

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
(ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России)

На правах рукописи

КАГИРОВА ЭВЕЛИНА МАРСЕЛЬЕВНА

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАКА
МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И РАКА ЯИЧНИКОВ У ЖЕНЩИН ИЗ
РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН**

1.5.7. Генетика (биологические науки)

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
кандидат биологических наук, доцент кафедры медицинской генетики и
фундаментальной медицины БГМУ Миннихметов Илдар Рамилевич

Уфа – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	12
1.1 Эпидемиология, этиология и факторы риска возникновения рака молочной железы и рака яичников.....	12
1.2 Гистопатологическая и молекулярная классификация рака молочной железы..	22
1.3 Гистопатологическая и молекулярная классификация рака яичников.....	26
1.4 Роль сигнальных путей, задействованных при раке молочной железы и раке яичников	29
1.5 Предиктивное значение мутаций в гене <i>PIK3CA</i> при раке молочной железы...	37
1.6 Наследственный рак молочной железы и яичников.....	39
1.7 Перспективы мультиомиксных подходов в диагностике рака молочной железы и рака яичников.....	45
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	52
2.1 Материалы исследования.....	52
2.2 Методы исследования.....	53
2.2.1 Выделение ДНК.....	53
2.2.2 Массовое параллельное секвенирование ДНК.....	55
2.2.3 ПЦР в режиме реального времени.....	57
2.3 Биоинформатический анализ данных.....	61
2.4 Дизайн исследования.....	62
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....	64
3.1 Поиск и идентификация вариантов изменения нуклеотидной последовательности в опухолевой ткани женщин с раком молочной железы	64
3.1.1 Идентификация вариантов изменения нуклеотидной последовательности в опухолевой ткани женщин с трижды негативным раком молочной железы.....	64
3.1.2 Идентификация вариантов изменения нуклеотидной последовательности в опухолевой ткани женщин с гормонозависимым раком молочной железы.....	79

3.1.3 Сравнительный анализ выявленных патогенных вариантов в образцах опухолевой ткани у пациентов с трижды негативным и гормонозависимым раком молочной железы.....	84
3.2 Поиск и идентификация герминальных вариантов изменения нуклеотидной последовательности у женщин с раком молочной железы.....	92
3.2.1 Идентификация герминальных вариантов изменения нуклеотидной последовательности у женщин с трижды негативным раком молочной железы.....	92
3.2.2 Идентификация герминальных вариантов изменения нуклеотидной последовательности у женщин с гормонозависимым раком молочной железы.....	112
3.3 Сочетания мутаций в генах <i>ATM</i> , <i>BRCA1</i> , <i>BRCA2</i> , <i>PTEN</i> и <i>TP53</i> в опухолевой ткани пациентов с раком молочной железы.....	130
3.4 Поиск и идентификация вариантов изменения нуклеотидной последовательности у женщин с серозным типом раком яичников.....	138
3.4.1 Идентификация вариантов изменения нуклеотидной последовательности в опухолевой ткани женщин с серозным раком яичников.....	138
3.4.2 Идентификация герминальных вариантов изменения нуклеотидной последовательности у женщин с серозным типом раком яичников.....	149
3.5 Оценка герминального происхождения мутаций, выявленных при профилировании опухолевой ткани у женщин с раком молочной железы и раком яичников.....	157
3.6 Идентификация патогенных вариантов в гене <i>PIK3CA</i> у женщин с раком молочной железы.....	160
ОБСУЖДЕНИЕ.....	166
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	171
ВЫВОДЫ.....	181
ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	183
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	184

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность и степень разработанности исследования

Онкологические заболевания в Российской Федерации, как и во всем мире, остаются одной из самых острых и актуальных проблем здравоохранения. Несмотря на достижения медицины, многие задачи в этой области остаются нерешенными. Российское правительство считает, что для повышения продолжительности жизни населения необходимо в ближайшие годы сосредоточиться на этих вопросах. Одной из ключевых задач является ранняя диагностика, так как зачастую заболевания выявляются на поздних стадиях, что снижает шансы на успешное лечение. В связи с этим необходимо уделить повышенное внимание созданию эффективной системы профилактики и скрининга злокачественных новообразований, что позволит своевременно выявлять заболевания и предотвращать их развитие.

Рак молочной железы (РМЖ) является одним из наиболее распространенных онкологических заболеваний среди женщин, и его диагностика представляет собой сложный многофакторный процесс, учитывающий клинические, морфологические и молекулярно-генетические характеристики опухоли. В 2022 году в России диагноз РМЖ был поставлен у 68 297 пациентов, что составило 19,1% от общего числа онкологических заболеваний за этот период. Летальность среди пациентов с РМЖ достигла 20 620 человек (4,6%). С каждым годом в России увеличивается число пациентов с РМЖ, состоящих на медицинском учете более 5 лет (Каприн и др., 2022). Особое внимание уделяется трижды негативному раку молочной железы (ТНРМЖ), который является наиболее агрессивным подтипом и составляет около 12-20% всех случаев РМЖ и характеризуется отсутствием экспрессии рецепторов эстрогенов, прогестерона и HER2/neu. Этот подтип ассоциируется с самыми низкими показателями выживаемости ($p < 0,0001$), что требует более тщательного молекулярного профилирования и использования современных молекулярно-генетических методов для точной диагностики и прогноза заболевания (Патышева и др., 2023).

Важную роль в диагностике и лечении РМЖ играет изучение молекулярного портрета опухоли, который позволяет классифицировать рак по подтипам, выявлять ключевые молекулярные маркеры и направлять пациентов на индивидуализированную терапию. Анализ молекулярного профиля опухоли позволяет точно определить мутации и изменения, происходящие в ДНК опухолевых клеток, что помогает в выборе наиболее эффективных терапевтических подходов. Одним из важных направлений современной молекулярно-генетической диагностики является выявление герминальных мутаций, которые могут быть унаследованы и повышать риск развития рака у пациента и его родственников. Например, мутации в генах *BRCA1* и *BRCA2* значительно увеличивают риск развития как рака молочной железы, так и рака яичников, что подчеркивает необходимость их исследования не только для прогнозирования, но и для профилактики заболевания у членов семьи. Однако наряду с *BRCA1/2* важным является исследование и других генов, таких как *TP53*, *PALB2*, *CHEK2*, *RAD51C/D*, *ATM* и др., которые также могут играть значительную роль в повышении риска развития онкологических заболеваний (Sokolova et al., 2023).

Рак яичников (РЯ) является восьмым по распространенности видом рака у женщин, достигая уровня 10,46 случаев на 100 тысяч женщин в год. В 2022 году в России были выявлены злокачественные опухоли яичников у 13 273 женщин, и при этом примерно 7 213 (2,1%) женщин умерли от данного заболевания. Подобная ситуация также наблюдается в различных регионах страны, включая Республику Башкортостан (Каприн и др., 2022). Большую часть (90%) опухолей яичников составляет серозный тип эпителиального рака яичников. Изучение молекулярного портрета опухоли при раке яичников также имеет важное значение для выбора тактики лечения. Молекулярно-генетическая диагностика позволяет оценивать другие гены, связанные с канцерогенезом, что помогает предсказать поведение опухоли и потенциальную чувствительность к различным видам терапии. Кроме того, выявление герминальных мутаций помогает не только в лечении, но и в профилактике, особенно для женщин с семейным анамнезом РЯ. Это позволяет проводить раннюю диагностику и даже превентивные меры для членов семьи, что в

итоге может снизить заболеваемость и смертность от этого агрессивного вида рака (Валова, 2023; Minniakhmetov et al., 2022; Бермишева, 2021).

Внедрение технологии высокопроизводительного секвенирования (NGS) является наиболее значительным прогрессом в диагностике молекулярного патогенеза заболеваний человека в целом и в онкологии в частности. Использование нового класса таргетных, молекулярно-ориентированных препаратов позволяет воздействовать на ключевые внутриклеточные мишени, отражающие жизнедеятельность опухолевой клетки. Применение NGS-технологии ускоряет процесс выявления патогенных изменений в таргетных генах, обеспечивает раннюю диагностику опухолевого процесса, точное молекулярное профилирование опухоли в результате чего возможно определение прогноза развития заболевания и подбор наиболее эффективной терапии.

Таким образом, важность изучения молекулярного портрета опухоли и герминальных мутаций при раке молочной железы и яичников заключается в том, что эти исследования являются неотъемлемой частью современной онкологии, позволяя не только улучшить диагностику, но и разработать индивидуализированные подходы к лечению и профилактике. Это особенно важно для повышения выживаемости пациентов и улучшения их качества жизни, что является приоритетом в борьбе с онкологическими заболеваниями в России.

Цель исследования

Оценка спектра и частоты герминальных и соматических мутаций при раке молочной железы и яичников у женщин из Республики Башкортостан с учетом подтипов опухоли, наследственных факторов и структуры исследуемой выборки.

Задачи исследования

1. Выявление изменений нуклеотидных последовательностей 17 генов системы репарации ДНК в образцах опухолевой ткани и цельной крови пациентов с раком

молочной железы и раком яичников методом таргетного массового параллельного секвенирования.

2. Сравнительный анализ спектра и частоты выявленных соматических и герминальных изменений нуклеотидной последовательности, выявленных при таргетном секвенировании генов системы репарации ДНК у пациентов с разными формами и типами рака молочной железы.

3. Скрининг мутаций гена *PIK3CA* в опухолевой ткани пациентов с гормонозависимым (ER+PR+HER2-) раком молочной железы.

4. Сравнительный анализ спектра и частоты выявленных соматических и герминальных вариантов в исследованных генах системы репарации ДНК у пациентов с раком яичников.

5. Создание баз данных по спектру и частотам патогенных и вероятно патогенных вариантов, встречающихся у пациентов с раком молочной железы и раком яичников из Республики Башкортостан.

Научная новизна

Впервые в Республике Башкортостан выявлен спектр и частоты вариантов изменения нуклеотидной последовательности в образцах опухолевой ткани женщин с трижды-негативным раком молочной железы (ER-PR-HER2-, ТНРМЖ), гормонозависимым раком молочной железы (ER+PR+HER2-РМЖ) и серозным типом рака яичников.

Выявлены редкие, ранее не описанные патогенные варианты в генах *BRCA1* (с.1430del, с.2496del, с.5159G>A, с.5566C>T, с.3743_3752del, с.9463_9464insG), *BRCA2* (с.3023_3026del, с.476-3_476-2del, с.476-2A>T, с.5874T>A), *CHEK2* (с.1137+1G>A, с.1497dup), *TP53* (с.322_326del, с.709delA, с.320dupA) и *FANCL* (с.712_714del) у пациентов с раком молочной железы и раком яичников.

Впервые обнаружены редкие синонимичные варианты с установленной клинической значимостью в генах *ATM* - с.3576G>A(p.Lys1192=) и *BRIP1* - с.507G>A (p.Gln169=) у женщин с ER+PR+HER2-раком молочной железы.

Впервые доказана этническая специфичность патогенного варианта *BRCA1**с.5161C>T (p.Gln1721Ter), который встречается преимущественно у женщин с раком молочной железы татарского этнического происхождения в Республике Башкортостан.

Впервые в Республике Башкортостан в опухолевой ткани пациентов с ER+PR+HER2-PMЖ определен спектр и частоты выявленных вариантов в гене *PIK3CA*.

Впервые созданы базы данных по спектру и частотам патогенных вариантов с учетом популяционных особенностей региона и типа опухолей у пациентов с раком молочной железы (свидетельство о регистрации № 2024623071 от 12.07.2024 г.) и с раком яичников (свидетельство о регистрации № 2024624198 от 26.09.2024г.).

Научно-практическая значимость работы

Молекулярно-генетические исследования злокачественных новообразований имеют высокую научно-практическую значимость в сфере онкогенетики и позволяют более точно классифицировать различные подтипы рака молочной железы и яичников. Исследования генетических вариантов могут помочь выявить наличие наследственной предрасположенности к развитию рака молочной железы и яичников, что позволяет реализовать меры профилактики и скрининга в группах риска. Помимо этого, молекулярно-генетические исследования опухолевой ткани расширяют понимание биологии рака и помогают выявлять новые мишени для лекарственных препаратов, что способствует развитию новых методов лечения, направленных на конкретные генетические варианты. В целом, исследование молекулярного портрета опухоли и герминальных мутаций при раке молочной железы и раке яичников являются неотъемлемой частью современной онкологии, позволяя не только улучшить диагностику, но и разработать индивидуализированные подходы к лечению и профилактике. Результаты этих исследований являются междисциплинарными и могут быть использованы при

чтении лекций для студентов биологических факультетов, в медицинских вузах и при повышении квалификации медицинского персонала.

Методология и методы исследования

С учетом значительного прогресса в области геномики и технологий NGS, данная работа была нацелена на детальное исследование генетического профиля опухолей с использованием современных технологий. Биоматериал был собран с соблюдением этических норм и стандартов. Для молекулярно-генетического анализа использовались высокоточные современные методы диагностики. Исследование проводилось в лаборатории молекулярно-генетической диагностики ГБУЗ Республиканского медико-генетического центра (Уфа).

Положения, выносимые на защиту

1. Мутационный профиль опухолей у 44,6% пациентов с трижды негативным типом рака молочной железы составили 46,7% (29/62) патогенных и 9,6% (6/62) вероятно патогенных вариантов в генах *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *PTEN* и *TP53*; у 39,1% пациентов с гормонозависимым типом рака молочной железы - 72,7% (8/11) патогенных вариантов в генах *BRCA1*, *BRCA2* и *CHEK2*.
2. У 17,4% пациентов с трижды негативным раком молочной железы выявлено 65,4% (51/78) герминальных мутаций в генах *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BARD1*, *CHEK2*, *FANCL*, *PALB2* и *RAD51C*; у 15,4 % пациентов с гормонозависимым раком молочной железы обнаружено 60% (39/65) герминальных мутаций в генах *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BARD1*, *CHEK2*, *BRIP1*, *PALB2* и *CDK12*.
3. У пациентов с гормонозависимым раком молочной железы из Республики Башкортостан в образцах опухолевой ткани выявлено 12 мутаций в гене *PIK3CA*, среди которых наиболее частые - с.3140A>G (p.His1047Arg) - в 21,9% образцов опухолей и с.1624G>A (p.Glu542Lys) - в 14,3% образцов опухолей. Установлено, что

38,6% женщин с мутациями в гене *PIK3CA* подходят для таргетной терапии алпелисибом в комбинации с фулвестрантом.

4. У 50% пациентов с серозным типом рака яичников в опухолевой ткани выявлено 57,9% (33/57) патогенных вариантов в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *PTEN*, *TP53*; у 22,2% женщин в цельной крови обнаружено 56,8% (29/51) герминальных мутаций в генах *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CHEK2*, *FANCL* и *RAD51C*.
5. Базы данных выявленных соматических и герминальных вариантов в генах системы репарации ДНК у женщин с раком молочной железы и раком яичников из Республики Башкортостан созданы с учетом формы заболевания и типа опухоли.

Степень достоверности и апробация результатов

Полученная достоверность результатов подтверждается репрезентативностью выборки и использованием современных методов в области молекулярно-генетического, биоинформационного и статистического анализа. Результаты исследования соотносятся с данными, изложенными в научной литературе как отечественного, так и зарубежного происхождения. Презентация материалов исследования осуществлялась на международных и российских конференциях.

Личный вклад автора в проведенные исследования

Автор лично разрабатывал общую структуру работы, дизайн исследования, включая разработку стратегии сбора биоматериала, определение критериев выбора объекта исследования и оптимизацию методологического подхода. Автор лично проводил молекулярно-генетические исследования, обработку и интерпретацию полученных данных с использованием современных биоинформатических методов. Автором систематизированы результаты исследования, подготовлены и опубликованы печатные работы в журналах, рекомендованных перечнем ВАК, в которых отражены основные результаты работы.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 7 печатных работ, в том числе 3 статьи в журналах рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, из них 2 статьи в изданиях, индексируемые в международной базе Scopus, имеется два зарегистрированные базы данных.

Соответствие диссертации паспорту научной деятельности

Диссертационная работа «Молекулярно-генетическая характеристика рака молочной железы и рака яичников у женщин из Республики Башкортостан» соответствует формуле специальности 1.5.7. Генетика. В исследовании был проведен поиск изменений нуклеотидной последовательности 17 генов у женщин с раком молочной железы и раком яичников из Республики Башкортостан с использованием современных молекулярно-генетических и биоинформатических методов анализа генома человека. Области исследования: «Генетика человека. Медицинская генетика. Наследственные болезни», «Молекулярные и цитологические основы наследственности», «Онкогенетика».

