапія в ад'ювантному режимі	0	5 (23,8)
Хірургічний + ПХТ в ад'ювантному режимі	20 (87,0)	10 (47,6)
Комплексний		
Хірургічний + променева терапія та ПХТ в ад'ювантному режимі	2 (8,7)	3 (14,3)

ПХТ — поліхіміотерапія.

**Таблиця 3.** Розподіл хворих на рак родичів у родовах пацієток із РЯ і РГЗ

Клініко-генеалогічні дані родоводів	Кількість пацієток із РЯ і РГЗ залежно від ступеня спорідненості родичів, які хворіли на рак	
	РЯ, n (%) (N=23)	РГЗ, n (%) (N=21)
Кількість хворих на рак родичів I ступеня спорідненості, n=33 (100%)	Материнська лінія, n=22 (64,5%)	12 (47,8)
	Батьківська лінія, n=11 (35,5%)	10 (42,8)
Кількість хворих на рак родичів II ступеня спорідненості, n=47 (100%)	Материнська лінія, n=35 (74,5%)	6 (26,1)
	Батьківська лінія, n=12 (25,5%)	5 (23,8)

**Таблиця 4.** Гістологічні особливості пухлинного процесу у хворих на РЯ та РГЗ

Гістологічні особливості пухлин	РЯ, n (%) (N=23)	РГЗ, n (%) (N=21)
Морфологія пухлин		
Серозний папілярний рак	13 (56,5)	—
Аденокарцинома	10 (43,5)	2 (9,5)
Інфільтративний протоковий рак	—	19 (90,5)
Ступінь диференціювання пухлин		
G1 (високий)	11 (47,8)	10 (47,6)
G2 (помірний)	4 (17,4)	4 (19,1)
G3 (низький)	8 (34,8)	7 (33,3)



Таблиця 5. Молекулярні підтипи РГЗ (за даними імуногістохімічного дослідження пухлин)

Молекулярні підтипи	Рецептори			Кількість хворих (N=21)	
	ER	PR	HER2/neu	n	%
Люмінальний А	+	+	-	9	42,9
Люмінальний В	+	+	+	7	33,3
Базальний (тричі рецептор-негативний)	-	-	-	5	23,8
HER2/neu-позитивний	-	-	-	0	0

Примітка: «+» – позитивна експресія рецепторів, «-» – відсутність експресії рецепторів.

дено молекулярно-генетичні дослідження у хворих на РГЗ і РЯ та у 55 практично здорових жінок (контрольна група), зіставних за віком і менструальним статусом із пацієнтками з пухлинною хворобою. Результати такого дослідження показали, що у хворих на РЯ і РГЗ ідентифіковано 7 мутацій 5382insC у гені BRCA1. Такі мутації були у 3 (13,0%) із 23 пацієнток із РЯ, у 4 (19,0%) з 21 хворої на РГЗ. Мутацій 6174delT у гені BRCA2 та 185delAG у гені BRCA1 не виявлено в жодній хворій. У жінок контрольної групи мутацій у генах BRCA1 та BRCA2 не визначено. Індивідуальний порівняльний аналіз результатів комплексного клінічного, клініко-генеалогічного, патоморфологічного та молекулярно-генетичного досліджень проведено у 7 носіїв мутації 5382insC у гені BRCA1 (табл. 6).

Як свідчать наведені дані, досить цікавими виявилися результати клініко-генеалогічного аналізу родоводів. Родичі обстежених нами пацієнток – носіїв мутації 5382insC у гені BRCA1 – хворіли на РЯ (2 матері), РГЗ (мати і 3 тітки по материнській лінії), рак щитоподібної залози (мати), рак ендометрія (бабуся по батьківській лінії), рак товстої кишки (мати та бабуся по материнській лінії), рак підшлункової залози (мати). Тобто серед родичів найчастіше на рак хворіла мати, при цьому переважали пухлини, у патогенезі яких мають зна-

чення гормональні фактори (РГЗ, РЯ, рак ендометрія, щитоподібної залози, товстої кишки).

Привертають увагу такі факти: у 6 із 7 пробандів вік не перевищував 50 років; у 2 пробандів (№ 3 та 7 за табл. 6) були первинно-множинні пухлини, серед яких діагностували РЯ та РГЗ. Матері цих хворих лікувалися з приводу РЯ.

