DOI: 10.32364/2587-6821-2022-6-6-297-308

Анализ результатов многолетнего массового скрининга мутаций в генах *BRCA1/2* у больных с различными типами злокачественных новообразований

А.М. Строганова[1], Н.И. Поспехова[1], Д.А. Головина[1], И.С. Черепанова[2], С.Л. Дранко[1], М.Г. Филиппова[1]

[1]ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия
[2]НОЧУ «МИПМО», Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение: герминальные мутации в генах *BRCA1* и *BRCA2* (*BRCA1/2*) ассоциированы с высоким риском развития рака различных локализаций. В настоящее время определение *BRCA*-статуса у таких больных важно для выбора тактики хирургического лечения и выявления показаний к назначению ряда химиотерапевтических препаратов.

Цель исследования: оценка результатов массового генетического скрининга мутаций в генах *BRCA1/2* у больных с различными типами злокачественных новообразований (ЗНО).

Материал и методы: проанализированы результаты генетического скрининга 5043 пациентов, проходивших лечение с диагнозами: рак молочной железы (РМЖ; n=4216), рак яичников (РЯ; n=481), первично-множественные ЗНО (ПМЗНО; n=174), рак поджелудочной железы (РподЖ; n=96) и рак предстательной железы (РпредЖ; n=75). Всем больным выполнена ДНК-диагностика 8 повторяющихся в российской популяции мутаций в генах *BRCA1/2*. Исследование всей кодирующей последовательности генов *BRCA1/2* выполнено у 655 больных, негативных по мутациям скрининга, с использованием методов анализа кривых плавления с высоким разрешением, секвенирования по Сэнгеру, а также массового параллельного секвенирования.

Результаты и обсуждение: среди 5043 больных ЗНО суммарная частота *BRCA*-мутаций составила 8%. У пациентов с РМЖ частота повторяющихся вариантов составила 6,7%, при двухстороннем РМЖ (ДРМЖ) — 13,5%, в группе РЯ — 17%, в группе ПМЗНО — 13,1%, при РподЖ — 3,1%, среди больных РпредЖ мутаций выявлено не было. Частота мутации c.5266dup в гене *BRCA1* составила 5,63%. Сорок девять (0,97%) пациентов являлись носителями другой характерной для славянских популяций мутации — p.C61G. Остальные варианты обнаруживались гораздо реже (0,1–0,38%).

При анализе кодирующей последовательности генов *BRCA1/2* у 655 пациентов патогенные мутации (класс 5) были обнаружены в 13% случаев. Частота редких вариантов при РМЖ составила 11,1%, при ДРМЖ — 26,5%, при РЯ — 14,9%, при ПМЗНО — 31%, при РподЖ — 2,3%, при РпредЖ — 2,5%. В гене *BRCA1* обнаружена 41 уникальная клинически значимая мутация, 4 из которых повторялись у неродственных больных. В гене *BRCA2* обнаружены 29 уникальных клинически значимых мутаций, 5 из которых повторялись. Также были обнаружены 19 миссенс-мутаций, определяемых согласно базам данных как варианты с неизвестным клиническим значением (класс 3), которые были проанализированы с использованием 7 алгоритмов предсказания патогенности. В результате анализа 5 мутаций в большинстве алгоритмов были оценены как вероятно патогенные или патогенные (класс 4–5), 5 мутаций остаются вариантами с неизвестным значением, 9 вариантов определены как клинически незначимые.

Заключение: российская популяция характеризуется наличием ряда повторяющихся мутаций, при этом частота встречаемости c.5266dup и p.C61G среди больных разными типами ЗНО значительно превышает частоту других вариантов. Анализ повторяющихся вариантов в *BRCA1/2* позволяет выявить примерно 80% носителей патогенных мутаций. Использование диагностической панели, включающей такие варианты, обеспечивает недорогой и чувствительный алгоритм первичного скрининга генов *BRCA1/2*. Последующее исследование всей кодирующей части генов (секвенирование) оправдано в исследованных группах пациентов и позволяет значительно повысить выявляемость патогенных мутаций в генах *BRCA1/2*.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: мутации *BRCA1*, мутации *BRCA2*, рак молочной железы, рак яичников, злокачественные новообразования.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: *Строганова А.М., Поспехова Н.И., Головина Д.А. и др. Анализ результатов многолетнего массового скрининга мутаций в генах BRCA1/2 у больных с различными типами злокачественных новообразований. РМЖ. Медицинское обозрение. 2022;6(6):297–308. DOI: 10.32364/2587-6821-2022-6-6-297-308.*

Review of the results of mass screening for the *BRCA1/2* gene mutations in patients with different types of malignant neoplasms

A.M. Stroganova[1], N.I. Pospekhova[1], D.A. Golovina[1], I.S. Cherepanova[2], S.L. Dranko[1], M.G. Filippova[1]

[1]N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russian Federation
[2]International Institute of Postgraduate Medical Education, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Background: germline mutations in the *BRCA1* and *BRCA2* genes are associated with a high risk of developing cancer of various localizations. Currently, the determination of *BRCA* status in such patients is important for choosing surgical tactics and determining indications for the administration of multiple chemotherapy drugs.

Aim: to evaluate the results of mass genetic screening for mutations in the *BRCA1* and *BRCA2* genes in patients with various types of malignant neoplasms (MN).
Patients and Methods: the results of genetic screening of 5043 patients who are reviewed in the study. The patients had the following diagnoses: breast cancer (BC, n=4216), ovarian cancer (OC, n=481), multiple primary malignant neoplasms (n=174), pancreatic cancer (n=96) and prostate cancer (n=75). Real-time PCR-based genetic testing for eight recurrent *BRCA1/2* gene mutations specific for the Russian population was performed for all patients. The study of the entire coding sequence of the *BRCA1/2* genes was carried out in 655 patients with negative screening results for mutations using high-resolution melting curve analysis, Sanger sequencing, and massively parallel sequencing.
Results and Discussion: among 5043 cancer patients, the total frequency of *BRCA* mutations was 8%. In patients with BC the recurrent variants accounted for 6.7%, bilateral BC — 13.5%, OC — 17%, multiple primary malignant neoplasms (MPMN) — 13.1%, pancreatic cancer — 3.1%, while in patients with prostate cancer no mutations were found. The frequency of the c.5266dup mutation in the *BRCA1* gene was 5.63%. Forty nine patients (0.97%) were carriers of another mutation — p.C61G, which is specific for the Slavic populations. Other variants were found much less frequently (0.1–0.38%). Thus, screening for common mutations helped to determine the prevalence of each of the variants and proved a high frequency of c.5266dup and p.C61G mutations. The analysis of the coding sequence of the *BRCA1/2* genes in 655 patients revealed pathogenic mutations (class 5) in 13% of cases. The prevalence of rare variants in patients with BC was 11.1%, bilateral BC — 26.5%, OC — 14.9%, MPMN — 31%, pancreatic cancer — 2.3%, and prostate cancer — 2.5%. In the *BRCA1* gene, 41 unique clinically significant mutations were found, and four of them were repeated in unrelated patients. In the *BRCA2* gene, 29 unique clinically significant mutations were found, five of which were repeated. Moreover, 19 missense mutations were detected which, according to the databases, were categorized as variants with unknown clinical significance (class 3). They were analyzed using seven pathogenicity prediction algorithms. As a result, five mutations were interpreted by the most algorithms as likely pathogenic or pathogenic (class 4/5), five mutations were re-assessed as variants with unknown significance, and nine variants were identified as clinically insignificant.
Conclusion: thus, the Russian population is characterized by the presence of multiple recurrent mutations, while in patients with different cancer types the prevalence of c.5266dup and p.C61G is significantly higher than the prevalence of other variants. Analysis of recurrent variants in the *BRCA1/2* genes enables identification of approx. 80% of carriers of the pathogenic mutations. The use of the panel kit which includes such variants is considered as an inexpensive and sensitive algorithm for the first-step screening of the *BRCA1/2* genes. A follow-on investigation of all coding gene regions (sequencing) is feasible for the studied patient groups and can significantly increase the detectability of pathogenic mutations in the *BRCA1/2* genes.
KEYWORDS: *BRCA1* mutations, *BRCA2* mutations, breast cancer, ovarian cancer, malignant neoplasms.
FOR CITATION: *Stroganova A.M., Pospekhova N.I., Golovina D.A. et al. Review of the results of mass screening for the BRCA1/2 gene mutations in patients with different types of malignant neoplasms. Russian Medical Inquiry. 2022;6(6):297–308 (in Russ.). DOI: 10.32364/2587-6821-2022-6-6-297-308.*

Введение

Наследственные мутации в генах *BRCA1* и *BRCA2* (*BRCA1/2*) увеличивают риск развития рака различных локализаций. Наиболее значительно — на 60–80% — возрастает риск развития одно- и двухстороннего рака молочной железы (РМЖ) и рака яичников (РЯ) — примерно на 20–50% [1, 2]. Также у носителей *BRCA*-мутаций повышен риск развития рака предстательной железы (РпредЖ), рака поджелудочной железы (РподЖ), желудка и других вторых первичных опухолей. В то же время определение *BRCA*-статуса у больных злокачественными новообразованиями (ЗНО) играет важную роль для выбора тактики хирургического лечения и профилактики, а также выявления показаний для назначения таких таргетных препаратов, как PARP-ингибиторы, поскольку опухоли, ассоциированные с *BRCA*-мутацией, высокочувствительны к PARP-ингибиторам и препаратам платины [3].