Структура и объем работы

Текст диссертации соответствует традиционной структуре и включает в себя введение, основную часть и заключение. Основная часть работы состоит из несколько глав, включающих обзор литературы, где рассматривается актуальность проблемы, а также материалы и методы исследования, полученные результаты и их последующее обсуждение. Список цитируемой литературы содержит 274 источника. Диссертация изложена на 227 страницах машинописного текста, содержит 21 таблицу и 13 рисунков.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Эпидемиология, этиология и факторы риска возникновения рака молочной железы и рака яичников

Рак молочной железы (РМЖ) в настоящее время является самым частым онкологическим заболеванием у женщин. В 2022 году с данной патологией было диагностировано 2,3 миллиона случаев, что составляет 11,6% от общего числа новых онкологических случаев (рисунок 1). По степени распространенности РМЖ обгоняет рак легких, но уступает по уровню смертности (Hong et al., 2022). В России за 2022 год диагноз РМЖ был поставлен 68 297 пациентам, что составило 21% от всех случаев онкологии за этот год (Каприн и др., 2022).

В Республике Башкортостан рак молочной железы также занимает первое место среди всех злокачественных новообразований. За 2021 год в Республике Башкортостан было выявлено 1 688 случаев РМЖ, из них 520 закончились летальным исходом (Каприн и др., 2022). На диспансерном учете состоят 17 156 человек со злокачественными новообразованиями молочной железы, при этом порог пятилетней выживаемости переступают 10 543 человека. Одним из факторов риска развития РМЖ является половая принадлежность – большинством заболевших являются женщины. У мужчин РМЖ тоже встречается, но гораздо реже, примерно 1 случай на 100 тыс. населения, однако у мужчин РМЖ протекает более агрессивно, чем у женщин.

Несмотря на раннее выявление РМЖ на I и II стадиях, показатели смертности все ещё остаются высокими не только в России, но и во всем мире. Согласно мировой статистике, смертность от РМЖ за 2022 год составила 670 000, и это 6,9% от общего числа летальных исходов от злокачественных новообразований (рисунок 2). Более высокий уровень смертности наблюдается в странах Западной Азии по сравнению с Австралией, Европой и Северной Америкой, где уровень смертности ниже (Sung et al., 2021).

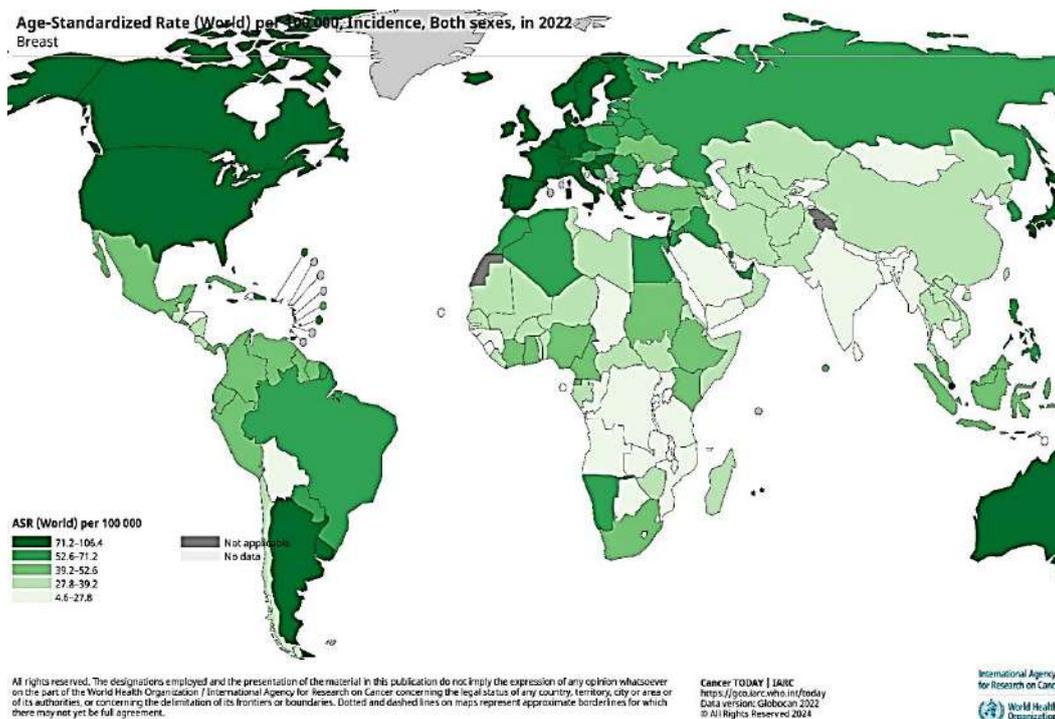


Рисунок 1 – Данные ВОЗ о заболеваемости РМЖ на 2022 год

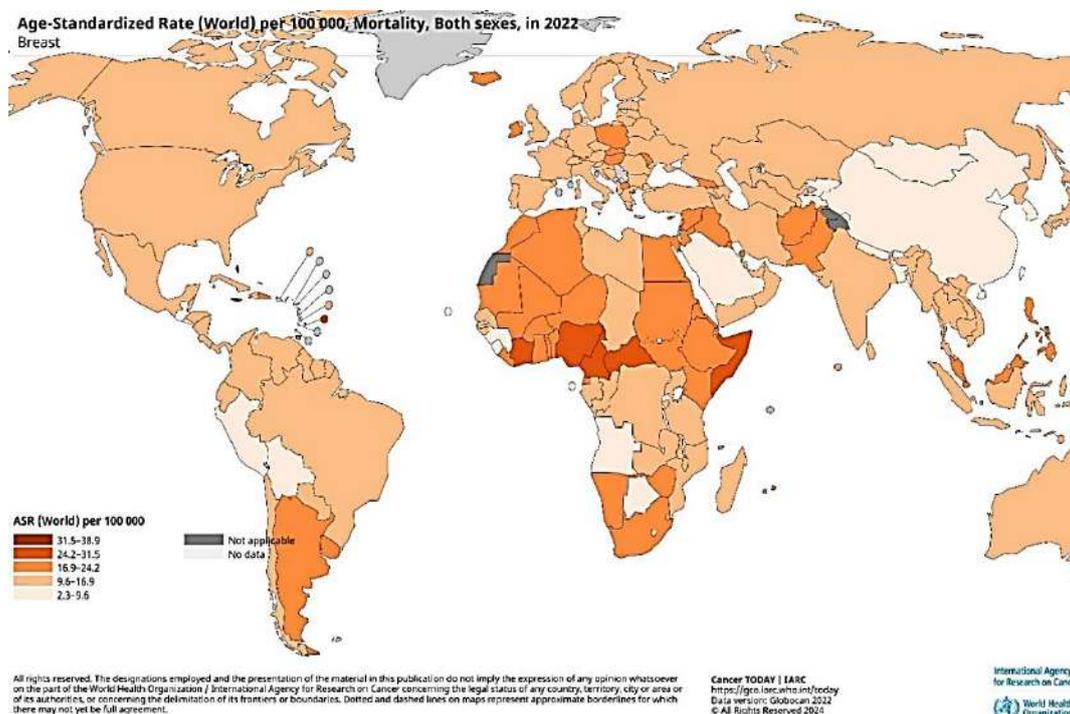


Рисунок 2 – Данные ВОЗ по смертности РМЖ на 2022 год

За 2021 год количество умерших с диагнозом РМЖ в России составило 20 620 человек. Средний возраст умерших – 66,7 года. По уровню смертности среди всего населения лидируют Москва (2 208) и Московская область (1056), Санкт-Петербург

(943), Краснодарский край (804) и Ростовская область (618), в то время как в Марий Эл (82), Ямало-Ненецком АО (36) и Чукотском АО (3) были зарегистрированы самые низкие показатели смертности среди всего населения. В Республике Башкортостан РМЖ занимает также лидирующие позиции по смертности и имеют наибольший удельный вес – 18,4%. Отдельная статистика ведется и по одногодичной летальности пациентов, которая характеризует долю больных, умерших до одного года с момента установления диагноза. Согласно ей, на 2020 год наибольшая одногодичная летальность была выявлена в Севастополе, Кабардино-Балкарии, Дагестане и Смоленской области, а наименьший показатель был зарегистрирован в Карачаево-Черкесии. Доля пациентов с диагнозом РМЖ, состоящих на учете 5 и более лет, постепенно увеличивается по всей России (Каприн и др., 2022).

Наблюдаемые различия в заболеваемости РМЖ необходимо рассматривать в контексте известных факторов риска заболевания. В таблице 1 представлены факторы риска и их влияние на манифестацию РМЖ.

Таблица 1- Факторы риска развития рака молочной железы

Факторы риска	Последствия	Литература
Ранний пубертатный период	Во время пубертатного периода количество недифференцированных, пролиферирующих клеток молочной железы быстро увеличивается, а воздействие гормональных факторов повышает восприимчивость к мутагенам.	(Terry et al., 2023)
Раннее менархе	В период менархе клетки молочной железы начинают расти и делиться, увеличивая риск развития рака груди.	(Terry et al., 2023)
Поздний брачный возраст	Длительное воздействие гормона эстрогена.	(Youn et al., 2020)
Поздний возраст рождения ребенка	Отсутствие дифференциации тканей молочной железы и длительное воздействие гормона эстрогена.	(Rozenberg et al., 2021)

Нарушение лактации	Отсутствие дифференциации ткани молочной железы, большая восприимчивость к эстрогенам и неэстрогенным мутагенам.	(Zucchetti et al., 2020).
Поздний менопаузальный возраст	Позднее начало инволюции молочных желез и длительное воздействие эстрогена и прогестерона.	(Escala-Garcia et al., 2020)
Отсутствие физической активности	Снижение концентрации половых гормонов из-за увеличения количества ановуляторных циклов.	(Bowen et al., 2021)
Диета с высоким содержанием жиров	Холестерин активирует подачу эстрогена и пролиферацию клеток.	(Bowen et al., 2021)
Ожирение	Повышение уровня воспалительных цитокинов и хемокинов.	(Bowen et al., 2021)
Употребление алкоголя	Повышение уровня эстрогена.	(Terry et al., 2023)
Курение	Вызывают генные мутации, такие как мутация в гене p53 и аддукты ДНК.	(Terry et al., 2023)
Отягощенный семейный анамнез	Мутации в гене <i>BRCA1/BRCA2</i> .	(Sun et al., 2023)
Экологические токсины	Загрязняющие вещества могут нарушать эндокринную сигнализацию.	(Terry et al., 2023)

Возраст является наиболее важным фактором риска, самые высокие показатели заболеваемости наблюдаются у пожилых женщин (Wang et al., 2018). Например, в Великобритании более трети случаев рака молочной железы встречается у женщин старше 70 лет, и менее одной из пяти женщин на момент постановки диагноза моложе 50 лет. В менее развитых странах, напротив, более половины случаев РМЖ встречается у женщин в возрасте до 50 лет (Wasim et al., 2022). Выживаемость при РМЖ очень высока, если рак обнаружен на ранней стадии. По статистике, от 50 до 80% случаев рака молочной железы диагностируются на поздней стадии, и, как правило, больший процент составляют экономически мало развитые страны. По данным Американского онкологического общества, к 2040

году статистика РМЖ составит 28,4 млн случаев, что на ~47% больше, чем в 2020 году (Katsura et al., 2022). Среди случаев РМЖ встречаются эстроген-зависимые опухоли – это означает, что важным, но далеко не ключевым фактором для развития этих новообразований является эстрогенная стимуляция (Moar et al., 2023). Уровень эстрогенной стимуляции в течение жизни определяется следующими факторами – возраст менархе (первая менструация), возраст менопаузы и количество овуляций, которое зависит от количества беременностей. Так, к факторам риска возникновения РМЖ относят ранний возраст начала менструаций в сочетании с поздним возрастом менопаузы (Britt et al., 2020). Согласно многократным исследованиям, посвященных анализу репродуктивного анамнеза, у женщин с возрастом менархе 13 лет и менее, риск развития РМЖ в 2 раза выше, чем у женщин с возрастом первой менструации 15 лет и более. В отношении возраста менопаузы была выявлена обратная зависимость – чем позднее наступление менопаузы, тем выше относительный риск РМЖ (Escala-Garcia et al., 2020). Помимо этого, поздний возраст вступления в брак и, соответственно, рождения ребенка приводит к недостаточной дифференцировке тканей молочной железы, большему воздействию неэстрогенных мутагенов и генотоксичности под действием эстрогенов (Michaels et al., 2023). Менопауза после 50 лет подвергает женщин длительному воздействию эстрогенов (Bodewes et al., 2022, Poorolajal et al., 2021). Несбалансированное питание играет значительную роль в увеличении риска развития РМЖ. Несбалансированные диеты, бедные витаминами, минералами и антиоксидантами, могут ослабить систему иммунитета и замедлить процессы регенерации клеток, что может создать условия для развития раковых клеток, а также диеты, богатые насыщенными жирами, особенно из животных и промышленно переработанных искусственных продуктов, могут способствовать воспалению и создавать условия для развития патологии (Moar et al., 2023). Кроме того, также выявлено, что низкий уровень физической активности связан с увеличенным риском развития рака молочной железы (Wirtz et al., 2018). Кроме того, ожирение (высокое отношение объема талии к объему бедер) является еще одним сильным фактором риска развития рака молочной железы у женщин в постменопаузе, а также ассоциируется с плохим исходом заболевания у женщин

всех возрастов (Qiu et al., 2022). В США около 18% женщин пременопаузального возраста имеют повышенный ИМТ и подвержены высокому риску развития рака молочной железы (Ma et al., 2018). Было замечено, что у женщин в постменопаузе с ИМТ $\geq 5,0$ и окружностью живота ≥ 90 см вероятность развития рака молочной железы выше (Recalde et al., 2021). Это происходит в результате накопления полициклических ароматических углеводов (ПАУ) в жировой ткани молочной железы. Там ПАУ взаимодействуют с клеточным рецептором эстрогена, повышая риск развития РМЖ (Niehoff et al., 2017). Более того, в исследовании показало, что умеренное потребление алкоголя $>35-44$ граммов в день повышает риск развития РМЖ на 46% (ДИ = 1,33-1,61) (Youn et al., 2020). В тканях молочной железы большая доза алкоголя метаболизируется до ацетальдегида под действием фермента алкогольдегидрогеназы. Накопленный ацетальдегид может связываться с белками и ДНК и нарушать работу системы антиоксидантной защиты, синтеза ДНК и системы репарации путем снижения регуляции гена *BRCA1* (Ferris et al., 2023). Важной особенностью в патогенезе РМЖ является наследственность – многочисленные когортные исследования (Chang et al., 2014) доказывают, что женщины, имеющие родственника с РМЖ в первой степени родства, имеют в 1,75 раз больший риск развития злокачественных новообразований груди, а у женщин, имеющих двух и более близких родственников с раком груди, риск развития РМЖ становится в 2,5 раза выше. Наследственная восприимчивость к РМЖ частично объясняется мутациями генов, ассоциированных с РМЖ, например, такими как *BRCA1* и *BRCA2*.

Рак яичников (РЯ) является основной причиной смерти от гинекологических злокачественных опухолей и часто диагностируется на поздней стадии (Ali et al., 2023). В развитых странах РЯ является шестым по распространенности и пятым по уровню летальности. По данным ВОЗ на конец 2022 года было зарегистрировано до 15,3 случаев РЯ на 100000 человек (рисунок 3). Общая 5-летняя выживаемость при РЯ практически не изменилась при том, что показатели выживаемости для ряда солидных опухолей значительно улучшились за последние 50 лет. Во всем мире распространенность рака яичников заметно различается: самая высокая в Западной Европе и Северной Америке, промежуточная в Южной и Восточной Европе и

Южной Америке, а самая низкая на Ближнем Востоке и в Азии. Как правило, различия между странами с самой высокой и самой низкой распространенностью рака яичников можно объяснить расовыми, репродуктивными, социально-экономическими и культурными различиями (Schrijver et al., 2021; Ali et al., 2018).

По прогнозам всемирной онкологической базы данных GLOBOCAN, частота заболевания будет неуклонно расти и к 2040 году может вырасти на 47% от общего числа.

