

Рак молочной железы. Генетические факторы риска развития заболевания

2, 3, 4 Г. Ф. Зиннатуллина, ¹ М. А. Бермишева, ³ Ш. Х. Ганцев, ¹ Э. К. Хуснутдинова

¹ Отдел геномики Института биохимии и генетики УНЦ РАН, г. Уфа;

² Отделение маммологии Клинического онкологического диспансера МЗ Республики Башкортостан, г. Уфа;

³ Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа;

⁴ Онкологическое отделение Учреждения ХМАО-Югры «Сургутская окружная клиническая больница», г. Сургут.

Резюме

Настоящая статья посвящена обзору имеющейся информации о значении различных молекулярных маркеров для определения риска возникновения рака молочной железы. Трудности в ранней диагностике и низкой эффективности специфических методов воздействия на опухоль свидетельствуют о необходимости более глубокого изучения проблемы. В последние несколько лет во всем мире активно исследуется генная экспрессия при данной патологии методами микроанализа ДНК. Пока существует дефицит информации для окончательных выводов по различным причинам (немногочисленные исследования, неоднородность и невысокое качество применяемых методов оценки молекулярных маркеров и т. д.).

Ключевые слова: рак молочной железы, факторы прогноза, гены предрасположенности, мутации, ассоциации.

Достижения в области молекулярной генетики за последние десять лет позволяют по-новому взглянуть на представления о патологических механизмах, лежащих в основе канцерогенеза. Особый интерес у исследователей вызывает рак молочной железы (РМЖ). Риск возникновения заболевания в течение жизни оценивается в среднем у женщин 11%, у мужчин — 0,1%. Ежегодно в мире выявляют около 1 млн. новых случаев РМЖ. В ранговой структуре опухолевых заболеваний наблюдается тенденция к значительному увеличению случаев данной патологии. Очень часто РМЖ выявляется на поздних стадиях заболевания.

В России РМЖ занимает первое место в структуре онкологической заболеваемости у женщин. По показателям заболеваемости РМЖ в России лидируют следующие регионы России: Москва, Санкт-Петербург, Новгородская и Ярославская области [1]. Смертность женщин от РМЖ в России имеет тенденцию к росту, за период с 1992 по 2002 годы прирост данного показателя составил 12,8%.

Факторы риска развития рака молочной железы

На сегодняшний день не вызывает сомнения, что семейная история рака молочной же-

лезы является одним из главных факторов риска развития заболевания [4]. Данный факт свидетельствует о генетической детерминанте туморогенеза молочной железы. Необходимо отметить, что от 5 до 10% случаев злокачественных новообразований молочной железы представлены наследственными формами данной патологии. Наследственные формы РМЖ характеризуются быстрой малигнизацией, относительно ранним проявлением, билатеральностью и мультицентричностью. Установлено, что наличие заболевания в семейном анамнезе увеличивает риск его возникновения в среднем в 3 раза. Вероятность возникновения РМЖ выше при накоплении в семье случаев заболевания (по отцовской и по материнской линии), особенно среди родственников первой степени родства. Риск повышается и в случаях проявления заболевания у родственников в молодом возрасте (до 40 лет) и при поражении обеих молочных желез. Наследование РМЖ происходит по аутосомно-доминантному типу, часто проявляется в молодом возрасте, с билатеральным поражением молочных желез. Идентифицированы гены с высокой пенетрантностью, которые ответственны за возникновение семейных форм РМЖ — *BRCA1* и *BRCA2* [3]. (Пенетрантность — количественный показатель фенотипической изменчивости проявления гена. Проявление гена у 100% особей с соответствующим генотипом называется полной пенетрантностью, в остальных случаях — неполной пенетрантностью). Большое внимание

М. А. Бермишева — к. б. н.;

Ш. Х. Ганцев — д. м. н., профессор, зав. кафедры онкологии с курсом ИПО БГМУ;

Э. К. Хуснутдинова — д. б. н., проф., зав. отделом геномики Института биохимии и генетики УНЦ РАН.

исследователи уделяют внимание другим факторам риска, в основе которых также лежит генетическая детерминанта. Маммографическая плотность — один из факторов риска РМЖ [33]. Относительный риск возникновения РМЖ у женщин с высокой плотностью молочной железы выше в 4–6 раз, чем у женщин с низкой плотностью. Близнецовый метод четко демонстрирует, что маммографическая плотность является генетической компонентой [56]. Такие выводы были подтверждены при семейном анализе, где у женщин первой степени родства с высокой маммографической плотностью увеличивается риск развития РМЖ. [66]. Выявлена ассоциация риска развития РМЖ с плотностью молочной железы у носительниц мутаций генов *BRCA1* и *BRCA2* [43].

Другим хорошо известным фактором риска развития РМЖ является возраст наступления менопаузы. Ранний возраст менопаузы (как естественный, так и после хирургического вмешательства) ассоциирован с низким риском развития РМЖ [22]. Анализ сцепления некоторых генов с менопаузальным статусом не выявил никаких генов предрасположенности. Другие фенотипы, определяемые генетическими компонентами и показывающие ассоциацию с риском РМЖ, включают индекс массы тела, минеральную плотность костей, чувствительность хромосом к радиоактивному излучению, уровень инсулинподобного фактора I [28] и уровень половых гормонов [26].

Важнейшей составляющей риска развития злокачественных новообразований молочной железы является воздействие ионизирующего излучения. На основе эпидемиологических исследований показано увеличение риска развития РМЖ после проведения лучевой терапии и ряда диагностических процедур (радиоизотопная диагностика, рентгенодиагностика, компьютерная томография и т.д.). Доказано, что среди облученных степень риска данного заболевания максимальна у девочек, облученных в подростковом возрасте, при этом выявлена квазилинейная зависимость «доза-риск».

Молекулярно-генетические подходы к изучению факторов возникновения рака молочной железы

Редкие высокопенетрантные герминальные мутации таких генов как *BRCA1/2* отвечают не более чем за 25% всех семейных случаев заболевания РМЖ. И большинство из оставшегося разнообразия генетического риска можно объяснить комбинацией более распространенных, низкопенетрантных вариантов [46].

Для поиска генов предрасположенности к РМЖ используются два основных направления молекулярно-генетических исследований. Пер-

вый подход разработан на основе анализа сцепления определенных генетических локусов с заболеванием в семьях с множественными случаями рака молочной железы, где пациенты не являются носителями мутаций генов *BRCA1/2*. Например, при изучении 14 финских семей, было установлено сцепление с регионом 2q32. При увеличении выборки больных (149 семей) данные результаты были опровергнуты [54]. Не нашло дальнейшего подтверждения и сообщение о сцеплении РМЖ с локусами 8p и 13q12–13 [11]. На сегодняшний день считается, что не существует высокопенетрантных генов, за исключением *BRCA1/2*, отвечающих за развитие РМЖ с высокой долей вероятности.