Интенсивные исследования мутаций в генах *BRCA1/2* в российской популяции больных РМЖ и/или РЯ начались в 1996 г. В результате этих работ были идентифицированы частые мутации: в *BRCA1* — c.5266dup (5382inC), c.181T>G (300T>G), c.68_69del (185delAG), c.4035delA (4154delA), c.1961del (2080delA), c.3700_3704del (3819del5), c.3755_3758del (3875del4); в *BRCA2* — c.5946del (6174delT) [4–6]. Выявление повторяющихся в российской популяции мутаций позволило создать диагностическую панель для первичного генетического скрининга пациентов. Однако повторяющиеся мутации в гене *BRCA1* покрывают примерно 70–80% всех мутаций [4–6], а ген *BRCA2* характеризуется широким разнообразием различных мутаций, и единственная мутация c.5946del (6174delT) может быть отнесена к частым. При отсутствии у пациента с РМЖ, РЯ, РподЖ или РпредЖ частой мутации очевидна необходимость изучения полной кодирующей последовательности обоих генов, особенно при подозрении на наследственный характер заболевания.

Цель исследования: оценка результатов массового скрининга пациентов с различными типами ЗНО с использованием панели первичного генетического скрининга и полного анализа кодирующей последовательности генов *BRCA1* и *BRCA2*.

Материал и методы

В настоящее исследование включены результаты молекулярно-генетического тестирования 5043 пациентов, проходивших лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России в период с 2018 по 2021 г. Среди обследованных было 4050 больных РМЖ, 166 — двухсторонним РМЖ (ДРМЖ), 481 — РЯ, 175 — первично-множественными злокачественными новообразованиями (ПМЗНО), одним из которых был РМЖ, РЯ или РподЖ, 96 — РподЖ, 75 — РпредЖ.

Всем пациентам было проведено молекулярно-генетическое исследование носительства частых герминальных мутаций в гене *BRCA1* — c.68_69del, c.1961del, c.3700_3704del, c.3755_3758del, c.4035del, c.5266dup, p.C61G и в гене *BRCA2* — c.5946del. ДНК-диагностика проводилась на образцах периферической крови методом ПЦР в реальном времени с использованием набора реагентов «ОнкоГенетика BRCA» («ДНК-технология», Россия) по инструкции производителя.

Исследование всей кодирующей нуклеотидной последовательности генов *BRCA1/2* выполнено у 655 больных,

из них: 379 — с РМЖ, 49 — с ДРМЖ, 101 — с РЯ, 42 — с ПМЗНО, 44 — с РподЖ и 40 — с РпредЖ. Шестьсот двадцать образцов периферической крови пациентов исследовали с использованием метода анализа кривых плавления с высоким разрешением (HRM-анализ, High Resolution Melting). Для охвата всей кодирующей области и сайтов сплайсинга генов *BRCA1/2* было использовано 84 пары праймеров. ПЦР в реальном времени проводили на ПЦР-анализаторе LightCycler 480 (Roche) с использованием интеркалирующего красителя EvaGreen. Все анализируемые фрагменты, отличающиеся от нормализованной кривой плавления, верифицировали методом секвенирования по Сэнгеру на генетическом анализаторе GenomeLab GeXP (Beckman Coulter). Тридцать пять образцов были проанализированы методом массового параллельного секвенирования на генетическом анализаторе GeneReader (Quagen) с использованием панели GeneRead QIAact BRCA1/2 Panel по инструкции производителя.

Выявленные варианты генов были обозначены согласно номенклатуре, представленной в рекомендациях Human Genome Variation Society (HGVS) [7]. Использовали референсную последовательность транскриптов *BRCA1* (NM_007294.3) и *BRCA2* (NM_000059.3).

Для интерпретации обнаруженных вариантов использовали базы данных dbSNP (The Single Nucleotide Polymorphism database) и ClinVar (Clinical Variation). Функциональную значимость обнаруженных миссенс-вариантов оценивали с помощью программ предсказания патогенности PROVEAN (Protein Variation Effect Analyzer), SIFT (Sorting Intolerant from Tolerant), MutationAssessor, PolyPhen-2 (Polymorphism Phenotyping), FATHMM (Functional Analysis through Hidden Markov Models (v2.3), использовали 2 программных алгоритма) и Align-GVGD. Популяционную частоту аллелей оценивали с помощью баз данных проектов ExAC (Exome Aggregation Consortium), 1000G (1000 Genomes Project), The PAGE Study, TOPMed (Trans-Omics for Precision Medicine).

Все нуклеотидные варианты классифицировали по их патогенности согласно рекомендациям консорциума Enigma (Evidence-based Network for the Interpretation of Germline Mutant Alleles) [8]: *класс 5* — патогенный (pathogenic); *класс 4* — вероятно патогенный (likely pathogenic); *класс 3* — неопределенного значения (uncertain significance); *класс 2* — вероятно доброкачественный (likely benign); *класс 1* — доброкачественный (benign).

Статистическую обработку данных проводили с использованием программного обеспечения «Медицинская статистика» (https://medstatistic.ru/calculators). Сравнение частот в разных группах выполняли при помощи двустороннего критерия Фишера и критерия χ^2 с поправкой Йетса.

Результаты и обсуждение

Клиническая характеристика исследованной группы больных представлена в таблице 1.

Первоначально 5043 пациентам была проведена ДНК-диагностика распространенных в российской популяции мутаций. Было выявлено 403 (8%) пациента с наличием частой герминальной мутации. Среди пациентов с РМЖ частота повторяющихся вариантов составила 6,7% (272 из 4050), при ДРМЖ — 13,5% (23 из 170), в группе РЯ — 17% (82 из 481), в группе ПМЗНО — 13,1% (23 из 175), при РподЖ — 3,1% (3 из 96), среди больных РпредЖ мутаций выявлено не было. Частота повторяющихся мутаций в общей группе и в группах больных с различным диагнозом приведена в таблице 2.

В настоящее время определение мутаций в генах *BRCA1/2* с диагностическими и профилактическими целями приобрело в России широкое распространение. Особенностью российской популяции является значительное преобладание одной *BRCA1*-мутации — c.5266dup (5382delC). Эта мутация с эффектом основателя возникла 1500–1800 лет назад, вероятно, на северо-западной территории России [9]. В нашей выборке больных различными ЗНО выявлено 284 носителя c.5266dup, т. е. частота мутации составила 5,63%. Сорок девять (0,97%) пациентов являлись носителями другой характерной для славянских популяций мутации — p.C61G. Остальные варианты обнаруживались гораздо реже (0,10–0,38%). Схожие показатели встречаемости мутаций описаны в других полномасштабных российских исследованиях [10–12].

