

ЛЮБЧЕНКО ЛЮДМИЛА НИКОЛАЕВНА

**Наследственный рак молочной железы и/или яичников:
ДНК-диагностика, индивидуальный прогноз,
лечение и профилактика**

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

14.00.14. — онкология

03.00.15 — генетика

**Работа выполнена в Российском онкологическом научном центре
им. Н.Н.Блохина Российской Академии Медицинских Наук**

**Директор — академик РАН и РАМН,
профессор Михаил Иванович Давыдов**

Научные руководители:

доктор медицинских наук, проф. **Раиса Федоровна Гарькавцева**

доктор медицинских наук, проф. **Владимир Васильевич Брюзгин**

Официальные оппоненты:

Академик РАМН, профессор **Николай Павлович Бочков**

Член-корр. РАМН, проф. **Николай Евгеньевич Кушлинский**

Доктор медицинских наук, проф. **Одинцов Сергей Владимирович**

Ведущая организация: Кафедра генетики

Российской Медицинской Академии последипломного образования

Защита диссертации состоится «___» _____ 2009 года в ___ часов на заседании диссертационного (Д.001.017.02) Российского Онкологического Научного Центра им. Н.Н.Блохина Российской Академии Медицинских Наук по адресу: 115478 Москва, Каширское шоссе, 24.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН.

Автореферат разослан: «___» _____ 2009 г.

Ученый секретарь диссертационного Совета

доктор медицинских наук, профессор

Ю.А. Барсуков

АКТУАЛЬНОСТЬ РАБОТЫ

Ежегодно в мире регистрируется 10 млн. новых случаев рака и более 6,2 млн. смертей от заболеваний этой группы. От 5 до 40% злокачественных новообразований всех анатомических локализаций имеют наследственную этиологию, и этот процент возрастает в связи с ростом общей заболеваемости.

На сегодняшний день в литературе описано около 200 наследственных онкологических синдромов, для 70 из которых полностью расшифрованы первичные молекулярные дефекты или установлена хромосомная локализация мутантных генов, а ДНК-диагностика стала рутинным методом исследования в ходе верификации генетического диагноза.

К числу таких заболеваний относятся одно- и двухсторонний рак молочной железы и/или яичников (РМЖ/РЯ). Предметом исследования в этих случаях являются онкогены и гены-супрессоры злокачественной трансформации клеток *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *TP53*, *MLH1* *MSH2*, консервативные наследуемые дефекты в которых приводят к парадоксально высокому риску развития рака, достигающему нередко 60–95%.

Выделение генов, ответственных за наследственную предрасположенность к РМЖ/РЯ, создало принципиально новые возможности медико-генетического консультирования — ДНК-диагностика мутаций обеспечивает подтверждение генетического диагноза, расчет риска развития заболевания, возможность ранней диагностики, выбор тактики лечения и профилактики, а также решение проблем планирования семьи и деторождения.

Критериями постановки генетического диагноза наследственных форм рака являются:

- наличие в семье двух и более родственников I-II степени родства, страдающих злокачественными новообразованиями;
- ранний возраст манифестации заболевания;
- двухстороннее поражение парных органов;
- первичная множественность новообразований у пробанда или его родственников, специфические опухолевые синдромы.

Положительный результат формально-генетического анализа является показанием для проведения ДНК–диагностического исследования с целью выявления структурных и функциональных изменений генов, вовлеченных в наследственный канцерогенез.

Наследуемая молекулярная патология является объективным критерием формирования групп риска в отношении развития рака той или иной локализации для динамического наблюдения лиц указанной группы в условиях онкодиспансера.

Ранее выполненные немногочисленные работы по данной тематике включали небольшие выборки пациентов (40-100 человек) и не имели комплексного подхода.

В настоящем комплексном исследовании представлены обширные результаты по формированию специализированного ссемейного генетического регистра по нозологическим формам и наследственным онкологическим синдромам, изучению молекулярных основ предрасположенности к РМЖ/РЯ, применению клинико-молекулярной дифференциальной диагностики, определению фено- и генотипических корреляций и оценке возможности ранней доклинической и пренатальной диагностики.

Решение фундаментальных и научно-практических проблем онтогенетики на примере наследственного РМЖ/РЯ обосновывает необходимость и перспективность представленной работы.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработка тактики и стратегии проведения специализированного медико-генетического консультирования и изучение клинико-генетической гетерогенности наследственных форм РМЖ/РЯ на основе ДНК-диагностики наследственной предрасположенности в семьях с онкологически отягощенным анамнезом.

ЗАДАЧИ

1. Создать и расширять специализированный клинико-генетический регистр и систематизировать молекулярно-генетические «паспорта»

пациентов с онкологически отягощенным анамнезом.

2. Создать банк биологического материала (цельной крови, G-окрашенных метафазных хромосом, геномной и тканевой (опухолевой) ДНК/РНК) пациентов и их родственников.
3. Отработать и внедрить в практику ДНК-диагностические методы выявления структурных и функциональных перестроек генов предрасположенности к развитию РМЖ/РЯ.
4. Провести дифференциальную клиничко-молекулярную диагностику при наследственном РМЖ/РЯ.
5. Оценить эффективность применяемых методов ДНК-диагностики (конформационно-чувствительный электрофорез, гибридизация на биочипах).
6. Оценить спектр и частоту молекулярной патологии при наследственном и спорадическом РМЖ/РЯ.
7. Изучить клиничко-молекулярный патогенез наследственного РМЖ/РЯ.
8. Определить тактику и стратегию медико-генетического консультирования в онкологии на примере наследственного РМЖ/РЯ.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА

Впервые в России разработана тактика и стратегия МГК в онкологии с использованием высокотехнологичных диагностических методик на примере наследственного РМЖ/РЯ. Впервые:

1. Использована комбинация различных ДНК-диагностических методов для выявления герминальной молекулярной патологии для подтверждения генетического диагноза наследственных форм РМЖ/РЯ.
2. Проведена клиничко-молекулярная дифференциальная диагностика при наследственных онкологических синдромах с целью верификации генетического диагноза.
3. Выполнено популяционное исследование в структуре общей заболеваемости РМЖ и/или РЯ с использованием технологии оли-

гонуклеотидных биочипов (известные частые мутации генов *BRCA1/2* и *CHEK2*).

4. Представлена сравнительная оценка точности ДНК-диагностических методов.
5. Охарактеризованы спектры и частоты структурно-функциональных перестроек генов-супрессоров у пациентов с наследственным одно- и двухсторонним РМЖ, РМЖ, развившимся на фоне беременности, РМЖ у мужчин, РЯ.
6. Представлены сравнительные фено-генотипические характеристики наследственного и спорадического РМЖ/РЯ с учетом индивидуального *BRCA*- и *CHEK2*- генотипа.
7. Впервые определены фенотипы *BRCA*- и *CHEK2*-ассоциированных РМЖ/РЯ.
8. Описаны клинические и молекулярные характеристики редких наследственных синдромов, включающих РМЖ/РЯ.

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

При выполнении работы создан и расширен специализированный семейный генетический регистр РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН.

С использованием методологии и алгоритмов междисциплинарного сотрудничества онкологической, медико-генетической, молекулярно-биологической и акушерско-гинекологической служб созданы компьютерная база клинико-генетических и молекулярно-биологических данных и банк биологического генотипированного материала.

Для проведения дальнейших перспективных исследований создан банк клеточных линий типированных мезенхимальных и раковых стволовых клеток, полученных от пациентов, страдающих наследственным и спорадическим РМЖ.

На основании проведенного исследования продемонстрирована значимость и внедрено в клиническую практику комплексное клинико-генетическое обследование с применением ДНК-диагностики наследственной предрасположенности при одно- и двухстороннем РМЖ, РМЖ на фоне беремен-

ности и лактации, РМЖ у мужчин, РЯ (гены *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *TP53*, *MLH1* *MSH2*), результаты которой будут использованы для индивидуализации диагностики, лечения и профилактики с целью снижения заболеваемости и смертности.

По результатам выполненной работы сформирована самая большая на сегодняшний день в России и странах СНГ выборка генотипированных онкологических больных и группа пациентов-носителей мутаций *BRCA1/2*.

Впервые в России разработан алгоритм медико-генетического консультирования семей с онкологическиотягощенным анамнезом в условиях онкодиспансера на примере наследственного РМЖ/РЯ.

Впервые проведена пренатальная диагностика герминальных генетических дефектов, ответственных за возникновения наследственных форм рака. Принципиально новым профилактическим подходом явилась возможность применения методов преимплантационной диагностики.

ВНЕДРЕНИЕ В ПРАКТИКУ

Организационная модель медико-генетического консультирования в онкологии на примере наследственного РМЖ/РЯ с использованием высокотехнологичных диагностических методов внедрена и успешно используется в клинической практике различных подразделений РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН.

АПРОБАЦИЯ РАБОТЫ

Состоялась 29 мая 2009 года на совместной конференции лаборатории клинической онкогенетики, отделения амбулаторных методов диагностики и лечения (взрослая поликлиника), хирургических отделений опухолей женской ре-продуктивной системы, гинекологического, опухолей молочных желез, отделения радиохирургии НИИ КО РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, лаборатории скрининга канцерогенов и лаборатории регуляции клеточных и вирусных онкогенов НИИ канцерогенеза РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН.

Основные положения и результаты работы были представлены и обсуждены на российских и международных научно-практических конференциях и съез-

дах: VI–IX, XII Российских Онкологических Конгрессах (Москва, 2003–2005; 2008 гг.), III–V Съездах Онкологов и Радиологов стран СНГ (Минск, 2004; Баку, 2006, Ташкент 2008), V Съезде Российского общества медицинских генетиков (Уфа, 2005), Всероссийской научно-практической конференции «Молекулярные методы диагностики моногенных заболеваний: возможности и перспективы» (Москва 2006); Научно-практической конференции «Современные проблемы клинической генетики» (Москва, 2008); 4 Российской конференции по фундаментальной онкологии (Санкт-Петербург, 2008), Всероссийской конференции с международным участием «Молекулярная онкология» (Новосибирск, 2008); I–II Российских Интернациональных симпозиумах «Молекулярно-генетическая диагностика злокачественных опухолей человека», Москва 2005; 2009), European Human Genetics Conferences 2003-2009 (Бирмингем; Мюнхен; Прага; Амстердам; Сидней; Барселона; Вена), 14th General Meeting of the Breast Cancer Linkage Consortium (Мадрид, 2003); Familial Cancer Conference (Мадрид 2004; 2008); Milan Breast Cancer Conference (Милан, 2005); 30th Conference of American Society of Preventive Oncology (Bethesda, USA, 2006); 30th Annual Sun Antonio Breast Cancer Symposium «Breast Cancer Research and Treatment» (Sun Antonio, USA, 2007); 19th International Congress of Anti-Cancer Treatment (ICACT) (Paris, France, 2008); IMPAKT Breast Cancer Conference (Brussels, Belgium, 2009).

По теме диссертации опубликовано 98 печатных работ в российских и зарубежных журналах, из них 27 — в журналах, рекомендуемых ВАК МОН РФ, 5 оформлены как главы монографий, справочников и учебных пособий.

ОБЪЕМ И СТРУКТУРА ДИССЕРТАЦИИ

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания использованных в работе материала и методов, результатов собственных исследований и обсуждения полученных результатов, заключения, выводов и списка цитируемой литературы.

Диссертационная работа изложена на 295 страницах машинописного текста и включает таблиц, рисунков, родословных.

Список цитируемой литературы включает источника.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клинико-генетические данные объединили генеалогические, цитогенетические, молекулярно-биологические, патоморфологические и клинические характеристики 2 583 членов 1 678 семей. Среди 1 908 родственников из 570 семей больных (в последующем рассматриваемых как контрольные группы) случаев злокачественных заболеваний не было отмечено.

Сбор клинико-генеалогической информации о семье проводился путем перекрестного опроса пробанда и других членов семьи в процессе медико-генетического консультирования на базе отделения амбулаторных методов диагностики и лечения НИИ КО РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН (Москва). Родословная составлялась, исходя из данных о 3–4 поколениях, и включала сведения о сибсах, родителях, прародителях и детях.

Для проведения популяционного исследования были сформированы неотобранные выборки пациентов, страдающих РМЖ и/или РЯ, проходивших обследование и лечение в отделении амбулаторных методов диагностики и лечения (взрослая поликлиника), хирургических отделений диагностики опухолей, опухолей женской репродуктивной системы, гинекологического, опухолей молочных желез, отделения клинической фармакологии и химиотерапии, отделения химиотерапии, отделения химиотерапии и комбинированного лечения опухолей НИИ КО РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. У пациентов было получено информированное согласие об участии в исследованиях.

Параллельно была составлена компьютерная база клинико-генеалогических и генетических данных и создан банк биологического материала (цельная кровь, пластины G-окрашенных метафазных хромосом, ДНК/РНК, выделенные из крови и опухолевого материала, а также клеточных линий мезенхимальных и раковых стволовых клеток, полученных от пациентов, страдающих наследственным и спорадическим РМЖ).

Цитогенетический анализ на предмет выявления количественных и качественных хромосомных aberrаций проводили на G-окрашенных мета-

фазных пластинах лимфоцитов периферической крови, культивируемых по стандартной методики (врач-цитогенетик лаборатории клинической онтогенетики О.П. Кириченко).

Молекулярно-генетическая диагностика проводилась в лаборатории сложно наследуемых заболеваний Медико-генетического научного центра РАМН (проф. А.В. Карпухин, к.м.н. Н.И. Поспехова) и лаборатории биочипов Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН (к.м.н. Т.В. Наседкина, к.м.н. О.Е. Громыко).

Культивирование мезенхимальных и раковых стволовых клеток выполнено на базе лаборатории молекулярной генетики Медико-генетического научного центра РАМН (д.м.н. Н.Н. Вейко, к.м.н. А.В. Ермаков)

Определение структурных вариантов ДНК генов *BRCA1*, *BRCA2*, *1100delC*, *CHEK2*, *TP53*, *MLH1*, *MSH2* проводили с использованием электрофоретического метода и молекулярной диагностики с использованием олигонуклеотидных биочипов с последующим подтверждением наличия мутации и выявлением ее характеристик путем секвенирования.

Для электрофоретического определения фрагментов ДНК избран конформационно-чувствительный электрофорез (CSGE).

В процессе электрофореза проводили анализ гомо- и гетеродуплексных молекул ДНК (стандартный метод).

ДНК-диагностика стандартным методом включала:

- выделение ДНК из образцов крови пациентов,
- амплификацию экзонов изучаемого гена,
- электрофоретический анализ продуктов амплификации,
- секвенирование фрагментов ДНК, идентифицированных в качестве мутантных.

