МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ НАСЛЕДСТВЕННОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

САВИЦКИЙ С.Э.

УО «Гродненский государственный медицинский университет», УЗ «Гродненская областная клиническая больница»

Резюме. Последние 25 лет были отмечены поистине революционными событиями в фундаментальной онкологии. Бурное развитие молекулярной генетики, в частности открытие онкогенов и антионкогенов, кардинально видоизменило представления о механизмах возникновения новообразований. В настоящее время необходимо масштабное внедрение молекулярно-генетических подходов на всех этапах онкологической помощи, т.е. в профилактике, диагностике, лечении и мониторинге пациентов.

Ключевые слова: рак молочной железы, наследственность, распространенность, мутации.

Abstract. Last 25 years have been noted really by revolutionary events in fundamental oncology. Rapid development of molecular genetics, in particular opening onkogenes and antionkogenes, has cardinaly altered representations about mechanisms of occurrence of neoplasms. Now scale introduction of molecular genetic approaches at all stages of the oncologic help, i.e. in preventive maintenance, diagnostics, treatment and monitoring of patients is necessary.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 230017, г. Гродно, ул.БЛК 52, УОЗ «Гродненская областная клиническая больница», тел. 43 01 65 – Савицкий С.Э.
Эпидемиология рака молочной железы

Современные тенденции нарастания показателей заболеваемости выдвинули рак молочной железы (РМЖ) на первое место в структуре онкологической заболеваемости женщин. Ежегодно в мире выявляют около 1 млн. случаев рака молочной железы. Прогнозируется рост числа заболеваний к 2010 г. до 1,45 млн. Рак молочной железы составляет 23% от всех новообразований у женщин. Социальное значение РМЖ настолько велико, что научные исследования с целью решения данной проблемы занимают одно из ведущих мест в современной онкологии. Предполагают, что на протяжении жизни одна из 8 женщин в США заболевет РМЖ и одна из 30 заболевших РМЖ умрет. По мнению белорусских ученых, при условии сохранения такой эпидемиологической ситуации, риск возникновения рака молочной железы будет реальным для каждой десятой женщины [1]. Вероятность заболеть РМЖ в России в предстоящей жизни для новорожденной девочки составляет 3,5%, а умереть от него – 1,8%.

За последние 18 лет рак молочной железы является одной из наиболее частых причин смерти у женщин. В Республике Беларусь в течение последних десяти лет наблюдается (с 1998 по 2007 гг.) увеличение показателя заболеваемости РМЖ с 55,3 до 69,5 на 100 тыс. женского населения. Прирост заболеваемости оставил 25,7%. Абсолютное число вновь заболевших раком молочной железы в 2007 году 3632 против 2508 больных РМЖ в 1993 году. В структуре онкологической заболеваемости среди женского населения Беларуси РМЖ занимает второе место и удельный вес этой патологии составляет 17,7%, а в структуре общей заболеваемости – пятое место. В России за период с 1980 по 1999 г. заболеваемость РМЖ увеличилась на 70% – с 22,6 до 38,3 на 100 тыс. женского населения, а среди злокачественных новообразований – на 100 тыс. женского
населения приходится 277,9 случаев РМЖ [2], или первое место в структуре заболеваемости; в течении первого года с момента установления диагноза РМЖ на 2003 год летальность составила 12,1%.

Молекулярные и генетические аспекты канцерогенеза при РМЖ

Главной причиной роста заболеваемости РМЖ является заметное увеличение доли людей, достигающих пожилого возраста. Вероятность заболевь РМЖ увеличивается с возрастом. Риск РМЖ в течение 10 лет составляет 1:72 для женщин 40-49 лет, 1:36 – для женщин 50-64 лет и 1:29 – для женщин старше 70 лет. Действительно, несмотря на относительно частую встречаемость РМЖ у молодых женщин, риск данного заболевания после 65 лет в 150 раз превышает таковой у лиц моложе 30 лет. Хотя известно несколько десятков факторов риска РМЖ, их можно условно разделить на две категории:
1) поведенческие или наследственные особенности, ассоциированные с гиперэстрогеней;
2) наследственная неполноценность систем обеспечения целостности генома [3 ].

Согласно современным представлениям о канцерогенезе, в основе злокачественной трансформации клеток лежит активация единичных или множественных клеточных онкогенов или генов-супрессоров опухолей (ГЕН p53, ГЕН RB) [3]. Онкогены – это активированные вследствие мутаций или по другим причинам клеточные протоонкогены продукты которых стимулируют одну из стадий раковой прогрессии клетки, действуя доминантным образом, или гены онкогенных вирусов, вызывающие малигнизацию клеток и образование раковых опухолей.