Таблица 1. Клинико-генеалогическая характеристика больных
Table 1. Clinical and genealogical characteristics of patients

Характеристика / Characteristic	**РМЖ** BC **(n=4050)**	**ДРМЖ** BBC **(n=166)**	**РЯ** OC **(n=481)**	**ПМЗНО** MPMN **(n=175)**	**РподЖ** Pancreatic cancer **(n=96)**	**РпредЖ** Prostate cancer **(n=75)**
Средний возраст постановки диагноза, лет Mean age at diagnosis, years	47,4±11,1	48,3±9,5	51,1±8,9	50,3±7,4	57,6±10,8	62,6±7,2
Возраст пациентов, лет / Patient age, years	20–82	23–69	35–70	27–72	28–78	49–80
Семейный анамнез + / Family health history +, n (%)	2129 (68,2)	105 (77,8)	247 (76,9)	105 (73,4)	33 (61,1)	49 (73,1)
Семейный анамнез - / Family health history -, n (%)	991 (31,8)	30 (22,2)	74 (23,1)	38 (26,6)	21 (38,9)	18 (26,9)
Семейный анамнез: нет данных Family health history: no data	930	31	160	32	42	8

Примечание. *Здесь и в табл. 2, 3: РМЖ — рак молочной железы, ДРМЖ — двусторонний РМЖ, РЯ — рак яичника, ПМЗНО — первично-множественные злокачественные новообразования, РподЖ — рак поджелудочной железы, РпредЖ — рак предстательной железы.*
В случае ДРМЖ и ПМЗНО указан возраст постановки первого диагноза; семейный анамнез (+) — ЗНО любой локализации у кровных родственников, семейный анамнез (-) — не отягощенный ЗНО анамнез.

Note. *Here and in table 2, table 3: BC — breast cancer, BBC — bilateral BC, OC — ovarian cancer, MPMN — multiple primary malignant neoplasms.*
In cases of BBC and MPMN, the age of first diagnosis is specified; family health history (+) — MN of any localization in siblings; family health history (-) — no history of MN.

Таблица 2. Частота повторяющихся мутаций в генах *BRCA1/2* в обследованных группах больных
Table 2. The prevalence of *BRCA1/2* recurrent mutations in the studied patient groups

Группа Group	**Всего мутаций,** Mutations, total, n (%)	*BRCA1*							*BRCA2*
		Количество мутаций / Number of mutations, n (%)							
		c.68–69del	***c.1961del***	***c.3700–3704 del***	***c.3755–3758 del***	***c.4035del***	***c.5266dup***	***p.C61G***	***c.5946del***
Всего / Total (n=5043)	403 (8,0)	17 (0,34)	19 (0,38)	6 (0,12)	4 (0,08)	19 (0,38)	284 (5,63)	49 (0,97)	5 (0,10)
РМЖ / BC (n=4050)	272 (6,70)	8 (0,20)	8 (0,20)	5 (0,12)	3 (0,07)	9 (0,22)	201 (4,97)	34 (0,84)	4 (0,10)
ДРМЖ / BBC (n=170)	23 (13,50)	–	1 (0,59)	1 (0,59)	–	2 (1,18)	16 (9,41)	3 (1,75)	–
РЯ / OC (n=481)	82 (17,00)	7 (1,46)	8 (1,67)	–	1 (0,02)	7 (1,46)	50 (10,40)	9 (1,87)	–
ПМЗНО / MPMN (n=175)	23 (13,10)	2 (1,14)	1 (0,57)	–	–	1 (0,57)	15 (8,57)	3 (1,71)	1 (0,57)
РподЖ / Pancreatic cancer (n=96)	3 (3,10)	–	1 (1,04)	–	–	–	2 (2,08)	–	–

Таблица 3. Частота патогенных мутаций в генах *BRCA1/2* в обследованных группах больных
Table 3. The prevalence of *BRCA1/2* pathogenic mutations in the studied patient groups

Ген / Gene	**Всего** / Total (n=655)	**РМЖ** / BC (n=379)	**ДРМЖ** / BBC (n=49)	**РЯ** / OC (n=101)	**ПМЗНО** / MPMN (n=42)	**РподЖ** / Pancreatic cancer (n=44)	**РпредЖ** / Prostate cancer (n=40)
BRCA1/2	85 (13)	42 (11,1)	13 (26,5)	15 (14,9)	13 (31,0)	1 (2,3)	1 (2,5)
BRCA1	48 (7,3)	21 (5,55)	5 (10,2)	13 (12,9)	9 (21,4)	0	0
BRCA2	37 (5,7)	21 (5,55)	8 (16,3)	2 (2)	4 (9,6)	1 (2,3)	1 (2,5)

Примечание. *В скобках указан %.*

Note. *In brackets the percentage (%) is indicated.*

Всего же тестирование 8 частых мутаций позволило выявить 403 (8,0%) носителя мутации. Для разных ЗНО частота мутаций варьировала: от 3,1% при РподЖ и 6,7% при РМЖ до 17,0% при РЯ (РМЖ/РЯ: χ^2=62,3, p<0,001). Подобные значения частот получены в российских исследованиях: среди 10 968 больных РМЖ и/или РЯ, протестированных в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, частота 4 мутаций (*BRCA1*: 5382insC, 4153delA, 185delAG; *BRCA2*: 6174delT) составила 6% [10], в ФГБУ «РНЦРР» Минздрава России при исследовании 3826 больных РМЖ мутации выявлены в 3,5% случаев [11] и в 3,8% (169 носителей из 4440 обследованных) случаев [12]. Таким образом, скрининговое тестирование частых мутаций в российской популяции позволило более точно определить частоту встречаемости каждой из них, что подтверждает высокую частоту мутаций c.5266dup и p.C61G.

Отметим, что среди 329 больных ЗНО с выявленной мутацией, которые прошли медико-генетическое консультирование, 40 (12,2%) человек не имели отягощенного онкологического семейного анамнеза, 12 (3,6%) из них на момент постановки диагноза были старше 50 лет. В случае РМЖ среди 230 носителей мутации было 29 (12,6%) пациентов без семейной истории, из которых старше 50 лет было 6 (2,6%) человек. При этом в нашем исследовании к отягощенному семейному анамнезу относили случаи наличия у кровных родственников таких ЗНО, как рак тела матки, рак толстой кишки, рак желудка, лимфома и ряд других, не соответствующих классическому определению наследственного РМЖ/РЯ. То есть существует определенная и не очень малая группа больных, которые, не имея клинических признаков наследственного заболевания РМЖ/РЯ, тем не менее являются носителями патогенной *BRCA*-мутации.

На втором этапе исследования был проведен анализ всей кодирующей последовательности генов *BRCA1/2* у 655 пациентов. Патогенные мутации (класс 5), включающие делеции, вставки, дупликации, нонсенс-мутации и мутации сайта сплайсинга, а также 4 миссенс-мутации, относящиеся к клинически значимым мутациям согласно данным ClinVar и dbSNP, были обнаружены в 85 (13%) случаях. Данные о частотах патогенных вариантов в генах *BRCA1/2* в разных группах больных представлены в таблице 3.

Частота встречаемости редких вариантов в гене *BRCA1* несколько выше, чем в гене *BRCA2*, и составляет в суммарной выборке больных 7,3% и 5,7% соответственно. Однако в случае РЯ мутации обнаружены преимущественно в гене *BRCA1* (13 из 15; 86,67%). При сравнении частот встречаемости вариантов в разных генах между группами РМЖ и РЯ, а также ДРМЖ и РЯ различия статистически значимы (p<0,05, F=0,0154 и p<0,05, F=0,0163 соответственно).

В гене *BRCA1* обнаружена 41 уникальная клинически значимая мутация, 4 из которых повторялись. Делеция c.1510del встретилась у 4 неродственных пациентов, миссенс-вариант p.Ser1715Arg — у 3, а c.843_846del и p.Gln563Ter повторились дважды (табл. 4).

В гене *BRCA2* обнаружены 29 уникальных клинически значимых мутаций, 5 из которых повторялись. Делеция c.2808_2811del встретилась у 4 неродственных пациентов, мутация сайта сплайсинга c.9117 G>A — у 3 больных, c.2653_2656del, p.Ile2627Phe и c.9097del повторились дважды (табл. 5).

Наиболее частым типом мутаций в обоих генах были делеции, которые составили 48,8% в гене *BRCA1* и 44,8% в гене *BRCA2*, а также нонсенс-мутации, обнаруженные в 22% и 24,1% соответственно.

Примерами фенотипического проявления редких мутаций в гене *BRCA2* являются родословные семей Л. и К.