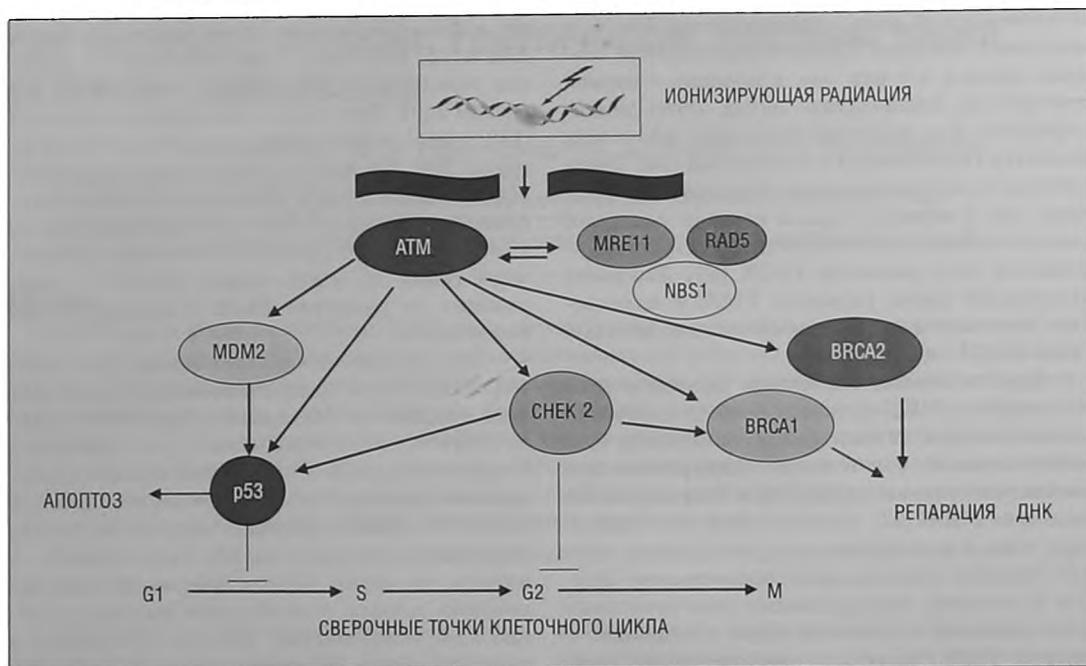
Другой подход изучения основан на идентификации генов предрасположенности при анализе ассоциаций. Материалом для этого анализа могут служить независимые группы больных и здоровых людей. Такие исследования направлены на изучение частот аллельных вариантов генов у больных и здоровых индивидов. Анализ ассоциаций обладает рядом преимуществ. А именно, он может осуществляться на популяционных данных, и он обладает высокой разрешающей способностью. Анализ ассоциаций в первую очередь сконцентрирован на изучении генов-кандидатов, которые выбраны на основе их вовлеченности в канцерогенез — например, генов, принимающих участие в метаболизме эстрогенов, генов системы репарации двухнитевых разрывов ДНК или генов, продукты которых вовлечены в процесс апоптоза (программированная смерть клетки). Наиболее частым объектом данного изучения являются функционально значимые полиморфные варианты генов (однонуклеотидные замены SNP), реже рассматривают все полиморфизмы исследуемого гена (SNP tagging).

В одной из последних работ по изучению ассоциаций было проанализировано 16 полиморфных маркеров ДНК [60], пять из которых показали ассоциацию ($0,009 \leq p \leq 0,06$). Редкие аллели генов *CASP8* D302H, *IGFBP3*-202c>a и *SOD2* V16A ассоциированы со сниженным риском развития РМЖ, тогда как аллельные варианты генов *PGR* V660L и *TGFB1* L10P ассоциированы с высоким риском развития заболевания.

Рак молочной железы и гены, вовлеченные в процесс биосинтеза эстрогенов

Механизмы возникновения нарушений синтеза эстрогенов в организме женщины при развитии рака молочной железы еще не полностью раскрыты. По последним данным канцерогенное воздействие эстрогенов на ткань молочной железы обусловлена следующими

Рисунок 1. Ионизирующая радиация активирует сеть сложных сигналов, включая *ATM*, *NBS1*, *CHEK2*, *TP53* и *BRCA1/2* протеины. Любые нарушения приводят к дисрегуляции клеточного цикла, репарации ДНК или апоптозу (гибель клетки)



механизмами: благодаря способности стимулировать пролиферацию клеток-мишеней, связываясь с эстрогеновым рецептором и активируя транскрипцию генов — мишеней, эстрогены потенциально способны вызывать увеличение числа спонтанных ошибок в результате репликации ДНК; а так же продукты окисления эстрогенов, катализирующиеся изоформами цитохрома P450 (*CYP*), такие как катехолэстрогены, семихиноны, хиноны, и представляющие собой биохимически активные формы кислорода и электрофильные молекулы, являются потенциальными мутагенами и участвуют в повреждении ДНК. По такому механизму метаболиты эстрогенов могут индуцировать мутации, которые в случае локализации в функционально важной последовательности становятся причиной развития опухоли. Эпидемиологические исследования, проведенные по идентификации различных факторов риска развития рака молочной железы, показали, что одна треть случаев болезни вызывается возникшими нарушениями синтеза эстрогенов [44].

Гены, кодирующие как ферменты окисления (*CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP3A4*, *CYP1B1*), так и ферменты конъюгации (*COMT*, *SULT1A1*, *SULT1E1*, *UGT1A1*) эстрогенов и их метаболитов, являются полиморфными, кодируя аллозимы с разной каталитической активностью или влияя на уровень транскрипции (рис. 2). Таким

образом, названные гены потенциально способны обеспечивать индивидуальные различия в метаболизме эстрогенов и, следовательно, различия в риске возникновения и характере течения опосредованных эстрогенами заболеваний.

Ранее проводимые молекулярные исследования генетических полиморфизмов в *CYP1A1* убедительно доказали наличие генетически обусловленной чувствительности ткани легких к канцерогенному действию ароматических полициклических углеводородов. Однако *CYP1A1* так же активирует процесс гидоксирования эстрадиола в некоторых тканях, в том числе эпителиальной ткани. Доказана взаимосвязь полиморфизмов *CYP1A1* (m1, m2) и ранним началом курения (до 16 лет) с высоким риском возникновения и развития рака молочной железы в европейско-американской популяции [36].