Метод аллель-специфичной гибридизации на РМЖ-биочипе был использован для анализа наиболее частых точковых мутаций генов *BRCA1* (185delAG, C61G, 4154delA, 5382insC), *BRCA2* (695delT, 6174delT), *CHEK2* (1100delC) в неотобраных выборках пациентов.

Фрагменты ДНК, анализируемые на биочипе, были амплифицированы с использованием двухэтапной мультиплексной ПЦР с флюоресцентно меченными праймерами.

Секвенирование ДНК проводили в межинститутском центре коллективного пользования «Геном» при ИМБ РАН с помощью набора реактивов BigDye Terminator Version 3.1 с последующим анализом продуктов реакции на автоматическом секвенаторе ABI PRISM 3100-Avant, USA.

Дополнительным методом служила молекулярная диагностика с применением ПЦР в реальном времени.

Следующим этапом работы был ретроспективный анализ стационарных историй болезни и амбулаторных карт пациентов, включенных в исследование.

Подбор и пересмотр гистологических препаратов проведен в отделе патоморфологии РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН (проф. М.А. Шабанов, в.н.с. О.А. Анурова).

Статистическая обработка результатов многофакторного анализа осуществлялась на ПК с помощью комплекса программ медико-биологической статистики "АСТА", разработанного в лаборатории медицинской кибернетики РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН.

Для оценки выживаемости использовался интервальный метод построения таблиц дожития, рекомендованный УИСС. Выживаемость больных высчитывалась на 1.03.2009. Для сравнения таблиц выживаемости использованы тесты Wilcoxon (Breslouw) и Mantel-Cox. Достоверность выявленных различий рассчитывалась по критерию Стьюдента. Достоверными считались различия с вероятностью не менее 95%, т.е. $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В 1997-2008 г. нами активно проводился скрининг пациентов, страдающих одно- и двухсторонним раком молочной железы (РМЖ), РМЖ на фоне беременности и лактации, мужским РМЖ, раком яичников (РЯ), раком желудка (РЖ), раком толстой кишки (РТК), раком легкого (РЛ), медуллярным раком щитовидной железы (МРЩЖ), феохромоцитомой надпочечника, ра-

ком почки, герминогенными опухолями яичка и яичников, пациентов с первично-множественными злокачественными новообразованиями (ПМЗО) и др., лечившихся и наблюдающихся в Российском Онкологическом Научном Центре им. Н.Н. Блохина РАМН, с целью выявления наследственных форм рака и верификации генетического диагноза.

Критериями отбора пациентов в клинико-генетический регистр служили унифицированные критерии идентификации наследственных форм злокачественных новообразований, предложенные Н. Lynch [69]:

- ранний возраст манифестации болезни (до 45 лет);
- наличие в семье 1 и более родственника I-II степени родства с диагнозом «злокачественная опухоль»;
- случаи РМЖ у мужчин;
- двухстороннее поражение парных органов;
- наличие в семье ПМЗН и специфических опухолевых ассоциаций, составляющих синдромальную патологию.

В результате работы создан и расширен специализированный семейный клинико-генетический регистр РОНЦ им.Н.Н. Блохина РАМН (рис. 1).

Образцы биологического материала являются основным источником получения молекулярных данных в процессе научно-практических исследованиях, в связи с чем был создан банк биологического материала (цельная кровь, сыворотка крови, лимфоциты периферической крови, пластины G-окрашенных метафазных хромосом, ДНК/РНК, выделенные из крови и опухолевого материала, клеточные линии мезенхимальных и раковых стволовых клеток).

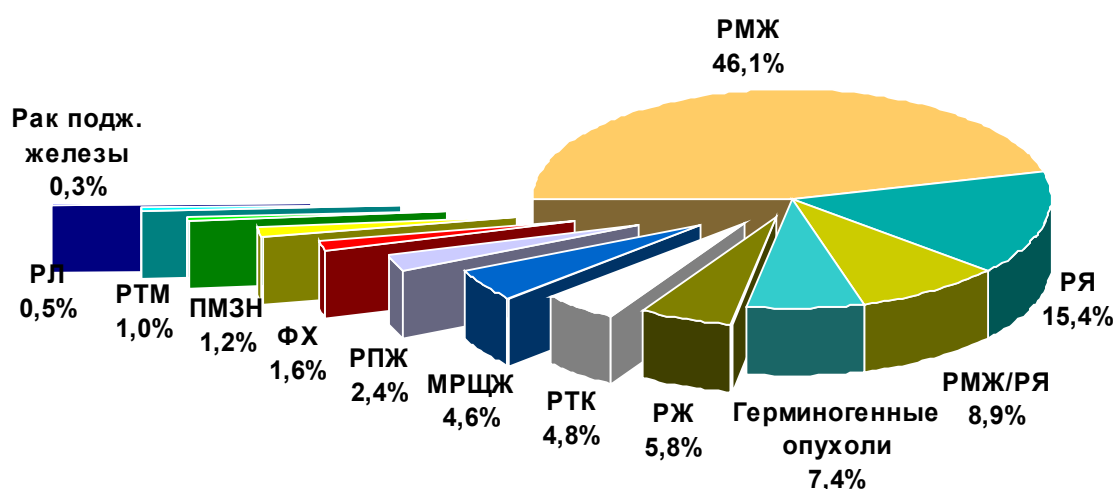


Рис. 1. Клинико-генетические данные о 2 583 членах 1 678 семей

Наследственный рак молочной железы

На первом этапе медико-генетического консультирования и проведения формально-генетического анализа у пациентов, страдающих РМЖ, оценивалась вероятность наследственной этиологии заболевания. В результате пациенты были распределены по группам (рис. 2):

- семейный органоспецифичный РМЖ — 687 больных;
- спорадический РМЖ — 214 больных;
- двухсторонний РМЖ — 107 человек;
 - РМЖ, диагностированный на фоне беременности — 80 человек;
 - синдром сочетанного РМЖ и/или РЯ — 56 пациенток;
 - ПМЗН — 11 человек, 1 опухоль из которых РМЖ;
 - РМЖ у мужчин — 8 человек;
 - злокачественные листовидные опухоли — 9 больных.

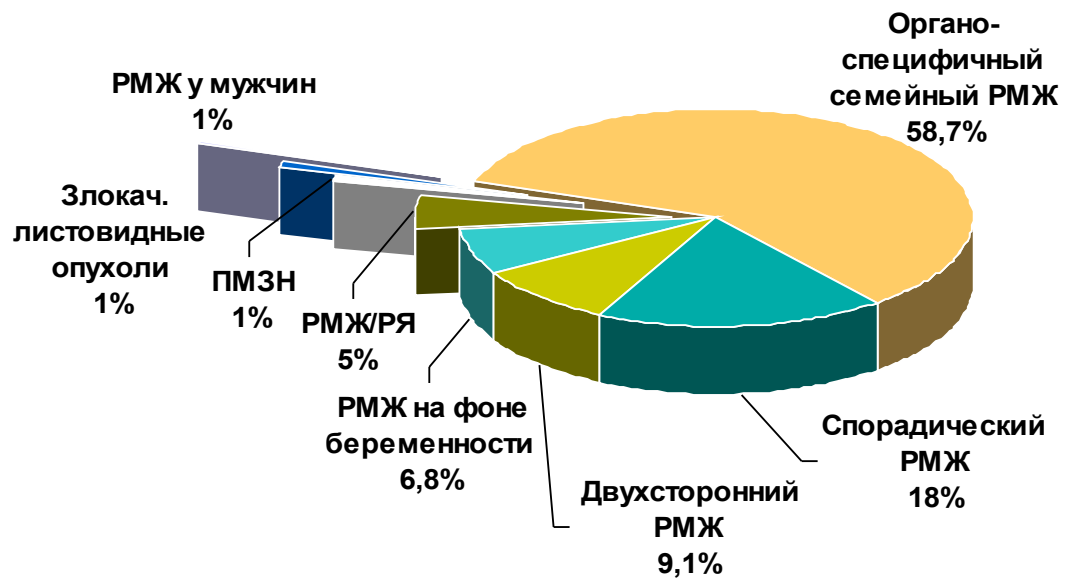


Рис. 2. Распределение больных наследственным и спорадическим РМЖ по группам

Для подтверждения генетического диагноза и наследственной этиологии РМЖ была выполнена ДНК–диагностика с применением следующих молекулярных методов: (табл. 1).

В настоящем исследовании при скринировании гена *BRCA1* стандартным методом из 687 пробандов — больных РМЖ, 177 пациентов (25,8%) имели значимые «делеторные» мутации *BRCA1*, в 78,5% случаев (139/177) выявлена мутация 5382insC в 20 экзоне.

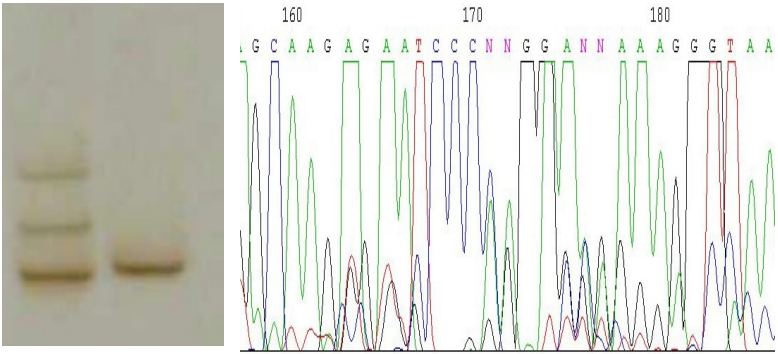
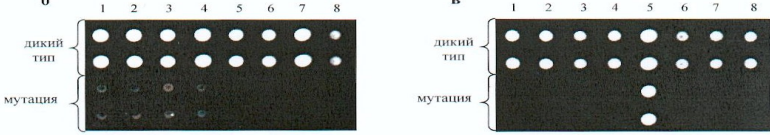
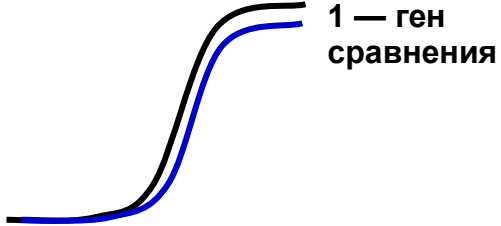
Среди больных НРМЖ впервые выявлены мутации 2297delT, 3448insA, 3366delA гена *BRCA1*, не зарегистрированные в других популяциях (рис. 3).

Кроме описанных мутантных вариантов с известной функциональной значимостью в процессе проведения ДНК-тестирования методом CSGE при НРМЖ выявлен наследуемый гаплотип полиморфных вариантов во 2; 8; 9; 11; 13; 15; 16 и 20 экзонах *BRCA1* у 37, 5% пациентов (258 из 687). Сочетание мутации и полиморфных вариантов обнаружено у 2% пациентов (14 из 687). Однонуклеотидные ПВ выявлены у 34 человек (5%). *BRCA1* «дикого» типа подтвержден у 25% пациентов (171 человек). Частота встречаемости наследуемого гаплотипа полиморфных вариантов во 2; 8; 9; 11; 13; 15; 16 и 20 эк-

зонах *BRCA1* и идентичного гаплотипа в контрольной группе пациентов составила 35% и 37% соответственно.

Таблица 1

ДНК-диагностика генов *BRCA*, *1100delC CHEK2*, *TP53*, *MLH1*, *MSH2* у больных РМЖ

Метод	Рабочие моменты	Число протестированных человек																																											
ПЦР+ CSGE + секвенирование (<i>BRCA</i> 1/2, <i>1100delC CHEK2</i> , <i>TP53</i> , <i>MLH1</i> , <i>MSH2</i>)		687																																											
ПЦР+олигонуклеотидный РМЖ-биочип (частые мутации <i>BRCA</i> 1/2, <i>1100delC CHEK2</i>)	<p>а</p> <table border="1" data-bbox="499 1099 1273 1234"> <thead> <tr> <th></th> <th>1</th> <th>2</th> <th>3</th> <th>4</th> <th>5</th> <th>6</th> <th>7</th> <th>8</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="2">дикий тип</td> <td>185AG</td> <td>300T</td> <td>4153A</td> <td>4158A</td> <td>5382C</td> <td>695A</td> <td>6174T</td> <td>1100C</td> </tr> <tr> <td>185AG</td> <td>300T</td> <td>4153A</td> <td>4158A</td> <td>5382C</td> <td>695A</td> <td>6174T</td> <td>1100C</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">мутация</td> <td>185delAG</td> <td>300G</td> <td>4153delA</td> <td>4158G</td> <td>5382delC</td> <td>695insT</td> <td>6174delT</td> <td>1100delC</td> </tr> <tr> <td>185delAG</td> <td>300G</td> <td>4153delA</td> <td>4158G</td> <td>5382delC</td> <td>695insT</td> <td>6174delT</td> <td>1100delC</td> </tr> </tbody> </table> <p>б</p> 		1	2	3	4	5	6	7	8	дикий тип	185AG	300T	4153A	4158A	5382C	695A	6174T	1100C	185AG	300T	4153A	4158A	5382C	695A	6174T	1100C	мутация	185delAG	300G	4153delA	4158G	5382delC	695insT	6174delT	1100delC	185delAG	300G	4153delA	4158G	5382delC	695insT	6174delT	1100delC	410
	1	2	3	4	5	6	7	8																																					
дикий тип	185AG	300T	4153A	4158A	5382C	695A	6174T	1100C																																					
	185AG	300T	4153A	4158A	5382C	695A	6174T	1100C																																					
мутация	185delAG	300G	4153delA	4158G	5382delC	695insT	6174delT	1100delC																																					
	185delAG	300G	4153delA	4158G	5382delC	695insT	6174delT	1100delC																																					
ПЦР в реальном времени (<i>BRCA1</i>)		3																																											

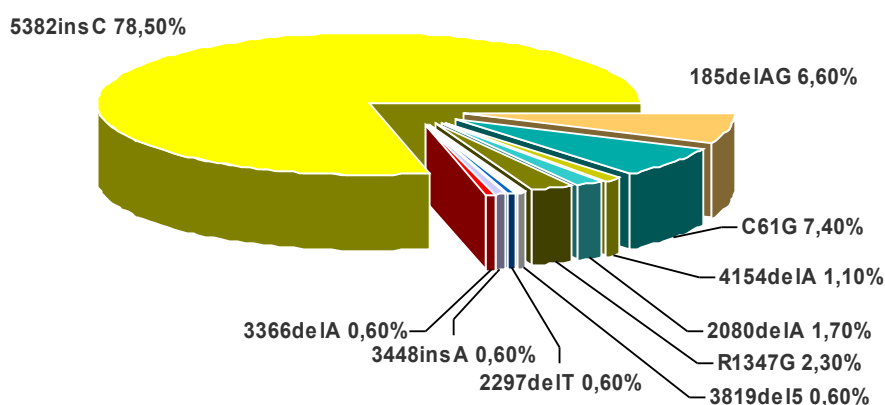
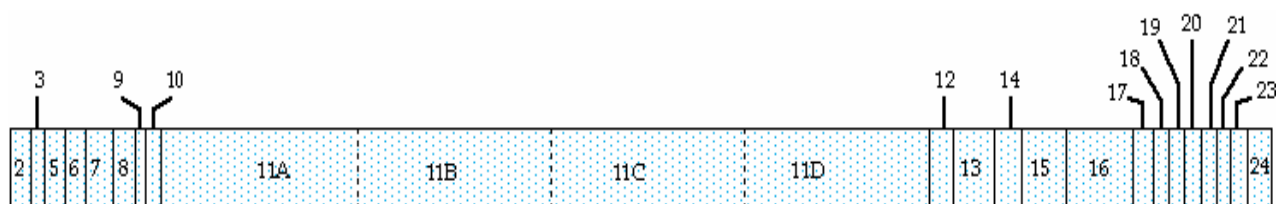


Рис. 3. Спектр и частота мутаций *BRCA1*

При проведении стандартного скрининга гена *BRCA2* выявлено 9 различных мутаций у 12 пациенток, которые были распределены по всей кодирующей части гена *BRCA2* (2,2%). Оказалось, что «горячих точек» — мутаций, встречающихся с высокой частотой — в российской популяции нет, что подтверждает данные международных исследований.