Таблица 4. Характеристика редких патогенных мутаций в гене *BRCA1*
Table 4. Characteristics of rare pathogenic mutations in the *BRCA1* gene

Белок (номенклатура HGVS) Protein (HGVS nomenclature)	**Положение в кДНК (номенклатура HGVS)** cDNA position (HGVS nomenclature)	**Экзон** Exon	**Тип мутации** Mutation Type	Reference SNP Report (rs)	**Число пациентов** Number of patients	**Общепопуляционная частота, %** / General population frequency, %
p.Glu23Argfs	c.66dup	2	**Дупликация** Duplication	rs80357783	1	0,0008 (1/125568, TOPMED)
p.Cys39Arg	c.115T>C	3	**Миссенс-мутация** Missence mutation	rs80357164	1	0,0 (0/282180 GnomAD_exome)
p.Ser267Ter	c.800C>G	11	**Нонсенс-мутация** Nonsense mutation	rs80357392	1	0,0 (0/78702, PAGE_STUDY)
p.Ser282Tyrfs	c.843–846del	11	**Делеция** / Deletion	rs80357919	2	**Нет данных** / N/A
p.Leu283Ter	c.848T>A	11	**Нонсенс-мутация** Nonsense mutation	rs273902792	1	0,0 (0/78700, PAGE_STUDY)
p.Val340Glyfs	c.1016dupA	11	**Дупликация** / Duplication	rs80357569	1	**Нет данных** / N/A
p.His437Metfs	c.1308delT	11	**Делеция** / Deletion	Новая / new	1	**Нет данных** / N/A
p.Arg446Serfs	c.1335–1336del	11	**Делеция** / Deletion	rs80357978	1	**Нет данных** / N/A
p.Leu502Alafs	c.1504–1508del	11	**Делеция** / Deletion	rs80357888	1	0,0012 (3/251068, GnomAD_exome)
p.Arg504Valfs	c.1510del	11	**Делеция** / / Deletion	rs80357908	4	0,0004 (1/251044, GnomAD_exome)
p.Gln534Argfs	c.1600del	11	**Делеция** / Deletion	rs869320776	1	**Нет данных** / N/A
p.Gln563Ter	c.1687C>T	11	**Нонсенс-мутация** Nonsense mutation	rs80356898	2	0,0041 (5/121058, ExAC)
p.Leu625_Val626insTer	c.1875del	11	**Делеция** / Deletion	rs398122646	1	**Нет данных** / N/A
p.Ser628Glufs	c.1881–1884del	11	**Делеция** / Deletion	rs80357567	1	0,0004 (1/251202, GnomAD_exome)
p.Lys653Serfs	c.1953–1956del	11	**Делеция** / Deletion	rs80357526	1	0,0008 (1/125568, TOPMED)
p.Gln759Ter	c.2275C>T	11	**Нонсенс-мутация** Nonsense mutation	rs80356999	1	0,0004 (1/251178, GnomAD_exome)
p.Leu785Ter	c.2354T>A	11	**Нонсенс-мутация** Nonsense mutation	rs397508961	1	**Нет данных** / N/A
p.Ser864Ter	c.2591C>G	11	**Нонсенс-мутация** Nonsense mutation	rs80357003	1	**Нет данных** / N/A
p.Glu881Aspfs	c.2643del	11	**Делеция** / Deletion	rs397508989	1	**Нет данных** / N/A
p.Thr884Glyfs	c.2649–2650insGGCA	11	**Вставка** / Insertion	rs886038003	1	**Нет данных** / N/A
p.Glu907Lysfs	c.2719–2722del	11	**Делеция** / Deletion	rs80357731	1	**Нет данных** / N/A
p.Thr967Leufs	c.2898del	11	**Делеция** / Deletion	rs886038005	1	**Нет данных** / N/A
p.Met1014Lysfs	c.3030–3040dup	11	**Дупликация** / Duplication	-	1	**Нет данных** / N/A
p.Gly1077Alafs	c.3228–3229del	11	**Делеция** / Deletion	rs80357635	1	0,0004 (1/250376, GnomAD_exome)
p.Met1083Ter	c.3247–3251del	11	**Делеция** / Deletion	rs1135401859	1	**Нет данных** / N/A
p.Lys1109Serfs	c.3326–3329del	11	**Делеция** / Deletion	rs80357575	1	**Нет данных** / N/A
p.Lys1109Asnfs	c.3327–3330del	11	**Делеция** / Deletion	новая	1	**Нет данных** / N/A
p.Glu1210Argfs	c.3627dup	11	**Дупликация** / Duplication	rs80357729	1	0,0008 (2/251268, GnomAD_exome)
p.Val1234Glnfs	c.3700–3704del	11	**Делеция** / Deletion	rs80357609	1	**Нет данных** / N/A
p.Glu1257Glyfs	c.3770–3771del	11	**Делеция** / Deletion	rs80357579	1	0,0008 (2/251226, GnomAD_exome)
p.Gln1323fs	c.3968–3971del	11	**Делеция** / Deletion	rs886040181	1	**Нет данных** / N/A
p.Thr1677Ilefs	c.5030–5033del	17	**Делеция** / Deletion	rs80357862	1	**Нет данных** / N/A
in-frame Ex 18 skipping r.5075–5152del	c.5075–1G>A	17 интрон	**Мутация сайта сплайсинга** Splicing site mutation	rs1800747	1	**Нет данных** / N/A

Окончание таблицы 4
Table 4 (continued)

Белок (номенклатура HGVS) Protein (HGVS nomenclature)	Положение в кДНК (номенклатура HGVS) cDNA position (HGVS nomenclature)	Экзон Exon	Тип мутации Mutation Type	Reference SNP Report (rs)	Число пациентов Number of patients	Общепопуляционная частота, % / General population frequency, %
p.Gly1706Glu	c.5117G>A	18	**Миссенс-мутация** Missense mutation	rs80356860	1	0,02 (1/4480, Estonian)
p.Ser1715Arg	c.5145C>G	18	**Миссенс-мутация** Missense mutation	rs80357094	3	**Нет данных** / N/A
in-frame Ex 18 skipping r.5075–5152del	c.5152+1G>T	18 интрон	**Мутация сайта сплайсинга** Splicing site mutation	rs80358094	1	**Нет данных** / N/A
skipping of exon 19	c.5153–2del	18 интрон	**Мутация сайта сплайсинга** Splicing site mutation	rs273901746	1	0,008 (1/12518, GO-ESP)
p.Gln1721Ter	c.5161C>T	19	**Нонсенс-мутация** Nonsense mutation	rs878854957	1	**Нет данных** / N/A
p.Arg1751Ter	c.5251C>T	20	**Нонсенс-мутация** Nonsense mutation	rs80357123	1	0,0012 (3/251492, GnomAD_exome)
?	c.5407–1G>A	22 интрон	**Мутация сайта сплайсинга** Splicing site mutation	rs80358029	1	**Нет данных** / N/A
p.Arg1835Ter	c.5503C>T	24	**Нонсенс-мутация** Nonsense mutation	rs41293465	1	0,0012 (3/251278, GnomAD_exome)