Значний інтерес викликає розвиток первинно-множинних пухлин у жінки – носія мутації 5382insC у гені BRCA (№ 7 за табл. 6): у 37 років діагностовано рак правої грудної залози ІА стадії, у віці 41 року – рак лівої грудної залози ІІВ стадії, у 50 років – РЯ 2В стадії (серозна аденокарцинома низького ступеня диференціювання). При цьому гістологічна будова пухлин грудної залози була однаковою – інфільтративний протоковий рак високого ступеня диференціювання (G1). Наведене вказує на асоціацію мутації 5382insC у гені BRCA з розвитком первинно-множинних пухлин – РГЗ обох грудних залоз і РЯ.

Другий випадок первинно-множинної патології ОЖРС у носія мутації 5382insC у гені BRCA: пробанд – хвора на РЯ (№ 3 за табл. 6), у 48 років діагностовано рак правого яєчника, у 50 років – рак лівої грудної залози. Гістологічна будова РЯ відповідала серозній аденокарциномі низького ступеня диференціювання (G3), а РГЗ – інфільтративному протоковому раку помірного ступеня

диференціювання (G2). Серед родичів пробанда хворою на рак була мати – вона лікувалася з приводу РЯ. У пробанда двоє здорових дітей (рис. 2). Але при молекулярно-генетичному обстеженні дочки пробанда виявилось, що вона є носієм мутації 5382insC у гені BRCA1 і, безумовно, має підвищений ризик виникнення раку ОЖРС.

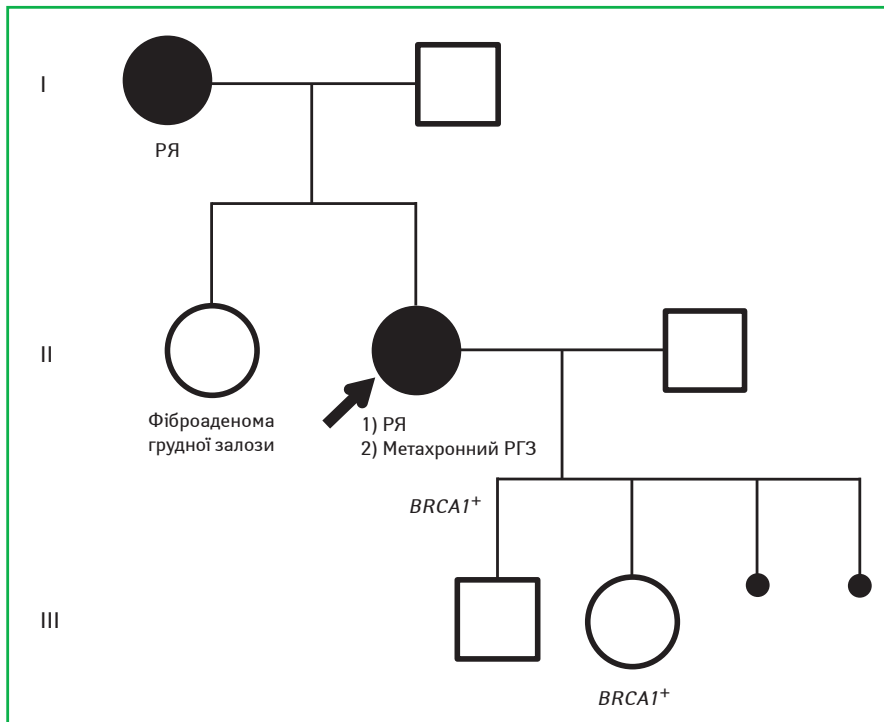
У цій статті ми детально не зупиняємося на особливостях клінічного перебігу і прогнозі обстежених нами хворих – носіїв мутації 5382insC у гені BRCA1, тому що це початковий етап фундаментального дослідження, присвяченого генним змінам у пухлинах ОЖРС. Але вже з огляду на одержані результати можемо констатувати, що мутація 5382insC у гені асоційована зі спадковим синдромом РЯ і РГЗ й аутосомно-домінантною передачею цієї мутації. Такий синдром характеризується підвищеним ризиком розвитку не тільки РЯ та РГЗ, але й раку передміхурової та підшлункової залоз, що диктує необхідність проведення молекулярно-генетичних досліджень у чоловіків із родини з асоціацією пухлинних процесів гормонального генезу та мутаціями в генах BRCA1/2. Ризик розвитку зазначених форм раку протягом життя за наявності патогенних варіантів генів BRCA1 або BRCA2 становить 40–80% для РГЗ, 11–40% – для РЯ, 1–10% – для РГЗ у чоловіків, до 39% – для раку передміхурової залози і 1–7% – для раку підшлункової залози [16].