Среди 9 различных мутаций *BRCA2*:

- 3 делеции — 2001delTTAT, 3295insT, 6174delT;
- 2 нонсенс-мутации: Q472X, Q2894X;
- 4 миссенс-варианта: E394A, L3101P, I1808M, I3169V.

Мутации 4816 insG, 3295insT и Q2894X ранее не были представлены в базе данных ВИС и являются новыми, миссенс-мутации L3101P, I1808M,

I3169V также не были описаны ранее, что подтверждает молекулярную гетерогенность гена *BRCA2* и разнородность российской популяции.

В плане определения наследственной предрасположенности рекомендован скрининг всей кодирующей части *BRCA2*.

Кроме того, полиморфные варианты, рассматриваемые как низкопенетрантные аллели, ассоциированные с незначительным (до 10-15%) повышением риском развития РМЖ и/или РЯ, обнаружены во 2; 3; 10; 11; 14 экзонах.. С наибольшей частотой — в 21% случаев — диагностировали известный частый ПВ в 10 экзоне N372H; в 15% — хорошо изученный частый ПВ 203G/A; в 11% — редкий вариант 7470A/G. Наследуемый гапотип из трех ПВ в 10 экзоне N289H +1593A/G+N991D выявлен у 5% больных НРМЖ. Интронные варианты (8; 11; 16; и 21 интрон) диагностировали в нашей выборке с частотой 0,8–42%. Наиболее частым вариантом была делеция 4 нуклеотидов в 11 интроне — IVS11+80del 4 — 42%; редким — замена в 25 интроне IVS24-16T/C — 0,8%.

В неотобранной в соответствии с семейным анамнезом выборке (410 больных РМЖ), протестированной на РМЖ-биочипе, частота 4 исследуемых мутаций *BRCA1* (популяционная) составила 5,1% (21 из 410), что согласуется с литературными данными и отражает низкую популяционную частоту мутаций генов *BRCA1*.

Мутации *BRCA2* — 695 insC и 6174delT — выявлены у двух пациенток, страдающих РМЖ из неотобранной выборки, что составило 0,5%. Эти данные не противоречат популяционным частотам мутаций гена *BRCA2* в европейских странах.

На сегодняшний день это самая большая выборка в России и странах СНГ как генотипированных пациентов, страдающих РМЖ, так и группа носителей мутаций генов *BRCA1/2*.

С учетом полученных результатов по скринингу мутаций гена *BRCA1* применяя различные методы ДНК-диагностики мы подтвердили, что с наибольшей частотой НРМЖ в российской популяции ассоциирован с мутацией 5382insC 20экзона гена *BRCA1*.

Статистически значимой оказалась более высокая частота всех (за исключением мутации 4154del, которая больше характерна для *BRCA1*-ассоциированного НРЯ) сравниваемых частых мутаций гена *BRCA1* в группе НРМЖ, отобранного в соответствии с онкологически отягощенным анамнезом при формально-генетическом анализе по сравнению с частотами мутаций в неотобранной выборке пациентов РМЖ (популяционными), что демонстрирует необходимость проведения предварительного МГК с обоснованием целесообразности проведения ДНК-тестирования (табл. 2).

Таблица 2

Сравнительная частота мутаций генов *BRCA1/2*
в неотобранной выборке больных РМЖ (РМЖ-биочип)
и в преднамеренной выборке НРМЖ (CSGE)

Ген	Экзон	Мутация	Носители мутаций в неотобранной выборке (n=410)	НРМЖ (n=687)
<i>BRCA1</i>	2	185delAG	2(0,5%)	12 (1,7%)*
<i>BRCA1</i>	5	C61G	3(0,73%)	13 (1,9%)*
<i>BRCA1</i>	11	4154delA	3(0,73%)	2 (0,3%)
<i>BRCA1</i>	20	5382insC	16(3,9%)	139 (20,2%)*
<i>BRCA2</i>	5	695insT	1(0,24%)	—
<i>BRCA2</i>	11	6174delT Founder-mutation	1 (0,24%)	2 (0,23%)

* — статистически достоверно

Фенотип *BRCA*-ассоциированного и спорадического РМЖ

Для проведения многофакторного сравнительного гено-фенотипического анализа прогностически значимых признаков были сформированы группы пациентов с учетом индивидуального генотипа:

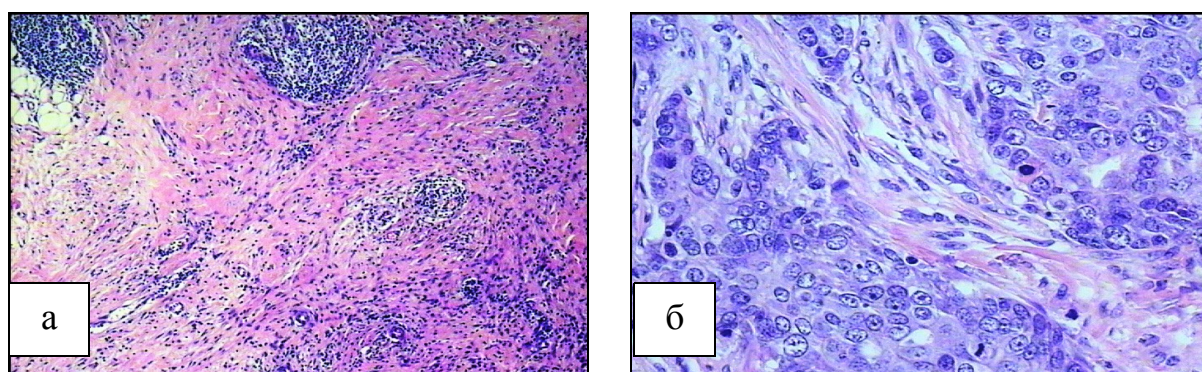
- больные, страдающие НРМЖ, обусловленным мутациями гена *BRCA1* (*mtBRCA1* — 198 человек);
- больные НРМЖ — носители мутаций гена *BRCA2* (*mtBRCA2* — 16 человек);
- контрольная группа состояла из 270 больных РМЖ, в семьях которых не было отмечено случаев онкологических заболеваний, а при выполнении

молекулярно-генетического исследования было подтверждено, что структура генов *BRCA1/2* не изменена (*wtBRCA*-генотип).

Риск возникновения РМЖ, обусловленного герминальными мутациями гена *BRCA1/2*, максимален в более молодом возрасте — 36 лет и 44 года соответственно. Сохранная менструальная функция на момент возникновения заболевания преобладала у женщин во всех изучаемых группах, однако, в менопаузе находилось большее число женщин из онкологическиотягощенных семей, наследовавших мутации гена *BRCA2* — 33,3%, по сравнению с группой пациенток-носителей мутаций *BRCA1* — 14,3% и контрольной группой — 28,0%.

Изучение прогностически значимых признаков определило фенотип *mtBRCA* НРМЖ:

- молодой возраст (36 *BRCA1* и 44 *BRCA2*);
- преобладание ИПП (87% *BRCA1*);
- медуллярный рак (7% *BRCA1*);
- тубуло-дольковая подгруппа (47,9% *BRCA2*);
- высокая степень злокачественности (61,1% *BRCA1* и 37,5% *BRCA2*);
- отрицательный PЭ-, PП-, HER2/neu- статус (80,3% *BRCA1*);
- выраженный лечебный патоморфоз опухоли (*BRCA1/2*) (рис. 5).



mtBRCA НРМЖ (n=36)

wtBRCA СРМЖ (n=41)

Рис. 5. Лечебный патоморфоз при наследственном (а) и спорадическом (б) РМЖ

Органосохраняющее лечение с последующей лучевой терапией

По нашим данным у пациентов, страдающих НРМЖ-ассоцииро-

ванными опухолями с *mtBRCA*-генотипом, достоверно чаще — в 30% случаев, и в более короткие сроки — в среднем через 3,4 года — возникали ипсилатеральные опухоли в оперированной молочной железе по сравнению с частотой рецидивных и первичных опухолей после радикальной резекции с последующим курсом лучевой терапии у пациентов СРМЖ с *wtBRCA* статусом (10%, $p < 0,05$). Учитывая данные зарубежных работ и статистически значимые результаты данного исследования, *mtBRCA*-генотип может быть использован в качестве предиктивного молекулярного маркера при выборе тактики хирургического лечения.

10-летняя выживаемость статистически достоверно лучше в группах больных НРМЖ с *mtBRCA*-статусом по сравнению с таковыми у пациентов *wtBRCA* СРМЖ — 65; 88 и 49% соответственно (рис. 6).

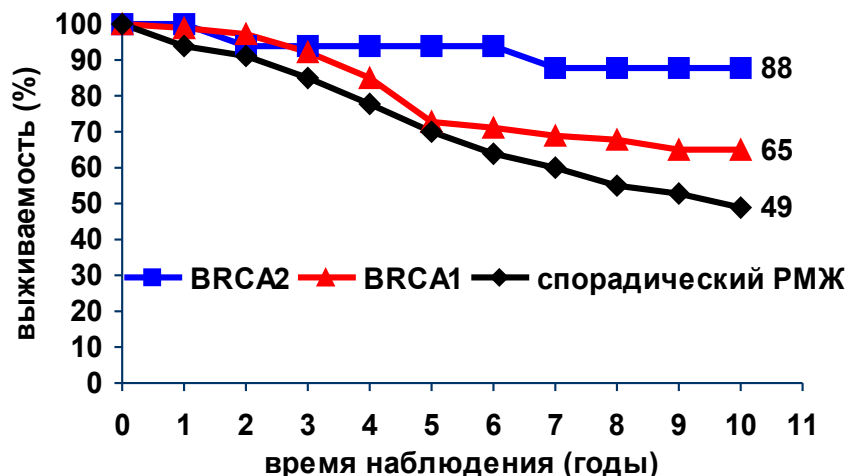


Рис. 6. Общая выживаемость при наследственном и спорадическом РМЖ

Двухсторонний рак молочной железы (ДРМЖ):

молекулярно-генетические и клинические характеристики

В исследование были включены 83 больных с диагнозом ДРМЖ, проходивших лечение в РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН в период 2000-2008 гг. Всем пациенткам выполнена ДНК-диагностика генов *BRCA1/2*, *CHEK2* *1100delC* и *TP53* по стандартной методике. В этой группе больных выявлено 32 (38,6%) носительницы герминальных мутаций, при этом 84,3% (27/32) пациенток имели мутацию в гене *BRCA1*; 12,5% — 4 больных в гене *BRCA2* и 3,1% — в гене *TP53* (1 больная). Мутации *1100delC* в гене *CHEK2* у

данных больных не обнаружено (рис. 7). Мутации гена *BRCA1* 3411delCT, 3448insA и 3747insA ранее в России не описаны. Все мутации гена *BRCA2* являются уникальными.

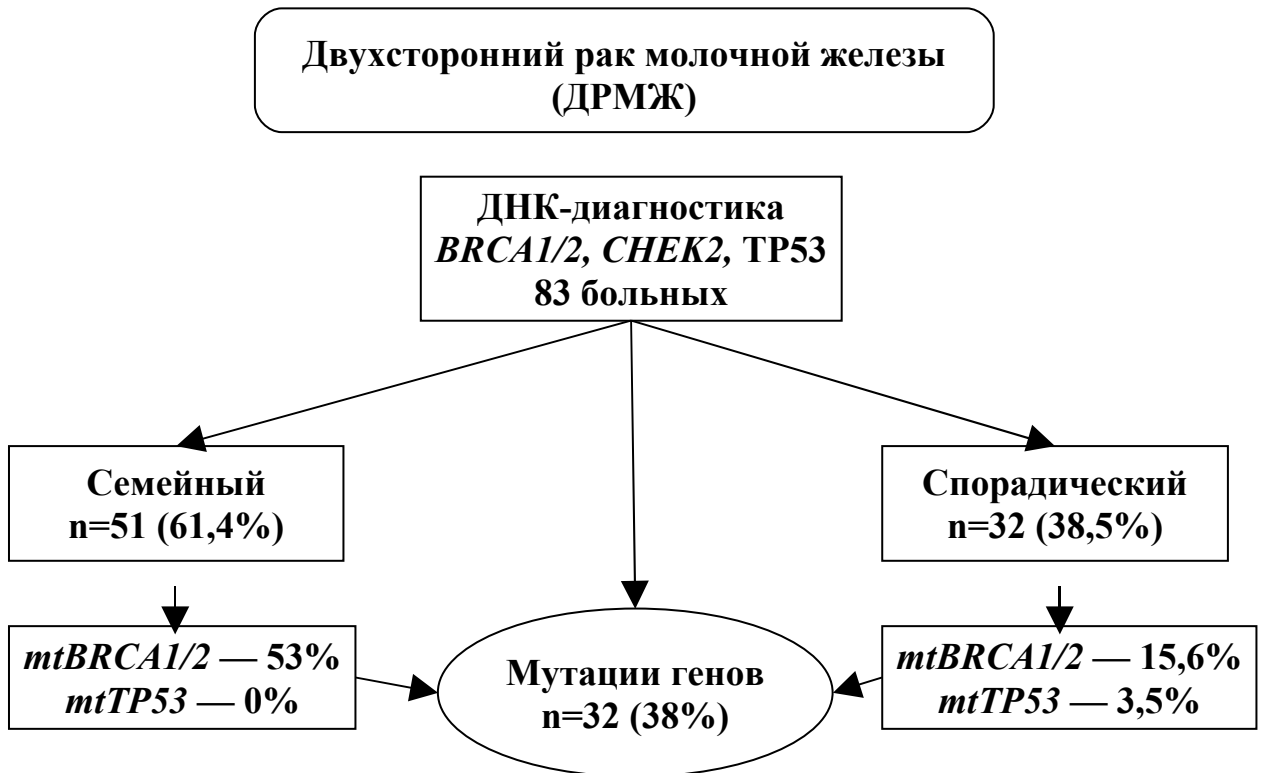


Рис. 7. Дизайн клинико-генетического исследования ДРМЖ

Классическим примером наследственного ДРМЖ может служить клинический случай семьи С. (рис. 8).