Note. *N/A — not available.*

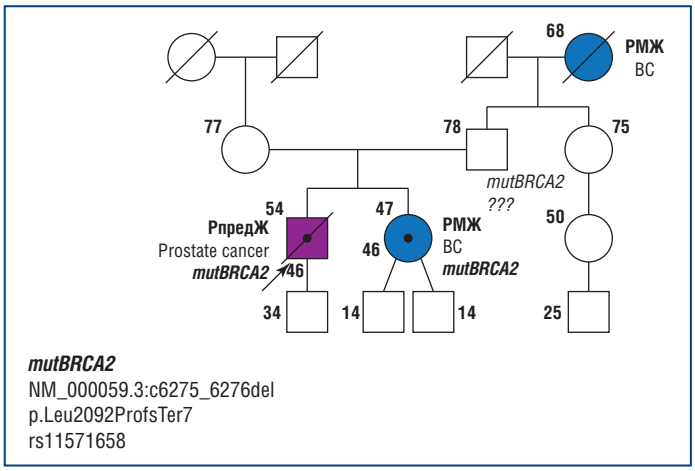

Рис. 1. Родословная семьи Л. с редкой мутацией в гене *BRCA2*

Fig. 1. Pedigree of the family L. with a rare *BRCA2* mutation

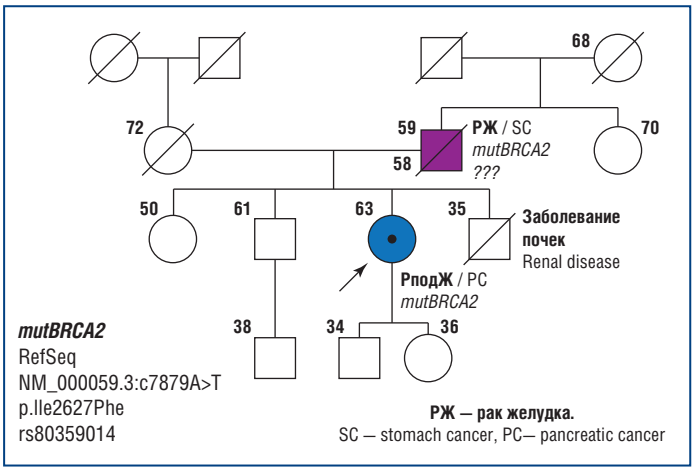

Рис. 2. Родословная семьи К. с редкой мутацией в гене *BRCA2*

Fig. 2. Pedigree of the family K. with a rare *BRCA2* mutation

В родословной семьи Л. мутация p.Leu2092Profs манифестировала у пациента с РпредЖ в молодом возрасте (46 лет), к моменту выявления мутации процесс имел распространенный характер и, несмотря на назначение олапариба, спустя 8 мес. пациент умер. Через 3 года РМЖ (тройной негативный фенотип) был диагностирован у его сестры. В процессе обследования была выявлена аналогичная мутация в гене *BRCA2* и проведено комплексное лечение, включая профилактическую мастэктомию контралатеральной молочной железы с реконструкцией. В настоящее время пациентка находится под динамическим наблюдением, учитывая ее желание, планируется выполнение профилактической сальпингоовариоэктомии (рис. 1).

В родословной семьи К. редкая мутация в гене *BRCA2* была выявлена у пациентки с диагнозом РподЖ. Надо отметить, что ни по возрасту манифестации (63 года), ни по семейному анамнезу пациентка не соответствовала показаниям для молекулярно-генетического тестирования генов *BRCA1/2*, выполненного в рамках научного исследования, в котором тестировали всех пациентов с данным диагнозом (рис. 2).

Таким образом, расширенная ДНК-диагностика генов позволила выявить 70 уникальных мутаций (41 *BRCA1* и 29 *BRCA2*), 9 из которых повторялись у неродственных больных. Частота мутации c.1510del в гене *BRCA1* и мутации c.2808_2811del в гене *BRCA2* в нашей выборке составила 0,61%, что превышает частоты встречаемости 6 частых мутаций, за исключением c.5266dup и p.C61G. Мутация c.1510del (*BRCA1*) с частотой 0,34% (1/290) описана в работе Е.И. Новиковой и соавт. [12]. В исследованной группе больных РМЖ/РЯ в Чехии ее частота составила 0,1% (7 семей из 7400) [13], в польско-украинской выборке — 0,22% (1/460) [14]. Что касается повторяющейся мутации c.2808_2811del в *BRCA2*

Таблица 5. Характеристика редких патогенных мутаций в гене *BRCA2*
Table 5. Characteristics of rare pathogenic mutations in the *BRCA2* gene

Белок Protein	**Положение в кДНК** cDNA position	**Экзон** Exon	**Тип мутации** Mutation type	Reference SNP Report (rs)	**Число пациентов** Number of patients	**Общепопуляционная частота, %** / General population frequency, %
p.Lys68Serfs	c.203–218del	3	**Делеция** / Deletion	rs1064792960	1	**Нет данных** / N/A
p.Glu83Ter	c.247G>T	3	**Нонсенс-мутация** Nonsense mutation	rs886040428	1	**Нет данных** / N/A
p.Val323Lysfs	c.966dup	10	**Дупликация** / Duplication	-	1	**Нет данных** / N/A
p.His334Profs	c.998dup	10	**Дупликация** / Duplication	rs397507437	1	**Нет данных** / N/A
p.Asp885Metfs	c.2653–2656del	11	**Делеция** / Deletion	rs80359340	2	0,0009 (2/228720, GnomAD_exome)
p.Ala938Profs	c.2808–2811del	11	**Делеция** / Deletion	rs80359351	4	0,0008 (2/250852, GnomAD_exome)
p.Leu967Argfs	c.2897–2898del	11	**Делеция** / Deletion	rs80359361	1	**Нет данных** / N/A
p.Gln1371Ter	c.4111C>T	11	**Нонсенс-мутация** Nonsense mutation	rs80358659	1	0,003 (2/78700, PAGE_STUDY)
p.Ile1470Lysfs	c.4409–4410del	11	**Делеция** / Deletion	rs80359446	1	0,0008 (1/119318, ExAC)
p.Asn1544Lysfs	c.4631dup	11	**Дупликация** / Duplication	rs80359460	1	0,0008 (1/120458, ExAC)
p.Leu2092Profs	c.6275–6276del	11	**Делеция** / Deletion	rs11571658	1	0,0037 (9/243532, GnomAD_exome)
p.Pro2114Glnfs	c.6341delC	11	**Делеция** / Deletion	-	1	**Нет данных** / N/A
p.Glu2198Asnfs	c.6591–6592del	11	**Делеция** / Deletion	rs80359605	1	0,0004 (1/246418, GnomAD_exome)
p.Tyr2215Terfs	c.6645–6648del	11	**Делеция** / Deletion	rs886040672	1	**Нет данных** / N/A
p.Pro2334Thrfs	c.6998dup	13	**Дупликация** / Duplication	rs754611265	1	0,0004 (1/249368, GnomAD_exome)
p.Pro2334Thrfs	c.6999insT	13	**Инсерция** / Insertion	rs886040680	1	**Нет данных** / N/A
p.Ile2627Phe	c.7879A>T	17	**Миссенс-мутация** Missense mutation	rs80359014	2	0,00 (0/78702, PAGE_STUDY)
p.Asp2723Gly	c.8168A>G	18	**Миссенс-мутация** Missense mutation	rs41293513	1	0,000 (0/78698, PAGE_STUDY)
p.Trp2788Ter	c.8364G>A	19	**Нонсенс-мутация** Nonsense mutation	rs397507981	1	**Нет данных** / N/A
p.Ile2840Tyrfs	c.8518del	20	**Делеция** / Deletion	rs886040780	1	**Нет данных** / N/A
p.Gln2899Ter	c.8695C>T	21	**Нонсенс-мутация** Nonsense mutation	rs397507411	1	0,000 (0/78702, PAGE_STUDY)
p.Trp2970Ter	c.8909G>A	22	**Нонсенс-мутация** Nonsense mutation	-	1	**Нет данных** / N/A
p.Ala3028Valfs	p.9083–9086insTTAG	23	**Инсерция** / Insertion	-	1	**Нет данных** / N/A
p.Thr3033Asnfs	c.9097dup	23	**Дупликация** / Duplication	rs397507419	1	0,0008 (1/125568, TOPMED)
p.Thr3033fs	c.9097del	23	**Делеция** / Deletion	rs397507419	2	**Нет данных** / N/A
p.Pro3039Pro (Val2985Glyfs*3)	c.9117 G>A	23	**Мутация сайта сплайсинга** Splicing site mutation	rs28897756	3	0,0004 (1/248378, GnomAD_exome)
p.Thr3085fs	c.9253del	24	**Делеция** / Deletion	rs80359752	1	0,0008 (1/125568, TOPMED)
p.Ala3140Phefs	c.9418–9425del	25	**Делеция** / Deletion	-	1	**Нет данных** / N/A
p.Gln3299Ter	c.9895C>T	27	**Нонсенс-мутация** Nonsense mutation	rs1555289997	1	**Нет данных** / N/A

(описывается также как c.2806_2809delAAAC), то она обнаружена в исследованиях А. Соколенко и соавт. [10] (частота 0,25%), в Чехии (частота 0,35%) [13], в польской выборке (частота 0,1%) [15]. Эта мутация встречается также в европейских популяциях и не имеет эффекта основателя, располагаясь в «горячей точке» гена (*hot spot*) [16]. Частоты новых повторяющихся вариантов в славянских выборках больных (при отсутствии распространенных мутаций) представлены в таблице 6.