В последнее время уделяется большое внимание другому представителю семейства цитохрома P450 — *CYP17*, который участвует в биосинтезе предшественников тестостерона. Feigelson с соавторами предположили, что полиморфизм *CYP17* T27C, увеличивая уровень активности ферментов, катализирующих биосинтез тестостерона, может повысить уровень эстрогенов и, тем самым, создать условия для развития рака молочной железы [27]. В мульт-

тизической группе женщин Лос-Анжелеса и Гавайи, состоящей из 174 больных раком молочной железы и 285 женщин контрольной группы, у носительниц аллеля A2 риск возникновения рака возрастает незначительно, но была доказана взаимосвязь полиморфизма *CYP17* T27C с высоким риском прогрессирования заболевания. Отмечено, что у женщин гомозиготных по аллелю A1 наблюдается защитный эффект позднего возраста менархе. Считается, что аллель A2 *CYP17* выступает в роли модификатора риска развития рака молочной железы, а не как независимый фактор риска [62].

Ген ароматазы *CYP19* кодирует цитохром P450 — фермент, катализирующий переход андрогенов в эстрогены. Активность фермента выявлена в различных тканях, в том числе в ткани молочной железы. Изучено 11 полиморфных вариантов гена *CYP19*. Выявлена ассоциация РМЖ только с одним из полиморфизмов (замена G>A в 80 кодоне третьего экзона), таким образом, у носителей генотипа (TTTA)₇/(TTTA)₇ повышается риск развития РМЖ. Данный факт может быть объяснен высоким уровнем активности фермента [62].

SULT1A1 — полиморфный ген с тремя аллозимами (*SULT1A1* *1, *SULT1A1* *2 и *SULT1A1* *3). Эпидемиологические исследования выявили взаимосвязь между высокой активностью *SULT1A1* *1 аллеля с развитием опухоли в раннем возрасте [51], при этом не выявлено ассоциации данного варианта с размером опухоли, стадией заболевания и наличием эстрогеновых рецепторов в ткани опухоли. Доказано, что фермент с низкой активностью (аллель *SULT1A1* *2) увеличивает риск развития рака молочной железы [65, 58, 52].

В ряде работ было показано, что ген *UGT1A1* также вовлечен в процесс канцерогенеза молочной железы. При изучении полиморфизма гена *UGT1A1* у 200 здоровых женщин и 200 больных раком молочной железы была выявлена ассоциация между аллелями низкой активности (*UGT1A1* *28 и *UGT1A1* *34) и высоким риском развития рака молочной железы у женщин африканского происхождения в преклиматерическом возрасте [32]. Выявлена связь *UGT1A1* *28 с высоким риском возникновения рака молочной железы у женщин китайского происхождения в возрасте моложе 40 лет [7].

Катехол-О-метилтрансфераза (*COMT*) один из нескольких энзимов фазы II, вовлеченных в инактивацию синтеза эстрогенов, ингибирует катехолэстрогены. Один из полиморфизмов гена *COMT* приводит к замене валина на метионин в позиции 158 аминокислотной последовательности белка, создавая, таким образом, три генотипа — V/V, V/M, M/M.

Данный полиморфизм широко распространен в различных популяциях мира. Для гомозигот по метионину характерна наименьшая активность фермента, что способствует накоплению промежуточных метаболитов эстрогена, тем самым повышая риск возникновения рака молочной железы. В работе Томпсона [61] при анализе 281 пациентки с раком молочной железы и 289 женщин контрольной группы, было показано, что малоактивный аллель *COMT*^{Met} резко повышает риск возникновения рака молочной железы.

Миссенс мутация в гене *MnSOD* приводит к замене валина на аланин в 9 позиции аминокислотной последовательности. Эта мутация в гене выявляется и у здоровых женщин, и у больных раком молочной железы, однако у больных она встречается чаще. Отмечено, что мутантный аллель имеет в два раза выше риск развития рака молочной железы среди женщин в постменопаузальном периоде [39, 34]. А у женщин репродуктивного периода — гомозигот по аланину, риск развития рака молочной железы увеличен почти в четыре раза [62, 2].

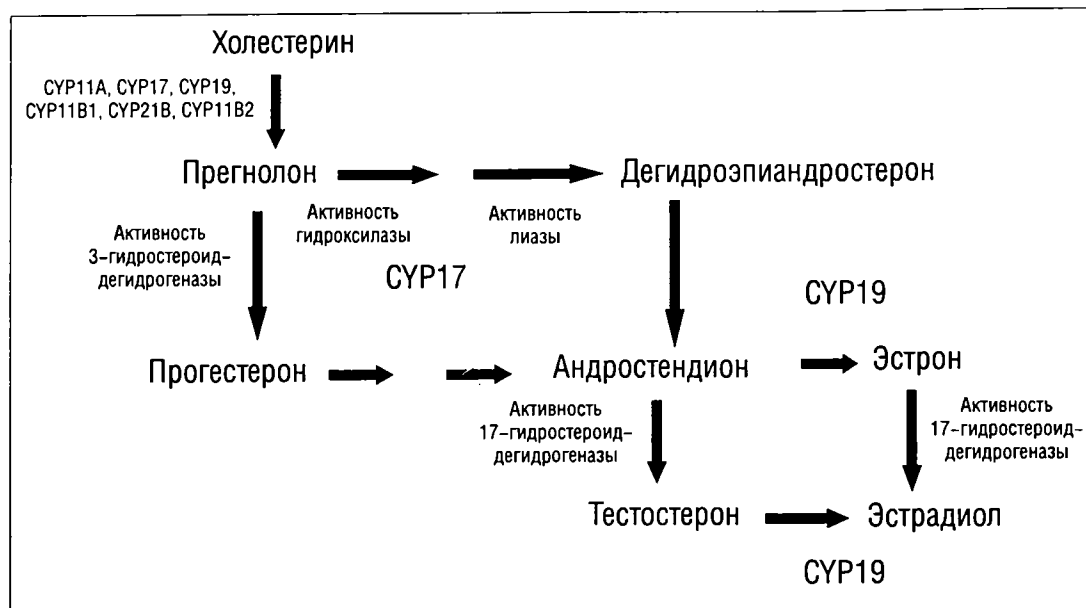
Еще одним представителем семейства цитохрома P450 является *CYP3A4*, который первоначально назывался нифедипиноксидазой, в связи с ее способностью усваивать нифедипин. Ген *CYP3A4* экспрессируется в тканях предстательной железы, молочной железы, тонкой и толстой кишки, но до 30% от общего содержания встречается в тканях печени, и принимает участие в окислении обоих тестостеронов. Высокий уровень экспрессии *CYP3A4* связан с риском развития рака молочной железы [65].