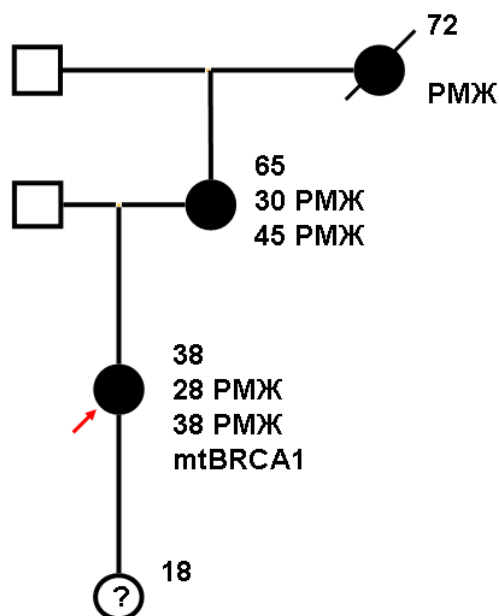


Рис. 8. Родословная семьи С.

Пробанд-пациентка РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН С. лечившаяся и в настоящее время наблюдающаяся по поводу метахронного ДРМЖ. Случаи двухстороннего РМЖ отмечены в двух поколениях семьи. Матери пациентки проведено комбинированное лечение по поводу рака правой молочной железы, диагностированном в возрасте 30 лет и хирургическое лечение по поводу рака левой молочной железы спустя 15 лет. Четко представлен симптом антиципации — более ранний возраст возникновения и агрессивное течение в последующем поколении.

Показано статистически достоверное повышение частоты мутаций среди пациенток с ДРМЖ при семейном накоплении только РМЖ. Возможно, это отражает усиление пенетрантности мутаций в семьях, что приводит к двухстороннему поражению молочных желез. Подобная вариабельность риска заболевания связана и с наследованием дополнительных факторов, модифицирующих риск именно РМЖ.

Средний временной интервал между первичным и контралатеральным РМЖ составил 8,3 года (диапазон 1-34) для больных-носителей мутаций *BRCA*, и был несколько больше для пациентов с *wtBRCA*-статусом — 10,6 лет. В 43,8% случаев у носителей *mtBRCA* был диагностирован синхронный ДРМЖ.

Молодые пациентки, возраст которых на момент постановки первого диагноза РМЖ не превышал 41 года, составили 42% (35/83) всех больных. Среди них выявлено 20 (57%) носительниц герминальных мутаций, что значительно превышает частоту мутаций среди пациенток старше 41 года — 25% (12/48) ($p=0,0057$). Аналогично, доля «молодых» среди всех пациенток с мутацией, достоверно выше, чем среди пациенток без мутаций 62.5% и 29% соответственно ($p=0,0057$). Учитывая клинико-молекулярные данные, молодой возраст манифестации болезни является достоверным критерием наследственной предрасположенности (табл. 3).

Гистологические и иммуногистохимические характеристики в разном объёме были получены для 93 опухолей (табл. 4).

Распределение обследованных пациенток по возрасту первого рака

Возраст	Все больные N=83	Больные с мутацией N=32	Больные без мутации N=51
Моложе 41 года	35 (42%)	20 (62,5%)	15 (29%)*, p=0,0057
41-50 лет	39 (47%)	10 (31%)	29 (57%)* p=0,026
51 год и старше	9 (11%)	2 (6%)	7 (14%)
* — статистически достоверно			

Статистически значимым признаком оказалась более высокая частота ИПР у пациенток НДРМЖ с *mtBRCA*-статусом — 80% по сравнению с 47% в группе СДРМЖ обусловленным *wtBRCA* ($p=0,0014$). Отсутствие рецепторов стероидных гормонов также достоверно чаще регистрировалось в опухолях пациенток с *mtBRCA*-генотипом — 81% и 77% по сравнению с частотой этого показателя в группе пациенток ДРМЖ с *wtBRCA* — 44% и 54% соответственно ($p=0,094$).

Отрицательный HER2-статус статистически достоверно чаще был характерен для НДРМЖ с *mtBRCA*-генотипом ($p=0,091$). Мультицентричность, как частый сопутствующий признак ИДР, закономерно и статистически достоверно реже отмечалась в группе НДРМЖ, обусловленного *mtBRCA* 3% и 24% соответственно ($p=0,0063$).

Полный лечебный патоморфоз после проведения на I этапе предоперационного лечения какого также достоверно чаще отмечали в группе НДРМЖ с *mtBRCA*-генотипом — 97% и 12% соответственно ($p=0,007$) (табл. 4).

Конкордантность по гистологическому типу, рецепторному статусу и степень лечебного патоморфоза между 1-ой и 2-ой опухолями была выше в группе пациенток с *mtBRCA*-генотипом, чем у остальных больных, что может говорить в пользу единой клональности НДРМЖ.

Гистологические и иммуногистохимические характеристики опухолей
пациентов ДРМЖ в зависимости от *BRCA*-генотипа

Признак	Группа с мутацией	Группа без мутации
Гистологический тип опухоли:		
ИП	80%	47%*, p=0,0014
ИД	5%	26%
медуллярный	7,5%	2%
другие	7,5%	25%
Конкордантность по гистологии	67%	43%
РЭ ⁻	81%	44%*, p=0,004
РЭ ⁺	19%	56%
Конкордантность по РЭ	82%	70%
РП ⁻	77%	54%*, p=0,094
РП ⁺	23%	46%
Конкордантность по РП	80%	86%
HER2 ⁺	22%	51.5%
HER2 ⁻	78%	48.2%, p=0,091
Конкордантность по HER2	82%	67%
Мультицентричность	3%	24% *, p=0,0063
Степень лечебного патоморфоза		
полный	97%	12% p=0.007
частичный	3%	88%
Конкордантность	92%	69%
* — статистически достоверно		

Клинико-молекулярная дифференциальная диагностика

С целью дифференциальной ДНК-диагностики при наследственном ДРМЖ рекомендован молекулярный скрининг гена *TP53*.

Пример накопления *TP53*-ассоциированного ДРМЖ в трех поколениях семьи Ф. (мать и дочь лечатся и наблюдаются в РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН) подтверждает высокую экспрессивность мутантного *TP53*-генотипа и обосновывает необходимость тестирования в группах риска (рис. 9).

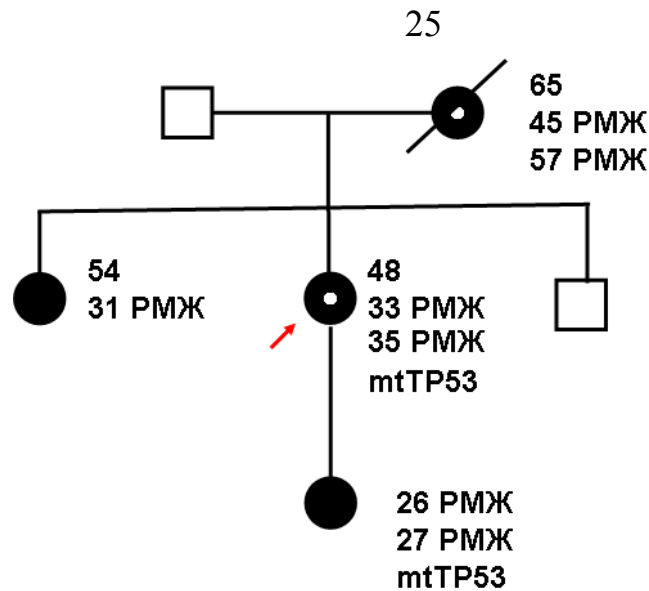


Рис. 9. Родословная семьи Ф. *TP53* наследственный двухсторонний РМЖ

Рак молочной железы на фоне беременности

По аналогии с наследственным РМЖ изучен вклад молекулярно-генетических факторов в развитие и патогенез РМЖ на фоне беременности у 80 пациенток из семейного регистра РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН и у 75 больных РМЖ молодого возраста (до 36 лет) (рис. 10). Время наблюдения составило от 3-х до 360 месяцев. Одна пациентка наблюдалась с 1973 года.

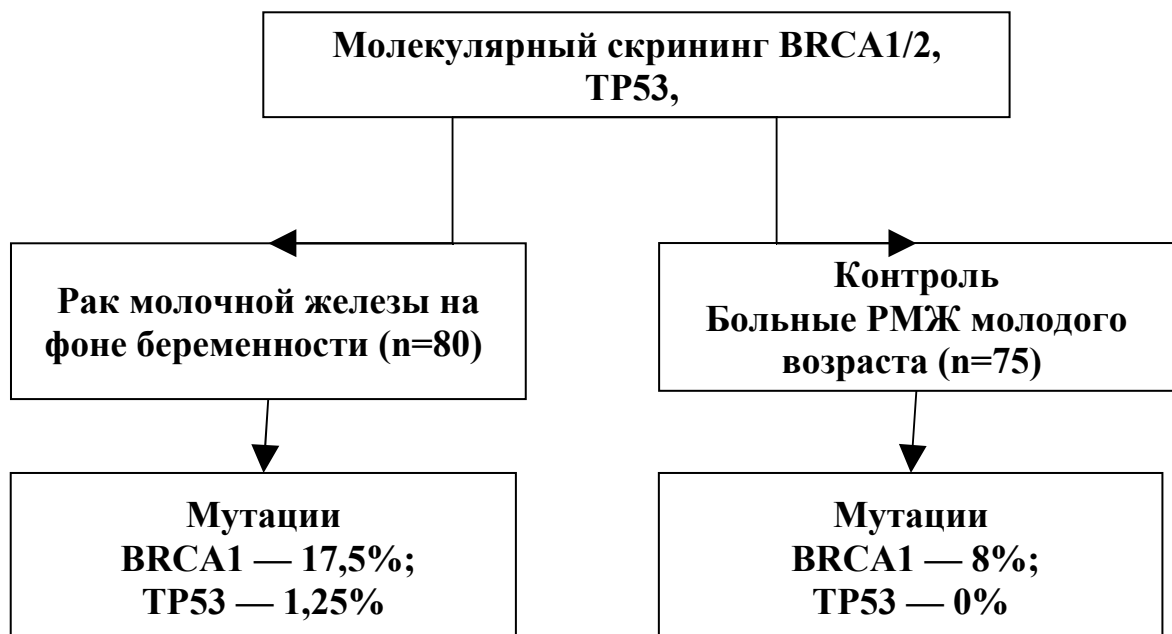


Рис. 10. Дизайн клинико-генетического исследования РМЖ на фоне беременности

В группах проводили ДНК-диагностику частых *BRCA*-вариантов и

скрининг кодирующей части гена *TP53*. Герминальные функционально-значимые мутации гена *BRCA1* выявлены у 14 из 80 (17.5%) больных РМЖАБ, тогда как в контрольной группе «молодого» спорадического РМЖ (n=75) наследуемые мутации обнаружены в 8% случаев (6/75), разница статистически достоверна. В 78.5% случаев (11/14) беременные больные РМЖ-носителей мутаций гена *BRCA1* имели онкологически отягощенный анамнез, что подтверждает вклад наследственной предрасположенности в развитие РМЖ на фоне беременности, а беременность (гормональные изменения), в свою очередь, возможно запускает процессы наследственного канцерогенеза. Пациентки репродуктивного возраста — носители *BRCA*-мутаций должны наблюдаться в условиях онкодиспансера на всем протяжении беременности.

На рис. 11 представлена классическая родословная семьи пациентки, страдающей наследственным *BRCA1*-ассоциированным РМЖ, диагностированным на 30-й неделе беременности.

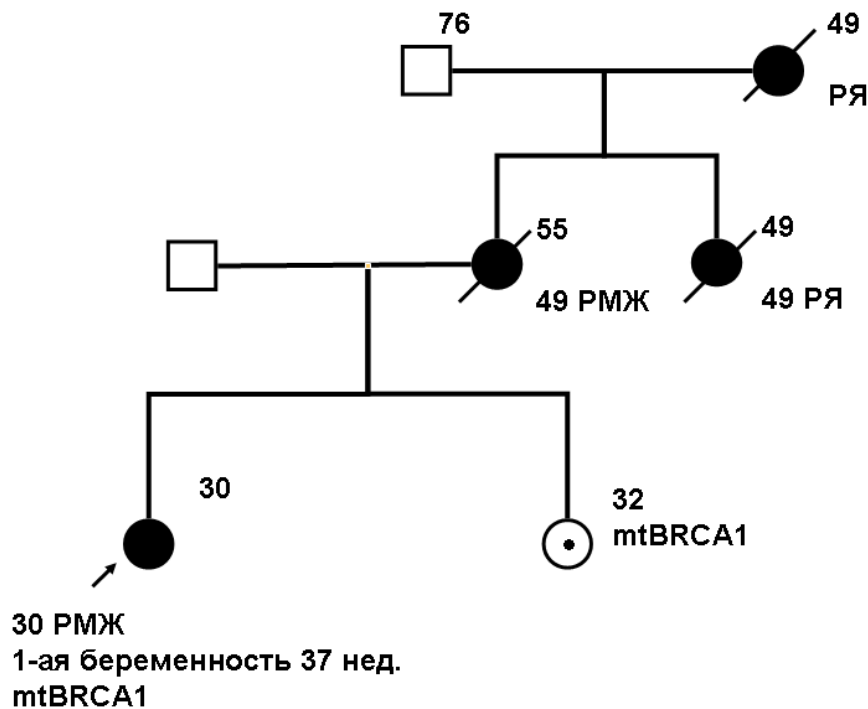


Рис. 11. Родословная семьи Ё.