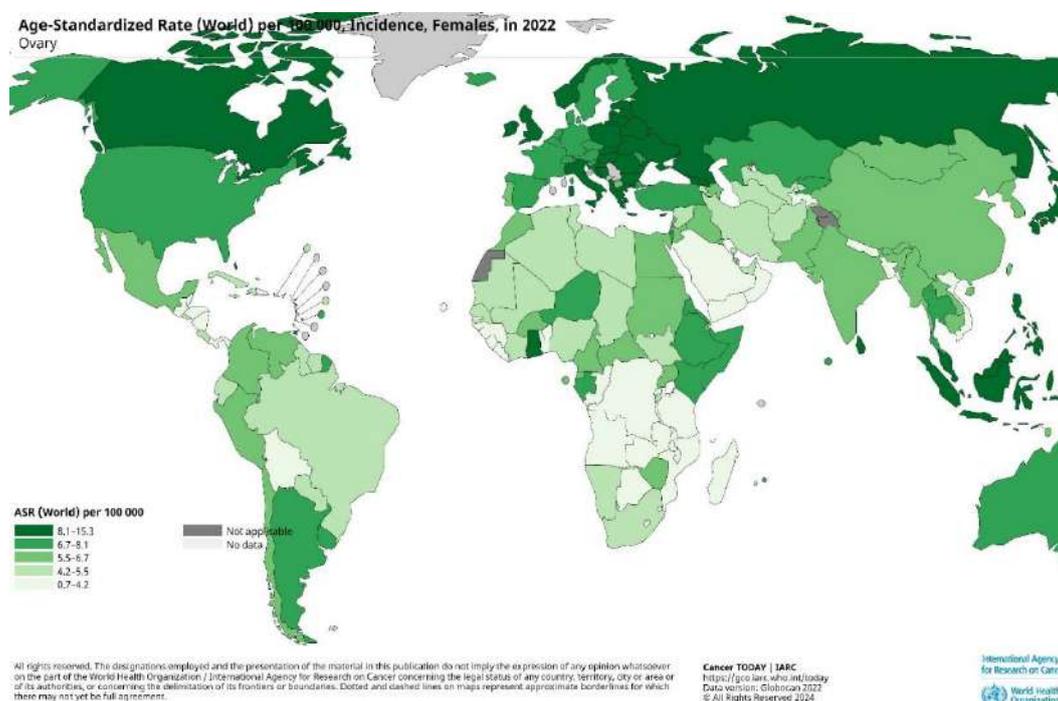


Рисунок 3 – Данные ВОЗ о заболеваемости РЯ на 2022 год

Ежегодно в России диагноз РЯ ставится более чем 11 000 женщин, что составляет 4-6% от общей доли онкологических заболеваний. Согласно Московскому научно-исследовательскому онкологическому институту имени П.А. Герцена, в России за 2022 год было выявлено 13 273 случая РЯ. Наибольшие показатели заболеваемости были зарегистрированы в Москве (655) и Московской области (700), Санкт-Петербурге (616), Краснодарском крае (482), Свердловской области (487), Республике Татарстан (399) и Республике Башкортостан (292) (Каприн и др., 2022).

В 2022 году во всем мире было зарегистрировано в общей сложности 207 252 новых случаев смерти от рака яичников, при этом самая высокая смертность наблюдалась в центральной Африке, Центральной и Восточной Европе, а также в Юго-Восточной Азии (рисунок 4).

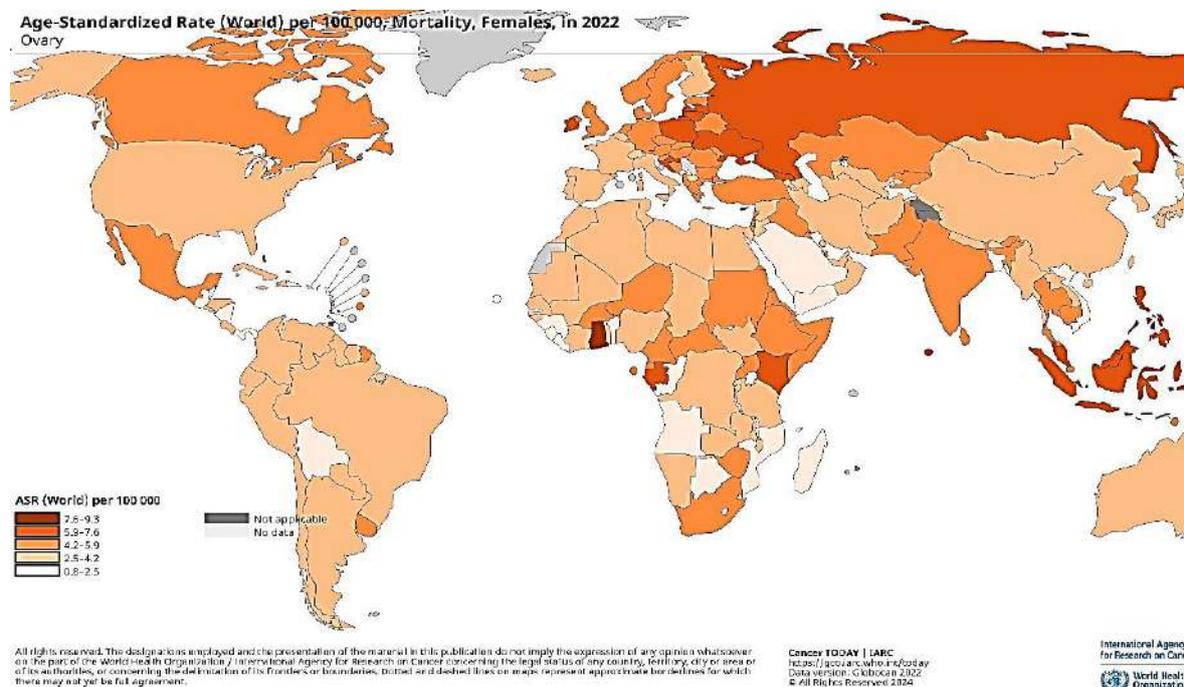


Рисунок 4 - Данные ВОЗ по смертности РЯ для всех возрастов на 2022 год

В России абсолютное число умерших от РЯ в 2021 году составило 7 213 пациентов, средний возраст которых равен 65,3. В сравнении со статистикой 2010 года наблюдается снижение летальности (в 2010 году абсолютное число умерших составило 7820), однако средний возраст пациентов уменьшается (в 2010 году он был равен 63,7). Наибольшая смертность от РЯ за 2021 год отмечается в Москве (739) и Московской области (365), Санкт-Петербурге (319), Краснодарском крае (234), Свердловской области (225) и Республике Башкортостан (177). За 2021 год на территории Республики Башкортостан было выявлено 294 случая РЯ среди населения, из них 177 пациентов погибли, то есть целых 60% (Каприн и др., 2022).

Суммируя все статистические показатели, был выявлен прирост РЯ на 8,5% за последние 10 лет. Кроме этого, РЯ характеризуется низкими показателями

пятилетней выживаемости (35%). Все это дает право считать РЯ одной из глобальных проблем современной онкогинекологии.

Диагностика РЯ на поздних стадиях связана с плохим прогнозом и значительным снижением выживаемости, однако уровень выживаемости может варьироваться в зависимости от различных гистотипов РЯ (Zhou et al., 2021). Кроме того, женщины, возраст которых моложе 63 лет, имеют более высокие показатели выживаемости. Факторы риска РЯ можно разделить на модифицируемые и немодифицируемые. Немодифицируемые факторы риска включают пожилой возраст, наследственность, семейный анамнез и позднюю менопаузу (Ali et al., 2023). К модифицируемым факторам риска относятся невынашивание беременности, табакокурение и пищевые жиры (Huang et al., 2022; Rice et al., 2020). К спорным факторам относятся ожирение, воздействие талька, радиационное облучение, бесплодие и прием препаратов для лечения бесплодия (Jiang et al., 2020). РЯ является полиэтиологическим заболеванием, развивающимся в эндокринных железах, то есть зависящим от гормонального фона организма, в том числе от внешней гормональной стимуляции. Чаще всего, РЯ развивается после длительного нарушения овуляции либо вследствие ее гиперстимуляции эстрогенами. Индикатором повышенной эстрогенной секреции являются гиперпластические изменения в ткани яичников. Однако сама гиперплазия яичников не является самостоятельным заболеванием, а развивается вследствие гиперплазии тека-клеток или образования гормонозависимых опухолей яичника. Такие опухоли вызывают хроническую гиперсекрецию эстрогенов и обычно являются причиной малигнизации очага гиперплазии (Fu et al., 2023; Phung et al., 2022).

При ановуляции, когда созревание яйцеклетки замедляется или полностью останавливается, в яичниках образуются фолликулярные кисты, желтые тела не отмечаются и развивается гиперплазия текальной ткани. Одновременно с этим отмечается развитие метаболического синдрома, включающего в себя повышение резистентности к инсулину и углеводам, а также ожирение, что увеличивает риск развития не только РЯ, но и РМЖ.

Более частая встречаемость РЯ отмечается в экономически развитых странах, что объясняется особенностями питания и образа жизни. Избыток животных жиров и быстроусвояемых углеводов в пище влечет за собой увеличение синтеза стероидных гормонов и изменения нормальной микрофлоры кишечника, что в совокупности вызывает развитие метаболического синдрома. Отмечается стойкая корреляция РЯ и злокачественных новообразований молочных желез, эндометрия и кишечника, что подтверждает влияние эндокринных нарушений на развитие РЯ (Khanlarkhani et al., 2021; Tanha et al., 2021).

Одним из предрасполагающих факторов развития РЯ является наличие в анамнезе РЯ у близкого родственника. На сегодняшний день известно, что от 10 до 18% всех случаев онкологических заболеваний яичников являются генетически детерминированными. Чаще всего развитие РЯ связано с мутациями в двух генах – *BRCA1* и *BRCA2*, которые значительно повышают вероятность развития и РМЖ (Flaum et al., 2023). Наследственные формы РЯ возникают раньше, чем спорадические, примерно на 10 лет, и обычно поражают оба яичника. Однако, статистика пятилетней выживаемости у пациенток с наследственной предрасположенностью к РЯ равняется 44%, в то время как при спорадическом всего 16% (Huang et al., 2020; Murakami et al., 2020). Эндометриоз также относят к одному из факторов риска возникновения РЯ. Высокий риск малигнизации очагов эндометриоза объясняется значительным сходством процессов развития эндометриоза и злокачественной опухоли – это неконтролируемая пролиферация клеток, инфильтративный рост, метастазирование (Phung et al., 2022). Многочисленные онкоэпидемиологические исследования доказывают, что прием комбинированных оральных контрацептивов снижает риск развития эпителиального РЯ в три раза. Отмечается, что вероятность развития новообразований яичников снижается по мере приема этих препаратов, таким образом, у женщин, применяющих комбинированные контрацептивы ОР снижается до 30%. Более того, профилактический эффект от приема препаратов сохраняется спустя 15 лет после отмены пероральных контрацептивов (Abdulaziz et al., 2021; Karlsson et al., 2021).

1.2 Гистопатологическая и молекулярная классификация рака молочной железы

Морфологический анализ составляют основу диагностики рака молочной железы (РМЖ) и рака яичников (РЯ), обеспечивая важной информацией для прогнозирования течения заболевания и выбора лечения. Гистопатологические параметры, такие как размер опухоли, гистологический класс и поражение лимфатических узлов, влияют на прогноз и лежат в основе систем оценки риска, таких как Ноттингемский прогностический индекс (NPI) (Ben-Dror et al., 2022; Kerin et al., 2022; Jacobson et al., 2020). Несмотря на то, что традиционные гистопатологические факторы предоставляют ценную прогностическую информацию, их следует рассматривать в контексте клинико-биологического профилирования.

Инвазивная карцинома неспецифического типа (протоковая) является наиболее распространённой формой РМЖ (75-80%) и характеризуется высокой гетерогенностью, что усложняет её диагностику и лечение. У пациентов с таким типом опухоли прогноз хуже, чем при других подтипах РМЖ, с 10-летней выживаемостью на уровне 65-78% (Pankotai-Vodó et al., 2024). Прогноз для этих пациентов зависит от подгрупп, определенных по иммуногистохимическому статусу ER и/или HER2 (Pankotai-Vodó et al., 2024; Pescia et al., 2023).

Другие типы РМЖ, такие как дольковая карцинома (5-15% случаев), муцинозная карцинома (2% случаев) и редкие формы, такие как трубчатая и апокринная карцинома, имеют свои особенности. Например, дольковая карцинома чаще встречается у пожилых людей и обычно положительна по рецепторам эстрогенов (ER) и прогестерона (PR), но негативна по HER2, а также демонстрирует а также aberrантную экспрессию E-кадгерина (цитоплазматическую или отсутствие экспрессии), что указывает на мутацию в гене *CDH1* (Cserni et al., 2021; Fusco et al., 2022). Муцинозные карциномы, как правило, также ER-положительные и HER2-негативные. Иногда встречаются смешанные варианты, они сочетают одновременно

черты протоковой и дольковой карциномы. Такие типы как трубчатая, крибриформная, апокринная и метапластическая карцинома молочной железы, представляют собой редкие опухоли, которые встречаются в 1% или менее случаев рака молочной железы (Pankotai-Vodó et al., 2024; Pescia et al., 2023).

На основе иммуногистохимического определения экспрессии рецепторов гормонов рак молочной железы подразделяется на четыре основных клинически типа: люминальный А, люминальный В, HER2-положительный, трижды-негативный или базальноподобный (Strunkin et al., 2022).

Рецепторы эстрогена (ER) и прогестерона (PR) играют ключевую роль в гормональных сигнальных путях, существенно влияя на прогноз и течение заболевания. ER-позитивные РМЖ (с $>10\%$ ядерно-положительных неопластических клеток) составляют около 70% случаев, что связано с более легким прогрессированием заболевания и более высокой чувствительностью к гормонам (Cucciniello et al., 2022). ER-позитивность подразумевает зависимость опухоли от эстрогена для роста и выживания. Пациенты с ER-позитивными опухолями демонстрируют значительную положительную динамику при применении гормональной терапии (Burstein et al., 2019). Положительный статус PR, определяемый как $\geq 1\%$ неопластических клеток с ядерным окрашиванием, также влияет на прогноз (Lopez et al., 2019). Так, опухоли, положительные как по ER, так и по PR, относятся к люминальной группе и, как правило, имеют лучший прогноз, чем опухоли с двумя отрицательными рецепторами. Важно отметить, что категория РМЖ с низким уровнем экспрессии ER, введенная в рекомендациях Американского общества клинической онкологии ASCO/CAP 2020 года, демонстрирует агрессивные характеристики, включая высокую степень злокачественности, большой размер и повышенная пролиферация, а также они связаны с более молодым возрастом, поражением лимфатических узлов и неблагоприятным прогнозом (Reinert et al., 2022; Kim et al., 2022). Таким образом, опухоли люминального типа А характеризуются наличием ER и/или PR и отсутствием HER2, а также низкой экспрессией маркера клеточной пролиферации Ki-67 (менее 15%) (ER+ и/или PR+, HER2-, Ki-67 $<15\%$). На их долю приходится 40-60% случаев РМЖ (Jeibouei et al.,

2019). Клинически они имеют низкую степень злокачественности, медленно растут и имеют хороший прогноз с меньшей частотой рецидивов и более высокой выживаемостью (Pellegrino et al., 2021). По этой причине, согласно рекомендациям Европейского общества медицинской онкологии (ESMO) и Национальной комплексной онкологической сети США (NCCN), в этой группе рекомендуется использование генетических платформ, чтобы установить, каким пациентам будет полезно адъювантное химиотерапевтическое лечение на основе рисков рецидива и выживаемости (Zhou et al., 2020).

Опухоли люминального типа В имеют более высокую степень злокачественности и худший прогноз по сравнению с опухолью люминального типа А. Они ER-положительные, могут быть PR-отрицательными и имеют высокую экспрессию Ki67 (более 15%) (ER+ и/или PR+, HER2-, Ki-67 >15 %). Составляет 10-20% люминальных опухолей (Pellegrino et al., 2021). Данный тип имеет умеренно низкую экспрессию рецепторов эстрогена и повышенную экспрессию генов пролиферации и клеточного цикла. Повышенный Ki67 заставляет их расти быстрее, чем при люминальном А, и ухудшает прогноз течения заболевания.

Экспрессия рецептора 2 эпидермального фактора роста человека (HER2) составляет примерно 15-25% случаев рака молочной железы (Shaath et al., 2021). Сверхэкспрессия HER2 является одним из самых ранних событий во время канцерогенеза молочной железы (Ma et al., 2022). HER2 увеличивает частоту выявления метастатического или рецидивирующего РМЖ на 50% и даже 80%. Уровень HER2 в сыворотке считается перспективным маркером наличия или рецидива опухолей в реальном времени. Амплификация HER2 приводит к повышенной гиперактивации протоонкогенных сигнальных путей, что приводит к неконтролируемому росту раковых клеток, что соответствует худшим клиническим результатам в случаях HER2+. Сверхэкспрессия HER2 также коррелирует со значительно более коротким безрецидивным периодом (Pankotai-Vodó et al., 2024). Так, HER2-положительная группа характеризуется высокой экспрессией HER2 при отсутствии ER и PR (ER-, PR-, HER2+). При таком типе рост клеток происходит быстрее, чем при люминальных. HER2-положительный тип можно разделить на две

подгруппы: люминальные HER2 (E+, PR+, HER2+ и Ki-67:15–30%) и HER2-обогащенные (HER2+, E-, PR-, Ki-67>30%) (Orrantia-Borunda et al., 2022). Последний тип имеет худший прогноз по сравнению с люминальными формами.