Протоонкогены – гены, участвующие в регуляции транскрипции, росте, передаче сигналов внутри клетки и т.д. При изменении их структуры, или экспрессии нарушаются процессы нормального клеточного цикла.
Гены-супрессоры (антионкогены, рецессивные опухолевые гены) — кодируют белки, участвующие в пролиферации.

Подсчитано, что, по крайней мере, шесть изменений на генетическом уровне требуется для развития злокачественного клона [4]. С точки зрения биологии опухолей ожидается, что эти гены влияют на разнообразные функции, включающие, среди прочих, иммortalизацию, независимый от затяжения рост, тканевую инвазионность и антигенез. Развитие опухолей — это сложный многоэтапный процесс, который контролируется большим числом разных генов. Каждый этап зависит от наличия или отсутствия целого ряда белков, т.е. от экспрессии или «молчания» ряда генов. Возможны разные пути реализации программы, ведущей к превращению относительно доброкачественной первичной опухоли в злокачественную и метастазирующую [4].

Изменения в геноме клетки могут быть закрепленными в геноме (аберрации), и, следовательно, передаваться по наследству, либо возникают в клетке в результате каких-то внешних или внутренних мутагенов.

К структурным компонентам генома, контролирующим возникновение, рост, гибель клетки относят протонкогены, гены-супрессоры, гены-модуляторы. Гены-модуляторы — гены, способствующие распространению опухоли в организме, но не регулирующие само перерождение клетки в злокачественную. [5].

Прогресс молекулярной генетики с привлечением биохимии позволяет по-новому рассмотреть некоторые стороны этиологии и патогенеза РМЖ, базируясь на результатах клинических и эпидемиологических исследований. На сегодняшний день патогенез РМЖ можно рассматривать как результат многоступенчатых генетических мутаций, происходящих в течение длительного промежутка времени в клетках протоков и долек молочной железы. Нормальная клетка
Особый интерес при раке молочной железы представляет онкоген c-erb (HER2/neu) и онкоген bcl-2. Экспрессия белка p185, кодируемого онкогеном HER2/neu определяется иммуногистохимически в 15-30% случаев РМЖ. Онкоген bcl-2 определяет механизм клеточной смерти, подавляя апоптоз. Экспрессия bcl-2 связана с благоприятным прогнозом клинического течения РМЖ. В настоящее время четко установлено, что амплификация онкогенов является общей характеристикой при раке груди [6]. Меньше число амплификаций характерно для рецепторов факторов роста, т.е. рецептора EGF, IGF1 и FGF. Выявлено, что амплификация онкогенов включает ERBB2, MYC и INT2. До 40% опухолей груди могут иметь, по крайней мере один из этих генов амплифицированным.

Дефекты ДНК происходят в онкогенах, ответственных за рост, гибель, дифференцировку, хромосомную репликацию. Гены, отвечающие за клеточное деление, способствуют передаче сигнала к ядру клетки, в конечном итоге, стимулируя клеточную репликацию и переход из фазы G0 в фазу S. Митогенные агенты напрямую либо опосредованно запускают деление мутированных клеток и их пролиферацию, а токсические агенты индуцируют развитие выживших клеток, таким образом репопулируется измененная ткань молочной железы [5, 6].
Необходимо оговориться, что самостоятельно пролиферация не ведет к клеточным повреждениям, а создает необходимую среду для деления и роста мутированных клеток. Таким образом, влияние повреждающих факторов должно быть направлено на оба типа молекулярных повреждений: мутацию ДНК и индукцию клеточной пролиферации. Но вероятнее всего, одна из наиболее важных внутренних внутриклеточных причин - это наследование поврежденного гена, которое увеличивает индивидуальный риск РМЖ. Но, наследование мутированных генов не является определяющим моментом, необходимы внешние повреждающие факторы.

Спорадический рак молочной железы не имеет признаков наследственной предрасположенности. Вероятность развития спорадического РМЖ в течение жизни составляет 12% [7]. Семейный РМЖ – это заболевание аутосомно-домinantным типом наследования, характеризующееся наследственной предрасположенностью. На сегодняшний день выделяют «семейный» и «наследственный» рак молочной железы. Совокупность больших опухолей молочной железы в пределах одной семьи, подверженных вероятнее всего общим внешним канцерогенным факторам, относят к «семейному» раку. Необходимо разделять понятия «семейный» и «наследственный» рак молочной железы. При семейном РМЖ имеется определенное количество случаев данного заболевания у кровных родственников в пределах одной семьи. При семейном РМЖ повреждений в геноме, на современном уровне развития молекулярной генетики, мы не находим. Приблизительно 15-20% случаев РМЖ это семейный рак не связанный с нарушением в генах BRCA1, BRCA2. Семейный рак молочной железы имеет генетические признаки предрасположенности к наследованию, но непосредственного повреждения генетического материала не обнаруживается, и вероятнее всего возникновение его связано с
влиянием обших внешних или внутренних канцерогенных факторов в пределах одной семьи, которые на сегодняшний день еще не выявлены.

