

Также выполнено определение маркеров костного метаболизма в зависимости от наличия переломов у больных ММ (таблица 3).

Учитывая, что наличие остеопороза может служить причиной патологических переломов у больных с ММ, была определена частота пе-

реломов в группах пациентов в зависимости от наличия остеопороза (таблица 4).

Достигнутый уровень значимости для критерия Фишера-Ирвина составил выше уровня значимости, что позволяет принять нулевую гипотезу о равенстве в группах.

Таблица 3 — Лабораторные показатели остеокальцина и паратгормона в зависимости от наличия в анамнезе переломов

Маркер	Группа пациентов с переломами в анамнезе, n = 9 Me (Q25;Q75)	Группа пациентов без переломов в анамнезе, n = 23 Me (Q25;Q75)	P	Лабораторные нормы показателя
Остеокальцин, ng/ml	10,8 (7,3; 16,3)	18,8 (9,9; 26,6)	0,128	2–7
Паратгормон, pg/ml	51,5 (29,2; 112,4)	40,3 (29,2; 69,9)	0,453	10,7–77,3

Таблица 4 — Оценка частоты развития переломов в группах пациентов в зависимости от наличия остеопороза

Поясничный отдел позвоночника	Количество пациентов с переломами	Количество пациентов без переломов
Пациенты с остеопорозом	2	3
Пациенты без остеопороза	7	20

p = 0,604

ШБК	Количество пациентов с переломами	Количество пациентов без переломов
Пациенты с остеопорозом	2	2
Пациенты без остеопороза	7	21

p = 0,557

Выводы

1. У пациентов с ММ наличие переломов не ассоциировано со степенью нарушения минеральной плотности костной ткани.

2. Высокие уровни остеокальцина при ММ могут свидетельствовать о высоком уровне костного метаболизма на разных стадиях развития основного заболевания.

3. В группе пациентов с остеопорозом, а также с переломами костей периферического скелета и позвоночника в анамнезе достоверных различий по уровням остеокальцина и паратгормона получено не было. Таким образом, применение данных маркеров в оценке риска развития патологических переломов не информативно.

4. Достоверных различий выраженности остеопороза и частоты развития переломов у

пациентов с ММ, получавших различные варианты терапии, стандартная химиотерапия и ВХТ с ауто-ТГСК, не получено.

5. Больные с ММ должны получать цикловое длительное (не менее 2 лет) профилактическое лечение бисфосфонатами (в настоящее время доступен отечественный препарат золедроновой кислоты) для предупреждения патологических переломов вне зависимости от наличия или отсутствия остеопороза.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Raj, N. Introduction the evolving role of biphosphonate therapy in multiple myeloma/ N. Raj, K C. Anderson // Blood. — 2000. — Vol. 109. — P. 381–383.

2. Ostioblast stimulation in multiple myeloma lacking lytic bone lesions/ R. bataille [et al.] // Br J Hemotol. — 1990. — Vol. 56. — P. 484–487.

Поступила 07.09.2009

УДК [575.224.2+571.1]:618.19-006.04(476.2)-071

ОЦЕНКА НАСЛЕДСТВЕННОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К РАКУ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПОСРЕДСТВОМ ТЕСТИРОВАНИЯ НАИБОЛЕЕ ЧАСТЫХ МУТАЦИЙ ГЕНОВ BRCA1 И BRCA2 В ГРУППЕ ПАЦИЕНТОК ИЗ ГОМЕЛЬСКОГО РЕГИОНА БЕЛАРУСИ

А. Е. Силин¹, В. Н. Мартинков¹, Д. Б. Родько¹,
Э. А. Надыров¹, С. М. Мартыненко², И. Б. Тропашко²

¹Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека, г. Гомель

²Гомельский областной клинический онкологический диспансер

Проведенная работа дала возможность впервые описать наследственно обусловленные случаи РМЖ в Гомельском регионе Беларуси, определив спектр и частоты встречаемости наиболее значимых генетических факторов, лежащих в основе данной патологии.

В результате молекулярно-генетического исследования 667 первичных случаев РМЖ показано, что из восьми распространенных в Восточной Европе мутаций генов BRCA1/2 в Гомельском регионе Беларуси с различными частотами встречаются 5 мутаций — 185delAG, 300T>G, 4153delA, 5382insC и 6174delT. Мутации 2274insA, 3819del5 и 3875del4 в изученной группе отсутствовали. Преобладающей в изучаемом регионе является мутация 5382insC, доля которой составила 80% от всех выявленных мутаций. Суммарная частота мутаций в не-селектированной выборке с учетом стандартизованных показателей возрастной структуры составила 7,9 %.

Установлено, что наиболее значимым критерием с точки зрения оценки вероятности наличия в генотипе мутаций BRCA1/2 является семейный анамнез. В объединенной подгруппе пациенток с каким-либо из основных признаков семейного рака и их сочетаний доля мутаций составила 24,4 %.