Тройной негативный РМЖ – это ER-отрицательный, PR-отрицательный и HER2-отрицательный рак (ER–, PR–, HER2–). Такой тип составляет около 20% всех случаев РМЖ. Наиболее часто он встречается у женщин моложе 40 лет и у афроамериканок (Orrantia-Borunda et al., 2022). Тройжды негативный РМЖ подразделяется еще на несколько подгрупп, включая базальноподобный, низкоклаудиновый, мезенхимальный, люминальный с рецептором андрогена и иммуномодулирующий, причем первые два встречаются наиболее часто - в 50-70% и 20-30% случаев (Pescia et al., 2023). Более того, каждый из них имеет уникальные клинические исходы, фенотипы и фармакологическую чувствительность. Тройной негативный рак характеризуется агрессивностью, ранним рецидивированием, а также высоким уровнем пролиферации и повышенной геномной нестабильностью. Гистологически это низкодифференцированные, высокопролиферативные, гетерогенные новообразования. Иммуногистохимически они подразделяются на базальные и небазальные тройжды негативные подтипы, где первые характеризуются экспрессией цитокератинов (СК)5/6 и рецептора эпидермального фактора роста человека типа 1 (EGFR1), а небазальные не экспрессируют цитокератинов СК5/6 (Tomar et al., 2023).

Таким образом, обеспечение наиболее эффективного лечения РМЖ является задачей первостепенной важности в персонализированной медицине. Знание молекулярных механизмов позволяет классифицировать подтипы рака и, в итоге, назначить качественную схему лечения на основе характеристик пациента, истории болезни и реакции на терапию.

1.3 Гистопатологическая и молекулярная классификация рака яичников

В настоящий момент на основе достижений морфологических и молекулярных исследований РЯ, стандартом в клинической практике является

классификация, основанная на гистопатологических характеристиках и степени тяжести (O'Shea et al., 2022; Bellcross et al., 2022). РЯ является гетерогенной группой опухолей, среди которых эпителиальный РЯ составляет 90% всех случаев. В эпителиальной группе наиболее распространены серозный, эндометриоидный, светлоклеточный и муцинозный подтипы, имеющие различную частоту (Borella et al., 2020; Le Saux et al., 2021; Zamwar et al., 2022; Bachmann et al., 2023)

Серозный рак яичников высокой степени злокачественности характеризуется агрессивной природой: примерно у 80 % больных диагностируется прогрессирующее заболевание (III-IV стадии по FIGO), и на него приходится 70 % смертей от РЯ (Peres et al., 2019; Peres et al., 2019; Schoutrop et al., 2022). Эти цифры представляют собой парадокс: из-за агрессивности данного типа этот рак должен быть направлен на раннее предупреждение заболевания, но, к сожалению, усилия по скринингу населения так и не привели к значительному снижению смертности (Menon et al., 2021). Обычно быстроразвивающийся серозный тип высокой степени злокачественности часто отвечает на химиотерапию на основе платины, однако частота рецидивов в поздних стадиях заболевания до сих пор достаточно высока (Claussen et al., 2020).

Молекулярный профиль серозного РЯ высокой степени злокачественности характеризуется повсеместным появлением мутаций в гене-супрессоре опухоли *TP53* и наличием хромосомной нестабильности, приводящей к высокой вариации числа копий (Su et al., 2021; Asaka et al., 2019). Большинство случаев РЯ возникает без известной причины или очевидных факторов риска, кроме возраста. Однако наследственные мутации являются крупнейшим потенциальным фактором риска развития серозного РЯ высокой степени злокачественности, и встречаются примерно в 19% случаев РЯ (Samuel et al., 2022). Наследственный рак яичников классифицируется как заболевание, связанное с высокопенетрантной и аутосомно-доминантной генетической предрасположенностью. Герминальные мутации в генах *BRCA1* и *BRCA2* встречаются примерно в 16 % случаях серозного РЯ высокой степени злокачественности (Poveda et al., 2021, Pietragalla et al., 2020). Носительство герминальных мутаций в генах *BRCA1* или *BRCA2* приводят к кумулятивному риску

развития рака яичников на 45% и 20% соответственно (Samuel et al., 2022). Продукты генов *BRCA* играют важнейшую роль во множестве ключевых клеточных процессов и выступают в качестве супрессоров опухолей, участвуя в распознавании и репарации повреждений ДНК, регуляции транскрипции и контроле клеточного цикла (Gorodetska et al., 2019). Однако генетическая и эпигенетическая инактивация других генов гомологичной рекомбинации также может приводить к серозному РЯ высокой степени злокачественности. К таким генам относятся: *BRIP1*, *PALB2*, *RAD51C* и *RAD51D* (Ramus et al., 2015) и гены репарации ошибочно спаренных нуклеотидов ДНК (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6* или *PMS2*) (Norquist et al., 2016). В здоровых клетках репликация ДНК происходит во время прогрессии клеточного цикла без внесения хромосомных аномалий (т.е. делеций, дупликаций, транслокаций) благодаря контролю со стороны p53, который индуцирует остановку клеточного цикла для восстановления ДНК или способствует апоптозу, если повреждения не могут быть восстановлены. Функция репарации ДНК путем гомологичной рекомбинации заключается в безошибочном устранении двунитевых разрывов ДНК и других типов повреждений ДНК до завершения клеточного деления (Vergote et al., 2022). Во время репликации ДНК белки *BRCA* обеспечивают репарацию ДНК путем гомологичной рекомбинации, ко-локализуясь с белками *RAD51* в местах повреждения ДНК и образуя очаги *RAD51* вместе с другими вспомогательными белками (Orhan et al., 2021). Как и во многих видах опухолей, так и при серозном РЯ высокой степени злокачественности, мутации в гене *TP53* поддерживают/позволяют беспрепятственной пролиферации генетически нестабильных клеток, что приводит к накоплению хромосомных аномалий и злокачественной прогрессии (Dorling et al., 2021). Современный подход к исследованию дефекта гомологичной рекомбинации в клинике основан на генетическом скрининге мутаций в гене *BRCA* и геномной нестабильности, что позволяет спрогнозировать чувствительность к терапевтическим агентам и улучшить их эффективность.

Около 5-7% серозных раков яичников относятся к подтипу низкой степени злокачественности (Peres et al., 2019; Slomovitz et al., 2020). Этот подтип имеет уникальные мутационные профили и отличается по механизму эволюции от

высококвалифицированного серозного РЯ. Диагностируется чаще на ранних стадиях (I-II по FIGO) и развивается из серозных пограничных опухолей (Slomovitz et al., 2020; Amante et al., 2021). Прогрессирование этих опухолей встречается в 5-10% случаев (Peres et al., 2019; Gershenson et al., 2022). Характеризуется медленным ростом, химиорезистентностью, и частой ER/PR-позитивностью, что делает гормональное лечение эффективным (Zwimpfer et al., 2023; Moujaber et al., 2022). Молекулярные aberrации затрагивают сигнальные пути EERB2 и KRAS/BRAF/MEK, включая мутации в генах *BRAF* (5-14%) и *KRAS/NRAS* (50%) (Cobb et al., 2023). Клиническое исследование II/III фазы показало улучшение беспрогрессивной выживаемости при использовании ингибитора MEK (траметиниб), что открывает перспективы для новых подходов к лечению (Gershenson et al., 2022).

Эндометриоидный и светлоклеточный рак яичников составляют около 9-10% всех случаев РЯ и оба связаны с эндометриозом (Guidozzi et al., 2021). Эндометриозом страдают 5-15% всех женщин, повышенный риск развития эндометриоидного или светлоклеточного РЯ считается достаточно низким (диагностируется у 1-3% у женщин с эндометриозом) (Pierson et al., 2020). Установлено, что соматические мутации в генах *ARID1A*, *PIK3CA*, *HNF1B* и *PTEN* играют центральную роль в прогрессии доброкачественного эндометриоза в карциному (Wilbur et al., 2017; Nameki et al., 2021).

Мутации в генах репарации ошибочно спаренных нуклеотидов встречаются в 20% эндометриоидных карцином, некоторые из них имеют наследственное происхождение. При светлоклеточном подтипе они встречаются реже (You et al., 2022). Мутации в гене *TP53* и герминальные мутации в гене *BRCA1/2* были описаны при низкодифференцированной эндометриоидной карциноме (иногда называемой эндометриоидной карциномой высокой степени), аналогично мутациям, обнаруженным в серозном РЯ высокой степени злокачественности (Norquist et al., 2016). Подобно эндометриоидному раку, светлоклеточный рак также часто сопровождается мутациями в гене *ARID1A*. Помимо этого, некоторые случаи светлоклеточного РЯ могут характеризоваться мутациями в гене *ATM*. В некоторых исследованиях описаны мутации в гене *HNF1B* которые могут считаться

потенциальными молекулярными маркерами этого типа РЯ. Муцинозный РЯ часто ассоциируются с мутациями в гене *KRAS*, который участвует в регуляции клеточного роста. Для этого типа характерна более высокая экспрессия гена *CDX2*, связанного с дифференциацией эпителия.

1.4 Роль сигнальных путей, задействованных при раке молочной железы и раке яичников

Понимание точных молекулярных и патофизиологических процессов, связанных с заболеваниями, такими как рак молочной железы (РМЖ) и рак яичников (РЯ), является ключевым не только для выбора наиболее эффективной и персонализированной стратегии лечения, но и для разработки профилактических мер, направленных на снижение риска развития этих заболеваний. Патогенез данных заболеваний включает в себя множество сигнальных путей, которые играют ключевую роль в нормальном регулировании клеточного роста, выживаемости и апоптоза. Нарушения в этих сигнальных путях могут привести к не контролируемому клеточному делению и развитию опухоли. Сигнальные пути, задействованные в развитии РМЖ и РЯ, могут пересекаться, тем не менее существуют различия в ключевых молекулярных механизмах. Наиболее изученными и непосредственно участвующими в прогрессировании и развитии РМЖ являются сигнальные пути, инициируемые эстрогеновым каскадом (ER) и рецепторами эпидермального фактора роста человека типа-2 (HER2/Neu или c-ErbB2) (Ortega et al., 2020). Активность рецепторов HER2, в свою очередь, способствует передаче сигналов других путей, таких как митоген-активируемые протеинкиназы (MAPK) или клеточные компоненты, такие как киназа гликогенсинтазы-3 (GSK-3) и пути PI3K/Akt/mTOR, что указывает на важность процессов интеграции и трансдукции сигналов в прогрессировании и развитии РМЖ (Feng et al., 2018; Ortega et al., 2018). Сигнальными путями, наиболее изученными в патогенезе РЯ являются PI3K/Akt/mTOR, Wnt/ β -катенин и RAS/RAF/MEK/ERKDOI (Hendrikse et al., 2023). В последнее время разрабатываются новые подходы, направленные на изучение регуляции сигнальных путей в патогенезе РМЖ и РЯ.

Например, сигнальный путь ER (эстрогенового рецептора) играет ключевую роль в развитии и прогрессии рака молочной железы, так как примерно у 70% пациенток наблюдается гормонозависимый РМЖ. В опухолях люминального А и В типов эстрогены являются основными сигналами, которые играют важную роль в росте и прогрессировании опухолевых клеток. Клеточное действие эстрогенов в первую очередь опосредовано ядерными ER α , ER β и ER, связанным с мембранным G-белком (GPER, также называемым GPR30). ER α считается рецептором, наиболее вовлеченным в развитие рака молочной железы, потому что является фактором транскрипции, регулирующим экспрессию генов, участвующих в клеточных циклах, пролиферации и апоптозе (Liang et al., 2020) и, соответственно, представляет собой ключевую мишень для терапии данной патологии. Действительно, активация ER α позволяет экспрессировать такие факторы, как MYC, Cyclin D1, FOXM1, GREB1, BCL2 или амфирегулин, IGF-1 и CXCL12, которые обладают онкогенным потенциалом, увеличивая пролиферацию раковых клеток и риск повреждения ДНК в ответ на действие эстрогенов (Harbeck et al., 2019). Как только эстроген (E2) связывается с ER α , он позволяет рецептору изменить свою конформацию в активную форму, димеризоваться, переместиться в ядро и взаимодействовать с коактиваторами транскрипции. Следует отметить, что в отличие от E2, молекулы-антагонисты, такие как тамоксифен, вызывают неактивную конформацию ER α , которая рекрутирует транскрипционные корепрессоры (Clusan et al., 2023). Активируемая лигандом ER α затем связывается с эстроген-чувствительными элементами в промоторах генов-мишеней. ER α также может взаимодействовать с факторами транскрипции, такими как белок-активатор 1 (AP1) и специфический белок 1 (SP1), через сывороточные чувствительные элементы, чтобы регулировать гены, не имеющие эстроген-чувствительных элементов в своих промоторах. Нарушение регуляции экспрессии, активности ER α или его корегуляторов и генов-мишеней играет заметную роль в развитии люминальных типов РМЖ (Harbeck et al., 2019). Следует отметить, что два других рецептора, ER β и GPER, могут также стимулироваться эстрогенами. ER β представляет собой ядерный рецептор, гомологичный ER α , кодируемый геном ESR2 и имеющий аналогичную структуру

(Mal et al., 2020). Подобно ER α , ER β экспрессируется во многих репродуктивных органах, таких как эпителиальные клетки молочной железы, яичники, матка и семенники, а также в нерепродуктивных органах, таких как легкие, надпочечники, жировая ткань или мозг. Этот рецептор взаимодействует с некоторыми корегуляторами транскрипции ER α и имеет общие лиганды, такие как SERM (селективные модуляторы эстрогеновых рецепторов), но с разным сродством. В отличие от ER α , активация ER β обычно приводит к ингибированию пролиферации и индукции апоптоза, но эти эффекты зависят от исследуемой ткани, клеточного контекста, коактиваторов транскрипции и от того, коэкспрессируется ли ER α (Mal et al., 2020). Экспрессия ER β в клетках опухоли молочной железы имеет тенденцию коррелировать с благоприятным прогнозом, но некоторые исследования указывают на обратное. Действительно, предыдущие исследования показали, что ER β и его изоформы, а также некоторые коактиваторы, такие как AIB1, NF- κ B и TIF-2, имеют тенденцию корегулировать пролиферацию и прогрессирование клеток рака молочной железы (Choi et al., 2022). Эти специфические коактиваторы связаны с плохими клиническими исходами и коррелируют с высокой экспрессией ER β в подтипах опухолей молочной железы высокой степени злокачественности, что позволяет предположить, что они могут опосредовать пролиферацию ER β в клетках рака молочной железы (Clusan et al., 2023). Таким образом, необходима дальнейшая работа, чтобы лучше понять физиологическую роль этого рецептора и его участие в развитии рака молочной железы (Ranganathan, 2019; Zhou et al., 2020).