Тепер мутації у генах BRCA1/2 широкіо вивчаються (особливо у хворих на РГЗ люмінального підтипу, який найбільш розповсюджений, і базального підтипу, що характеризується агресивним перебігом пухлинного процесу) для визначенням їхніх клінічних особливостей, зв'язку з такими біологічними

Таблиця 6. Індивідуальний порівняльний аналіз результатів комплексного обстеження хворих на РЯ та РГЗ – носіїв мутації 5382insC у гені BRCA1

Клінічний діагноз, вік виявлення раку	Стадія	Гістологічний діагноз	Ген BRCA1	
			Мутація 5382insC	Клініко-генеалогічні дані родоводів
№ 1. РЯ, 48 років	pT3CN0M0	Серозний папілярний рак	G3	Рак товстої кишки у матері та бабусі (по материнській лінії) Рак легені у діда та дядька по батьківській лінії
№ 2. РЯ, 51 рік	pT3CN0M0	Серозний папілярний рак	G3	Рак щитоподібної залози у матері РГЗ у тітки по материнській лінії
№ 3. РЯ, 48 років	pT3CN0M0	Серозна аденокарцинома яєчника	G3	РЯ у матері
РГЗ, 50 років	pT1N0M0	Інфільтративний протоковий рак	G2	
№ 4. РГЗ, 46 років	pT1N0M0	Інфільтративний протоковий РГЗ, люмінальний В молекулярний підтип	G2	РГЗ у матері
№ 5. РГЗ, 40 років	pT1N0M0	Інфільтративний протоковий рак, люмінальний А молекулярний підтип	G3	Рак підшлункової залози у матері РГЗ у 2 тіток по материнській лінії
№ 6. РГЗ, 31 рік	T1N0M0	Інфільтративний протоковий рак, люмінальний В молекулярний підтип	G3	Рак ендометрія у бабусі по батьківській лінії
№ 7. РГЗ (права грудна залоза), 37 років	pT2N0M0	Інфільтративний протоковий рак правої грудної залози, люмінальний В молекулярний підтип	G1	РЯ у матері
РГЗ (ліва грудна залоза), 41 рік	pT2N1M0	Інфільтративний протоковий рак лівої грудної залози, люмінальний В молекулярний підтип	G1	
РЯ, 50 років	pT2bN0M0	Серозна аденокарцинома яєчника	G3	

G – ступінь диференціювання пухлин.



**Рис. 2.** Родовід хворої на первинно-множинний рак: первинна пухлина — РЯ у віці 48 років, метакронна пухлина у 50 років — РГЗ (пробанда вказано стрілкою). Молекулярно-генетичне дослідження ДНК периферичної крові встановило мутацію *5382insC* у гені *BRCA1*. З анамнезу пробанда — мати захворіла на РЯ у віці 57 років. У сестри пробанда діагностовано фіброаденому грудної залози. У пробанда син і дочка, яка є носієм мутації *5382insC* у гені *BRCA1*

маркерами, як ER, PgR, HER2/неу, p53 та Ki-67 у первинній пухлині та метастатичних ураженнях [17–19]. Варто зауважити, що визначення мутацій у генах *BRCA1/2* має предиктивний характер, і за умови знання про наявність у них таких мутацій жінки будуть більш уважними до своїх симптомів і частіше консультуватимуться в онкогинеколога, мамолога та інших спеціалістів.

Необхідність проведення комплексних досліджень, які включають клінічні, гістологічні, генеалогічні та молекулярно-генетичні методи, ґрунтується на суттєвому клінічному значенні одержаних результатів — можливості визначити, перш за все, генетичну схильність до розвитку спадкової патології, а також розробці заходів, які йому запобігають. Не менш важливо знати про характер пухлинного процесу — спадковий або спорадичний, варіабельність генетичних особливостей пухлин одного генезу та зв'язок мутаційних змін зі злоякісним потенціалом захворювання. Ці дослідження надзвичайно важливі для вирішення такої складної проблеми онкології, як резистентність злоякісних пухлин до цитостатичної терапії. Клінічне значення цього напрямку досліджень ґрунтується на окремих спостереженнях і даних літератури, які свідчать, що при агрегації пухлинної патології у родовах змінюється медикаментозна резистентність пухлин. Так, у роботі [20] показано, що у хворих на рак ендоме-