Ключевые слова: рак молочной железы, наследственная предрасположенность, генетическое тестирование, BRCA1/2.

ESTIMATION OF GENETIC PREDISPOSITION TO BREAST CANCER BY TESTING OF MOST FREQUENT MUTATIONS OF BRCA1 AND BRCA2 GENES IN GROUP OF PATIENTS FROM GOMEL REGION OF BELARUS

A. E. Silin¹, V. N. Martinkov¹, D. B. Rodjko¹,
E. A. Nadyrov¹, S. M. Martynenko², I. B. Tropashko²

¹Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel

²Gomel Regional Clinical Oncologic Dispensary

The work that has been carried out describes for the first time the hereditary caused breast cancer cases in Gomel region of Belarus, having defined a spectrum and frequencies of the most significant genetic factors underlying the given pathology.

After the molecular-genetic testing of 667 primary breast cancer cases it was shown that out of eight BRCA1/2 gene mutations that are widely spread in Eastern Europe there are only five ones in Gomel region of Belarus with various frequencies — 185delAG, 300T>G, 4153delA, 5382insC and 6174delT. The 2274insA, 3819del5 and 3875del4 mutations were not found in the studied group. The 5382insC mutation was found to be the predominant one, which has made 80 % of all the detected mutations. Total mutation frequency in nonselective sampling taking into consideration the standardized indicators of age structure has made 7,9 %.

It was found out, that family anamnesis is the most significant criterion from the point of view of probability estimation of BRCA1/2 mutations in genotype. In the united subgroup of patients with any of the basic signs of family cancer and their combinations, the share of mutations has made 24,4 %.

Key words: breast cancer, genetic predisposition, genetic testing, BRCA1/2.

Введение

Рак молочной железы (РМЖ) является одним из самых распространенных онкологических заболеваний и одной из ведущих причин смерти от рака среди женщин. Ежегодно во всем мире фиксируется около 1 млн. новых случаев РМЖ. В Беларуси данная патология составляет более 17 % от общего числа онкологических заболеваний, регистрируемых у женщин. Среди факторов, определяющих развитие рака молочной железы, особое место занимает генетическая предрасположенность. Одним из значительных достижений в области изучения наследственной предрасположенности к РМЖ явилось открытие генов BRCA1 и BRCA2 (BRCA1/2), герминальные мутации которых определяют высокую степень риска возникновения РМЖ.

Мутации гена BRCA1 определяют до 87 % риска развития РМЖ в возрасте до 70 лет и 50 % в возрасте до 50 лет [1]. Риск развития рака яичников (РЯ) при этом достигает 44 % [2]. Мутации гена BRCA2 определяют до 35 % пожизненного риска развития РМЖ [3].

В зависимости от географического местоположения и этнического состава популяции

частота мутаций BRCA1/2 колеблется от 0,5 до 15 % в группе пациенток с первичными случаями РМЖ. С момента открытия клинической значимости мутаций генов BRCA1 и BRCA2 проведено большое количество исследований во многих странах мира. Показано, что встречаемость мутаций значимо выше в группах пациенток с признаками семейного РМЖ — ранний возраст манифестации, первичномножественное проявление, наличие в семейном анамнезе 2 и более случаев РМЖ и (или) РЯ. Кроме этого, выявлена повышенная частота герминальных мутаций в некоторых этнических группах. Так, например, в этнической подгруппе евреев-ашкенази (евреи-выходцы из Восточной Европы) в общей популяции суммарная частота двух мутаций 185delAG, 5382insC гена BRCA1 и одной мутации 6174delT гена BRCA2 достигает 2 %, что свидетельствует о ярко выраженном «эффекте основателя» [4, 5]. Среди славянского населения на восточно-европейской территории и в Сибири преобладающей является мутация 5382insC, в то время как в северо-западной Европе она встречается крайне редко [6–10].

Таким образом, для организации генетического консультирования в части выявления наследственной предрасположенности к РМЖ, обусловленной мутациями генов BRCA1/2, необходимо учитывать особенности географического, этнического распространения мутаций и их преобладания в группах с признаками семейного РМЖ.

По результатам различных исследований для восточно-европейских популяций выявлен характерный спектр мутаций генов BRCA1 и BRCA2. К наиболее часто выявляемым мутациям относятся 185delAG, 2274insA, 4153delA, 3819del5, 3875del4, 5382insC и 300T>G, которые локализованы в пределах гена BRCA1 и 6174delT — в гене BRCA2. Однако спектр и частоты встречаемости данных мутаций варьируют в зависимости от исследуемого региона и изучаемой группы.

Целью данной работы является оценка частот встречаемости наиболее значимых для восточно-европейской популяции мутаций генов BRCA1 и BRCA2 в группе пациенток с первичными случаями РМЖ, проживающих в Гомельском регионе Беларуси.