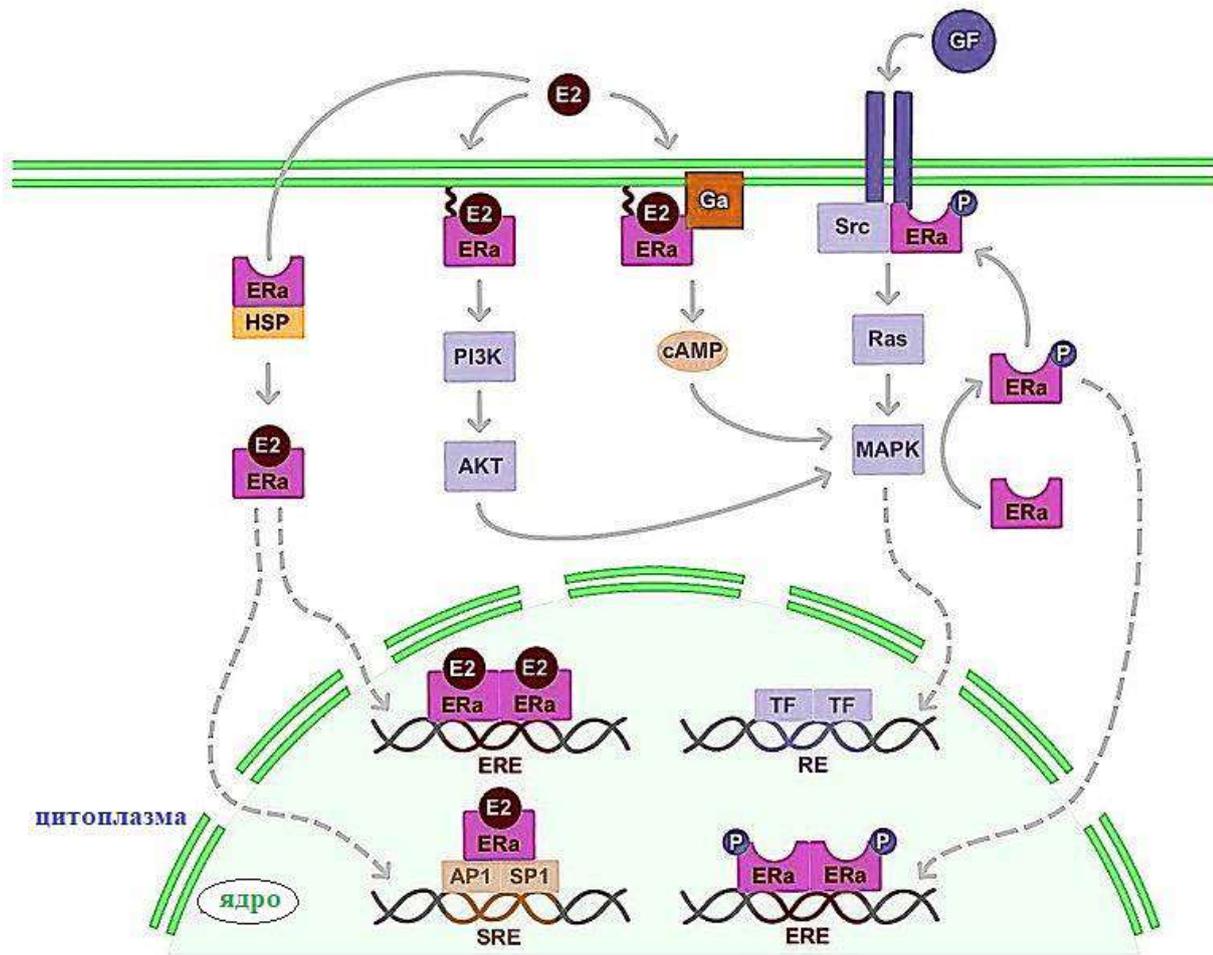


Рисунок 5 – Геномная и негеномная активность ER α . cAMP: циклический аденозинмонофосфат; E2: эстроген; ER α : рецептор эстрогена альфа; ERE: эстроген-чувствительный элемент; Ga: белок альфа-G; GF: фактор роста; HSP: белок теплового шока; MAPK: митоген-активируемая протеинкиназа; P: фосфат; PI3K: фосфоинозитид-3-киназа; SRE: сывороточно-чувствительные элементы

Сигнальный путь PI3K/Akt/mTOR, в свою очередь представляет собой клеточный сигнальный путь, участвующий в росте, пролиферации, выживании, подвижности, метаболизме и регуляции иммунного ответа (Tewari et al., 2022). Описано много исследований, где этот путь играет существенную роль в развитии и прогрессии различных синдромов и злокачественных новообразований, включая рак молочной железы и яичников. Дисрегуляция этого пути связана с широким спектром характеристик онкологических заболеваний, включая неконтролируемую

пролиферацию, нестабильность генома и метаболическое перепрограммирование. Кроме того, активация пути PI3K/Akt/mTOR является одной из основных причин устойчивости раковых клеток к противоопухолевой терапии (Ortega et al., 2020). Это делает путь PI3K/Akt/mTOR важнейшим объектом изучения для понимания развития и прогрессирования заболевания, роли этого пути как потенциальной терапевтической мишени, а также прогностической и диагностической ценности этого пути у больных раком молочной железы (Peng et al., 2022).

Фосфоинозитид-3-киназы (PI3K) представляют собой семейство липидкиназ, которые интегрируют сигналы от факторов роста, цитокинов и других внеклеточных стимулов и связаны с реакцией клетки на эти киназы (Yu et al., 2022). Известны три разных класса PI3K, которые, в свою очередь, делятся на разные подклассы в зависимости от их сродства к определенным субстратам, их гомологии последовательностей и функций, которые каждый из этих классов выполняет в передаче клеточного сигнала. PI3K класса I являются наиболее изученными и наиболее четко связанными с онкогенными процессами (Li et al., 2021). PI3K класса I делятся на следующие классы: PI3K IA, активируемые рецепторами тирозинкиназ (RTK), рецепторами, связанными с G-белком и онкогенами Ras. PI3K IB, в свою очередь, регулируется исключительно рецепторами, связанными с G-белком (Dong et al., 2021). Среди них класс IA наиболее непосредственно связан со злокачественными новообразованиями. PI3K класса IA состоит из регуляторных субъединиц p85 α , p55 α , p50 α , p85 β или p55 γ , и каталитических субъединиц p110 α , p110 β или p110 δ (Chen et al., 2022).

Когда клеточный рецептор активирован, он димеризуется и аутофосфорилируется в различных областях, фосфорилируя, в свою очередь, различные адаптерные белки, где он распознается субъединицей p85, которая связывается с этими фосфорилированными остатками и генерирует конформационные изменения, высвобождающие p110 субъединицу. Следовательно, к фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфату (PIP2) присоединяется фосфатная группа, превращая его в фосфатидилинозитол(3,4,5)-трифосфат (PIP3) (Chen et al., 2022). Фосфатаза, гомолог фосфатазы и тензина (PTEN), которая может удалять фосфат из

PIP3, превращая его в PIP2, является наиболее важным негативным регулятором этого пути и одним из супрессоров опухолей с наибольшим эффектом при РМЖ или РЯ (Yu et al., 2022). Уровни PIP3 также можно регулировать с помощью другого супрессора опухоли, известного как инозитолполифосфат-4-фосфатаза типа II В (INPP4B), который оказывает тот же эффект, что и PTEN. Утрата INPP4B считается маркером агрессивности трижды-негативных опухолей (Ochnik et al., 2016). Активирующие мутации в гене *PIK3CA*, кодирующие каталитическую субъединицу p110 α , были идентифицированы как мощные онкогенные механизмы, участвующие в гиперактивации этого пути. Мутации в этом гене особенно изучены при РМЖ. Данные мутации чаще встречаются при раке молочной железы люминального типа А, где они обнаруживаются в 45% опухолей. При люминальном В типе мутации в гене *PIK3CA* встречаются с частотой 30%, а при трижды-негативном РМЖ с частотой 9%. (Guerrero-Zotano et al., 2016). Эти мутации затрагивают главным образом спиральный домен субъединицы p110 α , уменьшая его репрессию регуляторными субъединицами и облегчая его взаимодействие с IRS1 (Ortega et al., 2020). Активация PI3K является критическим этапом онкогенеза и играет роль в резистентности к лечению при раке молочной железы ER+/HER2+. Существуют ингибиторы PI3K, которые проходят клинические испытания (Keegan et al., 2018).

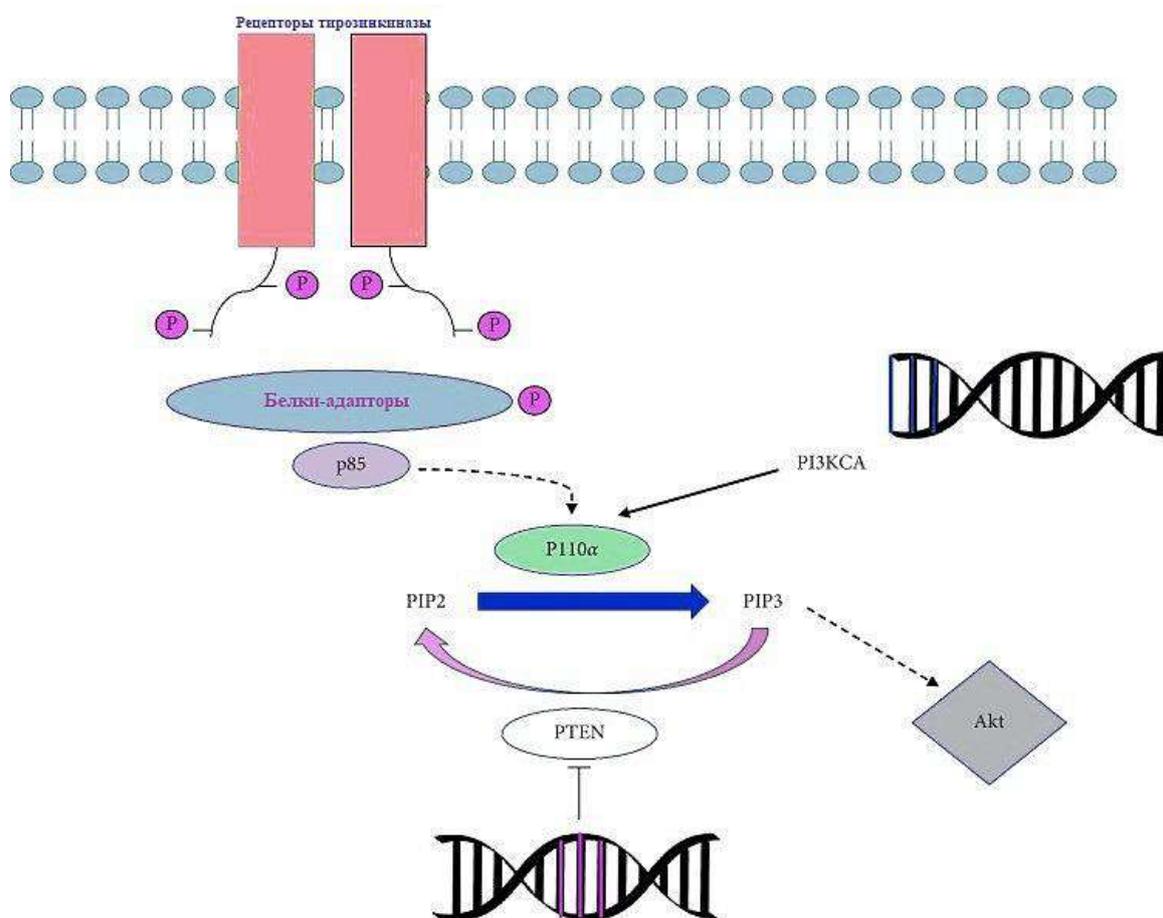


Рисунок 6 – Механизм действия PI3K и PTEN

Мутации в гене *PTEN* также приводят к важным изменениям в передаче сигналов клеток у пациентов с РМЖ. Результаты метаанализа 27 исследований и 10 231 случая, проведенного Li et al. (Li et al., 2017) показали, что существует связь между потерей экспрессии *PTEN* и агрессивностью опухоли у пациентов с раком молочной железы Люминального А и трижды-негативного типа, тем самым демонстрируя участие *PTEN* в инициации и злокачественности опухолевых клеток рака молочной железы.

Другой сигнальный каскад, играющий важную роль в онкогенезе, является RAS-RAF-MEK-ERK (MAPK) (Hendrikse et al., 2023). В большей части исследований показана роль MAPK-пути в патогенезе РЯ, что делает его привлекательной мишенью для лечения данной патологии (Liu et al., 2022). Сигнальный путь митоген-активированной протеинкиназы функционирует с целью передачи сигналов эффекторам, которые управляют основными процессами в

клетке, такими как клеточное деление, дифференцировка, выживание и апоптоз. Одним из многих механизмов активации пути MAPK является связывание лиганда с внеклеточным доменом мембранного рецептора тирозинкиназ (Hendrikse et al., 2023). Этот процесс инициирует типичный сигнальный каскад MAPK, состоящий из последующего фосфорилирования белка Ras, белка Raf, киназ MEK1/2 и белка ERK (Liu et al., 2018). В результате белок ERK оказывает как цитоплазматическое, так и ядерное действие. Белок будет транслоцироваться в ядро клетки, где он контролирует факторы транскрипции, регулирующие транскрипцию генов, участвующих в клеточных процессах, таких как пролиферация и дифференцировка (Hendrikse et al., 2023). Компоненты MAPK-пути могут также активироваться внутриклеточно через взаимодействие с другими сигнальными путями, такими как фосфоинозитид-3-киназа (PI3K) или сигнальный путь рецептора эстрогена, активируя соответствующие белки (Tolcher et al., 2018). Механизмы перекрестного взаимодействия также являются возможным механизмом устойчивости в поддержании опухолевого роста. Кроме того, одной из причин дисрегуляции путей передачи сигнала являются генные изменения. Известными мутациями MAPK-пути являются изменения в генах *KRAS* и *BRAF*, которые встречаются в 27% при РЯ (Hendrikse et al., 2023). По данным Manning-Geist et al., 60% из 119 пациентов с серьезным РЯ низкой степени злокачественности имели соматические мутации, затрагивающие несколько генов MAPK-пути. Среди них были выявлены изменения в генах *BRAF* (V600E), *KRAS* (G12), *HRAS*, *NRAS* (Q61 и G12), *MAP3K1* и *ERBB2*, а также мутации в генах-супрессорах опухолей *NF1* и *NF2* (Manning-Geist et al., 2022; Li et al., 2018).

Таким образом, сигнальные пути, такие как PI3K/Akt/mTOR, MAPK, ER играют ключевую роль в развитии и прогрессировании злокачественных новообразований, так как они регулируют множество клеточных процессов, включая пролиферацию, выживаемость, инвазию и метастазирование. Нарушения в сигнальных путях, задействованных при РМЖ и РЯ, могут привести к неуправляемому делению клеток и формированию опухоли. Изучение таких сигнальных путей предоставляет глубокое понимание молекулярных механизмов,

лежащих в основе развития рака. Эта информация обеспечивает основу для разработки таргетной терапии, направленной на блокирование конкретных молекул или сигнальных каскадов. Ингибиторы тирозинкиназ, молекулярные ингибиторы и другие средства, целенаправленно воздействующие на ключевые компоненты сигнальных путей, представляют перспективный подход к лечению рака, минимизируя побочные эффекты и улучшая прогноз пациентов.

1.5 Предиктивное значение мутаций в гене *PIK3CA* при раке молочной железы

Мутации в гене *PIK3CA* имеют значительное предиктивное значение при раке молочной железы, оказывая влияние на биологическое поведение опухоли и её ответ на терапию. Выше упоминалось, что ген *PIK3CA* кодирует ключевой компонент сигнального пути PI3K/AKT/mTOR, который регулирует клеточный рост, пролиферацию и выживание. Мутации в этом гене активируют данный сигнальный путь, что способствует неконтролируемому росту опухолевых клеток и повышенной агрессивности опухолей. До 45% случаев гормонозависимого рака молочной железы в опухоли обусловлены мутациями в гене *PIK3CA*, особенно в люминальных подтипах, что играет важную роль в назначении таргетной терапии. (Hanker et al., 2019). Наличие мутаций в *PIK3CA* позволяет предсказать, как опухоль отреагирует на терапию. Пациенты с такими мутациями демонстрируют положительный ответ на эндокринную терапию, даже при агрессивном течении заболевания. Мутации в гене *PIK3CA* также указывают на чувствительность опухолей к ингибиторам PI3K, например, к альпелисибу, что делает возможным использование таргетной терапии. Эти препараты блокируют гиперактивированный путь PI3K/AKT/mTOR, замедляя рост опухоли и снижая риск её дальнейшего прогрессирования. Применение ингибиторов PI3K существенно улучшает прогноз для пациентов с мутациями в гене *PIK3CA* (Martínez-Sáez et al., 2020).

В связи с этим проведение тестирования на мутации в гене *PIK3CA* становится обязательной частью персонализированного подхода к лечению. Исследования на

мутации рекомендованы пациентам с распространённым или метастатическим раком молочной железы, у которых гормонопозитивный и HER2-негативный статус.

Важно отметить, что мутации в гене *PIK3CA* обычно являются соматическими, что означает, что они возникают в клетках опухоли в течение жизни человека и не наследуются.

Наиболее частые мутации, наблюдаемые в пути *PIK3CA*, сгруппированы в горячих точках мутагенеза: в положениях с.1624G>A (p.Glu542Lys) и p.Glu545 (Ala/Asp/Gly) экзона 9 (хеликазный домен), а также в положении с.3140A>G (p.His1047Arg) и p.His1047 (Leu/Tyr) экзона 20 (киназный домен), может присутствовать более одной мутации. Как правило, аминокислоты в позициях Glu542 и Glu545 заменяются на лизин, а в позиции His1047 заменяется на аргинин. В дополнение к этим мутациям также обнаруживаются активирующие варианты в экзонах 2,5 и 8, которые кодирует n-концевой участок p110 альфа, взаимодействующий с регуляторной субъединицей PI3K в позиции p85. (Furet et al., 2013; Hanks et al., 2019). В исследовании 6338 женщин с РМЖ мутации в *PIK3CA* составили 35,7% случаев, при этом наиболее часто встречались мутации с.3140A>G (p.His1047Arg) (35%) и с.1633G>A (p.Glu545Lys) (17%)(Martínez-Sáez et al., 2020). В другом исследовании мутации в *PIK3CA* выявлены в 28% случаев, при этом наиболее частыми были варианты с.3140A>G (p.His1047Arg) (21%), с.3140A>T (p.His1047Leu) и с.1624G>A (p.Glu542Lys) (15%) (Pevzner et al., 2021). На сегодняшний день для обнаружения мутаций гена *PIK3CA* в образцах опухолевой ткани (предпочтительным является образец, полученный во время самого последнего этапа прогрессирования) востребованными методами являются полимеразная цепная реакция (ПЦР) в хеликазном и киназном доменах PI3K (соответствующих экзонам 2,5,8, 9 и 20 соответственно) и секвенирование нового поколения (NGS) (Chen et al., 2023).