Только 5% случаев рака молочной железы имеют истинно наследственную природу, связанную с мутацией генов BRCA-1, BRCA-2. Непосредственно «раковые мутации» являются основной причиной наследственных форм опухолей молочной железы. Люди с подобными генетическими повреждениями определенное время являются здоровыми, но риск возникновения рака молочной железы достигает огромных величин. Кроме того, наличие BRCA-1, BRCA-2-мутаций увеличивает в 10 раз вероятность рака яичников, а также риск развития рака во второй молочной железе до 35% [8, 12].

Женщины, у которых родственники первой степени родства болели РМЖ, риск заболевания увеличивается в 2-3 раза по сравнению с общей популяцией, и в 8 раз – если болела родная сестра [9]. Если рак у родственников возник в пременопаузальном периоде или опухоль обнаружена и у других родственников, риск увеличивается еще больше. Если пять кровных родственников по одной линии родства страдали РМЖ, то вероятность развития этого заболевания 1 из 3; если таких родственников 10 и более, то риск возникновения выше 1 из 2.

Характеристика мутаций высокопенетrantных генов позволяет по-новому взглянуть на этиологию и патогенез наследственного РМЖ и разработать меры ранней диагностики, профилактики и лечения. Обоснование генетической модели с учетом выявления генов предрасположенности позволило по-новому рассматривать спорадические и наследственные формы РМЖ [6, 7, 8].

Структура белка BRCA1, подтвержденная данными, полученными in vitro, предполагает его многофункциональность, включая роль в репарации ДНК, транскрипционной трансактивации
генов и регуляции клеточного цикла. BRCA1 — большой ген, содержащий 22 кодирующих и 2 некодирующих экзона. Он занимает 100 Кб геномной ДНК на хромосоме 17, локус 17 q 21, и кодирует белок массой 200кDa, включающий 1863 аминокислоты. Кодирующая последовательность распределена неравномерно, самый крупный 11-й экзон кодирует 60% пептидной цепи.

В составе белка идентифицировано несколько доменов связывания, связывающий RING finger домен, локализованный на N-конце пептида, необходим для белок-белковых взаимодействий, включая взаимодействия с относительно недавно обнаруженным белком BARD1 (BRCA-associated RING-domain protein) и убиквитиновой гидролазой BAP1 (BRCA-associated protein). BRCA1 также связывает RAD1, белок, вовлеченный в репаразию и рекомбинацию ДНК. Кроме того, BRCA1 связывается с некоторыми специфическими регуляторами транскрипции, такими как p53, Muc, E2F, и имеет транскрипционный трансактивирующий домен на C-конце. Мутация гена BRCA1, увеличивает риск развития гормонозависимых опухолей (рак предстательной железы, РЯ, РМЖ) не только влиянием на апоптоз и пролиферацию, но через взаимосвязь с эстрогенами: происходит угнетение эстроген-рецепторного механизма. Эстроген-зависимая транскрипция подавляется прямым влиянием «дикого» типа BRCA1 [9,10,14].

Ген BRCA2, локализованный на 13 хромосоме, локус 13 q 12-13, имеет 27 кодирующих экзонов и кодирует пептид из 3148 аминокислот. Особенностью белка является наличие 8 копий из 30-80 аминокислотных повторов в участке белка, кодируемом экзоном 11. Сейчас этот регион известен как центр связывания белка RAD1. Таким образом, подобно BRCA1, белок BRCA2, вероятно, играет роль в репарации двунитевых разрывов ДНК. Кроме того, BRCA2, содержит также трансактивирующий домен и имеет область, связывающую
гистонацетилтрансферазу, что, возможно, говорит о его способности участвовать в процессе транскрипции.