Материал и метод

Группа исследования сформирована из пациенток с первичными случаями РМЖ без учета каких-либо признаков семейного рака или отношения к этнической подгруппе евреев-ашкенази. В нее на добровольных началах после подписания формы информированного согласия вошли 667 пациенток с установленным диагнозом РМЖ, которые в период 2004–2009 гг. проходили лечение в учреждении «Гомельский областной клинический онкологический диспансер». Включение женщин в исследование и взятие у них биологического материала для молекулярно-генетического анализа происходило только после получения их письменного информированного согласия в соответствии со специальной формой, утвержденной Комитетом по этике ГУ «РНПЦ РМиЭЧ». Сбор первичной информации осуществлял врач-онколог по специально разработанной анкете. Каждой пациентке, согласившейся принять участие в исследовании, было предложено ответить на ряд вопросов, касающихся выяснения семейной истории заболевания и национальной принадлежности. Осуществлялся также сбор клинической информации.

Материалом для генетического анализа служила венозная кровь, забор которой производили у пациентов в объеме 1 мл. Кровь помещали в центрифужную пробирку 1,5 мл, содержащую 100 мкл 0,5 М ЭДТА (финальная концентрация 50 мМ). Хранение образцов крови до выделения ДНК производилось в холодильной камере при 2–4°C.

Выделение и очистка препаратов ДНК осуществлялась с использованием готовых наборов Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega, США) и «ДНК-сорб-В» (ФГУН «Центральный НИИ эпидемиологии», РФ) в соответствии с прилагаемыми инструкциями.

Выбор тестируемых мутаций основывался на литературных данных, из которых следует, что в странах Восточной Европы (Польша, Чехия, Латвия, ряд регионов России) по результатам анализа большого количества различных мутаций генов BRCA1 и BRCA2 выявлено преобладание нескольких мутаций. К их числу относятся семь мутаций, локализованных в гене BRCA1 — 185delAG (экзон 2), 300 T>G (экзон 5), 2274insA (экзон 11G), 3819del5 (экзон 11O), 3875del4 (экзон 11O), 4153delA (экзон 11P) и 5382insC (экзон 20) и одна в гене BRCA2 — 6174delT (экзон 11) [11–13, 6–10]. Тестирование этих мутаций и легло в основу нашего исследования.

Молекулярно-генетический анализ всех мутаций, кроме 300 T>G, осуществлялся методом гетеродуплексного анализа с использованием ПЦР. Для проведения ПЦР использовали два специфических праймера (Forward и Revers), фланкирующих анализируемый фрагмент ДНК, внутри которого локализована искомая мутация. Основные характеристики использованных в работе праймеров представлены в таблице 1.

Мутация 300T>G тестировалась посредством анализа длины рестрикционных фрагментов RFLP-PCR. Для этого на первом этапе осуществлялась ПЦР со специфическими праймерами, а на втором этапе ампликоны подвергали рестрикции ферментом-рестриктазой *Ava*II (Fermentas). Данная мутация формирует специфический для этого фермента сайт рестрикции.

В качестве положительного контроля использованы образцы ДНК гетерозиготных носителей искомых мутаций, полученные от М. Ю. Мандельштама (Лаборатория биохимической генетики отдела молекулярной генетики Института экспериментальной медицины РАМН, Санкт-Петербург, Россия).

ПЦР осуществляли с использованием GeneAmp 2400 PCR System (Perkin-Elmer). Смесь реагентов для проведения одной реакции в объеме 25 мкл формировалась следующим образом: 2,5 мкл 10×Hot Start ПЦР буфер (200 мМ Трис-НСl pH 8,3, 200 мМ KCl, 50 мМ (NH₄)₂SO₄), 1 мкл 10 мМ смеси dNTP, 0,1 мкл каждого 100 мкМ праймера, 3,5 мкл 25 мМ MgCl₂, 0,1 мкл Hot Start Taq-полимеразы (5 ед./мкл), 1 мкл образца ДНК, вода ПЦР-качества до объема 25 мкл.

При каждом проведении ПЦР использовался также отрицательный контроль, т. е. в одну из пробирок помещалась полная смесь реагентов для ПЦР, но не вносился образец ДНК.

Таблица 1 — Список олигонуклеотидных праймеров для амплификации анализируемых экзонов BRCA1 и BRCA2