трія з обтяженим сімейним анамнезом виявлено природну медикаментозну резистентність, яка характеризується достовірно вищим рівнем експресії білка MDR-1/P-gp у пухлинних клітинах порівняно з таким у пацієнтів без агрегації онкопатології у родовах. Крім того, вторинні мутації у клітинах із *BRCA1/2*-мутаціями також є ще одним важливим механізмом змін резистентності до цитостатиків і виживання пухлинних клітин із мутаціями [21]. Такі дослідження є обґрунтованою підставою для розробки лікарських препаратів з метою диференційної терапії пацієнтів онкологічного профілю, зокрема хворих на РЯ та РГЗ із мутаціями у генах *BRCA1* або *BRCA2* [22, 23].

### ВИСНОВКИ

У результаті комплексного клінічного, клініко-генеалогічного обстеження хворих на РЯ і РГЗ, патоморфологічного дослідження пухлин і молекулярно-генетичного дослідження ДНК периферичної крові, зокрема аналізу геномної ДНК периферичної крові (до початку лікування) для визначення мутацій *185delAG* та *5382insC* у гені *BRCA1*, мутації *6174delT* у гені *BRCA2* встановлено таке. У хворих на РЯ та РГЗ із родин з агрегацією пухлинної патології достовірних відмінностей стану менструальної функції не виявлено. У жінок контрольної групи мутацій у генах *BRCA1* та *BRCA2* не визначено. У геномній ДНК перифе-

ричної крові виявлено лише мутацію *5382insC* у гені *BRCA1* у 3 (13,0%) із 23 хворих на РЯ і у 4 (19,0%) із 21 пацієнтки із РГЗ. Кількість хворих на рак родичів I ступеня спорідненості становила 33 (41,2%), II ступеня спорідненості — 47 (58,8%). В обох групах обстежених було більше хворих на рак родичів по материнській, ніж по батьківській лінії. Підтверджено асоціацію мутації *5382insC* у гені *BRCA1* з розвитком спадкового синдрому РЯ/РГЗ та первинно-множинних пухлин ОЖРС. Встановлено асоціацію люмінального молекулярного підтипу А і В РГЗ із мутацією *5382insC* у гені *BRCA1*.

### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Свінціцький В.С., Воробйова Л.І., Неспрядько С.В. (2009) Актуальні проблеми хіміотерапії хворих на злоякісні пухлини яєчника. Вісник наукових досліджень, 4(57): 87–89.
2. Свінціцький В.С. (2010) Комплексне лікування хворих на злоякісні пухлини яєчника. Автореф. дис. ... доктора мед. наук, Київ: 40 с.
3. Головка Т.С., Смоланка І.І., Скляр С.Ю. и др. (2012) Лучевая диагностика редких заболеваний грудной железы с клиническим синдромом узловых мастопатий. Променева диагностика, променева терапія, 1: 19–31.
4. Іванкова В.С., Барановська Л.М., Іванкова О.М. та ін. (2012) Підходи до хіміопроменевого лікування хворих на рецидивні та метастатичні форми раку грудної залози. Укр. радіол. журн., 20(2): 153–155.
5. Смоланка І.І., Солодянікіна О.І., Скляр С.Ю., Костриба О.І. (2013) Вибір обсягу лімфодиссекції при операції з приводу раку грудної залози. Метод. рекомендації. Національний інститут раку, Київ.
6. Смоланка І.І., Югінов О.Г., Досенко І.В. та ін. (2013) Безпосередні результати комплексного лікування хворих на місцево-поширений рак грудної залози із застосуванням системно-селективної неoad'ювантної поліхіміотерапії. Клин. онкол., 1(9): 44–47.
7. Hall J.M., Lee M.K., Newman B. et al. (1990) Linkage of early-onset familial breast cancer to chromosome 17q21. Science, 250(4988): 1684–1689.
8. Wooster R., Neuhausen S.L., Mangion J. et al. (1994) Localization of a breast cancer susceptibility gene, *BRCA2*, to chromosome 13q12–13. Science, 265(5181): 2088–2090.
9. Mavaddat N., Peock S., Frost D. et al. (2013) Cancer risks for *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers: results from prospective analysis of EMBRACE. J. Natl. Cancer Inst., 105(1): 812–822.
10. Wang Q., Zhang H., Fishel R., Greene M.I. (2000) *BRCA1* and cell signaling. Oncogene, 19: 6152–6158.
11. Horsman D., Wilson B.J., Avar D. et al. (2007) Clinical management recommendations for surveillance and risk-reduction strategies for hereditary breast and ovarian cancer among individuals carrying a deleterious *BRCA1* or *BRCA2* mutation. J. Obstet. Gynaecol. Can., 29(1): 45–60.
12. Fattahi M.J., Mojtahedi Z., Karimaghvae N. et al. (2009) Analysis of *BRCA1* and *BRCA2* mutations in Southern Iranian breast cancer patients. Arch. Iranian Med., 12(6): 584–587.
13. Konecny M., Milly M., Zavodna K. (2011) Comprehensive genetic characterization of hereditary breast/ovarian cancer families from Slovakia. Breast Cancer Res. Treat., 126(1): 119–30.
14. Cherbal F., Salhi N., Bakour R. et al. (2012) *BRCA1* and *BRCA2* unclassified variants and missense polymorphisms in Algerian breast/ovarian cancer families. Dis. Markers., 32(6): 343–353.
15. Silva F.C., Lisboa B.C., Figueiredo M.C. et al. (2014) Hereditary breast and ovarian cancer: assessment of point mutations and copy number variations in Brazilian patients. BMC Med. Genet., 15: 55. doi: 10.1186/1471-2350-15-55.
16. Petrucelli N., Daly M.B., Feldman G.L. (2013) *BRCA1* and *BRCA2* hereditary breast and ovarian cancer (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1247).
17. Ricks-Santi L.J., Nie J., Marian C. et al. (2013) *BRCA1* polymorphisms and breast cancer epidemiology in the Western New York exposures and breast cancer (WEB) study. Genet. Epidemiol., 37(5): 504–511.

18. Santarosa M., Maestro R. (2012) BRACking news on triple-negative/basal-like breast cancers: how BRCA1 deficiency may result in the development of a selective tumor subtype. *Cancer Metastasis Rev.*, 31(1–2): 131–142.

19. Nishimura R., Osako T., Okumura Y. et al. (2011) Changes in the ER, PgR, HER2, p53 and Ki-67 biological markers between primary and recurrent breast cancer: discordance rates and prognosis. *World J. Surg. Oncol.*, 17(9): 131/

20. Бучинська Л.Г., Воробйова Л.І., Несіна І.П. (2005) Дослідження медикаментозної резистентності злоякісних новоутворень ендометрія залежно від агрегації пухлинної патології у родовах хворих. *Онкологія*, 7(3): 201–204.

21. Dhillon K.K., Swisher E.M., Taniguchi T. (2011) Secondary mutations of BRCA1/2 and drug resistance. *Cancer Sci.* 102(4): 663–669.

22. Audeh M.W., Carmichael J. et al. (2010) Oral poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor olaparib in patients with BRCA1 or BRCA2 mutations and recurrent ovarian cancer: a proof-of-concept trial. *Lancet*, 376(9737): 245–251.

23. Mercier-Vogel L., Bodmer A., Castiglione M. (2011) PARP inhibitors: new therapeutic agents in breast and ovarian cancer, 25(7): 1137–1140.

## Оценка ассоциации клинико-патологических особенностей опухолевого процесса с результатами клинико-генеалогического обследования больных раком яичника и грудной железы — носителей мутации 5382insC в гене BRCA1

О.В. Палийчук<sup>1,2</sup>, З.И. Россоха<sup>3</sup>, Ф.М. Галкин<sup>2</sup>, Л.З. Полищук<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев

<sup>2</sup>КУ «Черкасский областной онкологический диспансер» Черкасского областного совета