В некоторых популяциях часто встречающиеся мутации в BRCA1 и BRCA2 возникают в результате «эффекта основателя» (founder effect). Наилучшим примером являются мутации у потомков евреев Ашкенази, у которых было идентифицировано 3 характерные мутации с совокупной частотой встречаемости в популяции около 2,5%. Наиболее частой является мутация 6174 del T в BRCA2 (примерно 1,5% у евреев Ашкенази). BRCA1-мутации 185 del AG и 5382 ins C представлены у евреев Ашкенази с частотой 1% и 0,1%, соответственно. Иначе говоря – среди них каждый сотый является носителем однотипной мутации BRCA1- делении двух нуклеотидов, обозначаемой 185delAG; такое единообразие объясняется наличием общего предка. Таким образом, эти наследственные мутации являются причиной примерно одной трети всех случаев РМЖ, диагностированных у женщин еврейского (Ашкенази) происхождения в возрасте до сорока лет.

Относительно высокая частота founder мутаций была описана и в других популяциях: исландской, франко-канадской, голландской, норвежской и шведской. Напротив, в общей популяции мутации BRCA1 и BRCA2 представлены с частотой менее 0,2%. Популяционные исследования в Австралии, Великобритании и США позволяют предположить, что эти мутации характерны только для 5-10% случаев РМЖ у пациентов с диагнозом, установленным до 40-45 лет.

Носительство мутаций в BRCA1 и BRCA2 увеличивает индивидуальный риск развития РМЖ до 85-100%. Мутации генов BRCA1 встречаются в 1,5-2 раза чаще чем BRCA2. Вероятность мутаций BRCA выше, если РМЖ выявляется в молодом возрасте, имеется двухстороннее поражение молочных желез, или РЯ был
диагностирован у самой пациентки или ее ближайших родственников. Пациенты с синдромом Ашkenази и мужчины с диагнозом РМЖ, а так же их родственники имеют высокую вероятность являться носителями дефектного гена BRCA1. Считается, что примерно 1 из 833 женщин и менее чем 5% больных РМЖ имеют мутацию гена BRCA1.

Мутации в генах BRCA ассоциированы не только с РМЖ, но и с РЯ. Пенетрантность BRCA-дефектов по отношению к РЯ несколько ниже, и составляет примерно 30-60%. Вероятность мутаций BRCA представлена в таблице 1.

Мутации в этих генах объясняют примерно 20% семейной агрегации РМЖ на уровне общей популяции. Положительный семейный анамнез в отношении РМЖ – один из самых значительных факторов риска развития заболевания. Относительно редко наследственные формы РМЖ связаны с носительством мутаций в других генах, таких как p53, ATM, СНЕК-2 и т.д.

Клинические особенности и прогноз наследственного рака молочной железы

Полагают, что вследствие особенностей молекулярного патогенеза, прогноз BRCA1-и BRCA2- ассоциированных РМЖ может отличаться от прогноза ненаследственных РМЖ. С целью изучения клинических особенностей и прогноза наследственного РМЖ, в основе которого лежат мутации BRCA1 и BRCA2, был проведен ряд исследований, однако все эти работы были ретроспективными и имели ряд методологических ограничений, вероятно объясняющих их разноречивые данные Lynch H. [11] определил клинические особенности наследственного РМЖ:

1) ранний возраст возникновения РМЖ (средний возраст больных наследственным РМЖ 44 года; 2) высокий риск развития билатерального рака молочной железы – БРМЖ (вероятность
возникновения рака во второй молочной железы с наследственным РМЖ 46% в течение 20 лет); 3) интегральный специфический наследственный синдром, характеризующийся сочетанием различных опухолей у кровных родственников (синдром Blooma, синдром Cowden, молочно-яичниковый синдром и т.д.).

Таблица 1

Вероятность мутаций в генах BRCA в зависимости от отдельных клинических групп

<table>
<thead>
<tr>
<th>Клинические группы</th>
<th>Вероятность мутаций BRCA</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>РМЖ до 30 лет</td>
<td>30%</td>
</tr>
<tr>
<td>РМЖ до 40 лет</td>
<td>10-20%</td>
</tr>
<tr>
<td>РМЖ и синдром Ашkenази</td>
<td>30%</td>
</tr>
<tr>
<td>РМЖ и РЯ</td>
<td>80% преимущественно BRCA1</td>
</tr>
<tr>
<td>РМЖ и другой рак (не РЯ)</td>
<td>25%</td>
</tr>
<tr>
<td>РМЖ у мужчин</td>
<td>&gt;90% преимущественно BRCA2</td>
</tr>
</tbody>
</table>

В Великобритании 16% РМЖ, возникшего до 55 лет определяется мутациями в генах BRCA1, BRCA2 [7].