В анализируемой группе больных РМЖ на фоне беременности, с *mtBRCA1*-генотипом 92% (13/14) составила мутация 5382insC в 20 экзоне гена *BRCA1*; 8% (1 из 14) — С61G в 5 экзоне *BRCA1*. Другие делеторные мутации гена *BRCA1* в данной выборке не встретились.

Вторые первичные опухоли женской репродуктивной системы диагностированы в последующем у 8 из 9 (89%) пациенток наследовавших *BRCA1*-мутации. В одном случае у носительницы мутации гена *BRCA1* спустя 23 года после РМЖ на фоне беременности контрлатеральный РМЖ выявлен синхронно с раком поджелудочной железы. Рак яичников диагностирован у 3 из 80 пациенток (3,8%), 2 случая из которых (67%) ассоциировано с мутацией *BRCA1*. У одной больной развился РМЖ и РЯ на фоне беременности, наступившей в процессе ЭКО, подтвердив, что полинеоплазии являются достоверным критерием наследственной этиологии РМЖ, а гормональная стимуляция гестации — фактор риска для женщин с онкологически отягощенным анамнезом.

Фенотип *mtBRCA1* РМЖ на фоне беременности не отличается от такового при *BRCA1*-ассоциированном РМЖ, не связанном с беременностью и представлен:

- молодым возрастом заболевания $31,7 \pm 2,9\%$ лет;
- ИПР (64,2%);
- III степень злокачественности опухоли — 85,7%;
- отрицательным рецепторным статусом: PE — 71,4%, HER2 0 — 66,7%;
- полным лечебным патоморфозом после проведенного неoadьювантного лечения — 100%;
- лучшими показателями общей выживаемости (5-летняя — $90,8 \pm 10,4$) (рис. 12).



Рис. 12. Общая выживаемость больных РМЖ на фоне беременности.

1 — нет мутаций; 2 — *BRCA2*; 3 — *BRCA1*

Дифференциальная клиничко-молекулярная диагностика НРМЖ на фоне беременности

Наш опыт продемонстрировал актуальность молекулярной *TP53*-дифференциальной диагностики у больных РМЖ на фоне беременности:

У пациентки К. 26 лет диагностирован РМЖ на сроке 23 недель первой по счету беременности в РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН.

*Мать пациентки погибла в возрасте 27 лет от прогрессирования РМЖ, развившегося также на фоне беременности в 26 лет. Для подтверждения генетического диагноза наследственного РМЖ была выполнена ДНК диагностика генов, задействованных в наследственном канцерогенезе РМЖ — *BRCA1/2*, *CHEK2* и *TP53*. При скрининге кодирующей части исследованных генов мутаций генов *BRCA1/2* и *CHEK2* не выявлено. В гене *TP53* в 8 экзоне обнаружена значимая герминальная нонсенс-мутация *R308X*, скорее всего унаследованная от матери. Учитывая данные молекулярно-генетического исследования заключительный генетический диагноз — наследственный *TP53*-ассоциированный РМЖ на фоне беременности. Риск наследования генного *TP53*-дефекта у новорожденной девочки составляет 50%*

(рис. 13).

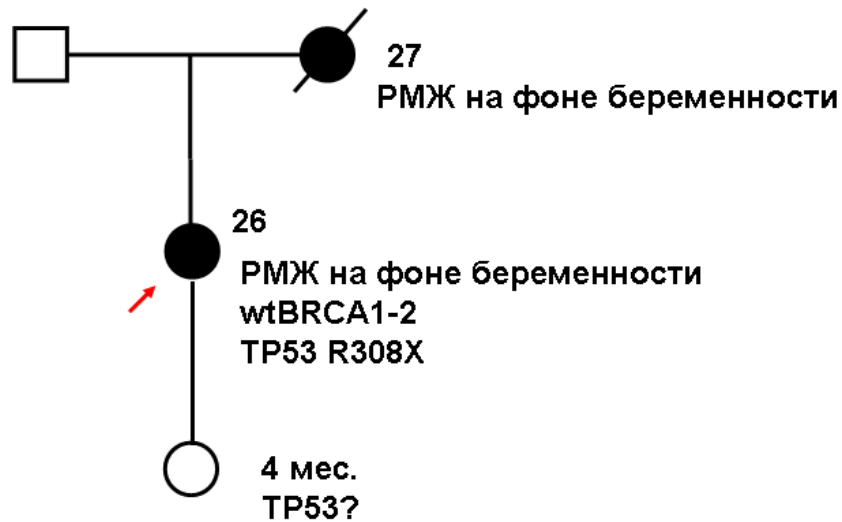


Рис. 13. Родословная больной К.

Редкие наследственные синдромы, включающие РМЖ

К редким наследственным синдромам на фоне которых развивается РМЖ относятся синдромы Ли-Фраумени и Ли-Фраумени-подобный (СЛФ и ЛФП). Предварительный генетический диагноз позволяет избежать ложно-отрицательных результатов при ДНК-диагностике.

При скрининге кодирующей части гена *TP53* (10 экзонов) у 22 пациенток молодого возраста (до 30 лет) с онкологически отягощенным анамнезом, страдающих РМЖ, инактивирующие герминальные мутации *TP53* были выявлены у 13,6% (3/22) женщин, что значительно превышает общепопуляционную частоту. В одном случае мутация возникла *de novo* (33%), что согласуется с литературными данными по высокой частоте герминальных мутаций *de novo* в популяции (30%) и обосновывает необходимость *TP53*-скрининга у молодых женщин в процессе МГК. Известный полиморфизм *TP53* Arg72Pro R72P наследовали 31,5% больных. В изучаемой группе пациенток, страдающих РМЖ, прослеживалось значительное повышение частоты редкого интронного *TP53*-варианта Int3dup16 в гомозиготном состоянии по сравнению с популяционным контролем — 29 и 6% соответственно.

СЛФ и ЛФП также ассоциирован с мутациями гена *CHEK2*, скрининг

мутации 1100delC которого мы проводили в неотобранной выборке больных РМЖ (410 пациентов) с использованием РМЖ-биочипа. В ходе проведения исследования выявлено 7 носителей *CHEK2*-патологического генотипа. Частота мутаций среди больных составила 1.7%.

При проведении МГК с целью подтверждения и дифференциальной диагностики генетического диагноза пациентов, страдающих НРМЖ, ДНК-тестирование 1100delC *CHEK2* стандартным методом было выполнено у 107 больных РМЖ (преднамеренная выборка). При этом выявлено 2 носителя мутации 1100delC *CHEK2*-гена, что составило 1,8%. В 55,5% случаев семейный анамнез носителей *CHEK2*-мутации удовлетворял критериям СЛФ и ЛФПС.

Клинический пример *CHEK2*-ассоциированного РМЖ в составе ПМЗН и ЛФПС представлен родословной семьи Т. (рис. 14) с наследованием герминальной мутации только одним ребенком из дизиготной близнецовой пары.

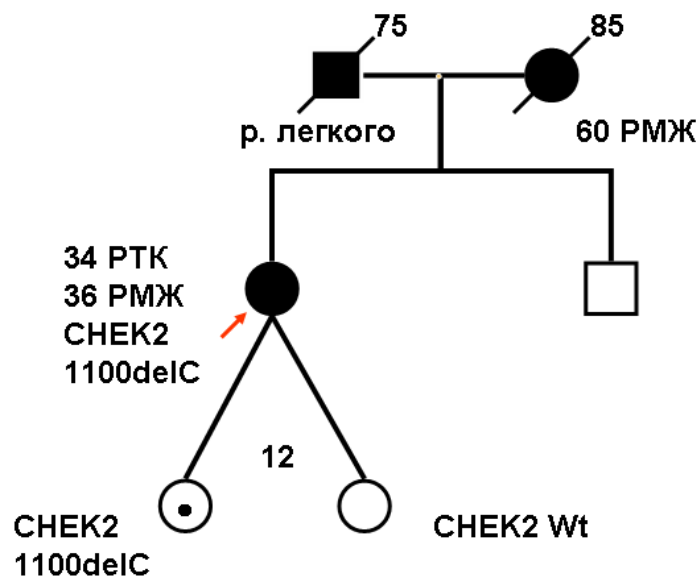


Рис. 14. Родословная семьи Т.

Синдром ЛФП: *CHEK2*-ассоциированный РМЖ

В процессе клинико-генотипического анализа был определен фенотип *CHEK2*-ассоциированного РМЖ:

– средний возраст — 51 год\4

- ИПР — 66,6%; ПДР — 22,2%;
- II степень злокачественности — 55,5%;
- PЭ⁺ — 77,8%; PП⁺ — 55,5%; HER2/neu⁻ — 77,7%;
- 5-летняя выживаемость — 70,1%.

РМЖ у мужчин

С клинико-генетических позиций был изучен РМЖ у мужчин. В 2003-2008 гг. медико-генетическое консультирование и ДНК-диагностика проведены у 8 мужчин, больных РМЖ, в связи с онкологически отягощенным анамнезом (преднамеренная выборка). Рак молочной железы у родственников I степени родства (мать и/или сестра) отмечали 57,1% больных. О злокачественных новообразованиях ЖКТ, предстательной железы, почки в семейном анамнезе сообщали 42,9% пациентов.

Средний возраст постановки диагноза составил 48,5 лет (от 27 до 73), что на 8 лет раньше, чем в общей выборке больных мужчин — 56 лет. Структурно-функциональные изменения генов, ответственных за возникновение РМЖ, выявлены в 62,5% случаев: мутации *BRCA1/2* — у трех пациентов (37,5%), *mtTP53* — у одного больного (12,5%), мутация *MLH1* — у одного больного РМЖ (12,5%). Все варианты встретились единожды ввиду небольшой выборки. ПМЗН метахронно диагностированы у 25% (2/8) мужчин.

Дифференциальная диагностика представлена на клиническом примере развития 5 первично-множественных опухолей, включая РМЖ, удовлетворяющим критериям синдрома Линч, у пациента А. — носителя герминальной мутации гена *MLH1*. Аналогичный случай (сочетанный РМЖ и РТК у мужчины) был описан Boyd J. в 1999 г. (рис. 15).

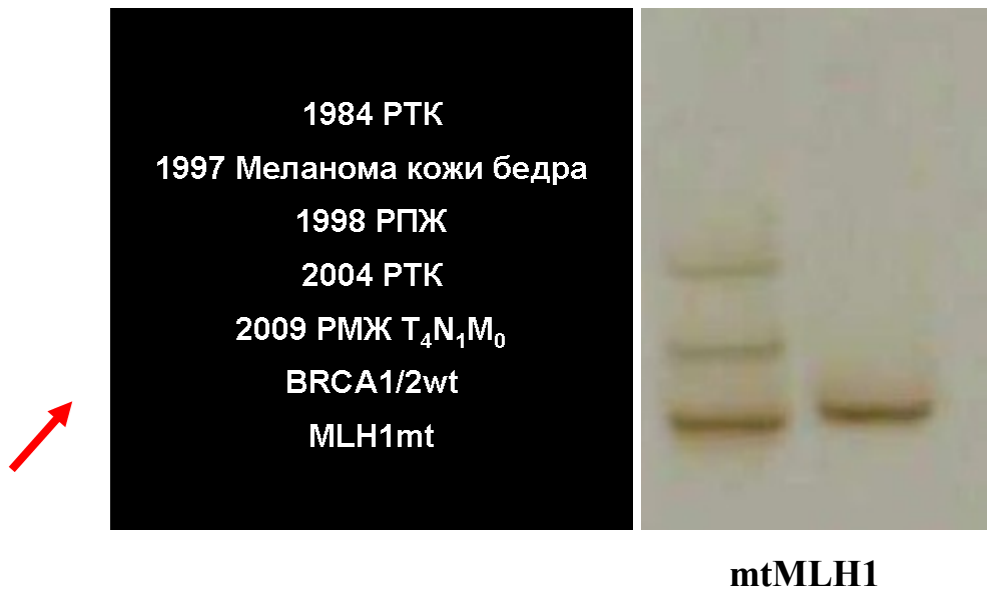


Рис. 15. Пример ПМЗН у больного РМЖ в составе синдрома Линч Мужской РМЖ, ПМЗН, онкологически отягощенный семейный анамнез являются критериями постановки генетического диагноза наследственного РМЖ, требующего проведения ДНК-диагностики с учетом синдромальной патологии.

Наследственный рак яичников

Оценивая вклад наследственной предрасположенности в развитие РЯ, МГК с последующей молекулярной диагностикой было проведено у 223 больных РЯ из числа проходивших лечение в РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН за период 1997-2008 гг. В ходе выполнения работы были сформированы 4 группы пациенток с учетом преднамеренности выборки и методов ДНК-диагностики (рис. 16).

Частота *BRCA*-мутаций была значительно выше в группе больных РЯ с онкологически отягощенным анамнезом и среди пациентов с ПМЗН, включая РЯ, — 72% и 56% соответственно.

Среди больных, страдающих спорадическим РЯ, эти частоты также значительно превышали общепопуляционные — 11,8 и 16,8% в зависимости от выборки и объема молекулярного исследования, что обосновывает проведение *BRCA*-скрининга как диагностического при РЯ в онкологической практике.