Рак молочной железы и гены, вовлеченные в регуляцию клеточного цикла, процессы репарации ДНК и апоптоза

Вероятность возникновения в одной клетке нескольких генетических изменений резко повышается при нарушениях систем, контролирующих целостность генома. Поэтому мутации, ведущие к нестабильности, также являются неотъемлемым этапом канцерогенеза. Более того, некоторые врожденные аномалии систем генетического контроля являются факторами, предопределяющими неизбежное возникновение новообразований: они увеличивают вероятность появления в каждой клетке организма различных онкогенных мутаций, что у индивидуума в определенный момент в какой-то из клеток пролиферирующего клона под действием отбора накопится необходимая совокупность изменений, ведущих к опухолеобразованию.

В последние годы вырисовывается общая картина, показывающая, что подавляющее большинство известных протоонкогенов и опу-

Рисунок 2. Биосинтез эстрогенов из холестерина. Показано участие шести ключевых форм цитохрома P450 и двух форм гидроксистероид- дегидрогеназы в синтезе предшественников эстрогена



холевых супрессоров являются компонентами нескольких общих сигнальных путей, контролирующих клеточный цикл, целостность генома, апоптоз, морфогенетические реакции и дифференцировку клеток. Изменения именно в этих сигнальных путях, в итоге, приводят к развитию злокачественных новообразований.

Среди факторов риска РМЖ одно из ведущих мест принадлежит мутациям генов *BRCA1/2*, *CHEK* и *ATM*. Считается, что вовлечены в процесс репарации радиационно-индуцированных повреждений ДНК. Таким образом, наличие мутаций этих генов может привести к ошибкам репарации ДНК и, соответственно, к возникновению опухоли.

BRCA1 и *BRCA2* два основных гена, вовлеченных в развитие РМЖ. Известно, что *BRCA1* повышает активность p53 и других факторов транскрипции, связываясь с RAD51, участвует в узнавании и или репарации повреждений ДНК. Транскрипционный фактор *BRCA2* имеет активность гистоновой ацетил-трансферазы, связываясь с RAD51, он участвует в репарации ДНК. Гены были идентифицированы с помощью методов анализа сцепления и позиционного клонирования в 1990-х годах [42, 64]. Мутации в генах *BRCA1* и *BRCA2* редки и они являются маркерами высокого риска развития РМЖ и рака яичников и в меньшей степени других видов рака [10]. Уже идентифицировано более 1000 различных мутаций в этих двух генах. На сегодняшний день полностью доказа-

на необходимость генетического тестирования мутаций в этих генах для семей повышенного риска [63].

Риск развития генетически обусловленного РМЖ у женщин-носительниц мутаций генов *BRCA1/2* составляет 80% и 60%, соответственно. Аналогичный показатель у мужчин-носителей мутаций гена *BRCA2* равен 6%. Более того, у носителей данных мутаций в 4 раза увеличивается риск возникновения рака толстой кишки и в три раза — рака предстательной железы.

При изучении спектра мутаций в гене *BRCA1* у пациентов с семейными случаями РМЖ и яичников в российской популяции было показано преобладание мутации — 5382 insC, занимающей более 90% спектра выявленных в гене мутаций [3]. Частота мутаций в гене *BRCA1* в семьях, в анамнезе отягощенных РМЖ и яичников, составила 32%, а в семьях со случаями рака яичников — 86%. В гене *BRCA1* у больных Санкт-Петербурга с семейными формами рака молочной железы преобладают мутации, общие с населением Европы. Инсерция 5382insC в гене *BRCA1* также является мажорной мутацией в популяции Санкт-Петербурга и встречается приблизительно в 10% семей, отягощенных по РМЖ, независимо от этнической принадлежности [5].

Риск развития РМЖ значительно увеличивается в результате возникновения мутаций в гене *CHEK2*, на фоне уже имеющихся мута-

ций генов *BRCA1* и *BRCA2* (у женщин в 2 раза, у мужчин, — в 10 раз) [41].

В клеточном цикле постулировано существование так называемых «сверочных точек», прохождение которых возможно лишь в случаях нормального завершения предыдущих этапов и при отсутствии поломок в цикле. Киназа *CHEK2* (Cell-cycle checkpoint kinase 2) — центральный медиатор, который принимает участие в ответе на повреждение ДНК. Ионизирующая радиация активирует протеин *CHEK2* через *ATM*-опосредованное фосфорилирование, и активированная киназа *CHEK2* фосфорилирует в свою очередь несколько онкопротеинов, которые принимают участие в аресте клеточного цикла и ДНК репарации (рис. 1.) [12].

Мутацию 1100delC в гене *CHEK2*, рассматривают в качестве низкопенетрантного аллеля, у носителей данной мутации в гетерозиготном состоянии повышается риск развития РМЖ приблизительно в 2 раза. Более того, сообщается, что выявлена ассоциация мутации 1100delC раком предстательной железы и колоректальным раком. Данные о вкладе других полиморфных вариантов этого гена в развитие РМЖ весьма противоречивы. В ряде работ показано, что мутации гена *CHEK2* не вносят большого вклада в развитие РМЖ [9, 50, 25]. Однако последние результаты свидетельствуют о том, что мутации I157T и IVS2+1G>A ассоциированы с повышенным риском развития данной патологии [37]. p53 — это транскрипционный фактор, регулирующий клеточный цикл и апоптоз, контролирует целостность генома. Он активируется в ответ на самые разные неблагоприятные воздействия, в том числе и приводящие к генетическим нарушениям — разрывы ДНК и др. Герминальные мутации в гене *TP53* приводят к возникновению синдрома Ли-Фраумени [40]. Носители мутаций гена *TP53* имеют высокий риск развития РМЖ в молодом возрасте. Однако, соотношение РМЖ в популяции, объясняемое мутациями данного гена, очень мало, вследствие низкой частоты мутаций гена *TP53*.

Считается, что полиморфизм 215 G>C (4 экзон) гена *TP53* играет значительную роль в развитии злокачественных новообразований различных локализаций. Замена нуклеотида приводит к изменению аминокислоты (аргинин на пролин) в 72 положении белка, вследствие чего две формы протеина имеют разные характеристики. Вариант R72 является более мощным и быстрым индуктором апоптоза, в сравнении с вариантом 72P [47]. Одним из механизмов, лежащих в основе большей эффективности в индуцировании апоптоза, может быть вызвано преобладанием R72 варианта в митохондриях. Этот вариант более чувстви-

телен к деградации, вызванной протеином Ес папилломы вируса человека, в результате чего у носителей генотипа R72/R72 увеличивается вероятность развития опухоли, спровоцированной данным вирусом. Установлено, что R72 аллель ассоциирован с повышенным риском развития рака мочевого пузыря и желудка.

Аллель 72P, с другой стороны, показал взаимосвязь с возникновением рака щитовидной железы, предстательной железы и легкого. Этот аллель также играет роль в патогенезе колоректального рака: у пациентов с герминальными мутациями в генах *MSH2* или *MLH1* в сочетании с аллелем 72P наблюдается развитие опухоли в более раннем возрасте.