Проведенный анализ наличия в российской популяции новых вариантов генов *BRCA* позволил выявить 8 мутаций, частота встречаемости которых сопоставима с ча-

Таблица 6. Частота (в %) новых повторяющихся *BRCA*-мутаций в различных исследованиях
Table 6. Frequency (in %) of new repeated *BRCA* mutations in various studies

Мутация Mutation	**Собственные данные** Authors' own data, n=655	[10] n=785	[11] n=193	[12] n=290	[13] n=6846	[15] n=696	[14] n=410	**Суммарная частота (4 российские выборки)** Aggregate frequency (4 Russian samples), n=1923
BRCA1								
c.1510del	0,61	–	–	0,34	0,1	–	0,24	**0,26**
c.843–846del	0,3	0,13	–	–	0,1	–	0,24	0,16
p.Gln563Ter	0,3	0,13	0,52	0,34	0,5	0,14	–	**0,26**
p.Ser1715Arg	0,46	–	–	–	–	0,86	–	0,16
p.Arg1563Ter (c,4689C>G)	–	0,38	–	0,69	0,1	0,29	–	**0,26**
p.Arg1699Trp (c,5095C>T)	–	0,38	–	–	–	–	–	0,16
p.Gly1706Glu (c.5117G>A)	0,15	0,38	–	–	–	–	–	0,21
c.5177–5180delGAAA	–	0,51	–	–	0,03	0,29	0,49	0,21
p.Arg1751Ter (c.5251C>T)	–	0,76	–	–	0,2	–	–	0,31
BRCA2								
c.2808–2811del	0,61	0,25	–	–	0,35	0,14	–	**0,31**
c.2653–2656del	0,3	0,51	–	–	–	–	–	**0,31**
p.Ile2627Phe	0,3	0,38	–	–	–	–	–	**0,26**
c.9097del	0,3	–	–	–	–	0,14	0,24	0,1
c.9117G>A	0,46	–	0,52	0,34	–	–	–	**0,26**
c.6999dupA	–	0,51	–	–	–	–	–	0,21
p.Arg2336His (c,7007G>A)	_	0,38	0,52	0,34	–	0,29	–	**0,26**

стотами мутаций c.68_69del, c.1961del, c.3700_3704del, c.4035del и превышает частоту мутаций c.3755_3758del (*BRCA1*), c.5946del (*BRCA2*), составляя 0,26–0,31% (в таблице 6 выделены жирным шрифтом).

Также у 19 (2,9%) пациентов были обнаружены гетерозиготные варианты (в основном миссенс-мутации), встречающиеся с низкой частотой или незарегистрированные в общепопуляционных базах данных (табл. 7). Согласно результатам баз данных ClinVar и dbSNP большая часть этих мутаций определяется как вариант с неизвестным клиническим значением (класс 3), в ряде случаев интерпретация значимости носит противоречивый характер.

Все миссенс-мутации в генах *BRCA1/2* с неизвестным клиническим значением были проанализированы с использованием 7 алгоритмов предсказания патогенности. В результате анализа 3 мутации в *BRCA1* и 2 мутации в *BRCA2* по большинству алгоритмов были оценены как вероятно патогенные или патогенные (класс 4–5), 5 мутаций остаются вариантами с неизвестным значением, 9 вариантов определены как клинически незначимые (табл. 8).

В работе [13] мутация p.Cys24Tyr в гене *BRCA1* также отнесена к классу 4, патогенность мутации p.His2623Arg в гене *BRCA2* подтверждена в ряде исследований [17, 18]. Вариант p.Glu2918Val (*BRCA2*) обнаружен у 32-летнего пациента с РподЖ. Нуклеотидная замена c.8753A>T затрагивает канонический сайт сплайсинга, однако оценка влияния этой замены на процесс сплайсинга в настоящее время экспериментально не проведена. Экспериментальная оценка функциональной значимости мутаций p.Ser184Phe и p.Trp1718Arg (*BRCA1*) в настоящее время также не проведена.

Помимо вышеперечисленных вариантов мутаций в генах *BRCA1/2* были обнаружены известные частые или редкие миссенс-мутации, которые в настоящее время, согласно результатам баз данных ClinVar, BIC database и Ensembl, являются непатогенными и не имеющими клинического значения (класс 1–2) (табл. 9).

Основываясь на полученных нами данных и анализе источников литературы, посвященных аналогичной теме, мы предлагаем следующий возможный алгоритм ДНК-диагностики мутаций в генах *BRCA1/2*.

Первый этап: тестирование двух частых *BRCA1*-мутаций c.5266dupC и p.C61G у всех больных РМЖ, РЯ, ПМЗНО вне зависимости от семейного анамнеза, возраста и национальности. Мы показали, что 12–13% больных не имеют отягощенного семейного анамнеза, и больные с возрастом манифестации старше 50 лет могут быть носителями мутации. Хотя мутации c.5266dupC и p.C61G имеют славянское происхождение, они широко распространены в стране и обнаруживаются у пациентов иных национальностей. Такой тест дает возможность выявлять значительную часть носителей *BRCA1*-мутаций при низкой стоимости и малой трудоемкости исследования.

Второй этап: тестирование других часто встречающихся мутаций. К таким можно отнести следующие: в *BRCA1*— c.68_69del (185delAG), c.4035del (4154delA), c.1961del (2080delA), c.3700_3704del (3819del5), c.1510del, p.Gln563Ter, p.Arg1563Ter; в *BRCA2* — c.2808_2811del, c.2653_2656del, p.Ile2627Phe, c.9117G>A (p.Pro3039Pro), p.Arg2336His. Диагностика 12 мутаций позволит выявить еще примерно 4–5% носителей, а стоимость и трудоемкость анализа также невелики.

Таблица 7. Характеристика редких *BRCA*-мутаций с неизвестным значением
Table 7. Characteristics of rare BRCA mutations with unknown significance

Белок Protein	**Положение в кДНК** cDNA position	**Экзон** Exon	**Тип мутации** Mutation type	Reference SNP Report (rs)	**Популяционная частота** Population frequency, %	**Класс мутации** Mutation class	**Число пациентов** Number of patients	**Примечание** Note
BRCA1								
p.Cys24Tyr	c.71G>A	2	**Миссенс-мутация** / Missense mutation	rs80357198	**Нет данных** N/A	3	1	–
p.Ser184Phe	c.551C>T	9	**Миссенс-мутация** / Missense mutation	rs878854961	**Нет данных** N/A	3	1	–
p.Ser289Asn	c.866G>A	11	**Миссенс-мутация** / Missense mutation	rs776999497	0,0004	3	1	–
p.Leu481Val	c.1441C>G	11	**Миссенс-мутация** / Missense mutation	rs1397842308	**Нет данных** N/A	2–3	1	–
Ala1277Val	c.3830C>T	11	**Миссенс-мутация** / Missense mutation	rs730881489	**Нет данных** N/A	3	1	–
p.Val1532Ile	c.4594G>A	15	**Миссенс-мутация** / Missense mutation	rs786201658	0,003	3	4	–
p.Thr1677Ser	c.5030C>G	17	**Миссенс-мутация** / Missense mutation	–	**Нет данных** N/A	**Нет данных** N/A	1	–
p.Trp1718Arg	c.5152T>C	18	**Миссенс-мутация** / Missense mutation	rs1567769155	**Нет данных** N/A	3	1	–
BRCA2								
Делеция 3 экзона (кодоны 23–106) Exon 3 deletion (codons 23–106)	c.68–7del	2 интрон / intron 2	**Делеция** Deletion	rs276174878	1,074	1, 3	1	**Вместе с p.Gly1194Asp** Together with p.Gly1194Asp
p.Arg118His	c.353G>A	4	**Миссенс-мутация** / Missense mutation	rs80358603	0,0032	3	1	–
p.Ser384Phe	c.1151C>T	10	**Миссенс-мутация** / Missense mutation	rs41293475	0,0755	1–3	3	–
p.Lys724Ile	c.2171A>T	11	**Миссенс-мутация** / Missense mutation	–	**Нет данных** N/A	**Нет данных** N/A	1	–
p.Pro920Ser	c.2758C>A	11	**Миссенс-мутация** / Missense mutation	rs397507293	0,01	3	1	–
p.Glu1146Gly	c.3437A>G	11	**Миссенс-мутация** / Missense mutation	rs80358588	0,0004	3	1	–
p.Gly1194Asp	c.3581G>A	11	**Миссенс-мутация** / Missense mutation	rs28897721	0,0084	1–3	1	**Вместе с c.68–7del** Together with c.68–7del
p.Ala1237Pro	c.3709G>C	11	**Миссенс-мутация** / Missense mutation	rs398122770	0,0004	3	1	–
p.Lys1690Asn	c.5070A>C	11	**Миссенс-мутация** / Missense mutation	rs56087561	0,0221	1–3	1	–