Ген, экзон	Тестируемая мутация	Название праймера	Нуклеотидная последовательность, 5'-3'	Размер фрагмента
BRCA1 Экзон 2	185delAG	185-F	GAAGTTGTCATTTTATAAACCTTT	258 п.н.
		185-R	TGCTTTTCTCCCTAGTATGT	
BRCA1 Экзон 5	300T>G	5-F	CTCTTAAGGGCAGTTGTGAG	200 п.н.
		5-R	TTCTACTGTGGTTGCTTCC	
BRCA1 Экзон 11G	2274insA	11G-F	GCAACTGGAGCCAAGAAGAGTAAC	319 п.н.
		11G-R	CCTGAGTGCCATAATCAGTACCAGG	
BRCA1 Экзон 11O	3819del5 3875del4	11O-F	GAGTCCTAGCCCTTTCACCCATAC	289 п.н.
		11O-R	GTGATGTTCTCCTGAGATGCCTTTG	
BRCA1 Экзон 11P	4153delA	11P-F	AAAGCCAGGGAGTTGGTCTGAG	188 п.н.
		11P-R	GTGCTCCCAAAAAGCATAAA	
BRCA1 Экзон 20	5382insC	5382-F	ATATGACGTGTCTGCTCCAC	257 п.н.
		5382-R	AGTCTTACAAAATGAAGCGG	
BRCA2 Экзон 11	6174delT	6174-F	CACCTTGTGATGTTAGTTTGGGA	201 п.н.
		6174-R	TGAAAAGACTTGCTTGGTACT	

Амплификацию фрагмента экзона 20 BRCA1 (мутация 5382insC) проводили по следующей программе: начальная денатурация — 4 мин при 94°C, затем 10 циклов 10-секундной денатурации при 92°C, отжиг — 20 сек при 68°C и элонгация 20 сек при 72°C при уменьшении температуры отжига на 1,5°C в каждом последующем цикле. Следующие 30 циклов — 10 сек денатурация при 94°C, 30 сек отжиг при 57°C и 30 сек элонгация при 72°C. В завершении — финальная элонгация 5 мин при 72°C и охлаждение до 4°C.

Программа для амплификации фрагментов экзона 2 BRCA1 (мутация 185delAG) и 11 BRCA2 (мутация 6174delT) выглядела следующим образом: начальная денатурация — 4 мин при 94°C, затем 35 циклов — 10 сек денатурация при 94°C, 30 сек отжиг при 59°C и 30 сек элонгация при 72°C. В завершении — финальная элонгация 5 мин при 72°C и охлаждение до 4°C.

Амплификацию трех фрагментов экзона 11 BRCA1 (мутации 3819del5, 3875del4, 2274insA и 4153delA) проводили по следующей программе: начальная денатурация — 4 мин при 94°C, затем 35 циклов — 10 сек денатурация при 94°C, 30 сек отжиг при 55°C и 30 сек элонгация при 72°C. В завершении — финальная элонгация 5 мин при 72°C и охлаждение до 4°C.

Амплификацию фрагмента экзона 5 BRCA1 (мутация 300T>G) осуществляли по следующей программе: начальная денатурация — 4 мин при 94°C, затем 35 циклов — 10 сек денатурация при 94°C, 30 сек отжиг при 60°C и 30 сек элонгация при 72°C. В завершении — финальная элонгация 5 мин при 72°C и охлаждение до 4°C. Последующая рестрикция ампликонов осуществлялась посредством фермента-рестриктазы *AvaII*, входящей в набор *FastDigest AvaII* (Eco47I) (Fermentas). Рестрикцию проводили 5 мин при температуре 37°C в соответствии с прилагаемой инструкцией.

Электрофорез и окраску гелей проводили в специальной электрофоретической системе MultiphorII (GE). В работе применялись 12 % полиакриламидные неденатурирующие гели толщиной 1 мм. Окраска осуществлялась с использованием нитрата серебра. Маркерами молекулярного веса являлись фрагменты ДНК из набора «50pb DNA Step Ladder» (Promega), масса которых составляла 50–800 пар нуклеотидов с шагом в 50 п.н.

Факты выявленных мутаций выборочно подтверждались секвенированием с использованием прибора ABI Prism 310 Genetic Analyzer.

Результаты и обсуждение

Молекулярно-генетический анализ 667 образцов ДНК выявил 75 случаев герминальных мутаций генов BRCA1 и BRCA2, что составляет $11,2 \pm 1,2$ % от всех проанализированных случаев РМЖ. При этом в 60 случаях обнаружена мутация 5382insC ($9,0 \pm 1,1$ %). В 5 случаях обнаружена мутация 185delAG ($0,8 \pm 0,3$ %). По 4 случая РМЖ сопровождали мутации 4153delA и 300T>G ($0,6 \pm 0,3$ % для каждой из мутаций), а в 2 случаях — 6174delT ($0,3 \pm 0,2$ %). Остальные анализируемые мутации в исследуемой выборке отсутствовали. Доля преобладающей мутации 5382insC составила 80 % от всех выявленных мутаций.

Кроме вышеперечисленных мутаций, при анализе 5 экзона гена BRCA1 в одном образце ДНК на электрофореграмме сформировалась характерная гетеродуплексная структура. В результате секвенирования данного образца выявлена мутация, приводящая к замене цитозина на тимин в положении 273 (рисунок 1). В базе данных BIC (The Breast Cancer Information Core Database) эта мутация обозначена как 273C>T (L52F). В связи с отсутствием в настоящее время информации о клинической значимости данной мутации она не учитывалась в дальнейшем анализе.