В необходимости проведения консультации врача-генетика и лабораторной диагностики ДНК нуждаются пациенты, имеющие следующие клинические особенности РМЖ или их сочетания:

- случаи РМЖ и/или РЯ у кровных родственников больной (у сестёр, матери, дочери, бабушки);
- выявление РМЖ в молодом возрасте (до 45 лет; в некоторых исследованиях ранний возраст рассматривался до 50 лет);
- синхронный и метахронный БРМЖ;
- сочетание РМЖ и РЯ
Для таких пациентов необходимость в определении статуса генов BRCA очевидна. У женщин с наличием мутации в генах BRCA1 риск развития РМЖ на протяжении жизни составляет 50-80%, развития рака во второй молочной железе – 40-60%, РЯ – 15-45% рака яичников. Женщины с мутацией гена BRCA2 имеют риск развития рака молочной железы на протяжении жизни 50-85%, и РЯ – 10-20%. У мужчин с мутацией гена BRCA2 риск развития РМЖ на протяжении жизни составляет 6%, что в 150-200 раз выше, чем в обычной популяции. Риск развития рака предстательной железы, кишечника, гортани, кожи и эндометрия, также как и лейкемии вследствие химиотерапии, повышается при наличии мутаций в генах BRCA.

Основываясь на данных о семьях с множественными случаями РМЖ, исследователи Breast Cancer Linkage Consortium (BCLC) выяснили, что у женщин-носительниц мутации BRCA1 кумулятивный риск РМЖ и РЯ к 70 годам составляет 87% (95% доверительный интервал 72-95%) и 44%, соответственно (95% доверительный интервал 28-56%). Соответствующий риск (также основанный на данных BCLC) для женщин-носительниц BRCA2 мутаций составляет 84% (95% доверительный интервал 43-95%) и 27% (95% доверительный интервал 0-47%), соответственно.

Пятилетняя общая выживаемость пациентов с генетическими дефектами в генах BRCA1, BRCA2 составляет 86%; по продолжительности безрецидивного промежутка и частоты местных рецидивов нет существенных различий при сравнении со случаями спорадического РМЖ [7, 12]. У женщин с наследственной предрасположенностью к раку молочной железы профилактическая мастэктомия рассматривается, как радикальный способ избежания столь грозного заболевания. У носителей BRCA1 и BRCA2-мутаций овариоэктомия снижает вероятность развития РЯ до 90%, тогда как
 риск возникновения РМЖ снижается на 50%. Профилактическая мастэктомия у таких пациентов снижает риск развития РМЖ, однако не гарантирует пациентке полного избавления [15, 16].

Заключение

Все это определяет необходимость разработки и внедрения автоматизированных систем генетического скрининга и мониторинга онкологически отягощенных семей, идентификации наследственно обусловленных форм рака и предрасположенности к их развитию. Знание прогноза чрезвычайно важно, поскольку возможно может в той или иной мере повлиять на выбор адьювантной терапии, а также на определение степени риска для профилактической хирургии и других возможных превентивных мероприятий. В этом отношении важным направление является поиск высокоинформативных прогностических факторов среди многочисленных и активно изучаемых молекулярных маркеров опухоли. Производя прогностическую оценку, с использование всех известных факторов, генетик должен выработать для пациентки индивидуальный алгоритм наблюдения, который бы гарантированно обеспечил обнаружение начала канцерогенеза и соответственно полноценное радикальное лечение.

Идентификация высокопенентрантных к развитию РМЖ генов BRCA1 и BRCA2, привела к лучшему пониманию молекулярного патогенеза ряда наследственных раков и к открытию новой эры в изучении РМЖ, что обещает значительно снизить заболеваемость и смертность при этой патологии. Необходимо детально изучать характер распределения признаков наследственного РМЖ (подробное изучение семейного анамнеза, ранний возраст возникновения РМЖ до 45 лет, первично-множественный характер процесса и т.д.), а также анализировать взаимосвязь между
себой перечисленных особенностей и носительством «горячих» мутаций в генах BRCA1 и BRCA2.

Необходимо четко определить сходные и различные признаки наследственного и спорадического РМЖ, используя, по показаниям, генетическое консультирование для пациентов с учетом клинических особенностей перечисленных выше. Диагноз «наследственного» РМЖ имеет на сегодняшний день огромную клиническую значимость, т.к. позволяет обнаружить у женщин с помощью лабораторных тестов высокий риск возникновения РМЖ и РЯ. Необходимо определить, какое количество пациентов нуждается в подобном дополнительном обследовании, которое позволяет идентифицировать наследственные формы РМЖ; проанализировать связь между наличием мутаций в генах BRCA1, BRCA2 и клиническими характеристиками наследственного РМЖ.

Литература