В настоящее время в России комбинация алпелисиба с фулвестрантом является первой и единственной таргетной терапией, одобренной для лечения пациентов с РМЖ, имеющих мутацию в гене *PIK3CA*. Алпелисиб является пероральным ингибитором PI3K, который избирательно блокирует p110 α , тем

самым снижая активность сигнального пути PI3K/AKT/mTOR. Было показано, что комбинированное применение алпелисиба и фулвестранта обладает синергическим эффектом, улучшая противоопухолевую активность по сравнению с монотерапией. Это делает комбинацию ингибитора PI3K и фулвестранта эффективным методом повышения выживаемости и улучшения ответа на терапию у пациентов с мутацией в гене *PIK3CA* (Честнова и др., 2024; André et al., 2019).

Необходимость исследования мутаций в гене *PIK3CA* обусловлена тем, что оно помогает врачам определить наиболее эффективные методы лечения и прогнозировать исход заболевания. Тестирование на наличие мутаций может стать важным компонентом персонализированного подхода к лечению рака молочной железы, позволяя оптимизировать терапию в зависимости от генетических особенностей опухоли и повысить выживаемость пациентов.

1.6 Наследственный рак молочной железы и яичников

Семейный синдром рака молочной железы/рака яичников представляет собой наиболее распространенную категорию наследственных опухолевых синдромов. Доля этого синдрома составляет до 5-7% от всех случаев рака молочной железы, и как минимум 15-20% случаев рака яичников также можно объяснить наличием генетического дефекта (Imyanitov et al., 2023). Данный наследственный синдром трудно рассматривать как два отдельных заболевания, поскольку наиболее известные и частые генетические причины этих заболеваний представлены патогенными вариантами, расположенными в одних и тех же генах - *BRCA1* и *BRCA2*. Тем не менее, между РМЖ и РЯ существуют и существенные различия, которые могут оказать решающее влияние на генетические исследования этих заболеваний. В связи с тем, что пожизненный риск развития РМЖ в западных странах составляет примерно 1:8, примерно 1 из 60-70 пар мать-дочь или сестра-сестра будут иметь это заболевание по чистой случайности (Waks et al., 2019; Fierheller et al., 2021). РЯ встречается значительно реже, его распространенность в популяции приближается к 1:60-1:70, поэтому вероятность "случайного"

совместного возникновения РЯ у двух родственниц первой степени родства очень низка и находится в пределах 1:3500-1:5000 (Fierheller et al., 2021). Кроме того, если две трети случаев РЯ относятся к основной гистологической единице – серозному РЯ высокой степени злокачественности, то опухоли молочной железы характеризуются значительным биологическим разнообразием, проявляющимся в различиях рецепторного статуса и других существенных признаков опухоли (Lheureux et al., 2019; Loibl et al., 2021). Тем не менее, наследственный синдром рака молочной железы и яичников, связанный с патогенными мутациями в генах *BRCA1* и *BRCA2*, представляет собой важную исследовательскую модель для поиска персонализированных терапевтических подходов к специфическим герминальным мутациям.

Приобретение одной мутации в онкогене или гене-супрессоре обычно вполне допустимо для человеческой клетки благодаря существованию множества биологических механизмов, защищающих от рака. Процесс злокачественной трансформации в итоге требует накопления нескольких факторов, вызывающих рак, в одном и том же клеточном клоне. Поэтому, когда от родителей наследуется один патогенный вариант, ассоциированный с раком, его носитель остается фенотипически здоровым, несмотря на присутствие патогенного аллеля в каждой клетке организма. Однако количество сопутствующих факторов, необходимых для проявления рака, уменьшается на единицу, поэтому вероятность развития опухоли у такого субъекта в разы выше по сравнению с общей популяцией. Большинство известных генов наследственных онкологических синдромов являются генами-супрессорами, для проявления действия которых необходима биаллельная инактивация. Когда наследуется инактивирующий патогенный вариант в одном аллеле, оставшаяся копия гена сохраняет свою функцию и нормальное состояние организма сохраняется. Процесс злокачественной трансформации обычно запускается "вторым ударом", то есть соматической инактивацией оставшегося аллеля, происходящей в любой клетке, расположенной в органе-мишени. Этот механизм весьма характерен для наиболее известных генов наследственных раковых синдромов, например, *RBI*, *BRCA1*, *BRCA2*, *MLH1*, *MSH2* и др. (Peltomäki et al.,

2020; Jonsson et al., 2019; Hodgson et al., 2021; Martínez-Sánchez et al., 2022). Существуют примеры мутировавших генов-супрессоров, которые способствуют развитию наследственных раковых заболеваний без обязательной инактивации оставшейся копии гена. Предполагается, что уменьшенная доза гена, так называемая гаплонедостаточность, является основной причиной злокачественной трансформации в таких ситуациях. Интересно, что некоторые гены, например *PALB2* и *CHEK2*, могут использовать оба механизма. Действительно, в литературе описаны случаи как моноаллельной, так и биаллельной инактивации этих генов в опухолях человека, и существуют четкие биологические различия между карциномами, связанными с гаплонедостаточностью по сравнению со вторичной потерей функции таких генов (Preobrazhenskaya et al., 2021; Iyevleva et al., 2022). Существует два основных гена, обуславливающих предрасположенность к РМЖ и РЯ - *BRCA1* и *BRCA2*. Оба этих гена участвуют в репарации двунитевой ДНК путем гомологичной рекомбинации. *BRCA2*-ассоциированные опухоли, как правило, имеют более старший возраст начала заболевания по сравнению со злокачественными опухолями, обусловленными геном *BRCA1*. Патогенные варианты как в генах *BRCA1*, так и *BRCA2* обеспечивают примерно 70 % пожизненного риска развития РМЖ; кумулятивный риск развития РМЖ оценивается в 44% и 17 % для генов *BRCA1* и *BRCA2* соответственно (Kuchenbaecker et al., 2017). Важно отметить, что эти совместные расчеты могут вводить в заблуждение, поскольку некоторые патогенные варианты, расположенные в этих генах, способствуют развитию РМЖ, в то время как другие связаны с более выраженным риском РЯ; фактически, существуют так называемые кластерные регионы РМЖ и РЯ расположенные в этих генах (Rebbeck et al., 2015). Патогенные варианты в генах *BRCA1* и *BRCA2* наблюдаются примерно у 2-5 % больных РМЖ и до 25-30 % у женщин с диагнозом серозного РЯ высокой степени злокачественности (Dorling et al., 2021; Hu et al., 2021; Gorodnova et al., 2019; Kurian et al., 2019). Помимо *BRCA1* и *BRCA2*, некоторые паралоги *RAD51*, а именно *RAD51C* и *RAD51D*, способствуют предрасположенности как к РМЖ, так и к РЯ (Colas et al., 2019; Yang et al., 2020). Последние данные также указывают на участие патогенных вариантов

RAD51B в предрасположенности к наследственному раку молочной железы и раку яичников (Setton et al., 2021). Одним из значимых генов предрасположенности к РМЖ является ген *PALB2* (Antonioni et al., 2014). *PALB2* действует как опухолевый супрессор, а также способствует сохранению целостности генома. Пациенты с герминальными мутациями в этом гене значительно чаще заболевают РМЖ и имеют худший прогноз в целом (Neromusceno et al., 2017; Ouhtit et al., 2016). Его пенетрантность в отношении РМЖ сходна с *BRCA2*, однако данные о роли предрасположенности к РЯ противоречивы (Colas et al., 2019). Существуют два гена со средней пенетрантностью - *ATM* и *CHEK2*, которые ассоциируются с 2-3-кратным повышением риска развития РМЖ, но не вносят особый вклад в повышение предрасположенности к РЯ (Colas et al., 2019). Серин/треониновая киназа CHK2 (Checkpoint Kinase 2), кодируемая геном *CHEK2*, участвует в репарации повреждений ДНК и функционирует как опухолевый супрессор, играя роль в апоптозе, регуляции клеточного цикла и предотвращении клеточной пролиферации. Ген *ATM* (Ataxia-telangiectasia mutated) участвует в двухцепочечной репарации ДНК и регуляции клеточного цикла (Kleiblova et al., 2019; Moslemi et al., 2021). В нескольких исследованиях к генам, ассоциированным с РМЖ также относят *NBN* (*NBS1*), *BLM*, *RECQL*, *FANCM*, *BARD1*, однако, в отличие от доказательств, полученных для *ATM* и *CHEK2*, эти наблюдения не были полностью подтверждены исследованиями на различных выборках (Dorling et al., 2021; Colas et al., 2019; Neidhardt et al., 2017). *BRIP1* считается одним из генов, ассоциированных с наследственным раком яичников, однако его связь с наследственным раком молочной железы изучена значительно меньше. Существуют лишь несколько исследований, которые обсуждают его возможную ассоциацию с наследственным РМЖ (Colas et al., 2019). РМЖ также может возникать как часть синдрома мультиорганный рака. Герминальные патогенные варианты в гене *TP53* способствуют синдрому Ли-Фраумени, который проявляется широким спектром опухолей. Патогенные варианты *TP53* особенно часто встречаются у очень молодых пациентов с РМЖ (Shin et al., 2020). Результаты крупномасштабных исследований, выполненные с использованием секвенирования следующего поколения (NGS),

показали, что мутации в гене *TP53* могут быть обнаружены у пациенток с РМЖ, не имеющихотягощённого семейного анамнеза (Rana et al., 2018; Kratz et al., 2021). Лобулярная карцинома молочной железы, являющаяся одним из подтипов РМЖ, связана с герминальными патогенными вариантами в гене *CDH1*. (Montagna, et al., 2020). Белок CDH1 (кадгерин 1 или E-кадгерин), кодируемый геном *CDH1*, жизненно важен для эпителиальной адгезии. Снижение функции или аномальная экспрессия *CDH1*, вызванная мутациями, повышает метастатический потенциал РМЖ. Белок функционирует как партнер *BRCA1* в репарации повреждений ДНК (Figueiredo, et al., 2020). Исследования *in vitro* и *in vivo* показывают, что пациенты, несущие герминальные мутации в этом гене, могут получить положительный эффект от терапии ингибиторами PARP.

Имеются убедительные данные о том, что у пациентов с синдромом Линча, РЯ развиваются чаще, чем в общей популяции (Carnevali et al., 2019; Lerner-Ellis et al., 2021). В отличие от опухолей, обусловленных *BRCA1/2*, РЯ - ассоциированные с синдромом Линча, часто имеют несерозную гистологию (Dominguez-Valentin et al., 2020). Некоторые другие синдромы мультиорганного рака также оказывают незначительное повышение риска развития РЯ (Shanbhogue et al., 2021). Исследования секвенирования экзома в семьях с РЯ выявили несколько перспективных кандидатов на предрасположенность к РЯ, например, гены *ANKRD11* и *POLE* (Zhu et al., 2020). Некоторые данные указывают на то, что патогенные варианты, связанные с укорочением белка в гене *ERCC3*, могут обуславливать повышенный риск РЯ (Stradella et al., 2020). Из-за редкости *BRCA1/2*-независимых семейных кластеров с РЯ валидация этих данных затруднена. Проведены исследования мелкоклочечной карциномы яичника гиперкальциемического типа, которые представляют собой редкую разновидность РЯ. Данный тип ассоциирован с герминальным вариантом в гене *SMARCA4*, который играет роль в ремоделировании хроматина (Shanbhogue et al., 2021).

В контексте диагностики синдрома наследственного РМЖ и РЯ помимо анализов на мутации в генах *BRCA1* и *BRCA2* существует тест-панели на известные гены, несущие наследственную предрасположенность, например: *ATM*, *BRCA1*,

BRCA2, *CDH1*, *CHEK2*, *NBN*, *NF1*, *PALB2*, *PTEN*, *STK11* и *TP53*, а также гены с неопределенным риском развития РМЖ и РЯ, но часто включаемые в панели секвенирования: *BARD1*, *BLM*, *BRIP1*, *FAM175A*, *FANCC*, *MRE11A*, *RAD50*, *RAD51C*, *RAD51D* и *XRCC2* (Kurian et al., 2016).

Так, в двух крупных исследованиях типа «случай-контроль», опубликованных в 2021 году, были проведены исследования наследственного РМЖ, выполненные на широких генных панелях, где было выявлено, что значимая ассоциация с РМЖ была показана для патогенных вариантов в генах *ATM*, *BARD1*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *PALB2*, *RAD51C* и *RAD51D*. Патогенные варианты гена *TP53* показали значимую ассоциацию в одном исследовании (Dorling et al., 2021). В другом исследовании ген *CDH1* был связан только с эстроген-позитивным раком молочной железы (Hu et al., 2021). *PTEN* не показал значительной ассоциации ни в одном из исследований, а *STK11* не был связан с РМЖ в исследовании Bridges с соавт (Bridges et al., 2022). Эти результаты иллюстрируют сложность определения рисков для очень редких генов синдрома РМЖ и РЯ даже в крупных исследованиях «случай-контроль». Помимо этого, в результате крупномасштабного исследования описано, что добавление подтвержденных генов предрасположенности к РМЖ и РЯ почти в два раза увеличивает диагностический результат по сравнению с тестированием только на мутации в генах *BRCA1* и *BRCA2* (Öfverholm et al., 2023). Результаты этого исследования уже легли в основу национальных рекомендаций по лечению рака. Гены, представленные в этом исследовании, за исключением гена *BRIP1*, теперь рекомендованы для диагностики наследственного РМЖ. Вместо этого ген *BRIP1* включен в соответствующую панель генов для определения предрасположенности к РЯ, вместе с генами *BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2*, *RAD51C*, *RAD51D* и генами синдрома Линча (Talkar et al., 2021).

В настоящее время руководство Национальной онкологической сети США (NCCN) рекомендует стратегии лечения РМЖ и РЯ на основе комплексных мероприятий и генетических тест-панелей, например: обсуждение мастэктомии со снижением риска с пациентками, имеющими мутации в генах *CDH1*, *PALB2*, *PTEN*, *TP53*, *BRCA1* и *BRCA2*; Регулярное обследование с помощью магнитно-резонансной

томографии молочных желез (МРТ) для женщин с мутациями в генах *ATM*, *CHEK2* и *STK11*; Сальпинго-оофорэктомия со снижением риска для носителей мутаций в генах *BRIP1*, *RAD51C* и *RAD51D* (Han et al., 2021).

Таким образом, идентификация генов, способствующих развитию рака, является примером триумфа трансляционной медицины. Разработка методов нехирургической профилактики опухолевой прогрессии у носителей патогенных аллелей, ассоциированных с заболеванием, является очевидным приоритетом будущих исследований в этой области.

1.7 Перспективы мультиомиксных подходов в диагностике рака молочной железы и рака яичников

Традиционные стратегии диагностики РМЖ включают в себя применение маммографии, магнитно-резонансной томографии (МРТ), ультразвукового исследования (УЗИ), проведение биопсии и последующий гистологический анализ ткани опухоли с целью выявления классических маркеров, таких как рецепторы эстрогена и прогестерона (ER, PR), для определения чувствительности опухоли к гормональной терапии, цитокератины (CK5/6, CK14, C19) для понимания характера опухоли, индекс пролиферации (Ki67), который указывает на быстрое размножение клеток и более агрессивный характер рака, и рецептор эпидермального фактора роста 2-го типа (HER2), играющий ключевую роль в регуляции роста и деления клеток (Pankotai-Vodó et al., 2024).

Согласно рекомендациям RUSSCO, диагноз РЯ основывается на гистологическом анализе материала, полученного во время операции или биопсии на этапе дооперационной подготовки. В случае невозможности проведения оперативного вмешательства или биопсии на первом этапе, начинается предоперационная химиотерапия, где диагноз может быть установлен на основе цитологического анализа, уровня онкомаркера CA125 и клинических данных (Тюляндина и др., 2022).