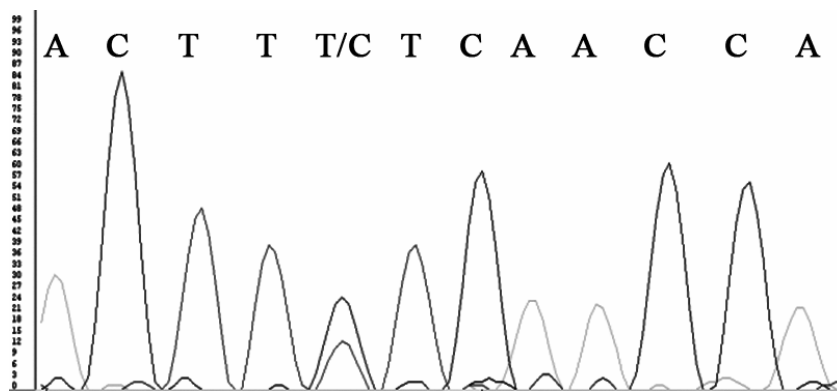


Рисунок 1 — Результаты секвенирования фрагмента 5 экзона гена BRCA1 в образце ДНК, содержащем мутацию 273C>T

Примеры электрофоретической детекции 8 анализируемых мутаций представлены на рисунке 2.

Сопоставляя полученные нами данные с результатами других исследований по неселективированным группам пациенток с РМЖ из раз-

личных географических регионов мира, следует отметить заметное превышение суммарной частоты выявленных мутаций генов BRCA1 и BRCA2 в изучаемой выборке Гомельского региона, которая в других популяциях обычно составляет 3–6 %.

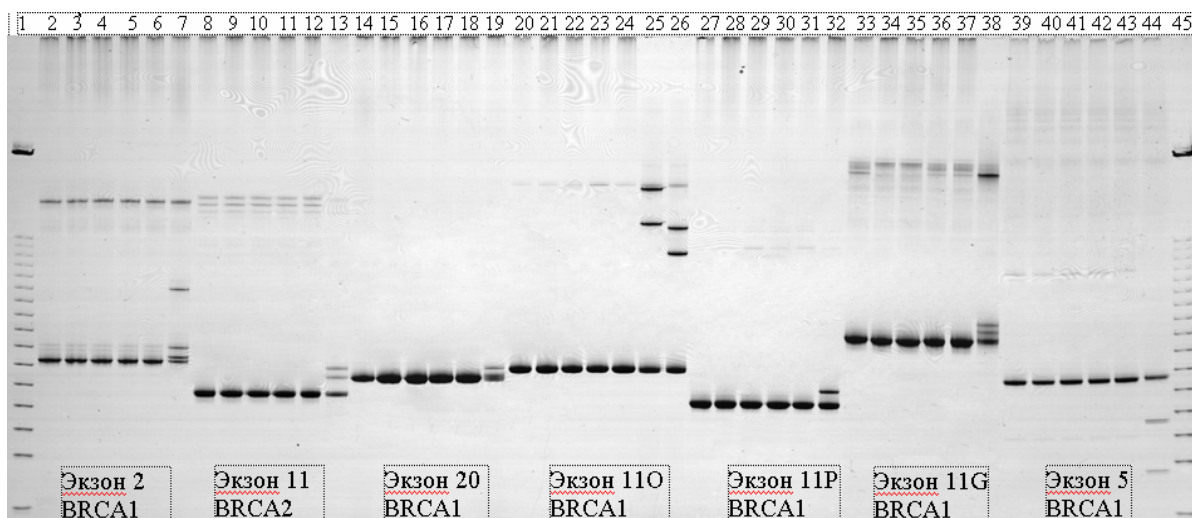


Рисунок 2 — Результаты электрофоретического фракционирования амплифицированных фрагментов в 12 % неденатурирующем полиакриламидном геле

Дорожки 1 и 45 — маркер молекулярной веса; дорожки 2–6, 8–12, 14–18, 20–24, 27–31, 33–37, 39–43 — ампликоны анализируемых экзонов BRCA1 и BRCA2 без мутации; дорожка 7 — ампликон с мутацией 185delAG; дорожка 13 — ампликон с мутацией 6174delT; дорожка 19 — ампликон с мутацией 5382insC; дорожка 25 — ампликон с мутацией 3819del5; дорожка 26 — ампликон с мутацией 3875del4; дорожка 32 — ампликон с мутацией 4153delA; дорожка 38 — ампликон с мутацией 2274insA; дорожка 44 — ампликон с мутацией 300T>G

Одним из объяснений высокой частоты мутаций может быть непропорциональная представленность в исследовании возрастных групп, характерных для случаев РМЖ в Беларуси. Для получения стандартизованного показателя суммарной частоты мутаций был проведен сравнительный анализ возрастных структур выборки данного исследования и Республики Беларусь в целом. В расчете использованы все случаи РМЖ в Беларуси за период 1997–2007 гг. Ре-

зультаты проведенного сравнения представлены на рисунке 3.