Аллель R72 рассматривают в качестве кандидата низкопенетрантного аллеля предрасположенности к РМЖ [19]. Однако в японской популяции повышенный риск развития РМЖ имеют гомозиготные носители аллеля 72P [35]. В одной из последних работ при изучении полиморфизма R72P в финской популяции было установлено, что для пациентов с аллелем 72P в гомозиготном состоянии характерна дольковая карцинома, тогда как гомозиготы по аллелю R72 имели высокую частоту развития протоковой карциномы. Пациенты с генотипом 72P/72P имели неблагоприятный прогноз заболевания, чем пациенты с другими генотипами ($p=0,003$).

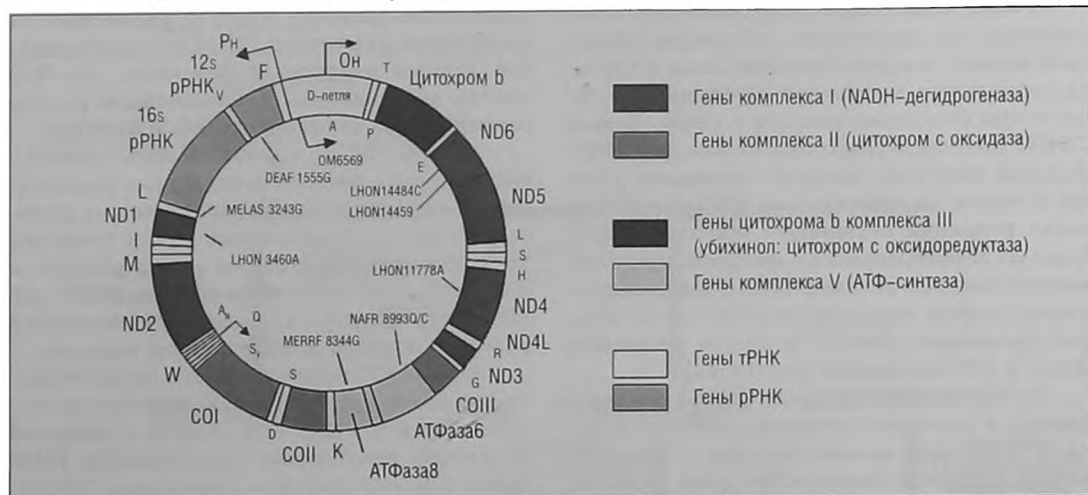
Доказана корреляция между экспрессией мутантного гена *TP53* и плохим клиническим прогнозом. Определение p53-статуса может быть прогностически значимым при назначении адъювантного лечения (лучевой и химиотерапии).

Редкие наследственные синдромы вносят ценный вклад в понимание патофизиологии многих комплексных болезней. Есть несколько синдромов с фенотипическими проявлениями, включающими РМЖ и имеющие менделеевский тип наследования. Исследования этих синдромов могут обеспечить прямые подходы к более глубокому пониманию генетических основ опухолевых заболеваний.

РМЖ является особенностью синдрома Коудена, к которому приводят мутации гена *PTEN* [45], но такие мутации очень редко встречаются в популяционном контроле. У пациентов с синдромом *Petz-Jeghers* также высокая частота развития РМЖ [15]. Этот синдром вызван мутациями в гене *LKB1*. РМЖ ассоциирован и с другими наследственными синдромами, такими как атаксия-телангиоэктазия, Синдром Ниджмегена (*Nijmegen breakage syndrome* (NBS)).

Атаксия-телангиоэктазия (OMIM 208900) это аутосомно-рецессивное заболевание с частотой распространения от 1 на 40000 до 1 на

Рисунок 3. Карта мтДНК человека с указанием положения генов и относительно часто встречающихся патогенных мутаций



300000 в европейских популяциях [57]. Данное заболевание характеризуется прогрессивной церебеллярной атаксией, окуломоторной апраксией, иммунодефицитом, частыми инфекциями, хореоацетозисом, телангиоэктазией конъюнктивы, повышенной чувствительностью к воздействию ионизирующего облучения и высоким риском развития опухолей различной локализации [21, 59]. У больных атаксией-телангиоэктазией риск возникновения злокачественных новообразований увеличивается в 100 раз по сравнению с популяцией. Эпителиальный рак преобладает у взрослых, включая и рак молочной железы. Ген *ATM* (ataxia-telangiectasia mutated) был картирован на хромосоме 11 в 1988 году и идентифицирован позиционным клонированием в 1995 г. [30, 49]. Большинство пациентов атаксией-телангиоэктазией являются компаунд гетерозиготными или гомозиготными носителями мутаций гена *ATM*. Продуктом гена *ATM* является протеинкиназа, относящаяся к семейству PIKK (PI3K-related protein Kinase) [6]. *ATM* имеет множественную, сложную функцию, включая и участие в процессе репарации ДНК. На сегодняшний день считается, что мутации гена *ATM*, которые приводят к возникновению атаксии-телангиоэктазии, также являются мутациями, способствующими развитию рака молочной железы у моноаллельных носителей (гетерозигот) [8]. Частота встречаемости мутаций гена *ATM* составляет 0,5-1% в западноевропейских популяциях [48].

Синдром Ниджмигена (Nijmegen Breakage syndrome) (OMIM 251260) — аутосомно-рецессивное заболевание. Клинический фенотип характеризуется конгинентальной микроцефали-

ей, стигмами дисэмбриогенеза, задержкой роста, иммунодефицитом, и повышенным риском развития опухолей лимфорегикулярной системы. Нестабильность хромосом обусловлена повышенной чувствительностью к ионизирующему излучению. Герминальные мутации гена *NBS1* приводят к возникновению данного синдрома. Ген *NBS1* кодирует протеин нибрин/p95, который участвует в процессах сохранения хромосомной стабильности, включая чувствительность к двухцепочечным разрывам ДНК, регуляции клеточного цикла на стадиях сверхочных точек [24]. Нибрин/p95 является компонентом MRE11/RAD50/NBS1 (M/R/N) комплекса, который взаимодействует с *ATM* и *BRCA1* и, таким образом, оказывается вовлеченным в процесс репарации двухнитевых разрывов ДНК. Считается, что у гетерозиготных носителей мутаций этого гена увеличивается риск развития рака. Большинство пациентов славянского происхождения являются гомозиготными носителями мутации (эффект основателя) 657del5. Недавно была обнаружена другая мутация в гене *NBS1* 643C>T(R215W), которая выявлена с большей частотой у больных, чем в популяционном контроле. Данная мутация приводит к замене аминокислоты аргинина на триптофан в белке и, возможно, ассоциирована с повышенным риском развития рака, включая и рак молочной железы. [31, 55, 18].