За последние 30 лет было проведено более 100 тестирований биомаркеров крови как потенциальных индикаторов ранней диагностики РЯ, как в отдельности, так и в сочетании с маркером СА125. Белок HE4 (человеческий эпидидимальный секреторный белок 4) выделяется эпителиальными клетками РЯ, имеет два домена сывороточного кислого белка (WAP) и 4-дисульфидных ядра (WFDC2). Уровень HE4 увеличивается у 70% пациентов с РЯ и, в отличие от СА125, реже повышается при доброкачественных заболеваниях, что позволяет диагностировать РЯ даже при нормальном уровне СА125 (Dochez et al., 2019). Исследования Moore и соавторов показали, что одновременное скрининговое использование маркеров HE4 и СА125 обладает высокой чувствительностью – 76,4% при наличии опухолевого образования яичников (специфичность 95%) (Yang et al., 2017). Повышение концентрации HE4 особенно характерно для РЯ, немелкоклеточного рака легких и рака эндометрия. Важно отметить, что, поскольку уровень HE4 может увеличиваться при доброкачественных опухолях, его следует рассматривать в комплексе с другими диагностическими тестами (Anastasi et al., 2023). На данный момент разработан алгоритм расчета риска злокачественной опухоли яичников (ROMA), основанный на анализе СА125, HE4 и менопаузального статуса. Алгоритм классифицирует женщин с дополнительными образованиями как группу с высоким или низким риском РЯ (Kim et al., 2019).

В последние годы возрос интерес к мультиомическому подходу изучения РМЖ/РЯ, поскольку стало очевидным, что взаимосвязь генома, протеома, метаболома и микробиома при данных патологиях может выявить новые биомаркеры и терапевтические мишени. Более того, омические исследования привели к открытию специфических геномных и метаболомных особенностей РМЖ/РЯ, которые помогают классифицировать пациентов, определять прогрессирование заболевания и ответ на лечение. Например, уникальный метаболический профиль больных РМЖ очень чувствителен к микробиоте микроокружения тканей молочной железы. Таким образом, анализ метаболических изменений при РМЖ с учетом микробиомных последствий может дать новое представление о методах диагностики.

Таким образом, для реализации прецизионной медицины в диагностике рака важнейшей предпосылкой является открытие и проверка клинически полезных биомаркеров. Биомаркеры необходимы и используются для оценки предрасположенности к раку, скрининга рака (раннего выявления), определения подтипа рака, определения прогноза, принятия решения о соответствующей адъювантной терапии и продолжительности терапии, а также для мониторинга рецидивов. Биомаркеры также необходимы для выбора таргетной терапии при метастатическом раке и мониторинга их ответа во время последующего наблюдения. Технологии и данные секвенирования нового поколения (NGS) повсеместно используются в медицинских исследованиях. Применение метода NGS позволили нам применить «омический» подход к раку, чтобы выявить геномные, транскриптомные и эпигеномные ландшафты отдельных злокачественных новообразований. Так, технологии секвенирования NGS, в свою очередь, позволяют всесторонне охарактеризовать мутационный профиль РМЖ и/или РЯ, включая замены оснований, небольшие вставки и делеции, а также структурные перестройки (Santini et al., 2023; Ördög et al., 2022).

NGS в исследованиях РМЖ в основном используется в геномике, эпигеномике, транскриптомике (Rossing et al., 2019; Chang et al., 2020), а также таргетном секвенировании (Mathioudaki et al., 2020), секвенировании микроРНК (Ibragimova et al., 2022), анализе некодирующих РНК (Kashyap et al., 2023), а также эпигенетическом секвенировании (включая иммунопреципитацию хроматина с последующим секвенированием (Grosselin et al., 2019) и секвенировании метилома ДНК (Sigin et al., 2023). Решающую роль в патогенезе РМЖ играют эпигенетические изменения (Khakpour et al., 2017). Эпигеномика изучает изменения фенотипа, которые не зависят от последовательности ДНК (Song et al., 2020). Эпигенетические драйверы, такие как модификации гистонов, включая ацетилирование и метилирование гистонов, а также метилирование ДНК и эпигенетические регуляторные механизмы, основанные на исследовании микроРНК, вызывают нарушение регуляции генов, связанных с дифференцировкой, выживанием, миграцией и инвазией клеток при РМЖ (Zhuang et al., 2020). Модификация гистонов

является важным процессом, поддерживающим стабильность генома, транскрипцию и репарацию ДНК, а также модулирующим хроматин в опухолевых клетках (Li et al., 2021). Метилирование ДНК регулирует экспрессию генов без изменения их последовательности путем гипометилирования и/или ген-специфического гиперметилирования (Zhuang et al., 2020). Так, в исследовании метилома использовался микрочип иммунопреципитации метилированной ДНК (MeDIP-chip) на образцах ДНК, выделенных из лейкоцитов молодых пациентов с РМЖ, что позволило выявить гиперметилирование нескольких генов, таких как *APC*, *HDAC1*, *GSK1*, *SLC6A3*, *Rab40C*, *ZNF584* и *FOXD3* (Khakpour et al., 2017). Кроме того, метагеномный анализ нормальных и злокачественных микробиомов молочной железы с помощью секвенирования генов 16S рРНК выявил специфические микробиотические группы, которые могут служить потенциальными биомаркерами для прогнозирования и диагностики для разработки новых стратегий лечения пациентов с РМЖ (Kartti et al., 2023).

В быстро развивающейся области геномики разработка и продвижение новых методов, основанных на профилировании ДНК, выделенной из неинвазивных/минимальных жидких биоптатов, таких как кровь и ее производные, моча, мокрота, молоко, слезная жидкость и другие жидкости организма, содержащие опухолевую ДНК, могут иметь большой потенциал (Berger et al., 2018) и стать более привлекательными в клиническом применении (Buono et al., 2019). Анализ циркулирующих компонентов опухолевого происхождения, известный как «опухолевый циркулом», полезен для оценки клональной гетерогенности опухолей, в отличие от биопсии тканей и рассматривается как новый рубеж жидкостной биопсии (Cardinali et al., 2022). «Циркулом» опухоли включает циркулирующие опухолевые нуклеиновые кислоты (ктНК: ктДНК и ктРНК), циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК), опухолевые внеклеточные везикулы (ОВВ) и опухолеобразующие тромбоциты (ООТ), которые могут быть использованы в качестве биомаркеров рака (Wu et al., 2020). Кроме того, циркулирующие белки плазмы играют ключевую роль в развитии РМЖ и могут служить важным источником биомаркеров для ранней диагностики данной патологии (Veysi ere et al.,

2022). Анализ экспрессии генов в образцах крови подчеркнул потенциальную связь между иммунной системой и метастазированием (Holsbø et al., 2020). На основе методов параллельного секвенирования и цифровой геномики анализ циркулирующей опухолевой ДНК (цоДНК) в крови больных РМЖ является перспективным биомаркером для диагностики РМЖ (Cardinali et al., 2022; R. Wang et al., 2017). Комбинированный анализ мутационного статуса PIK3CA в ЦОК с помощью ПЦР в реальном времени и NGS показал, что определение таргетных генов в HR+/HER2-метастатическом РМЖ имеет значительные преимущества после возникновения резистентности к эндокринной терапии за счет модуляции сигнального пути PI3K/АКТ/mTOR (Cardinali et al., 2022). Помимо этого, в исследованиях цоДНК плазмы и мочи пациентов с РМЖ были обнаружены мутации в генах *NF1*, *CHEK2*, *KMT2C* и *PTEN* в обеих жидкостях. В результате таких исследований, можно предположить, что обе жидкости организма представляют собой ценные источники, несущие дополнительную информацию о генетическом профиле опухоли, которая может иметь значение для мониторинга заболевания и принятия решений по индивидуальному лечению (Herzog et al., 2022).

Одной из самых изучаемых технологий для выявления диагностических биомаркеров при РМЖ является транскриптомный анализ (Alam et al., 2022). Среди всех транскриптов активную область биомедицинских исследований занимают исследования микроРНК. Дифференцировка, пролиферация, апоптоз, метастазирование, рецидив и химиорезистентность клеток контролируются либо онкогенными микроРНК, либо микроРНК-супрессорами опухолей (цмиРНК) (Loh et al., 2019). Так, в одном из результатов секвенирования микроРНК было выявлено, что miR-21 и miR-1246 значительно повышены в плазме пациентов с РМЖ, что может говорить об их потенциале в качестве биомаркеров в диагностике РМЖ (Hannafon et al., 2016). В другом исследовании была выявлена микроРНК, которая связана с ростом клеток РМЖ, — это микроРНК-483-3p. При повышении уровня экспрессии микроРНК-483-3p предотвращает переход раковых клеток в S-фазу клеточного цикла, нацеливаясь на циклин E1. Кроме того микроРНК-143 проявляет опухолесупрессирующие свойства при РМЖ, поскольку ее сверхэкспрессия

снижает жизнеспособность клеток путем воздействия на киназу 5, регулируемую внеклеточным сигналом (ERK5) и митоген-активируемую протеинкиназную киназу киназы 7 (MAP3K7) (Huang et al., 2018). И наоборот, некоторые микроРНК демонстрируют онкогенные характеристики при РМЖ. Например, микроРНК-1207-5p способствует росту клеток BC путем подавления супрессоров клеточного цикла - ингибитора циклин-зависимой киназы 1A (CDKN1A) и ингибитора циклин-зависимой киназы 1B (CDKN1B) через ген преобразователя сигнала и активатора транскрипции 6 (STAT6) (Yan et al., 2017). В исследовании, проведенном Borsos и его коллегами, ученые отслеживали изменения экспрессии 15 предварительно выбранных микроРНК. Их результаты показали потенциальный прогресс в диагностике РМЖ за счет исследования уровней экспрессии miR-15a, miR-16 и miR-221. Комбинация miR-15a, miR-16 и miR-221 оказалась наиболее перспективной, что предполагает их потенциал в качестве биомаркеров при раке молочной железы (Borsos et al., 2022). Так, несмотря на широкомасштабные исследования в области транскриптомики, необходимы дополнительные клинические исследования для подтверждения точности и надежности использования микроРНК в диагностике рака молочной железы. С учетом динамичности этой области исследований, в перспективе возможны новые открытия и разработки.

Вопреки значительным успехам в развитии мультиомиксных технологий, таких как геномика, протеомика и транскриптомика, генотипирование опухолей продолжает оставаться неотъемлемым этапом в обеспечении высокоточной диагностики рака молочной железы и яичников. Эти технологии, хотя и предоставляют богатый набор данных о молекулярной природе опухоли, но они ограничены в своей способности детально анализировать генетическую основу раковых заболеваний. Генотипирование опухолей дает возможность систематического выявления уникальных генетических вариантов, включая точные соматические мутации, числовые изменения в копиях генов, структурные вариации и другие геномные аномалии. Эта глубокая информация становится ключевой основой для понимания биологии опухолей и ее изменений на молекулярном уровне. В итоге, объединение данных о генотипировании опухолей с

мультиомиксными технологиями создает цельное понимание раковых заболеваний молочной железы и яичников. Это комплексное знание формирует основу для передовых и персонализированных стратегий борьбы с раком, что, в свою очередь, содействует улучшению прогнозов и результатов лечения для пациентов, а также направляет нас в будущее более точной и эффективной диагностики этих тяжелых заболеваний.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Материалы исследования

В исследовании использованы образцы опухолевой ткани, фиксированные в формалине и заключённой в парафин (ФФЗП) и цельная кровь пациенток с установленным диагнозом «рак молочной железы» и «рак яичников», общее количество которых составило 1611 образцов. Исследование проводилось в лаборатории молекулярно-генетической диагностики ГБУЗ Республиканский медико-генетический центр (г. Уфа).

По данным иммуногистохимического анализа (ИГХ), образцы опухолевой ткани и цельной крови пациентов с РМЖ были разделены на трижды негативный (PR-, ER-, HER2-) и гормонозависимый (ER+, PR+, HER2-) тип.

Количество образцов опухолевой ткани трижды негативного РМЖ составило 74 образца, гормонозависимого РМЖ – 23.

Количество образцов цельной крови трижды негативного РМЖ составило 419 образцов, гормонозависимого РМЖ – 383.

Отдельно для скрининга мутаций в гене *PIK3CA* было отобрано 376 образцов ДНК из опухолевой ткани пациентов с гормонозависимым (ER+, PR+, HER2-) типом РМЖ.

Количество образцов опухолевой ткани серозного типа РЯ составило 70 образцов, цельной крови – 266 (таблица 2).

Таблица 2 - Характеристика выборки больных (N=1611)

Выборка женщин с РМЖ (N=1275)				
Группы сравнения	N	Материал исследования		Возраст, Me±SD
		FFPE-блоки	Цельная кровь	
PR-, ER-, HER2-	493	74	419	53 ± 11,82
ER+, PR+, HER2-	406	23	383	52 ± 11,6
ER+, PR+, HER2- (<i>PIK3CA</i> ПЦР)	376	376	0	59,5 ± 11,22
Выборка женщин с РЯ (N=337)				
Серозный тип	336	70	266	61 ± 11,18

2.2 Методы исследования

2.2.1 Выделение ДНК

Выделение ДНК из ткани проводили с использованием набора QiaGen FFPE TissueKit (QIAGEN, Германия) по протоколу производителя. Измерение концентрации, полученной ДНК осуществляли с использованием набора Qubit 1x dsDNA HS Assay kit (Invitrogen, США) на флуориметре Qubit 4 (Invitrogen, Сингапур). Все образцы пациенток с РМЖ и РЯ секвенировали на платформе MiSeq (Illumina) с использованием кастомной панели на 17 генов: *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BARD1*, *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK1*, *CHEK2*, *FANCL*, *PALB2*, *RAD51B*, *RAD51C*, *RAD51D*, *RAD54L*, *PPP2R2A*, *PTEN*, *TP53*.

Геномная ДНК, выделенная из ФФЗП тканей, отвечала качественным и количественным критериям фирм-производителей панелей секвенирования нового поколения (BRCA Advanced DNA UMI Panel). Подготовка библиотек осуществлялась в полном соответствии с протоколами, разработанными производителями. Для валидации и нормализации генетических библиотек использовался флуориметр Qubit 4 (Invitrogen, Сингапур).

Для обнаружения мутаций в гене *PIK3CA* образцы 91 пациента с гормонзависимым РМЖ исследовались с помощью набора Therascreen® PIK3CA RGQ PCR Kit (QIAGEN). Материал 285 пациентов исследовался с помощью набора Cobas® PIK3CA.

Выделение геномной ДНК из ФФЗП образцов ткани РМЖ и РЯ

ДНК выделяли из фиксированной формалином, залитой парафином ткани опухоли молочной железы и яичников с использованием набора QiaGen FFPE Tissue Kit (QIAGEN, Германия) по протоколу производителя. Патоморфологом проводился отбор опухолевого материала по окрашенным срезам ФФЗП тканей. После отбора материала, парафиновый блок нарезался на 8 секций по 5-10 мкм. К свежим срезам добавляли 1 мл ксилола с последующим перемешиванием на вортексе около 10 сек. Далее центрифугировали на полной скорости (12000 g; 14000 rpm) 2 мин, после чего

удалить надосадочную жидкость. Добавили 1 мл 96% этанола, перемешали на вортексе. Центрифугировали полученную смесь на полной скорости (12000 g; 14000 rpm) 4 мин, затем удалили надосадочную жидкость с помощью тонких наконечников. После этого поставили инкубироваться при 37°C 30 мин (или пока этанол полностью не испарится). Далее добавили 180 мкл буфера ATL, суспендировали осадок и добавили 20 мкл протеазы K, после чего перемешали данную смесь на вортексе. Поставили на инкубацию в термостат при 56°C на 1 час (или пока образцы полностью не лизируются). Далее повысили температуру и инкубировали при 90°C 1 час. После инкубации коротко центрифугировали на вортексе для сброса капель со стенок и крышки. Добавили 200 мкл буфера AL, тщательно перемешали на вортексе. Добавили 200 мкл 96% этанола, затем также тщательно перемешали на вортексе и центрифугировали для сброса капель со стенок и крышки. Аккуратно и тщательно перенесли всю смесь в колонки QIAamp MinElute не задевая обод и поставили в центрифугу на 6000 g (8000 rpm) 1 мин. Переставили колонки в чистые собирательные пробирки на 2 мл. После этого открыли колонки QIAamp MinElute и добавили 500 мкл буфера AW1 не задевая обод и также центрифугировали на 6000 g (8000 rpm) 1 мин. Переставили колонки в чистые собирательные пробирки на 2 мл, после чего добавили 500 мкл буфера AW2. Центрифугировали на 6000 g (8000 rpm) 1 мин. Далее переставили колонки в чистые пробирки на 2 мл и центрифугировали на полной скорости (12000 g; 14000 rpm) 3 мин для полного осушения мембраны. Переставили колонки в новые пробирки на 1,5 мл. Добавили 20-100 мкл буфера ATE на центр мембраны колонки QIAamp MinElute. После чего колонки инкубировали 1-10 мин при комнатной температуре и центрифугировали на полной скорости (12000 g; 14000 rpm) 1 мин. ДНК хранили при $t = -20^{\circ}\text{C}$. Концентрация ДНК измерялась с помощью набора Qubit 1x dsDNA HS Assay kit (Invitrogen, США) на флуориметре Qubit4.