На нем хорошо видно, что группа исследования оказалась смещенной в сторону относительно молодых возрастов. В этой ситуации можно ожидать повышенную частоту мутаций BRCA1/2, поскольку для клинически неблагоприятных генотипов данных генов характерен более ранний возраст манифестации.

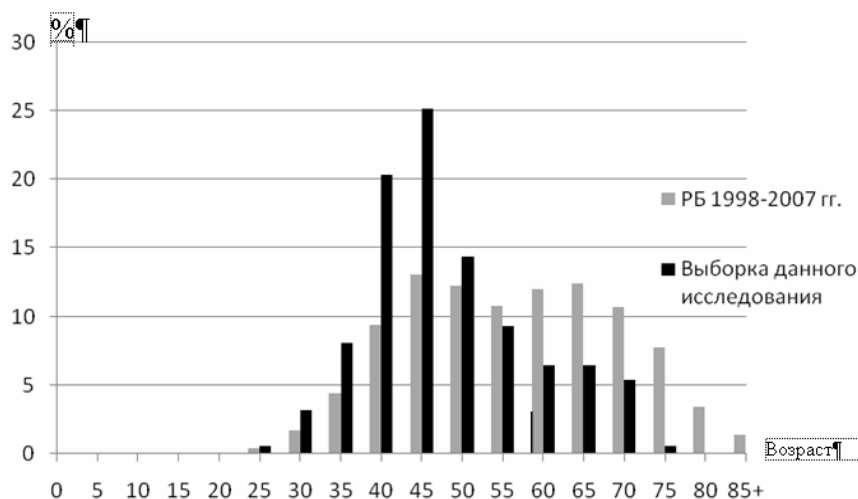


Рисунок 3 — Сравнение возрастных структур заболевших женщин в исследуемой группе и Республике Беларусь (расчет по всем случаям РМЖ за период 1997–2007 гг.)

Стандартизованный показатель суммарной частоты выявленных мутаций, который был рассчитан с учетом различий в сравниваемых возрастных структурах, существенно снизился и составил 7,9 %. Выявленная нами суммарная частота мутаций в целом соответствует полученной ранее для белорусской популяции, где она по результатам тестирования трех мутаций BRCA1/2 (5382insC, 300T>G и 6174delT) в неселектированной группе пациенток с РМЖ была равна 6% [14].

Таким образом, проведенное исследование установило, что около 8 % первичных случаев РМЖ в Гомельской области сопряжены с присутствием в генотипах пациенток 5 различных клинически значимых мутаций генов BRCA1 и BRCA2.

Важной с точки зрения генетического консультирования является информация о частотах мутаций генов BRCA1/2, которые можно ожидать у пациенток с каким-либо одним или несколькими признаками семейного рака, а также принадлежности к этнической подгруппе евреев-ашкенази. Эта информация с учетом региональных особенностей позволит более эффективно формировать группы с повышенной вероятностью присутствия клинически неблагоприятных генотипов BRCA1/2 для последующего молекулярно-генетического анализа.

Нами проведен сравнительный анализ частот встречаемости выявленных мутаций в подгруппах пациенток, сформированных в пределах неселектированной группы исследования с учетом основных признаков семейного рака и принадлежности к этнической подгруппе евреев-ашкенази, различных комбинаций признаков, а также без таких признаков. Результаты проведенного анализа представлены в таблице 2.

На основании данных таблицы 2 можно сделать заключение, что наиболее значимым

критерием высокого риска наличия в генотипе мутаций генов BRCA1/2 является семейная история заболевания. Среди подгрупп, сформированных с учетом только одного критерия семейного рака, доля пациентов с мутациями в подгруппе с отягощенным семейным анамнезом составила 26,4 %, в то время как в подгруппах с ранней манифестацией и первичномножественным проявлением она равнялась 19,4 и 15,8 % соответственно.

Примечательной является высокая частота выявленных мутаций в подгруппах с двумя различными признаками семейного рака. Так, например, в подгруппе «Ранний возраст манифестации+Первичномножественное проявление» доля пациенток с мутациями достигает 45,5 %. Наиболее высокая частота мутаций выявлена в подгруппе с тремя признаками семейного рака. В то же время крайне малая численность данной подгруппы не позволяет сделать окончательные выводы.

В исследовании приняли участие также пациентки, которые в результате анкетного опроса признали себя лицами еврейской национальности. Среди этой подгруппы из шести пациенток выявлены две различные мутации (33,3 %).

В объединенной подгруппе пациенток, сформированной с учетом наличия любого из признаков семейного рака, их сочетаний и (или) отношения к этнической подгруппе евреев-ашкенази, доля выявленных мутаций генов BRCA1/2 составила 24,4 %.