Окончание таблицы 7
Table 7 (continued)

Белок Protein	**Положение в кДНК** cDNA position	**Экзон** Exon	**Тип мутации** Mutation type	Reference SNP Report (rs)	**Популяционная частота** Population frequency, %	**Класс мутации** Mutation class	**Число пациентов** Number of patients	**Примечание** Note
BRCA2								
p.His2623Arg	c.7868A>G	17	**Миссенс-мутация** / Missense mutation	rs80359012	**Нет данных** N/A	3–4	2	–
p.Ala2911Val	c.8732C>T	21	**Миссенс-мутация** Missense mutation	rs80359130	0,0008	3	1	**Вместе с p.Glu2918Val** Together with p.Glu2918Val
p.Glu2918Val	c.8753A>T	21	**Миссенс-мутация, мутация сайта сплайсинга?** Missense mutation of splicing site?	rs1593935038	**Нет данных** N/A	3	1	**Вместе с p.Ala2911Val** Together with p.Ala2911Val
p.Ser3366Asnfs	c.10095delCinsGAATTATATCT	27	**Комплексная мутация** Complex mutation	rs276174803	**Нет данных** N/A	1–3	2	–

Таблица 8. Результаты анализа функциональной значимости выявленных миссенс-мутаций в генах *BRCA1/2*
Table 8. Results of the analysis of functional significance of the identified missense mutations in the *BRCA1/2* genes

Мутация Mutation	PROVEAN	SIFT	Mutation Assesor	PolyPhen2	Align GVGD	**FATHMM (2 алгоритма)** FATHMM (2 algorithms	**Предполагаемый класс мутации** Probable mutation class
BRCA1							
p.Cys24Tyr	Neutral	Damaging	High	probably damaging	Class C65	Damaging	**4–5**
p.Ser184Phe	Neutral	Damaging	Medium	Probably damaging	Class C15	Damaging	**4**
p.Ser289Asn	Neutral	Damaging	Medium	Possibly damaging	Class C0	Damaging	**3**
p.Leu481Val	Deleterious	Damaging	Medium	Probably damaging	Class C0	Damaging / Tolerated	**3**
Ala1277Val	Neutral	Tolerated	Low	Benign	Class C0	Damaging / Tolerated	1–2
p.Val1532Ile	Neutral	Tolerated	Low	Benign	Class C0	Damaging/Tolerated	1–2
p.Thr1677Ser	Neutral	Tolerated	Neutral	Benign	Class C0	Tolerated	1–2
p.Trp1718Arg	Neutral	Damaging	Medium	Probably damaging	Class C65	Damaging	**4–5**
BRCA2							
p.Arg118His	Neutral	Tolerated	Neutral	Probably damaging	Class C0	Tolerated	1–2
p.Ser384Phe	Neutral	Damaging	Low	Benign	Class C0	Tolerated	1–2
p.Lys724Ile	Deleterious	Damaging	Low	Probably damaging	Class C0	Damaging/Tolerated	**3**
p.Pro920Ser	Deleterious	Tolerated	Low	Benign	Class C0	Damaging/Tolerated	1–2
p.Glu1146Gly	Neutral	Tolerated	Neutral	Benign	Class C0	Tolerated	1–2
p.Gly1194Asp	Neutral	Tolerated	Low	Benign	Class C0	Tolerated	1
p.Ala1237Pro	Deleterious	Damaging	Medium	Probably damaging	Class C0	Damaging	**3**
p.Lys1690Asn	Deleterious	Damaging	Medium	Probably damaging	Class C0	Damaging	**3**
p.His2623Arg	Neutral	Damaging	Medium	Probably damaging	Class C25	Damaging	**4–5**
p.Ala2911Val	Neutral	Tolerated	Low	Possibly damaging	Class C0	Tolerated	1–2
p.Glu2918Val	Neutral	Damaging	Medium	Possibly damaging	Class C35	Damaging/Tolerated	**4–5**

Третий этап: поиск мутаций в генах методом массового параллельного секвенирования. Ввиду высокой в настоящее время стоимости такого исследования, в рамках ОМС показанием к его назначению служат клинические признаки наследственного заболевания.

Заключение

Таким образом, в российской популяции выявлены повторяющиеся мутации, возникновение которых в большинстве случаев связано, вероятно, с эффектом основателя. Преобладание варианта c.5266dupC в гене

Таблица 9. Характеристика доброкачественных миссенс-мутаций в генах *BRCA1/2*
Table 9. Characteristics of benign *BRCA1/2* missense mutations

Белок / Protein	**Положение в кДНК** cDNA position	**Экзон** Exon	Reference SNP Report (rs)	**Частота аллеля, %** Allele frequency, %	**Общепопуляционная частота, % (GnomAD_exome)** General population frequency, % (GnomAD_exome)
BRCA1					
p.Gln356Arg	c.1067A>G	11	rs1799950	6,3	4,6512
Arg866Cys	c.2596C>T	11	rs41286300	0,15	0,0147
p.Met1008Ile	c.3024G>A	11	rs1800704	0,15	0,1020
p.Ser1040Asn	c.3119G>A	11	rs4986852	1,7	1,3154
p.Ser1140Gly	c.3418A>G	11	rs2227945	0,15	0,2521
p.Glu1250Lys	c.3748G>A	11	rs28897686	0,15	0,019
p.Arg1347Gly	c.4039A>G	11	rs28897689	0,6	0,3823
p.Met1628Thr	c.4883T>C	16	rs4986854	0,45	0,1472
p.Met1652Ile	c.4956G>A	16	rs1799967	2,7	1,7993
BRCA2					
p.Tyr42Cys	c.125A>G	3	rs4987046	0,3	0,1628
p.Asn289Asp	c.865A>C	10	rs766173	4,4	3,055
p. Asn372His	c.1114A>C	10	rs144848	32,3	27,9642
p.Pro655Arg	c.1964C>G	11	rs28897712	0,15	0,0712
p.Met784Val	c.2350A>G	11	rs11571653	0,15	0,04
p.Asn991Asp	c.2971A>G	11	rs1799944	4,4	5,4087
p.Leu1019Val	c.3055C>G	11	rs55638633	0,15	0,0132
p.Asp1420Tyr	c.4258G>T	11	rs28897727	0,15	0,6497
p.Gly1529Arg	c.4585G>A	11	rs28897728	0,15	0,0391
p.Pro1819Ser	c.5455C>T	11	rs80358768	0,3	0,019
p.Thr1915Met	c.5744C>T	11	rs4987117	1,2	1,7616
p.Thr2515Ile	c.7544C>T	15	rs28897744	0,3	0,0581
p.Ala2717Ser	c.8149G>T	18	rs28897747	0,15	0,127
p.Ala2951Thr	c. 8851G>A	22	rs11571769	0,45	0,9550
p.Thr3013Ile	c.9038C>T	23	rs28897755	0,15 вместе с p.Ser384Phe	0,0252

BRCA1 среди больных РМЖ и/или РЯ является особенностью российской популяции. Обнаружение новых повторяющихся мутаций в обоих генах может способствовать созданию расширенной диагностической панели для тестирования этих вариантов. Результаты демонстрируют, что в Российской Федерации поиск мутаций в генах *BRCA1/2* может проводиться в несколько этапов, когда NGS выполняется при отсутствии у пациента мутации с эффектом основателя.