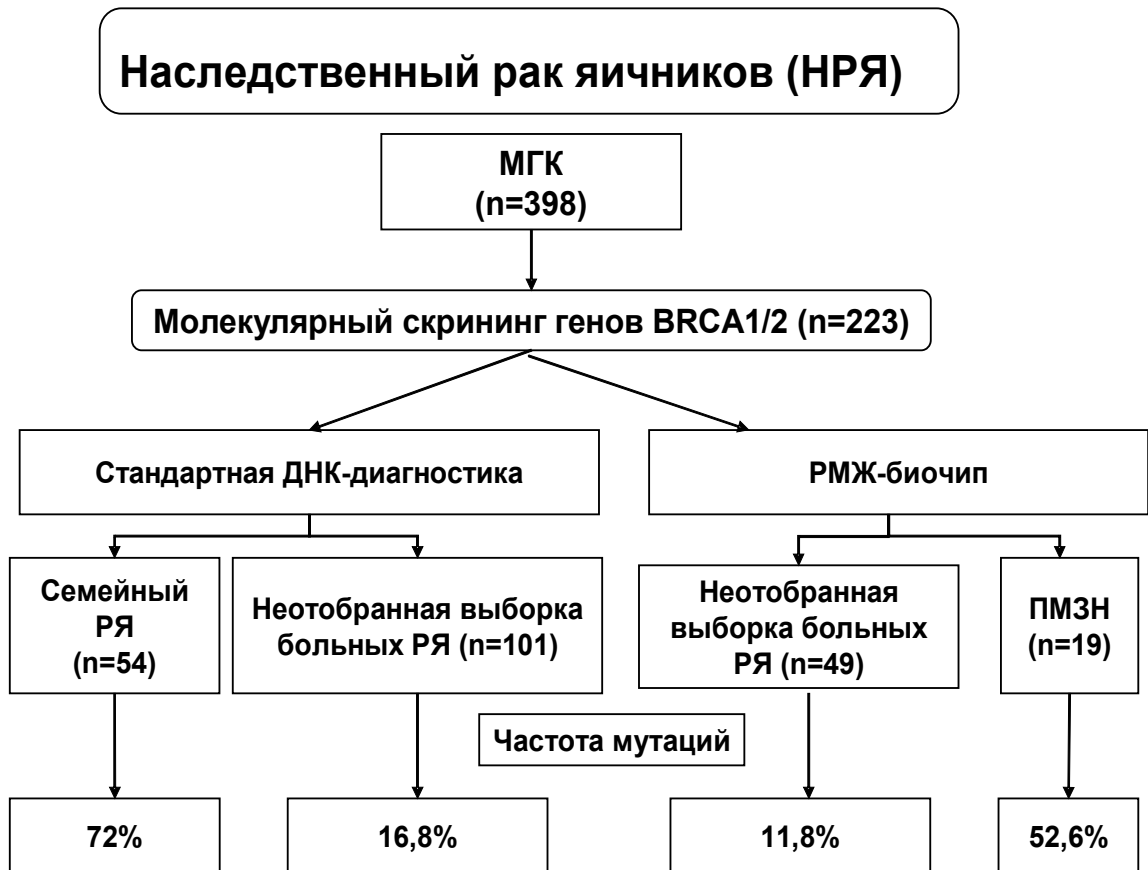


Рис. 16. Дизайн клинико-генетического исследования РЯ

Доля мутаций в гене *BRCA1* составила 85,4% всех выявленных вариантов в обоих генах. Спектр мутаций *BRCA1* достаточно широк: 60% приходится на мутацию 5382insC в 20 экзоне гена *BRCA1*. Другими частыми вариантами являются С61G и 185delAG (рис. 17). Все мутации гена *BRCA2* были уникальными в выборке, дважды встретилась только мутация 6174delT.

Для оценки клинико-генотипических корреляций сформированы 2 группы пациентов — больные РЯ, носители *BRCA1*-мутаций (НРЯ *mtBRCA1*; n=71) и больные РЯ без структурных перестроек в генах *BRCA1/2* (*wtBRCA*; n=98).

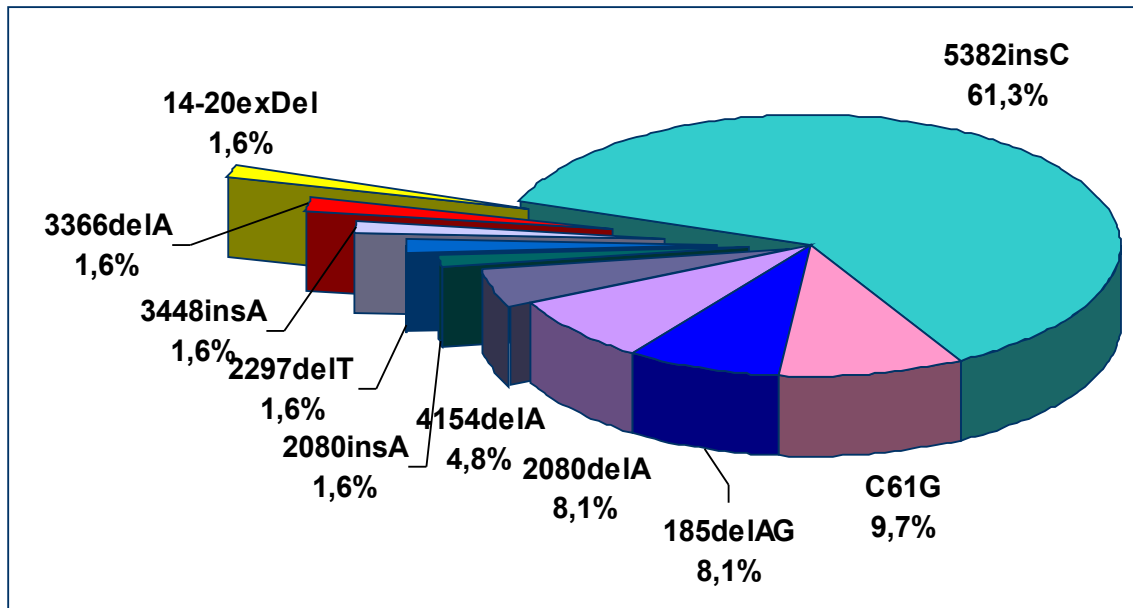


Рис. 17. Спектр и частота мутаций гена BRCA1 при наследственном РЯ

Средний возраст возникновения *mtBRCA1* НРЯ составил 47.9 лет, тогда как в группе СРЯ заболевание диагностировали на 9 лет позже — в среднем в 56 лет. Гистологический тип опухоли при *mtBRCA1* НРЯ чаще был представлен серозной сосочковой цистаденокарциномой — 70%. Статистически значимым гистологическим признаком оказалось отсутствие муцинозных опухолей при *mtBRCA1* НРЯ по сравнению с частотой муцинозной аденокарциномы при *wtBRCA1* СРЯ — 0 и 7.1% соответственно ($p < 0,05$).

Интересным на наш взгляд является высокая частота сосудистой инвазии опухоли — 80% при *mtBRCA1* НРЯ, что может быть обусловлено ускоренным ангиогенезом.

Неoadьювантное лечение на предоперационном этапе получали 44 пациентки изучаемых групп, чьи истории болезни и послеоперационные гистологические препараты были доступны для анализа и пересмотра: 18 больных *mtBRCA1* НРЯ (40,9%) и 26 пациенток *wtBRCA1* СРЯ (59%).

Лечение пациенткам, страдающим РЯ, проводили в РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН с применением препаратов платины и таксанов.

Полный эффект от проводимого лечения, подтвержденный полным лечебным патоморфозом опухоли, достоверно чаще отмечали в группе пациенток

с *mtBRCA1* НРЯ — 50,8%, выраженный лечебный эффект в виде лечебного патоморфоза III степени с единичными клетками опухоли в поле зрения также чаще отмечали у пациенток этой группы — в 33,3%.

У больных с *wtBRCA* после лечения преобладали I (26,9%), II — (34,6%) и III — 26 % степени лечебного патоморфоза примерно в равных долях. Суммарный полный эффект терапии составил 84,1% в группе пациенток *mtBRCA1* НРЯ и 38,4% у пациенток с *wtBRCA* СРЯ — разница статистически достоверна ($p < 0,05$).

Высокий лечебный эффект применения цитостатических препаратов в группе *mtBRCA1* НРЯ может быть объяснен сниженными репарационными возможностями *BRCA*-мутантного генотипа, что перекликается с немногочисленными работами, посвященным изучению эффективности лечения НРЯ.

Результаты 5-летней выживаемости *BRCA*-ассоциированного НРЯ (рис. 18) достоверно лучше по сравнению со СРЯ — $58,9 \pm 6,3\%$ и $39,7 \pm 4,6\%$ соответственно ($P = 0,012$).

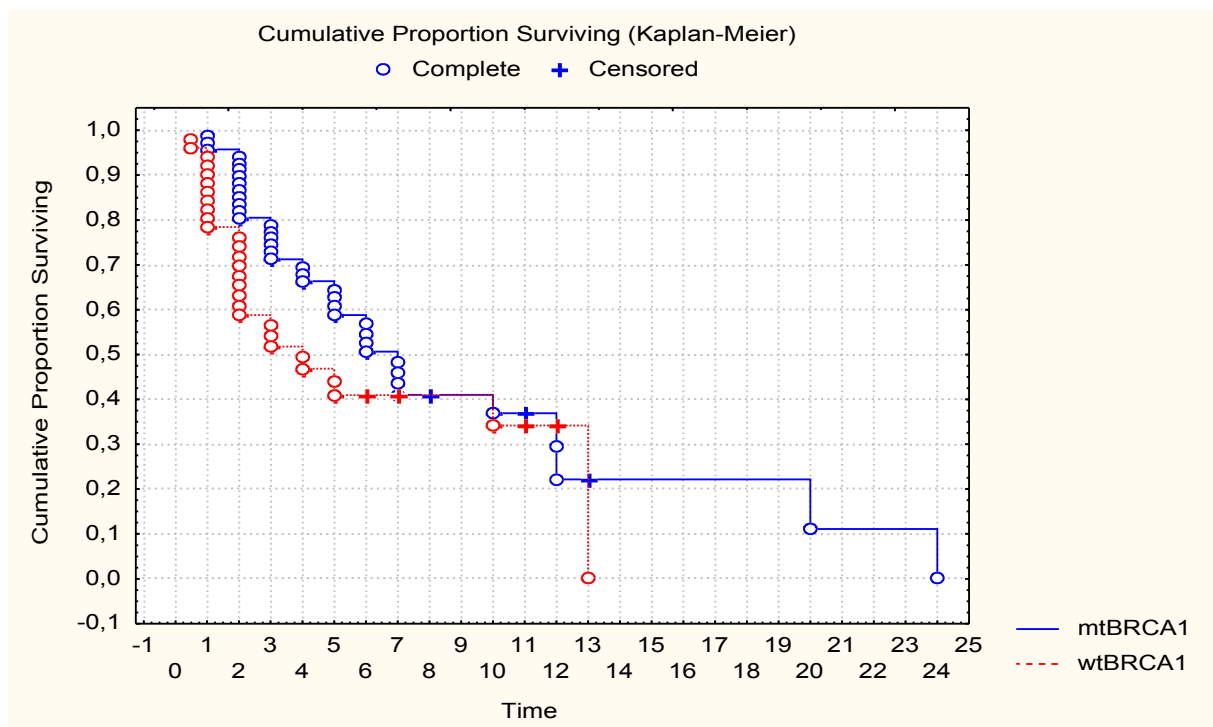


Рис. 18. Общая выживаемость больных РЯ

в зависимости от *BRCA* –генотипа

Дифференциальная клиничко-молекулярная диагностика при НРЯ

Дифференциальную клиничко-молекулярную диагностику при НРЯ рекомендовано проводить с учетом предварительного генетического диагноза и тестирования генов, вовлеченных в канцерогенез НРЯ с целью исключения ложноотрицательных результатов и подтверждения генетического диагноза.

Клинический пример представлен MLH1-ассоциированным РЯ в составе метасиндромных ПМЗН при синдроме Линч (рис. 19).

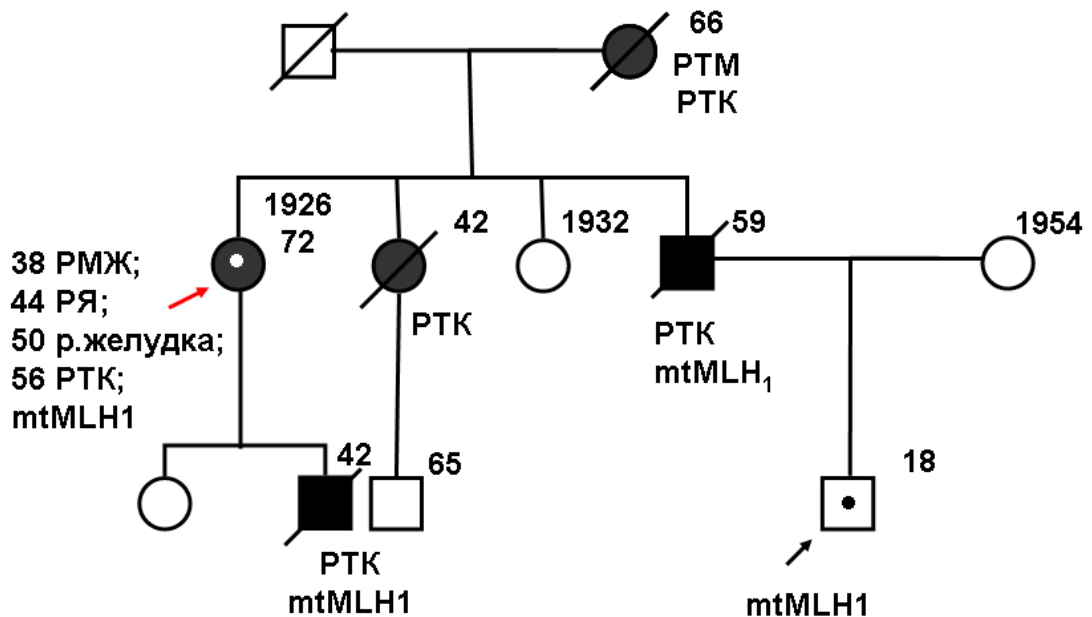


Рис. 19. Родословная семьи В.

Медико-генетическое консультирование

Генетическое консультирование сегодня является обязательной составляющей онкологической диагностической и профилактической помощи и решает следующие задачи:

1. Создание семейных онкологических регистров.
2. Проведение медико-генетического обследования пациентов с различной онкопатологией и членов их семей с использованием цитогенетических и молекулярно-биологических маркеров, позволяющих идентифицировать наследственно обусловленные формы рака и предрасположенность к их развитию.
3. Организацию клиничко-генетического наблюдения в условиях онко-

диспансера.

4. Решение вопросов репродуктивного поведения, пренатальной и преимплантационной диагностики.

***Тактика медико-генетического консультирования
с использованием пренатальной ДНК-диагностики (ПД)***

- Наследуемая мутация должна быть определена.
- Возможные исходы беременности обсуждены.
- Готовность к ПД подтверждена до зачатия.
- Генетическое консультирование и ДНК-диагностика проводится сертифицированными специалистами генетиками.

На II этапе МГК при положительном ДНК-тесте плода необходимо учитывать и обсуждать с семейной парой:

- синдромальную патологию;
- неполную пенетрантность генов;
- относительность рисков;
- возраст реализации предрасположенности;
- успехи в лечении и профилактике;
- пол плода.