Обращает на себя внимание достаточно большое количество выявленных мутаций в подгруппе без какого-либо из рассматриваемых признаков. В пределах этой группы, насчитывающей 429 пациенток, выявлено 17 случаев наличия в генотипе клинически значимых мутаций гена BRCA1, что составляет более 23 % от

всех выявленных в исследовании мутаций. Доля BRCA-положительных пациенток в этой подгруппе составила 4 %. Столь высокие значения частот мутаций в подгруппе, которая может рассматриваться как группа спорадических случаев РМЖ, очевидно, отражает определенную неточность в формировании подгрупп на основе результатов анкетирования. Особенно это касается сбора информации о семейном анамнезе. Общеизвестным является факт пониженной достоверности информации о семейной истории заболевания, полученной в результате опроса паци-

ентов. Пробанд может не знать родственников, перенесших заболевание по причине их ранней смерти и (или) потери информации [15]. Также может быть искажена или отсутствовать информация о локализации рака. Трудности выяснения семейной истории существуют по отцовской линии родства, поскольку обычно в этом случае РМЖ или РЯ прослеживается у более отдаленных родственников. В любом случае этот факт следует учитывать при организации работ по выявлению лиц, имеющих наследственную предрасположенность к РМЖ.

Таблица 2 — Сравнительный анализ частот мутаций в различных подгруппах

Группы	К-во пациентов	Выявленные мутации					Всего	Суммарная частота мутаций в группе, %
		5382 insC	185delAG	4153 delA	300T >G	6174 delT		
Неселектированная группа исследования	667	60	5	4	4	2	75	11,2%
Ранний возраст манифестации (≤ 40 лет), включая другие признаки	91	17	2	1	3	0	23	25,3%
Ранний возраст манифестации (≤ 40 лет) с исключением других признаков	67	8	2	1	2	0	13	19,4%
Манифестация в возрасте > 40 лет, включая другие признаки	576	43	3	3	1	2	52	9,0%
Семейный анамнез (один и более случаев РМЖ и (или) РЯ), включая другие признаки	122	33	0	0	1	1	35	28,7%
Семейный анамнез (один и более случаев РМЖ и (или) РЯ) с исключением других признаков	87	22	0	0	1	0	23	26,4%
Без семейной истории заболевания, включая другие признаки	545	27	5	4	3	1	40	7,3%
Первичномножественное проявление, включая другие признаки	67	11	3	0	1	1	16	23,9%
Первичномножественное проявление с исключением других признаков	38	3	3	0	0	0	6	15,8%
Без первичномножественного проявления, включая другие признаки	600	49	2	4	3	1	59	9,8%
Ранний возраст манифестации + Семейный анамнез	17	7	0	0	0	0	7	41,2%
Ранний возраст манифестации + Первичномножественное проявление	11	4	0	0	1	0	5	45,5%
Первичномножественное проявление + Семейный анамнез	22	6	0	0	0	1	7	31,8%
Три признака семейного рака	4	2	0	0	0	0	2	50,0%
Отношение к этнической подгруппе евреев-ашкенази	6	1	0	0	0	1	2	33,3%
Какой-либо один из признаков семейного рака (и их сочетание) или отношения к этнической подгруппе евреев-ашкенази	238	46	5	1	4	2	58	24,4%
Отсутствие каких-либо признаков семейного рака и отношения к этнической подгруппе евреев-ашкенази	429	14	0	3	0	0	17	4,0%

Заключение

В результате проведенного молекулярно-генетического исследования 667 первичных случаев РМЖ показано, что из восьми распространенных в Восточной Европе мутаций генов BRCA1/2 в Гомельском регионе Беларуси

с различными частотами встречаются 5 мутаций — 185delAG, 300T>G, 4153delA, 5382insC и 6174delT. Мутации 2274insA, 3819del5 и 3875del4 в изученной группе отсутствовали. Преобладающей в изучаемом регионе является мутация 5382insC, доля которой составила 80 %

от всех выявленных мутаций. Суммарная частота мутаций в неселектированной выборке с учетом стандартизованных показателей возрастной структуры составила 7,9 %.

Установлено, что наиболее значимым критерием с точки зрения оценки вероятности наличия в генотипе мутаций BRCA1/2 является семейный анамнез. У лиц с двумя и тремя различными признаками семейного рака частоты мутаций значительно выше, чем у пациенток с каким-либо одним из признаков. В объединенной подгруппе пациенток с каким-либо из основных признаков семейного рака и их сочетаний доля мутаций составила 24,4 %.

Проведенная работа дала возможность впервые описать наследственно обусловленные случаи РМЖ в Гомельском регионе Беларуси, определив спектр и частоты встречаемости наиболее значимых генетических факторов, лежащих в основе данной патологии.

Полученные данные могут быть использованы для организации работ по наполнению «Республиканского регистра лиц, имеющих наследственную предрасположенность к злокачественным новообразованиям, и их родственников» в рамках деятельности областных кабинетов онкогенетического консультирования в соответствии с Приказом Министерства здравоохранения РБ №1018 от 27.12.2007 г.