Литература / References

1. Antoniou A., Pharoah P., Narod S. et al. Breast and ovarian cancer risks to carriers of the BRCA1 5382insC and 185delAG and BRCA2 6174delT mutations: a combined analysis of 22 population based studies. J Med Genet. 2005;42(7):602–603. DOI: org/10.1136/jmg.2004.024133.
2. Gronwald J., Huzarski T., Byrski B. et al. Cancer risks in first degree relatives of BRCA1 mutation carriers: effects of mutation and proband disease status. J Med Genet. 2006;43(5):424–428. DOI: 10.1136/jmg.2005.036921.
3. Kaufman B., Shapira-Frommer R., Schmutzler R. et al. Olaparib monotherapy in patients with advanced cancer and a germline BRCA1/2 mutation. J Clin Oncol. 2015;33(3):244–250. DOI: 10.1200/JCO.2014.56.2728.
4. Карпухин А.В., Логинова А.Н., Хомич Е.А., Поспехова Н.И. Наследственная предрасположенность к раку молочной железы. Медицинская генетика. 2002;1(6):254–261.
[Karpukhin A.V., Loginova A.N., Khomich E.A., Pospekhova N.I. Hereditary predisposition to breast cancer. Medical genetics. 2002;1(6):254–261 (in Russ.)].
5. Поспехова Н.И., Логинова А.Н., Любченко Л.Н. и др. Гетерогенность семей с наследственной предрасположенностью к раку молочной железы по встречаемости мутаций в гене BRCA1. Медицинская генетика. 2003;2(11):459–463.
[Pospekhova N.I., Loginova A.N., Lyubchenko L.N. et al. Heterogeneity of families with a hereditary predisposition to breast cancer by the occurrence of mutations in the BRCA1 gene. Medical genetics. 2003;2(11):459–463 (in Russ.)].
6. Loginova A., Pospekhova N., Lyubchenko L. et al. Spectrum of mutations in BRCA1 gene in hereditary forms of breast and ovarian cancer in Russian families. Bull Exp Biol Med. 2003;136(3):276–278. DOI: 10.1023/b:bebm.0000008982.21806.9b.
7. Den Dunnen J., Dalgleish R., Maglott D. et al. HGVS recommendations for the description of sequence variants: 2016 update. Hum Mutat. 2016;37(6):564–569. DOI: 10.1002/ humu.22981.
8. Enigma consortium.org. Evidence-based Network for the Interpretation of Germline Mutant Alleles: ENIGMA criteria. (Electronic resource.) URL: https://enigmaconsortium.org/library/general-documents/enigma-classification-criteria (access date: 10.02.2022).

9. Hamel N., Feng B., Foretova L. et al. On the origin and diffusion of BRCA1 c.5266dupC (5382insC) in European populations. Eur J Hum Genet. 2011;19(3):300–306. DOI: 10.1038/ejhg.2010.203.
10. Sokolenko A., Sokolova T., Ni V. et al. Frequency and spectrum of founder and non-founder BRCA1 and BRCA2 mutations in a large series of Russian breast cancer and ovarian cancer patients. Breast Cancer Res Treat. 2020;184(1):229–235. DOI: 10.1007/s10549-020-05827-8.
11. Снигирева Г.П., Румянцева В.А., Новикова Е.И. и др. Алгоритм молекулярно-генетического обследования для выявления наследственного BRCA-ассоциированного рака молочной железы. Альманах клинической медицины. 2019;47(1):54–65. DOI: 10.18786/2072-0505-2019-47-002.
[Snigireva G.P., Rumyantseva V.A., Novikova E.I. et al. Algorithm of molecular genetic investigation to identify hereditary BRCA-associated breast cancer. Almanac of Clinical Medicine. 2019;47(1):54–65 (in Russ.)]. DOI: 10.18786/2072-0505-2019-47002.
12. Новикова Е.И., Кудинова Е.А., Боженко В.К., Солодкий В.А. Характеристика BRCA-ассоциированного рака молочной железы в российской популяции. Вестник РГМУ. 2021;1:26–32. DOI: 10.24075/vrgmu.2021.006.
[Novikova E.I., Kudinova E.A., Bozhenko V.K., Solodkiy V.A. Characteristics of BRCA-associated breast cancer in the population of the russian federation. Bulletin of RSMU. 2021;1:26–32 (in Russ.)]. DOI: 10.24075/vrgmu.2021.006.
13. Machackova E., Claes K., Mikova M. et al. Twenty Years of BRCA1 and BRCA2 Molecular Analysis at MMCI — Current Developments for the Classification of Variants. Klin Onkol Summer. 2019;32(Sup2):51–71. DOI: 10.14735/amko2019S51.
14. Nguyen-Dumont T., Karpinski P., Sasiadek M. et al. Genetic testing in Poland and Ukraine: should comprehensive germline testing of BRCA1 and BRCA2 be recommended for women with breast and ovarian cancer? Genet Res (Camb). 2020;102:e6. DOI: 10.1017/S0016672320000075.
15. Cybulski C., Kluźniak W., Huzarski T. et al. The spectrum of mutations predisposing to familial breast cancer in Poland. Int J Cancer. 2019;145(12):3311–3320. DOI: 10.1002/ijc.32492.
16. Infante M., Durán M., Acedo A. et al. The highly prevalent BRCA2 mutation c.2808_2811del (3036delACAA) is located in a mutational hotspot and has multiple origins. Carcinogenesis. 2013;34(11):2505–2511. DOI: 10.1093/carcin/bgt272.
17. Guidugli L., Shimelis H., Masica D. et al. Assessment of the Clinical Relevance of BRCA2 Missense Variants by Functional and Computational Approaches. Am J Hum Genet. 2018;102(2):233–248. DOI: 10.1016/j.ajhg.2017.12.013.
18. Richardson M., Hu C., Lee K. et al. Strong functional data for pathogenicity or neutrality classify BRCA2 DNA-binding-domain variants of uncertain significance. Am J Hum Gen. 2021;108(3):458–468. DOI: 10.1016/j.ajhg.2021.02.005.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Строганова Анна Михайловна — *к.м.н., заведующая молекулярно-биологической лабораторией ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; 115478, Россия, г. Москва, Каширское ш., д. 23; ORCID iD 0000-0002-7297-5240.*

Поспехова Наталья Ивановна — *д.б.н., старший научный сотрудник молекулярно-биологической лаборатории ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; 115478, Россия, г. Москва, Каширское ш., д. 23; ORCID iD 0000-0001-5255-5065.*

Головина Дарья Андреевна — *к.б.н., научный сотрудник молекулярно-биологической лаборатории ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; 115478, Россия, г. Москва, Каширское ш., д. 23.*

Черепанова Изольда Семеновна — *д.м.н., профессор, академик РАМТН, ректор НОЧУ «МИПМО»; 119415, Россия, г. Москва, ул. Лобачевского, д. 42, стр. 4.*

Дранко Светлана Левоновна — *врач — лабораторный генетик молекулярно-биологической лаборатории ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; 115478, Россия, г. Москва, Каширское ш., д. 23; ORCID iD 0000-0003-3315-0817.*

Филиппова Маргарита Геннадьевна — *к.м.н., старший научный сотрудник научно-консультативного отделения ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; 115478, Россия, г. Москва, Каширское ш., д. 23; ORCID iD 0000-0002-1883-2214.*

Контактная информация: *Строганова Анна Михайловна, e-mail: stroganova_am@mail.ru.*

Прозрачность финансовой деятельности: *никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.*

Конфликт интересов *отсутствует.*

Статья поступила *15.03.2022.*

Поступила **после рецензирования** *07.04.2022.*

Принята в печать *04.05.2022.*

ABOUT THE AUTHORS:

Anna M. Stroganova — *C. Sc. (Med.), Head of the Molecular Biology Laboratory, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology; 23, Kashirskoe road, Moscow, 115478, Russian Federation; ORCID iD 0000-0002-7297-5240.*

Natal'ya I. Pospekhova — *Dr. Sc. (Biol.), senior researcher of the Molecular Biology Laboratory, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology; 23, Kashirskoe road, Moscow, 115478, Russian Federation; ORCID iD 0000-0001-5255-5065.*

Dar'ya A. Golovina — *C. Sc. (Biol.), researcher of the Molecular Biology Laboratory, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology; 23, Kashirskoe road, Moscow, 115478, Russian Federation.*

Izol'da S. Cherepanova — *Dr. Sc. (Med.), Professor, RAMTS Academician, Rector of the International Institute of Postgraduate Medical Education; 42, Bldn. 4, Lobachevsky str., Moscow, 119415, Russian Federation.*

Svetlana L. Dranko — *physician — laboratory geneticist of the Molecular Biology Laboratory, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology; 23, Kashirskoe road, Moscow, 115478, Russian Federation; ORCID iD 0000-0003-3315-0817.*

Margarita G. Filippova — *C. Sc. (Med.), senior researcher of the Scientific and Advisory Department, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology; 23, Kashirskoe road, Moscow, 115478, Russian Federation; ORCID iD 0000-0002-1883-2214.*

Contact information: *Anna M. Stroganova, e-mail: stroganova_am@mail.ru.*

Financial Disclosure: *no authors have a financial or property interest in any material or method mentioned.*

There is no **conflict of interests**.

Received *15.03.2022.*

Revised *07.04.2022.*

Accepted *04.05.2022.*