Мутации в генах *TGFβ* (трансформирующий фактор роста β) или его рецепторов (типы I, II, III) вовлечены в канцерогенезе и наследственной геморрагической телангиоэктазии [14].

Трансформирующий фактор роста β — цитокин, регулирующий нормальное развитие молочной железы и функционирование через

активирование *TGFβ* — сигнального пути [13]. Предложена модель двойной роли *TGFβ*, согласно которой, с одной стороны, цитокин ингибирует развитие ранних доброкачественных опухолей, с другой стороны, одна соматическая мутация может нарушить нормальное действие *TGFβ* как супрессора опухоли и, таким образом, способствует началу опухолевого роста и метастазированию.

Анализ варианта L10P протеина *TGFβ1* в исследовании, охватившем около 13000 больных РМЖ и 15000 здоровых индивидов, выявил, что аллель *Р ассоциирован с повышенным риском развития инвазивного РМЖ, в то же время считается, что пролин вариант (быстрая секреция *TGFβ*) должен быть ассоциирован *in situ* с пониженным риском возникновения опухоли.

Уровень *TGFβ* в плазме и уровень мРНК в ткани может послужить диагностическим и прогностическим маркером различных заболеваний. Так высокий уровень протеина в плазме обнаружен у пациентов с инвазивным раком предстательной железы, колоректальным раком [53], также выявлена корреляция с развитием фиброза у пациенток с раком молочной железы, получивших лучевую терапию. Кроме того, раннее увеличение уровня *TGFβ2* предсказывает клинический ответ на тамоксифен у больных РМЖ [38].

Еще одним из генов, изучаемых в исследованиях ассоциаций с риском возникновения рака молочной железы, является *CASP8*. Каспаза 8 является важным инициатором апоптоза, которая активируется через внутренние сигналы смерти в ответ на повреждения ДНК. Было выдвинуто предположение, что D302H полиморфизм в гене *CASP8*, приводит к замене аспарагиновой кислоты на гистидин, и уменьшает риск развития рака молочной железы. Результаты изучения группы, состоящей из более 16000 больных и 17000 контроля, показали существование протективного эффекта. По оценкам исследователей *CASP8* D302H и *TGFβ1* L10P варианты могут объяснить около 0,3% и 0,2% случаев семейного РМЖ в Европейских популяциях [23].

Роль митохондриальной ДНК в развитии опухоли

Молекула мтДНК человека содержит 37 генов, продукты которых участвуют в процессе выработки энергии в дыхательной цепи митохондрий, и состоит из пяти сопряжено функционирующих ферментных комплексов. В основном они кодируются ядерными генами (ядДНК), но семь субъединиц первого ферментного комплекса (ND1, 2, 3, 4, 4L, 5, 6), один — третьего (цитохром b), три — четвер-

того (COI, COII, COIII) и две — пятого ферментного комплекса (АТФаза 6 и 8) кодируются структурными генами мтДНК (рис. 3.).

В настоящее время изучаются мутации в митохондриальной ДНК (мтДНК), вызывающие нарушения структуры и функций того или иного ферментного комплекса, обеспечивающего окислительное фосфорилирование. Отличительной особенностью митохондриальной ДНК от ядерного генома является наследование только по материнской линии. Известно, что синтез белков в митохондриях при наличии мутаций сильно замедлен или происходит с многочисленными ошибками, в результате чего образуются белки, утратившие свою нормальную биологическую активность. Дефектные митохондрии, испытывающие хроническую интоксикацию свободными радикалами кислорода, компенсируют нехватку энергии ускоренной пролиферацией так, что доля мутантных мтДНК в среднем по органу или ткани прогрессивно увеличивается. Постепенно накапливаясь, мутации достигают порогового уровня экспрессии и проявляют себя в виде биохимических, гистологических и клинических признаков болезни.

Многие генетические исследования, изучающие роль герминальных мутаций мтДНК в канцерогенезе, получают противоречивые данные о функциональных полиморфизмах. В настоящее время проводится анализ соматических мутаций мтДНК в опухолевой ткани. Клетки опухолевой ткани должны нести определенную мутацию мтДНК, в то время как в нормальной ткани изменений не должно быть [20].

При анализе некоторых полиморфизмов мтДНК выявлена ассоциация с повышенным риском возникновения рака молочной железы. Например, замена G>A в позиции 10398 гена ND3. В исследованиях Canter et al. в 2005г. у американских женщин африканского происхождения в пре- и постменопаузальном периоде доказана взаимосвязь аллеля 10398A с высоким риском развития рака молочной железы. Тогда, как у женщин европейского происхождения этот аллель не связан с риском возникновения данной патологии. Другой полиморфизм в позиции 16189 (T>C) выявил ассоциацию с повышенным риском возникновения рака эндометрия. При изучении соматических мутаций мтДНК Parrella et al. 2001, было выявлено наличие миссенс-мутации гена ND5 (A458T), которая представлена заменой G>A в позиции 13708, в 61% случаев рака молочной железы [17].

Молекулярно-генетические исследования и профилактика и диагностика РМЖ

Идентификация генов, аллельные варианты которых изменяют риск развития злокаче-

ственных новообразований, имеет большое фундаментальное значение, так как позволяет понять биологию развития заболевания, разработать новые подходы к его ранней диагностике и своевременному лечению. Кроме того, знание аллельных вариантов, повышающих риск развития заболевания, имеет большое практическое значение. С его помощью можно будет устанавливать генетические профили больных и проводить индивидуальное лечение, специфически компенсируя функцию, затронутую генетическим дефектом. Используя знания о взаимодействиях аллельных вариантов со средовыми факторами можно разрабатывать индивидуальные рекомендации по изменению стиля жизни, которое позволит минимизировать риск возникновения заболевания.

Следует еще раз подчеркнуть, что именно в случаях семейного рака консультирование с участием клинического генетика, онко-

лога, психолога и диетолога может оказаться наиболее эффективным методом профилактики. Врач должен учитывать информацию относительно наследственной предрасположенности. Во многих случаях довольно трудно пригласить родственников онкологических больных к онкологу для подробного сбора генеалогического анамнеза, а ДНК-диагностика еще не вошла в стандарты оказания медицинской помощи. Трудности в диагностике, профилактике, лечении РМЖ и низкой эффективности дополнительных методов воздействия на опухоль не означают принципиальной неизлечимости РМЖ, а только свидетельствуют о необходимости более глубокого изучения проблемы и кооперирования междисциплинарных исследований с целью повышения качества ранней диагностики, индивидуализации специфического лечения и повышения уровня выживаемости.