Авторы выражают благодарность заведующему лабораторией эпидемиологии научного отдела ГУ «РНПЦ РМиЭЧ» Мясякину В. Б. за помощь при расчете стандартизованного показателя суммарной частоты выявленных мутаций.

Работа выполнена в рамках Государственной комплексной программы научных исследований «Современные клеточные молекулярно-генетические технологии в медицине; новые подходы к регуляции, коррекции (реабилитации) и профилактике патологических состояний человека» (договоры № 14/06-ФИ и №17/09-ФИ).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families / D. Ford [et al.] // *Am J Hum Genet.* — 1998. — № 62. — P. 676–689.
2. Wjittmore, A. Prerelence and contribution of BRCA 1 mutations in hreast cancer and ovarian cancer: resaltsfrom three US populalion-based case-control studies of ovarian cancer / A. Wjittmore, G. Gong, J. Itnyre // *Am J Hum Genet.* — 1997. — № 60. — P. 496–504.
3. BRCA 1 mutations in women attending clinics that evaluate the risk of breast cancer / F. J. Couch [et al.] // *N. Engl. J. Med.* — 1997. — № 336. — P. 1409–1415.
4. The risk of cancer associated with specific mutations of BRCA1 and BRCA2 among Ashkenazi jews / J. Struewing [et al.] // *The New England Journal of Medicine.* — 1997. — Vol. 336, № 20. — P. 1401–1408.
5. Slatkin, M. A Population-Genetic Test of Founder Effects and Implications for Ashkenazi Jewish Diseases / M. Slatkin // *Am. J. Hum. Genet.* — 2004. — Vol. 75. — P. 282–293.
6. Frequently Occurring Germ-Line Mutations of the BRCA1 Gene in Ovarian Cancer Families from Russia / S. Gayther [et al.] // *Am. J. Hum. Genet.* — 1997. — № 60. — P. 1239–1242.
7. Поиск часто встречающихся мутаций в генах предрасположенности к раку молочной железы / М. Ю. Мандельштам [и др.] // *Генетика.* — 2001. — Т. 31, № 12. — С. 1681–1686.
8. Преобладание широко распространенных мутаций в гене BRCA1 у больных семейными формами рака молочной железы Санкт-Петербурга / Н. А. Грудина [и др.] // *Генетика.* — 2005. — Т. 41, № 3. — С. 405–410.
9. Наследственные мутации при ранних, семейных и билатеральных формах рака молочной железы у пациенток из России / А. П. Соколенко [и др.] // *Сибирский онкологический журнал.* — 2008. — Т. 27, № 3. — С. 43–49.
10. BRCA1 and BRCA2 mutation status and cancer family history of Danish women affected with multifocal or bilateral breast cancer at a young age / J. T. Bergthorsson [et al.] // *J. Med. Genet.* — 2001. — № 38. — P. 361–368.
11. Founder Mutations in the BRCA1 Gene in Polish Families with Breast-Ovarian Cancer / B. Gorski [et al.] // *Am. J. Hum. Genet.* — 2000. — № 66. — P. 1963–1968.
12. High proportion of recurrent germline mutations in the BRCA1 gene in breast and ovarian cancer patients from the Prague area / P. Pohlreich [et al.] // *Breast Cancer Research.* — 2005. — Vol. 7, № 5. — P. 728–736.
13. Strong founder effects in BRCA1 mutation carrier breast cancer patients from Latvia / B. Csokay [et al.] // *Hum Mutat.* — 1999. — Vol. 14, № 92.
14. ДНК-диагностика наследственных форм рака молочной железы / Ю. Н. Леонович [и др.] // *Достижения медицинской науки Беларуси.* — 2008. — Вып. XIII. — С. 85–87.
15. Kerber, R. Slattery Comparison of Self-reported and Database-linked Family History of Cancer Data in a Case-Control Study / R. Kerber, M. Slattery // *American Journal of Epidemiology.* — 1997. — Vol. 146, №. 3. — P. 244–248.

Поступила 26.07.2009

УДК 616.832-004.2

ТЕЧЕНИЕ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА В ГОМЕЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ РАЗНЫХ ФАКТОРОВ

Ф. В. Багинский¹, В. Я. Латышева²

¹Гомельская областная клиническая больница

²Гомельский государственный медицинский университет

Изложены результаты исследования зависимости развития и течения рассеянного склероза от плотности радиоактивного загрязнения и величины населенного пункта.

Установлено (с достоверностью 0,68), что в зоне с радиоактивным загрязнением свыше 5 Ки/км² наблюдается более тяжелое течение заболевания, выражающееся в преобладании прогрессивных форм.

Показано, что имеется статистически достоверная тенденция повышения тяжести течения заболевания в городах с населением от 10 до 50 тысяч человек.

Ключевые слова: рассеянный склероз, радиоактивное загрязнение.