***Собственный опыт МГК с последующей пренатальной
и преимплантационной ДНК-диагностикой***

Таблица 5

МГК с пренатальной и преимплантационной ДНК–диагностикой

Вид диагностики	Пренатальная	Преимплантационная
Число пациентов с известной генной патологией	8 (VHL, BRCA, RET, Rb)	1
Число пациентов с известной хромосомной патологией	1 (13q22)	–
Число прерванных беременностей	4	–
Число сохраненных беременностей	5	–

Пренатальная ДНК-диагностика известного наследуемого генного дефекта была выполнена у пациентки С., проходившей лечение в РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН по поводу РМЖ. Через год после окончания лечения наступила беременность, которую супружеская пара хотела сохранить. При выполнении пренатальной цитогенетической и молекулярной диагностики, хромосомной патологии, ассоциированной с врожденными пороками развития, не выявлено, однако подтверждено наследование герминальной *BRCA1*-мутации. Учитывая пол плода, неполную пенетрантность гена, сроки реализации предрасположенности, беременность продолжена. Родился здоровый мальчик, который находится под наблюдением онкогенетиков НИИ ДОГ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН (рис. 20).

Семья Св. (*BRCA1*)

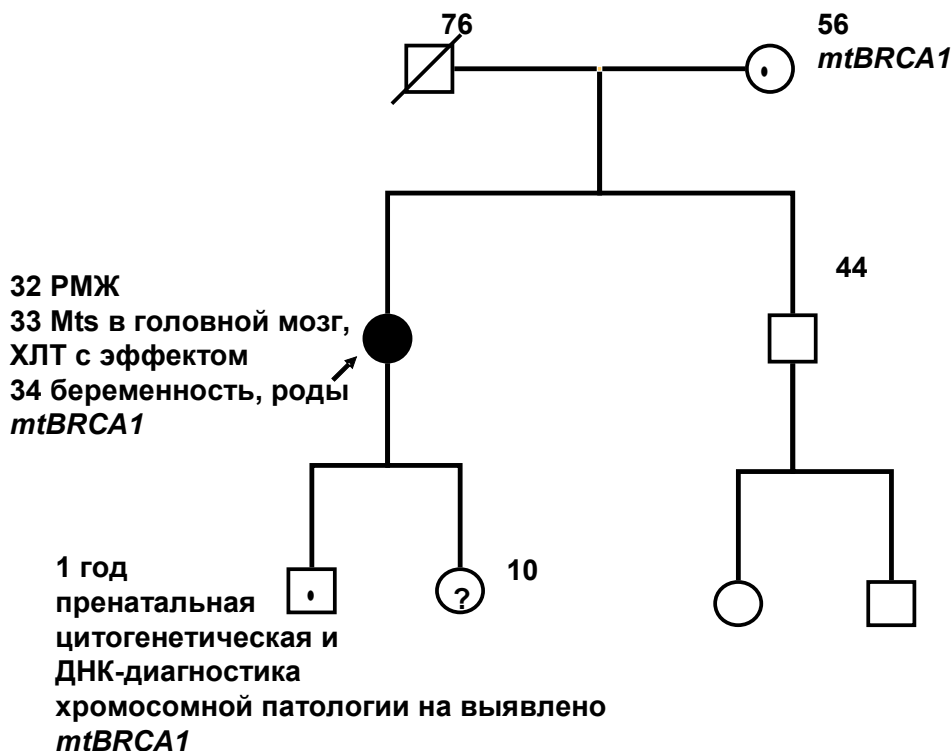
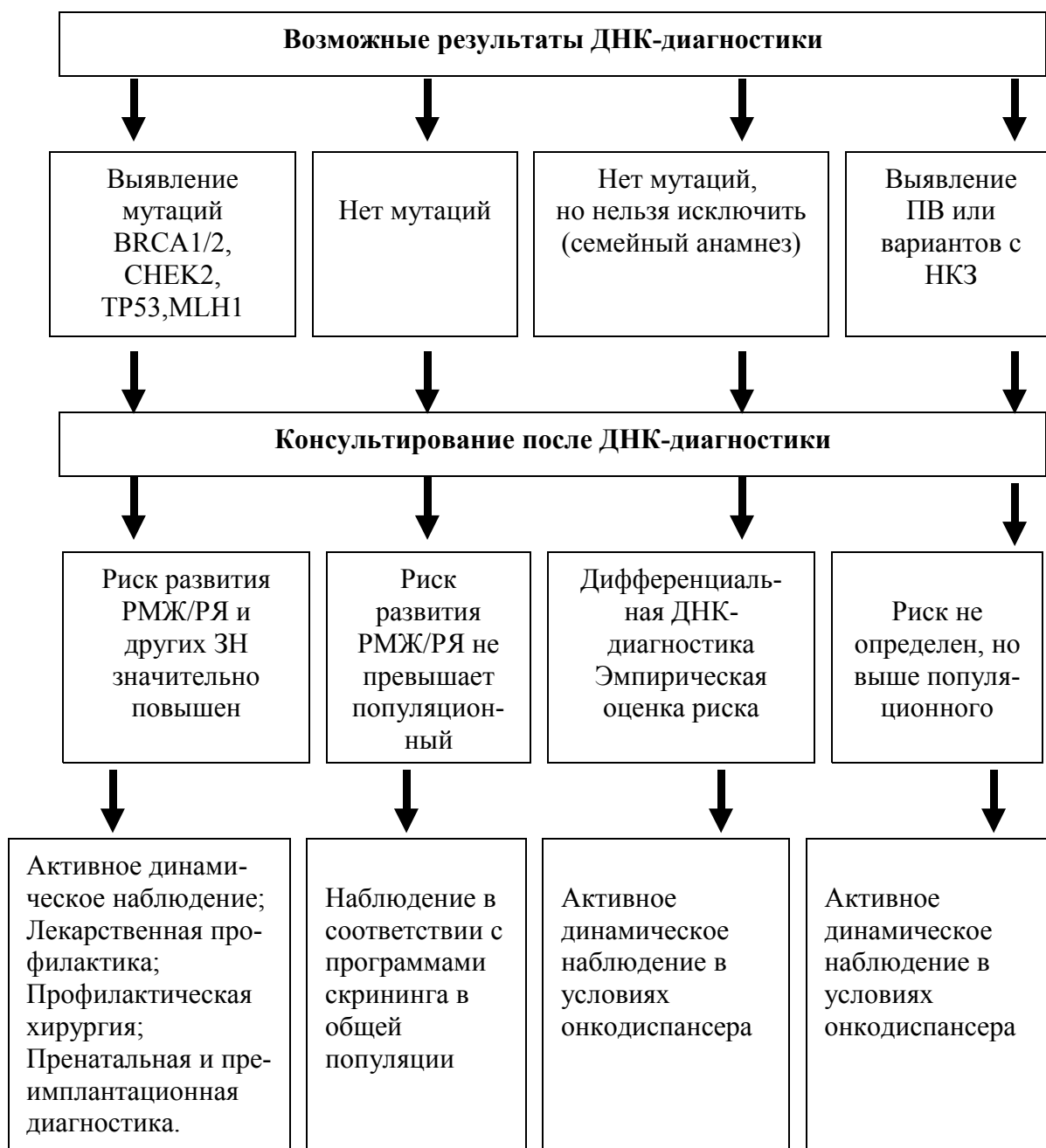


Рис. 20. Родословная семьи Св.

С учетом нашего опыта разработан и внедрен в клиническую практику алгоритм МГК





ВЫВОДЫ

1. В ходе проведения исследования сформирован и расширен специализированный клинико-генетический регистр пациентов и их родственников с онкологически отягощенным семейным анамнезом по нозологиям (2 583 членов из 1 678 семей).
2. На основании общих принципов организации медико-генетического консультирования систематизирована база клинико-генетических данных и создан банк биологического материала (цельная кровь, пластины

G-окрашенных метафазных хромосом, ДНК/РНК, выделенные из крови и опухолевого материала, клеточные линии типированных мезенхимальных и раковых стволовых клеток).

3. Разработана стратегия МГК в онкологии. Медико-генетическое консультирование должно проводиться с учетом дифференциальной клинической и молекулярно-генетической диагностики, унифицированных расчетов риска и разработанного алгоритма в отношении больных и здоровых пациентов в зависимости от индивидуального генотипа.
4. В практику МГК наследственных форм рака молочной железы и/или яичников внедрено комплексное клиничко-генетическое исследование с применением ДНК-диагностики генов *BRCA*, *TP53*, *CHEK2*, *MLH1*, *MSH2* и др. с целью верификации генетического диагноза у онкологических больных и членов их семей.
5. Высокая частота значимых делеторных мутаций гена *BRCA1* у больных НРМЖ (25,8%) а так же значительная доля (23%) вновь выявленных мутаций, не зарегистрированных в других популяциях, обосновывает необходимость молекулярного *BRCA*-скрининга с целью выявления наследственной предрасположенности к РМЖ. Вклад генотипических вариантов гена *BRCA2* в развитие НРМЖ характеризуется: низкой частотой (2,2%) значимых делеторных мутаций; отсутствием «горячих точек» гена, индивидуальностью мутаций, высокой долей (30%) вновь выявленных в российской популяции мутаций, что определяет необходимость скрининга всей кодирующей части гена *BRCA2*.
6. Фенотип *mtBRCA*–НРМЖ характеризуется: ранним возрастом манифестации; преобладанием ИПР (87,0% *BRCA1*), тубуло-дольковой подгруппой (47,9% *BRCA2*); высокой степенью злокачественности (61,1% *BRCA1* и 37,5% *BRCA2*); триадой рецептор-негативных опухолей (РП–, РЭ, HER2/neu–78,6% *BRCA1*), лучшей общей 10-летней выживаемостью больных — 65+4,1% (*BRCA1*), 88+13,1 (*BRCA2*).
7. *BRCA*-статус является прогностическим фактором при НРМЖ: позво-

- ляет достичь выраженного терапевтического эффекта, обусловленного полным лечебным патоморфозом в 100% случаев при проведении неоадьювантного лечения в то время как высокая частота (30%) ипсилатеральных опухолей снижает эффективность органосохранного лечения.
8. В структуре двухстороннего РМЖ высокая частота (57%) мутаций гена *BRCA1* преобладает у больных молодого возраста (до 40 лет) в сравнении с частой *BRCA1* мутаций среди пациенток старше 41 года (25%), Ассоциация заболевания с *mtTP53* (1,2%) подтверждает наследственную этиологию двухстороннего РМЖ и обосновывает необходимость медико-генетического консультирования с последующей ДНК-диагностикой.
 9. Фенотип *mtBRCA*-двухстороннего НРМЖ является типичным «портретом» *BRCA*-ассоциированного РМЖ и характеризуется: высокой частотой ИПР (80%), высоким процентом медуллярного РМЖ (7,5%), отсутствием рецепторов стероидных гормонов и гиперэкспрессии гена *HER2/neu*, низкой частотой мультицентричных опухолей (3%), полным лечебным патоморфозом (97%), высокой степенью конкордантности признаков.
 10. Онкологически отягощенный анамнез (78,5%), высокая частота мутаций генов *BRCA1* и *TP53* (18,7%), ПМЗН (89%) определяют вклад молекулярно-генетических факторов в развитие РМЖ на фоне беременности. Пациентки с *mtBRCA*-ассоциированным РМЖАБ имеют стандартный *BRCA1*-фенотип: более молодой возраст постановки диагноза (31,7 лет), преобладание ИП (64,2%) низкодифференцированного рака (85,7%), «триаду» рецептор-негативных опухолей, высокую степень лечебного патоморфоза, лучшую общую и безрецидивную выживаемость (90,8%).
 11. Вклад мутации 1100delC гена *CHEK2* в развитие НРМЖ (1,7%) определяет необходимость проведения МГК с целью постановки предвари-

тельного генетического диагноза синдрома Ли-Фраумени и Ли-Фраумени–подобного синдрома.

12. РМЖ у мужчин с онкологически отягощенным анамнезом в 62% случаев ассоциирован со структурно-функциональными перестройками генов *BRCA1/2* и *TP53*. Молодой возраст манифестации заболевания — 48 лет, ПМЗН, онкологически отягощенный анамнез — достоверные критерии *BRCA*-ассоциированного мужского РМЖ, аналогичные *mtBRCA* РМЖ у женщин.
13. При наследственном РЯ частота мутаций гена *BRCA1* является наиболее высокой среди всех наследственных опухолей ЖРС (72%); доля *BRCA1* мутаций среди всех больных, страдающих РЯ, так же высока (16.8%), что может рекомендовать *BRCA1* ДНК-скрининг в качестве диагностического и профилактического подхода в онкологической практике. Фенотип *mtBRCA1* НРЯ сходен с таковым при *wtBRCA1* СРЯ за исключением: более молодого возраста манифестации болезни (на 8 лет) — 47.9 лет, отсутствия муцинозного гистологического типа опухолей, преобладания низкодифференцированных опухолей и опухолей смешанной дифференцировки, высокой частоты сосудистой инвазии (80%), выраженного суммарного терапевтического эффекта, обусловленного высокой степенью лечебного патоморфоза (84%) и лучшими показателями общей выживаемости (58,9%).
14. Разработан алгоритм МГК в онкологии с применением высокотехнологичных диагностических методов на примере наследственного РМЖ/РЯ.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Любченко Л.Н., Гарькавцева Р.Ф., Поспехова Н.И., Брюзгин В.В., Карпухин А.В. ДНК- диагностика и медико-генетическое консультирование при наследственной предрасположенности к раку молочной железы. //В сборн. «Возможности современной онкологии в диагностике и лечении злокачественных заболеваний» — М., 2003, С. 44-7.

2. *Любченко Л.Н., Поспехова Н.И., Портной С.М., Брюзгин В.В., Карпухин А.В., Гарькавцева Р.Ф.* Наследственные формы рака молочной железы и/или яичников: прогноз, тактика лечения и профилактики//Материалы VII Российского Онкологического Конгресса, М., Издательская группа РОНЦ, 2003 — С. 134-6.

3. *Логинова А.Н., Поспехова Н.И., Любченко Л.Н., Будилов А.В., Гарькавцева Р.Ф., Карпухин А.В.* Спектр мутаций в гене BRCA 1 при наследственных формах рака молочной железы и яичников в российских семьях // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, Москва 2003, Т. 136, № 9, С. 276-278.

4. *Землякова В.В., Жевлова А.И., Стрельников В.В., Любченко Л.Н., Вишневская Я.В., Третьякова В.А., Залетаев Д.В., Немцова М.В.* Аномальное метилирование некоторых генов-супрессоров при спорадическом раке молочной железы // Молекулярная Биология — Москва 2003, Т. 37, N. 4 — С. 696-703.

5. *Артамонов В.В., Любченко Л.Н., Шабанов М.А., Бабенко О.В., Немцова М.В., Залетаев Д.В.* Изучение ассоциации полиморфных маркеров генов CYP19 и CYP17 со спорадическим раком молочной железы. //Молекулярная Биология, Москва, 2003, Т. 37, N. 6, С. 975-82.