Литература

- Ганцев Ш. Х., Ханов А. М., Демидов С. М. с соавт. Рак молочной железы. Москва: ООО «Медицинское информационное агентство». 2004; 116.
- Залетаев Д. В., Горбунова В. Н., Бабенко О. В. Онкогеномика и молекулярная диагностика в онкологии. Москва. 2001.
- Логинава А. Н. Молекулярно-генетический анализ наследственной формы рака молочной железы и/или яичников: Автореф. дисс. на соискание уч. степени к.м.н. Москва, 2004.
- Любченко Л. Н., Гарькавцева Р. Ф. Клинико-генетическая гетерогенность семейного рака молочной железы. Современная онкология. 2004; 2.
- Мандельштам М. Ю. Молекулярно-генетический анализ моногенных форм атеросклероза и рака молочной железы у жителей Санкт-Петербурга: Автореф. дисс. на соискание уч. степени д.б.н. Санкт-Петербург, 2005.
- Abraham R.T. PI 3 kinase related kinases: «big» players in stress — induced signaling pathways. DNA repair. 2004; 3: 883-887.
- Adegoke O. J., Shu X. O., Gao Y. T., Cai Q., Breyer J., Smith J., Zheng W. Genetic polymorphisms in uridine diphospho-glucuronosyltransferase 1A1 (UGT1A1) and risk of breast cancer. Breast Cancer Res. Treat. 2004; 85: 239-245.
- Ahmed M. and Rahman N. ATM and breast cancer susceptibility. Oncogene. 2006; 25: 5906-5911.
- Allinen M., Huusko P., Maentyniemi S., Launonen V., Winqvist R. Mutation analysis of the CHEK2 gene in families with hereditary breast cancer. Br. J. Cancer. — 2001; 85: 209-212.
- Antoniou A., Pharoah P.D., Narod S. et al. Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case series unselected for family history: a combined analysis of 22 studies. Am. J. Hum. Genet. 2003; 72: 1117-1130.
- Antoniou A. C. and Easton D. F. Models of genetic susceptibility to breast cancer. Oncogene. 2006; 25: 5898-5905.
- Bartek J., Falck J., Lukas J. CHEK2 kinase—a busy messenger. Nature Rev. Mol. Cell. Biol. 2001; 2: 877-886.
- Bierie B., Moses H.L. Tumor microenvironment: TGF β : the molecular Jekyll and Hyde of cancer. Nat. Rev. Cancer. 2006; 6: 506-520.
- Blobe G. C., Schieman W. P., Lodish H. F. Role of transforming growth factor β in human disease. NEJM. 2000; 1350-1358.
- Boardmann L. A., Thibodeau S. N., Schaid D. J. et al. Increased risk for cancer in patients with the Peutz-Jeghers syndrome. Ann Intern. Med. 1998; 128: 896-899.
- Bogdanova N., Enben-Dubrowskaja N., Fatchenko S. et al. Association of two mutations in the CHEK2 gene with breast cancer. Int. J. Cancer. 2005; 116: 263-266.
- Brandon M., Baldi P., Wallace D.C. Mitochondrial mutations in cancer. Nature Publ. Group. 2006; 00: 1-16.
- Buslov K. B., Iyevleva A. G., Chekmariova E. V. et al. NBS1 657del5 mutation may contribute only to a limited fraction of breast cancer cases in Russia. Int. J. Cancer. 2004; 114: 585-589.
- Buyru N., Tigli H., Dalay N. P53 codon 72 polymorphism in breast cancer. Oncol. Rep. 2003; 10: 711-714.
- Chinnery P. F., Samuels D. C., Elson J., Turnbull D. M. The epidemiology of pathogenic mitochondrial DNA mutations. Lancet. 2002; 360: 1323-1325.
- Chun H. H., Gatti R. A. Ataxia-telangiectasia, an evolving phenotype. DNA repair. 2004; 3: 1187-1196.
- Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Familial breast cancer: collaborative reanalysis of individual data from 52 epidemiological studies including 58,209 women with breast cancer and 101,986 women without the disease. Lancet. 2001; 358: 1389-1399.
- Cox A., Dunning A. M., Garcia-Closas M. et al. A common coding variant in CASP8 is associated with breast cancer risk. Nat. Genet. 2007; 1-7.
- Digweed M., Sperling K., Nijmegen breakage syndrome: clinical manifestation of defective response to DNA double-strand breaks. DNA Repair. 2004; 3: 1207-1214.
- Dufault M. R., Betz B., Wappenschmidt B. et al. Limited relevance of the CHEK2 gene in hereditary breast cancer. Int. J. Cancer. 2004; 10: 320-325.
- Dunning A. M., Dowsett M., Healey C.S. et al. Polymorphisms associated with circulating sex hormone levels in postmenopausal women. J. Natl. Cancer. Inst. 2004; 96: 936-945.
- Feigelson H. S., McKean-Cowdin R., Coetzee G. A. et al. Building a Multigenic Model of Breast Cancer Susceptibility: CYP17 and HSD17B1 Are Two Important Candidates. Cancer Research. 2001; 61: 785-789.
- Fletcher O., Gibson L., Johnson N. et al. Polymorphisms and circulating levels in the insulin-like growth factor system and risk of breast cancer: a systematic review. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 2005; 14: 2-19.