<sup>3</sup>ГУ «Референс-центр молекулярной диагностики МОЗ Украины», Киев

**Резюме.** Проведены комплексные клинико-патологические, клинико-генеалогические, патоморфологические, молекулярно-генетические исследования у 23 больных раком яичника (РЯ) I–IV стадии (по FIGO) и 21 пациентки с раком грудной железы (РГЖ) I–II стадии (по TNM). Выполнен анализ геномной ДНК периферической крови (до начала лечения) для определения мутаций 185delAG и 5382insC в гене BRCA1, мутации 6174delT в гене BRCA2. В качестве контроля использованы результаты клинического и молекулярно-генетического исследования ДНК периферической крови 55 здоровых женщин без опухолевой патологии в анамнезе. Удаленные опухоли проанализированы по гистологическому типу, степени дифференцировки. У больных РГЖ определяли молекулярный подтип образования путем иммуногистохимического исследования экспрессии гормональных рецепторов к эстрогену (ER) и прогестерону (PR), а также эпидермального фактора роста опухоли II типа (HER2/neu). Результаты показали, что у пациенток с РЯ и РГЖ из семей с агрегацией опухолевой патологии достоверные изменения репродуктивно-менструальной функции не выявлены. В геномной ДНК периферической крови определена только мутация 5382insC в гене BRCA1. На основании полученных результатов проанализирована клиническая, клинико-патоморфологическая характеристика опухолей и их связь с результатами клинико-генеалогических и молекулярно-генетических исследований индивидуально у каждой больной, у которой выявлены мутации в гене BRCA1. Данная мутация отмечена у 3 (13%) из 23 пациенток с серозным РЯ и у 4 (19%) больных с инфильтративным протоковым РГЖ люминального молекулярного подтипа. В обеих группах обследованных было больше больных раком родственников по материнской, чем по отцовской линии. У женщин контрольной группы мутации в генах BRCA1 и BRCA2 не определялись. Подтверждена ассоциация мутации 5382insC в гене BRCA1 с развитием наследственного синдрома РЯ/РГЖ и первично-множественных опухолей органов женской репродуктивной системы.

**Ключевые слова:** рак яичника, рак грудной железы, клиническая и генеалогическая характеристика, гены BRCA1/2, мутации 5382insC BRCA1.

## Estimation of association of clinical-pathological features of tumor process with results of clinical-genealogical examination of patients with ovarian and breast cancer — carriers of mutation 5382insC in BRCA1 gene

O.V. Paliyчук<sup>1,2</sup>, Z.I. Rossokha<sup>3</sup>, F.M. Galkin<sup>2</sup>, L.Z. Polishchuk<sup>1</sup>

<sup>1</sup>R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology of National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

<sup>2</sup>CE «Cherkassy Regional Oncologic Dispensary» of Cherkassy Regional Council

<sup>3</sup>SE «Reference Centre for Molecular Diagnostics of the Ministry of Public Health of Ukraine», Kyiv

**Summary.** Complex clinical-pathological, clinical-genealogical pathomorphological, molecular-genetic examinations of 23 patients with ovarian cancer (OC), I–IV stages (FIGO classification) and in 21 patient with breast cancer (BC), stages I–II (according to TNM) were carried out. Analysis of genomic DNA from peripheral blood (before treatment) was performed to determine mutations 185delAG and 5382insC in BRCA1 gene, and mutation 6174delT in BRCA2 gene. Results of clinical and molecular-genetic examination of DNA from peripheral blood of 55 healthy women without oncologic pathology in anamnesis were used as a control. Excised tumors were analyzed for histological type and differentiation grade. In BC patients molecular tumor subtype was determined by immunohistochemical examination of expression of hormone receptors to estrogen (ER) and progesterone (PR), and human epidermal growth factor type II (HER2/neu). The results demonstrated that in patients with OC and BC from the families with aggregation of tumor pathology the differences in reproductive-menstrual function status were not found. In genomic DNA from peripheral blood only the mutation 5382insC in BRCA1 gene was determined. Basing on the obtained results clinical, clinical-pathomorphological tumor characteristics, and its association with the results of clinical-genealogical and molecular-genetic examinations were analyzed individually for every patient with mutations in BRCA1 gene. This mutation was observed in 3 (13%) of 23 patients with serous OC and 4 (19%) of patients with infiltrative ductal BC of luminal molecular subtype. In both groups of examined patients there were more maternal relatives with cancer than paternal relatives with cancer. In women from control group mutations in BRCA1 and BRCA2 genes were not found. Association of the mutation 5382insC in BRCA1 gene with development of hereditary syndrome of OC/BC and primary-multiple tumors of female reproductive system organs was confirmed.

**Key words:** ovarian cancer, breast cancer, clinical and genealogical characteristics, BRCA1/2 genes, mutations 5382insC BRCA1.