6. *Цырендоржиева Е.С., Асланян М.М., Тарасов В.А., Гарькавцева Р.Ф., Любченко Л.Н.* Генетический полиморфизм человека по предрасположенности к раку молочной железы. // В сборн. «Актуальные проблемы генетики», Москва, 2003, Т. 2 — С. 47-8.

7. *Loginova A.N., Pospekhova N.I., Lubchenko L.N., Budilov A.V.* Analysis of genetic heterogeneity breast cancer families by BRCA1/2 gene mutations and single nucleotide polymorphisms. // Europ. J. Hum. Genet., 2003, V. 11, Suppl. 1., P. 66.

8. *Поспехова Н.И., Логинова А.Н., Любченко Л.Н., Гарькавцева Р.Ф., Гинтер Е.К., Карпухин А.В.* Гетерогенность семей с наследственной предрасположенностью к раку молочной железы по встречаемости мутаций в гене BRCA1. //Медицинская Генетика, 2003, Т. 2, № 11, С. 459-63.

9. *Тарасов В.А., Асланян М.М., Цырендоржиева Е.С., Гарькавцева Р.Ф., Любченко Л.Н., Алтухов Ю.П.* Зависимость вероятности развития рака молочной железы у женщин от их генотипа. //Вестник Российской Академии Медицинских Наук — Москва, 2004, 398, С. 391-4.

10. Любченко Л.Н., Гарькавцева Р.Ф. Клинико-генетическая гетерогенность семейного рака молочной железы. // Современная онкология 2004, №2, Т. 6 — С. 67-9.

11. Михайленко Д.С., Никитин Е.А., Любченко Л.Н., Зборовская И.Б. Аллельные варианты GCG–повтора и метилирование содержащей его области гена TGFBR1 в норме и при различных типах злокачественных новообразований. // Медицинская Генетика, 2004, Т. 3, № 10 — С.485-9.

12. Михайленко Д.С., Любченко Л.Н., Зборовская И.Б., Стрельников В.В., Залетаев Д.В. Анализ полиморфных вариантов GGG–повтора гена GPC1 в норме, при раке молочной железы и немелкоклеточном раке легкого. // Генетика 2005, Т. 41, № 9 — С. 1059-63.

13. Тарасов В.А., Асланян М.М., Цырендоржиева Е.С., Гарькавцева Р.Ф., Любченко Л.Н., Алтухов Ю.П. Мельник В.А. Популяционно-генетический анализ связи полиморфизмов генов BRCA1 и P53 с развитием спорадического рака молочной железы. // Генетика 2005, Т.41, № 8 — С.1115-24.

14. Любченко Л.Н., Гарькавцева Р.Ф. ДНК-диагностика и медико-генетическое консультирование при наследственном раке молочной железы. // В кн. «Рак молочной железы» под ред. Н.Е. Кушлинского, С.М. Портного, К.П. Лактионова — Москва 2005, издательство РАМН, С. 198-209.

15. Kuznetsova E., Lyubchenko L., Zborovskaya I. Differential methylation of LAMC3, SEMA6B, VCIP135 and BIN1 CpG islands in breast cancer identified by metilation-sensitive restriction fingerprinting (MSRF). // Europ. J. Hum. Genet., 2005, V. 13, Suppl. 1 — P. 192.

16. Lyubchenko L., Pospekhova N., Lushnikova A., Portnoy S., Karpukhin A.V., Garkavtseva R.F. Tumor characteristics of BRCA1-associated familial breast cancer from Russian population. // Europ. J. Hum. Genetics, 2005, V. 13, Sup. 1 — P. 212.

17. Любченко Л., Поспехова Н., Попов А., Карпухин А.В., Гарькавцева Р.Ф. Наследственные формы рака молочной железы и яичников: ДНК-диагностика, клинико-молекулярная патология и медико-генетическое консультирование. // Медицинская Генетика, 2005, Т.4, №5 — с. 220-1.

18. Землякова В.В., Немцова М.В., Зборовская И.Б., Любченко Л.Н. Исследование метилирования ряда генов, вовлеченных в канцерогенез, в различных типах опухолей. // Медицинская генетика, 2005, Т.4, № 4 — С.147.

19. *Поспехова Н.И., Логинова А.Н., Любченко Л.Н., Гарькавцева Р.Ф., Гинтер Е.К., Карпунин А.В.* Молекулярно-генетические аспекты наследственной предрасположенности к раку молочной железы и/или яичников II. Что обуславливает риск при мутациях в гене BRCA1? //Медицинская генетика, 2005, № 1 — С. 23-7.

20. *Lyubchenko L., Garkavtseva R.* Molecular diagnostics and follow-up care in individuals with an inherited predisposition to cancer. //30th anniversary American Society of Preventive Oncology 2006, Bethesda, USA, P. 34.

21. *Любченко Л.Н., Гарькавцева Р.Ф., В.А. Хайленко, В.В., Брюзгин В.В., Портной С.М.* Генетические подходы к ранней диагностике и профилактике рака молочной железы. // В кн. «Диагностика рака молочной железы» под ред. В.А. Хайленко, Д.В. Комова, В.Н. Богатырева –Москва 2005, Издательство «Медицинское информационное агенство», С. 101-113.

22. *Любченко Л.Н., Гарькавцева Р.Ф., Брюзгин В.В., Летягин В.П.* Медикогенетическое консультирование при заболеваниях молочной железы: возможности, проблемы, перспективы. //Маммология 2006, №2 — С. 45-50.

23. *Лушникова А.А., Крюкова И.Н., Полевая, Любченко Л.Н.* ММТV-гомологичные последовательности у мужчин с раком молочной железы и гинекомастией. //Молекулярная медицина 2006, 4,С. 53-56.

24. *Любченко Л., Гарькавцева Р., Портной С., Брюзгин В.* Наследственный рак молочной железы. // В кн. «Клиническая маммология» под редакцией Е.Б. Камповой — Полевой и С.С. Чистякова, Москва 2006, издательство ГЭОТАР-Медиа, С. 246-259.

25. *Любченко Л.Н., Портной С.М., Брюзгин В.В., Гарькавцева Р.Ф.* Клинико-молекулярные аспекты наследственного рака молочной железы. //Молекулярная медицина 2007, № 1 — С. 8-15.

26. *Федорова О.Е., Любченко Л.Н., Паяниди Ю.Г., Казубская Т.П., Амосенко Ф.А., Гарькавцева Р.Ф., Заседателев А.С., Наседкина Т.В.* Использование биочипов при изучении распространенных мутаций в генах BRCA 1/2 и СНЕК 2 у больных органоспецифичным раком яичников и первично-множественными злокачественными новообразованиями с поражением яичников (российская популяция). //Молекулярная биология 2007, Т.41, № 1 — С. 37-42.

27. *Смирнова Т.Ю., Любченко Л.Н., Поспехова Н.И., Портной С.М., Жордания К.И., Гарькавцева Р.Ф., Карпунин А.В.* Рак молочной железы и

яичников. Роль наследственных факторов. //Опухоли женской репродуктивной системы 2007, №4. — С. 90-6.

28. *Lushnikova A., Parokonnaya A., Lyubchenko L., Polevaya E.* Mouse mammary tumor virus-related sequence expression in the patients with breast phyllodes tumors. //Breast Cancer Research and Treatment 2007, V.106 — p. 157.

29. *Lyubchenko L., Pospekhova N., Lushnikova A., Portnoy S., Bryuzgin V., Karpukhin A.V., Garkavtseva R.F.* Prognostic factors for BRCA1/2-associated familial breast cancer from Russian population.//Breast Cancer Research and Treatment 2007, V.106 — p. 62.

30. *Смирнова Т.Ю., Поспехова Н.И., Любченко Л.Н., Тюляндин С.А., Гарькавцева Р.Ф., Гинтер Е.К., Карпухин А.В.* Высокая частота мутаций в генах BRCA1 и BRCA2 при раке яичников. //Бюлл. Эксп. Биол. и Мед. 2007, №144 (1) — С. 83-5.

31. *Lyubchenko L., Pospekhova N., Parokonnaya A., Loginova A., Lushnikova A.* Clinical-genetic characteristics of pregnancy associated breast cancer in Russian patients. //3-th Familial Cancer Conference, Madrid 2008, . 96.

32. *Пароконная А.А., Нечушкин М.И., Воротников И.К., Лушникова А.А., Любченко Л.Н.* Неэпителиальная опухоль молочной железы на фоне существующей беременности. Клинико-генетические особенности. //Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН 2008, Т. 19, №1 — С. 71-5.

33. *Loginova A., Lyubchenko L., Parokonnaya A., Lushnykova A., Garkavtseva R., Pospekhova N.* High frequency of BRC1 gene mutations among patients with pregnancy associated breast cancer. //Europ. J. Hum. Gen., 2008, V. 16, Supp 2 — P. 204.

34. *Pospekhova N., Lyubchenko L., Loginova A., Poddubskaya E., Garkavtseva R., Karpukhin A.* Genetic peculiarities of families with inherited bilateral breast cancer. // Eur. J. Hum. Gen. P. 2008, V. 16, Supp 2 — P. 203.

35. *Любченко Л.Н., Поспехова Н.И.* Медико-генетическое консультирование онкологических больных молодого возраста. //Материалы XII Российского онкологического конгресса, Москва 2008, Издательская группа РОНЦ, С. 57-59.

36. *Любченко Л.Н., Гарькавцева Р.Ф., Поспехова Н.И., Карпухин А.В.* Медико-генетическое консультирование при наследственном раке молочной железы. //Медицинская генетика 2008, Т. 7, №12 (78), С. 27-31.

37. Пароконная А.А., Лушникова А.А., Любченко Л.Н., Кампова-Полевая Е.Б., Поспехова Н.И. Прогноз и течение рака молочной железы на фоне беременности и лактации: вирусно-генетические особенности. //Сибирский онкологический журнал 2008, №2 (26) — С. 15-20.

38. Пароконная А.А., Нечушкин М.И., Кампова-Полевая Е.Б., Любченко Л.Н. Рак молочной железы и программа экстракорпорального оплодотворения. //Опухоли женской репродуктивной системы 2008, № 4, С. 52-6

39. Пароконная А.А., Нечушкин М.И., Горобец Е.С., Козаченко В.П., Любченко Л.Н., Тютюнник В.А., Твердигов М.А. Макромастия и миастения на фоне беременности. //Проблемы репродукции 2008, № 6, Т. 14 — С. 91-5.

40. Ozolina S., Sinicka O., Jankevics E, Inashkina I, Lubinski J, Gorski B, Gronwald J, Nasedkina T, Fedorova O, Lyubchenko L, Tihomirova L. //Familial Cancer 2009; 8(1): P. 1-4.

41. Любченко Л.Н., Поспехова Н.И., Пароконная А.А., Стенина М.Б., Тюляндин С.А. Брюзгин В.В., Карпухин А.В., Гарькавцева Р.Ф. Редкие наследственные онкологические синдромы. Значение клинико-молекулярной диагностики. //Материалы II Российского симпозиума «Молекулярно-генетическая диагностика злокачественных опухолей человека» — Вестник РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН 2009, Т. 2, № 1 — С. 93-4.

42. Гарькавцева Р.Ф., Казубская Т.П., Любченко Л.Н. Роль наследственных факторов в развитии злокачественных новообразований. // В справочнике практического врача «Онкология» под редакцией чл-корр. РАМН, проф. И.В. Поддубной — Москва 2009, издательство «МЕДпресс-информ» — С. 18-30.

43. Крюкова И.Н., Лушникова А.А., Любченко Л.Н., Пароконная А.А. ММТВ–гомологичные последовательности и их экспрессия у больных раком молочной железы в сочетании с лимфомой. //Молекулярная медицина, 2009, № 2 — С. 8-15.

44. Лушникова А.А., Крюкова И.Н., Любченко Л.Н., Пароконная А.А. Инфицирование клеток эмбриональных почек человека вирусом рака молочных желез мышей (ММТВ).//Доклады Академии Наук РФ 2009, Т. 424, №1 — с. 130-4.

45. Любченко Л.Н., Поспехова Н.И., Пароконная А.А., Лушникова А.А., Чевкина Е.М. Рак молочной железы и /или яичников в составе

наследственного онкологического синдрома. //Опухоли женской репродуктивной системы 2009, № 1-2 — С. 59-63.

46. *Артамонов В.В., Михайленко Д.С., Любченко Л.Н., Немцова М.В., Залетаев Д.В.* Системы ДНК-маркеров для проспективной диагностики высокого риска развития рака молочной железы. //В кн. «Системы генетических и эпигенетических маркеров в диагностике онкологических заболеваний» под редакцией М.А. Пальцева и Д.В. Залетаева, Москва 2009, Издательство «Медицина» С. 318-348.

47. *Пароконная А.А., Нечушкин М.И., Любченко Л.Н., Кампова-Полевая Е.Б.* Беременность у женщин, перенесших рак молочной железы. //Опухоли женской репродуктивной системы 2009, № 1-2, С. 67-71.

48. *Ермаков А.В., Конькова М.С., Костюк С.В., Ершова Е.С., Смирнова Т.Д., Каменева Л.В., Ефремова Л.В., Любченко Л.Н., Вейко Н.Н.* Реакция стволовых клеток человека на воздействие ионизирующего излучения в малых дозах. //Радиационная биология. Радиоэкология 2009, Т. 49, № 5 — С. 31-40.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

МГК — медико-генетическое консультирование

ПВ — полиморфный вариант

РЖ — рак желудка

РЛ — рак легкого

РМЖ — рак молочной железы

РМЖАБ — РМЖ, ассоциированный с беременностью и лактацией

ДРМЖ — двухсторонний рак молочной железы

ИПР — инфильтративно-протоковый рак

ИДР — инфильтративно-дольковый рак

НРМЖ — наследственный рак молочной железы

СРМЖ — спорадический рак молочной железы

РТК — рак толстой кишки

РЩЖ — рак щитовидной железы

МРЩЖ — медуллярный рак щитовидной железы

РЯ — рак яичников

НРЯ — наследственный рак яичников

СРЯ — спорадический рак яичников

ПМЗН — первично-множественные злокач. новообразования

РПЖ — рак предстательной железы

СЛФ — синдром Ли-Фраумени

ЛФПС — Ли-Фраумени подобный синдром

ЖРС — женская репродуктивная система

BRCA — Breast Cancer Antigen

mtBRCA — мутантный ген BRCA (mutant type Breast Cancer Antigen)

wtBRCA — ген BRCA дикого типа (wild type Breast Cancer Antigen)

mtTP53 — мутантный ген TP53 (mutant type TP53)