29. Ford D., Easton D., Stratton M. et al. Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families. *Am. J. Hum. Genet.* 1998; 62: 676-689.
30. Gatti R. A., Berkel I., Boder E. et al. Localization of an ataxia telangiectasia gene to chromosome 11q 22-23. *Nature.* 1988; 336: 577-580.
31. Gorski B., Debnjak T., Masojc B. et al. Germline 657del5 mutation in the NBS1 gene in breast cancer patients. *Int. J. Cancer.* 2003; 106: 379-381.
32. Guillemette C., Millikan R.C., Newman B. et al. Genetic Polymorphisms in UGT1A1 and Association with Breast Cancer among African Americans. *Cancer Research.* 2000; 60: 950-956.
33. Harvey J. A. and Bovbjerg V. E. Quantitative assessment of mammographic breast cancer risk. *Radiology.* 2004; 230: 29-41.
34. Helzlsouer K. J., Huang H. Y., Strickland P. T., Hoffman S., Alberg A. J., Comstock G. W., Bell D. A. Association between CYP17 polymorphisms and the development of breast cancer. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* 1998; 7: 945-949.
35. Huang X. E., Hamajima N., Katsuda N. et al. Association of p53 codon Arg72Pro and p73 G4C14-to-A4T14 at exon 2 genetic polymorphism with the risk of Japanese breast cancer. *Breast Cancer.* 2003; 103: 431-433.
36. Ishibe N., Hankinson S. E., Colditz G. A. et al. Cigarette smoking, cytochrome P450 1A1 polymorphisms, and breast cancer risk in the Nurses' Health Study. *Cancer Res.* 1998; 58: 667-671.
37. Kilpivaara O., Vahteristo P., Falck J., Syrjakoski K., Eerola H., Easton D., Bartkova J., Lukas J., Heikkilä P., Aittomäki K., Holli K., Blomqvist C. et al. CHEK2 variant I157T may be associated with increased breast cancer risk. *Int. J. Cancer.* 2004; 111: 543-547.
38. Kopp A., Jonat W., Schmahl M., Knabbe C. Transforming growth factor γ 2 levels in plasma of patients with metastatic breast cancer treated with tamoxifen. *Cancer Res.* 1995; 55: 4512-4515.
39. Lavigne J. A., Helzlsouer K. H., Huang H. Y., Strickland P. T., Bell D. A., Selmin O. et al. An association between the allele coding for a low activity variant of catechol O methyltransferase and the risk for breast cancer. *Cancer Res.* 1997; 57: 5493-5497.
40. Malkin D., Li F.P., Strong L.C. et al. Germline p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas, and other neoplasms. *Science.* 1990; 250: 1233-1238.
41. Meijers-Heijboer H., Van den O.A., Klijn J. et al. Low-penetrance susceptibility to breast cancer due to CHEK2(*)1100delC in noncarriers of BRCA1 or BRCA2 mutations. *Nat. Genet.* 2002; 31: 55-59.
42. Miki Y., Swensen J., Shattuck-Eidens D. et al. A strong Candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science.* 1994; 266: 66.
43. Mitchell G., Antoniou A.C., Warren R. et al. Mammographic density and breast cancer risk in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *Cancer Res.* 2006; 66: 1866-1872.
44. Nandi S., Guzman R. C., Yang J. Hormones and mammary carcinogenesis in mice, rats, and humans: A unifying hypothesis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1995; 92: 3650-3657.
45. Nelen M. R., Padberg G. W., Peeters E. A. et al. Localization of the gene for Cowden disease to chromosome 10q22-23. *Nat. Genet.* 1996; 13: 114-116.
46. Pharoah P. D., Antoniou A., Bobrow M. et al. Polygenic susceptibility to breast cancer and implications for prevention. *Nat. Genet.* 2002; 31: 33-36.
47. Pim D., Banks L. p53 polymorphic variants at codon 72 exert different effects on cell cycle progression. *Int. J. Cancer.* 2004; 108: 196-199.
48. Renwick A., Thompson D., Seal S. et al. ATM mutations that cause ataxia telangiectasia are breast cancer susceptibility alleles. *Nat. Genet.* 2006; 38: 873-875.
49. Savitsky K., Bar-Shira A., Gilad S. et al. A single ataxia telangiectasia gene with a product similar to PI-3 kinase. *Science.* 1995; 268: 1749-1753.
50. Schutte M., Seal S., Barfoot R., Meijers-Heijboer H., Wasielewski M., Evans D.G., Eccles D., Meijers C., Lohman F., Klijn J., van den Ouweland A., Futreal P.A., et al. Variants in CHEK2 other than 1100delC do not make a major contribution to breast cancer susceptibility. *Am. J. Hum. Genet.* 2003; 72: 1023-1028.
51. Seth P., Lunetta K. L., Bell D. W., Gray H., Nasser S. M., Rhei E., Kaelin C. M., Iglehart D. J., Marks J. R., Garber J. E. et al. Phenol sulfotransferases: hormonal regulation, polymorphism, and age of onset of breast cancer. *Cancer Res.* 2000; 60: 6859-6863.
52. Shatalova E. G., Walter S. E., Favorova O. O. et al. Genetic polymorphisms in human SULT1A1 and UGT1A1 genes associate with breast tumor characteristics: a case-series study. *Breast Cancer Research.* 2005; 7: 909-921.
53. Shim K. S., Kim K. H., Han W. S., Park E. B. Elevated serum levels of transforming growth factor- γ 1 in patients with colorectal carcinoma: its association with tumor progression and its significant decrease after curative surgical resection. *Cancer.* 1999; 85: 554-561.
54. Smith P., McGuffog L., Easton D.F. et al. A genome wide linkage search for breast cancer susceptibility genes. *Genes Chromosomes Cancer.* 2006; 45: 646-655.
55. Steffen J., Varon R., Mosor M. et al. Increased cancer risk of heterozygotes with NBS1 germline mutations in Poland. *Int. J. Cancer.* 2004; 111: 67-71.
56. Stone J., Dite G.S., Gunasekara A. et al. The heritability of mammographically dense and nondense breast tissue. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2006; 15: 612-617.
57. Swift M., Morrell D., Cromartie E. et al. The incidence and gene frequency of ataxia-telangiectasia in the United States. *Am. J. Hum. Genet.* 1986; 39: 573-583.
58. Tang D., Rundle A., Mooney L., Cho S., Schnabel F., Estabrook A., Kelly A., Levine R., Hibshoosh H., Perera F. Sulfotransferase 1A1 (SULT1A1) polymorphism, PAH-DNA adduct levels in breast tissue and breast cancer risk in a case-control study. *Breast Cancer Res. Treat.* 2003; 78: 217-222.
59. Taylor A. M., Byrd P. J. Molecular pathology of ataxia telangiectasia. *J. Clin. Pathol.* 2005; 58: 1009-1015.
60. The Breast Cancer Association Consortium. Commonly studied SNPs and breast cancer: negative results from 12,000 32,000 cases and controls from the Breast Cancer Association Consortium. *J. Natl. Cancer Inst.* 2006; 98: 1382-1396.
61. Thompson P. A., Shields P. G., Freudenheim J. L., Stone A., Vena J.E., Marshall J.R. et al. Genetic polymorphisms in catechol O methyltransferase, menopausal status and breast cancer risk. *Cancer Res.* 1998; 58: 2107-2110.
62. Thompson P. A., Ambrosone C. Molecular Epidemiology of Genetic Polymorphisms in Estrogen Metabolizing Enzymes in Human Breast Cancer. *Journal of the National Cancer Institute Monographs.* 2000; 27: 125-134.
63. Walsh et al., Casadei S., Coats K.H. et al. Spectrum of mutations in BRCA1, BRCA2, CHEK2 and TP53 in families at high risk of breast cancer. *JAMA.* 2006; 295: 1379-1388.
64. Wooster R., Bignell G., Lancaster J. et al. Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. *Nature.* 1995; 378: 789-792.
65. Zheng W., Xie D., Cerhan J.R., Sellers T.A., Wen W., Folsom A.R. Sulfotransferase 1A1 polymorphism, endogenous estrogen exposure, well-done intake, and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2001; 10: 89-94.
66. Ziv E., Shepherd J., Smith-Bindman R., Kerlikowske K. Mammographic breast density and family history of breast cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 2003; 95: 556-558.