Выделение геномной ДНК из периферической венозной крови пациентов

ДНК из крови выделяли наборами QIAamp® Blood Mini Kit. Для этого в 1,5 мл эппендорф внесли 20 мкл Протеазу QIAGEN и 200 мкл образца. Далее добавили 200

мкл буфера AL и тщательно провортексировали. Инкубировали при 56° С около 10 мин и после центрифугировали для удаления капель с крышки. Затем добавили 200 мкл этанола 96% и тщательно провортексировали. После этого перелили смесь на QIAamp Mini колонки и центрифугировали на 6000 g (8000 rpm) в течение 1 мин. Поместили колонку QIAamp Mini в новый эппендорф на 2 мл и добавили 500 мкл буфера AW1. Полученную смесь центрифугировали на 6000 g (8000 rpm) в течение 1 мин. Поместили колонку QIAamp Mini в новый эппендорф на 2 мл и добавили 500 мкл буфера AW2. Центрифугировали на полной скорости (20000 g; 14000 rpm) в течение 3 мин. Далее перенесли колонку QIAamp Mini в новый 1,5 мл эппендорф и добавили 200 мкл буфера AE. После чего поставили инкубироваться при комнатной температуре (15-25°С) на 1 мин. Центрифугировали полученный элюат при 6000 g (8000 rpm). ДНК хранили при $t = -20^{\circ}\text{C}$. Концентрация ДНК также измерялась с помощью набора Qubit 1x dsDNA HS Assay kit (Invitrogen, США) на флуориметре Qubit4.

2.2.2 Массовое параллельное секвенирование ДНК

Материал 899 пациенток с РМЖ и 336 пациенток с РЯ секвенировали на платформе MiSeq с использованием кастомной панели. В одном запуске NGS при сочетании наборов с разными индексами («48-1» и «48-2») можно объединить до 96 уникальных образцов (включая контроли). Параметры секвенирования: MiSeq Reagent kit v2 300 cycles, до 48 образцов для соматических мутаций (покрытие >300x), до 96 образцов для наследственных мутаций (покрытие >150x). Чувствительность метода >95%, специфичность >99%, картирование на целевые участки ДНК >95%. Основу работы набора составляла процедура амплификации целевых участков ДНК с помощью метода мультиплексной ПЦР. Полный процесс состоит из трех этапов, включающих приготовление библиотеки и, непосредственно, секвенирование. На первом этапе для разработки целевых фрагментов при помощи мультиплексной ПЦР (первичная амплификация) используется выделенная ДНК из исследуемого биоматериала. Для этого смешали

два раствора- по одному для каждого из растворов праймеров на необходимое количество реакций.

Схема ПЦР:

1 цикл – Активация ферментов- 95°C – 15 мин.

17 циклов – Денатурация -99°C – 15 сек.

Отжиг и элонгация- 60°C – 4 мин.

1 цикл – Хранение- 4°C – ∞

На втором этапе в процессе подготовки библиотеки для секвенирования удалили праймеры с концевых частей продуктов ПЦР. Для этого добавили по 2 мкл Активатора в каждую пробирку с продуктами ПЦР и центрифугировали при 1000 об/мин в течение 1–3 сек.

Схема ПЦР:

50°C – 10 минут

55°C – 10 минут

60°C – 20 минут

10°C – хранение до 1 часа

После этого лигировали олигонуклеотидные адаптеры, необходимые для последующего секвенирования. Очистка библиотек была произведена на магнитных частицах. Для этого в полученный ПЦР продукт с активатором добавили 2 мкл ДНК-лигазы в каждую пробирку, перемешали пипетированием. Общий объем смеси составил 30 мкл.

Схема ПЦР:

22°C – 30 минут

72°C – 30 минут

10°C – хранение до 1 часа

После этого провели очистку библиотек с помощью магнитных частиц в 2 этапа. На первом этапе добавили смесь из магнитных частиц и деионизированной воды в объеме 42 мкл, поместили на магнитный штатив и, после икубирования, перенесли полученный супернатант в чистую пробирку. На втором этапе добавили

58 мкл магнитных частиц и после инкубации удалили супернатант, добавили реагент Е и 70% этанол. Установили пробирки на магнитный штатив и удаляли супернатант.

На следующем этапе осуществлялась вторичная амплификация и очистка библиотек. Однако, наиболее важным процессом было индексирование библиотек, которое позволяет определить каждый образец ДНК после секвенирования. Для этого использовалась уникальная комбинация олигонуклеотидных индексов, которая привязывается к каждой полученной нуклеотидной последовательности.

Таким образом, возможно точно соотнести каждую последовательность с исходным образцом ДНК. Для этого в полученный ПЦР-продукт добавили по 2 мкл одного олигонуклеотидного индекса а и одного олигонуклеотидного индекса б и перемешали смесь на вортексе.

Схема ПЦР:

1 цикл – 98°C – 2 минуты

6 циклов – 98°C – 15 секунд

64°C – 1 минута

Хранение – 10°C – ~1 час или более

Далее очищали в два этапа преамплифицированную библиотеку с помощью приготовленной смеси из магнитных частиц, реагента В (85 мкл), буфера ТЕ (35 мкл) и 70% этанола (150 мкл). После инкубации на магнитном штативе разбавили полученный продукт деионизированной водой до концентрации 4 нмоль/л (эквивалентно 0,680 нг/мкл) используя 15 мкл исходной библиотеки.

На последнем этапе запустили секвенирование библиотек на приборе Illumina MiSeq. Полученные данные затем анализируются при помощи встроенного пайплайна Local Run Manager (версия 2.0.0 от 08.01.2018).

2.2.3 ПЦР в режиме реального времени

Для исследования мутаций в гене *PIK3CA* использовали выделенную ДНК из ФФЗП блоков 376 пациенток с гормонозависимым HER2- РМЖ. Среди них выделенная ДНК 91 пациентки исследовали с помощью набора

Therascreen® *PIK3CA* RGQ PCR Kit (QIAGEN), состоящего из шести реакционных смесей: одной контрольной смеси, направленной на экзон 15, и пять мутационно-специфичных, используемых для обнаружения 11 мутаций в экзонах 7, 9 и 20 гена *PIK3CA* (таблица 3). Данный набор представляет собой качественный ПЦР-тест в реальном времени для обнаружения мутаций с использованием геномной ДНК. Технология позволяет точно и с высокой воспроизводимостью обнаруживать мутации с чувствительным обнаружением сигнала с помощью прибора Rotor-Gene Q MDx (США).

Таблица 3 - Мишени набора Therascreen® *PIK3CA* RGQ PCR Kit

Экзон	Изменение аминокислотной последовательности	Номенклатура белков HGVS*	Идентификатор COSMIC	Изменение нуклеотидной последовательности
7	C420R	NM_006218.2: p.(Cys420Arg)	757	1258 T>C
9	E542K	NM_006218.2: p.(Glu542Lys)	760	1624 G>A
	E545A	NM_006218.2: p.(Glu545Ala)	12458	1634 A>C
	E545D	NM_006218.2: p.(Glu545Asp)	765	1635 G>T
	E545G	NM_006218.2: p.(Glu545Gly)	764	1634 A>G
	E545K	NM_006218.2: p.(Glu545Lys)	763	1633 G>A
	Q546E	NM_006218.2: p.(Gln546Glu)	6147	1636 C>G
	Q546R	NM_006218.2: p.(Gln546Arg)	12459	1637 A>G
	20	H1047L	NM_006218.2: p.(His1047Leu)	776
H1047R		NM_006218.2: p.(His1047Glu)	775	3140 A>G
H1047Y		NM_006218.2: p.(His1047Tyr)	774	3139 C>T

*HGVS — Общество изучения вариативности генома человека (Human Genome Variation Society).

Для выделения ДНК использовали набор QiaGen FFPE Tissue Kit (QIAGEN, Германия) по протоколу производителя. После этого приготовили мастер-миксы (контрольные и мутационные реакционные смеси), содержащие все компоненты, необходимые для ПЦР, отвортексировали и центрифугировали полученный продукт. Добавили 20 мкл соответствующей мастер-смеси в каждую пробирку в стрипе. Добавили по 5 мкл каждого образца ДНК в каждую лунку, а также ОКО и ПКО и поместили готовую смесь в ротор прибора Rotor-Gene Q MDx. Результаты получили благодаря программному обеспечению Rotor-Gene AssayManager.

Материал 285 пациенток исследовали с помощью набора Cobas® *PIK3CA*. Производилась ПЦР-амплификация и детекция ДНК-мишени с помощью пар комплиментарных праймеров и зондов олигонуклеотидов, меченных флуоресцентными красителями для качественного обнаружения и идентификации мутаций в экзонах 1, 4, 7, 9 и 20 гена *PIK3CA* из выделенной ДНК, полученной из ФФЗП блоков (таблица 4).

Таблица 4 - Мутации, обнаруживаемые тестом cobas® *PIK3CA*

Экзон	Мутация	Последовательность нуклеиновой кислоты <i>PIK3CA</i>	Номенклатура белков HGVS*	Идентификатор COSMIC
1	R88Q	263G>A	NM_006218.2: p.(Arg88Gln)	746
4	N345K	1035T>A	NM_006218.2: p.(Asn345Lys)	754
7	C420R	1258T>C	NM_006218.2: p.(Cys420Arg)	757
9	E542K	1624G>A	NM_006218.2: p.(Glu542Lys)	760
	E545A	1634A>C	NM_006218.2: p.(Glu545Ala)	12458
	E545D	1635G>T	NM_006218.2: p.(Glu545Asp)	765
	E545G	1634A>G	NM_006218.2: p.(Glu545Gly)	764

	E545K	1633G>A	NM_006218.2: p.(Glu545Lys)	763
	Q546E	1636C>G	NM_006218.2: p.(Gln546Glu)	6147
	Q546K	1636C>A	NM_006218.2: p.(Gln546Lys)	766
	Q546L	1637A>T	NM_006218.2: p.(Glu546Leu)	25041
	Q546R	1637A>G	NM_006218.2: p.(Gln546Arg)	12459
20	H1047L	3140A>T	NM_006218.2: p.(His1047Leu)	776
	H1047R	3140A>G	NM_006218.2: p.(His1047Glu)	775
	H1047Y	3139C>T	NM_006218.2: p.(His1047Tyr)	774
	G1049R	3145G>C	NM_006218.2: p.(Gly1049Glu)	12597
	M1043I	3129G>T	NM_006218.2: p.(Met1043Ile)	773

Детекция мутаций производилась с помощью ПЦР анализа с использованием анализатора Cobas z 480. Каждый тест включал мутантный и отрицательный контроли, обеспечивающие необходимую верификацию результатов. ДНК выделяли из образцов ФФЗП тканей. Для этого применялся стандартный метод выделения, основанный на связывании нуклеиновой кислоты со стекловолокном в колонке, с использованием набора для пробоподготовки Cobas® DNA SAMPLE PREPARATION KIT. Нарезанные секции ФФЗП подвергались лизису путем инкубации при повышенной температуре с протеазой и хаотропным буфером. Это позволяет высвободить нуклеиновые кислоты и защитить геномную ДНК от деградации. Затем к лизируемой смеси добавили изопропанол, после которого образовался осадок. После чего смесь центрифугировали через колонку. В процессе центрифугирования геномная ДНК связывалась с поверхностью стекловолоконного фильтра, а несвязавшиеся вещества, такие как соли, белки и другие клеточные примеси, удаляются. Адсорбированные нуклеиновые кислоты промывались и затем

элюировались водным раствором. Измерение концентрации полученной ДНК осуществляли с использованием набора Qubit 1x dsDNA HS Assay kit (Invitrogen, США) на флуориметре Qubit 4.

Далее, проводили амплификацию на анализаторе COBAS Z 480 с использованием реагентов для амплификации и детекции, предоставленных в наборе для тестирования COBAS *PIK3CA*.

Таким образом, в работе использованы современные молекулярно-генетические методы диагностики РМЖ и РЯ, выявлены мутации различного класса патогенности. ДНК-диагностика является неотъемлемой частью современной онкологии, обеспечивая раннее выявление и персонализированный подход к лечению. Разработка алгоритмов на основе ДНК-диагностики играет ключевую роль в борьбе с онкологическими заболеваниями, обеспечивая оптимальный выбор терапии и улучшая прогнозы выживаемости у пациентов.

2.3 Биоинформатический анализ данных

Оценка функциональной значимости валидированных изменений проводилась путем анализа нуклеотидной последовательности генов при использовании различных баз данных и предсказательных программ. Для поиска описанных ранее вариантов были использованы базы данных геномного и таргетного секвенирования (1000 Genomes Project, gnomAD), база данных однонуклеотидных вариантов (dbSNP) и их клинической значимости (ClinVar), а также база данных структурных вариантов (dbVar). В случае, если нуклеотидный вариант не был описан в литературе или не был представлен в базах данных, либо о нем было недостаточно информации, проводился анализ патогенности выявленных вариантов генов с помощью предсказательных программ (SIFT, PolyPhen2, MutPred, VarSome, PROVEAN и т.д.).

После завершения анализа на секвенаторе MiSeq, проведенного при использовании программного обеспечения Local Run Manager (версии 2.0), результаты сохранены в формате файла VCF. Формат VCF используется для хранения информации о мутациях в образце. В этом формате данные представлены

в виде таблицы с разделением табуляцией. С помощью файла VCF можно описать различные детали о мутациях, такие как: хромосома, позиция на хромосоме, ID мутации в базах данных (RS ID, COSMIC ID и т.д.), Референсный аллель (REF), Альтернативный аллель (ALT), значение качества найденной мутации, описание патогенности в базе данных ClinVar, номера в базах данных мутаций (COSMIC ID), тип мутации (somatic, germline, frameshift и т.д.), а также информация о глубине прочтения позиции с мутацией, аллельной частоте мутации, глубине прочтения альтернативного аллеля. Этот формат является удобным инструментом для анализа и обработки данных о мутациях. Весь анализ был проведен в облачном пространстве программного обеспечения «NGS Wizard». Разработанное программное обеспечение предназначено для удобной обработки геномных данных и данных таргетных панелей таким образом, чтобы его использование было доступно обычным пользователям, не обладающим специальными знаниями в области технического анализа геномных данных. Преимуществом программы NGS Wizard является наличие русскоязычного интерфейса. С его помощью пользователь может обрабатывать современные пайплайны, включающие в себя анализ соматических и герминальных точечных вариантов (SNV), инделов (indels), изменений числа копий (CNV) и структурных вариаций генома (SV). При этом, у пользователей есть возможность ознакомиться с подробностями работы пайплайна обработки данных. NGS Wizard также позволяет специализированно обрабатывать и создавать отчеты для различных заболеваний. Готовый отчет может быть скачан в формате .xlsx.

2.4 Дизайн исследования

Дизайн исследования состоял из следующих этапов: общая выборка состояла из 1611 женщин, у 1275 из которых диагностирован рак молочной железы, у 337 – рак яичников. У женщин с РМЖ проведена оценка патоморфологических особенностей и иммуногистохимического статуса опухолей. В результате выборка с РМЖ состояла из 493 женщин с тройным негативным (Эр-Пр- HER2-) и 406 женщин с гормонозависимым (ГР+HER2-) ИГХ-статусом опухоли. Материалом послужили

образцы выделенной ДНК из парафиновых блоков в количестве 97 шт, а также цельной крови в количестве 802 шт. У женщин с РЯ выборка состояла только из серозного типа опухоли. Материалом послужили образцы выделенной ДНК из парафиновых блоков в количестве 70 шт, а также цельной крови в количестве 266 шт. Данные выделенные образцы ДНК были исследованы методом массового параллельного секвенирования (NGS). Отдельно для исследования мутаций в гене *PIK3CA* методом реал-тайм ПЦР собрана выборка из 376 женщин с ГР+HER2- РМЖ. В результате нами проведена оценка спектра и частоты выявленных вариантов, сравнительный анализ герминальных и соматических вариантов у пациентов с РЯ и РМЖ, а также проанализирован этнический состав выборки. Разработаны две базы данных по спектру и частотам патогенных вариантов в генах, участвующих в репарации ДНК у пациентов с РМЖ и РЯ. Дизайн исследования представлен на рисунке 7.

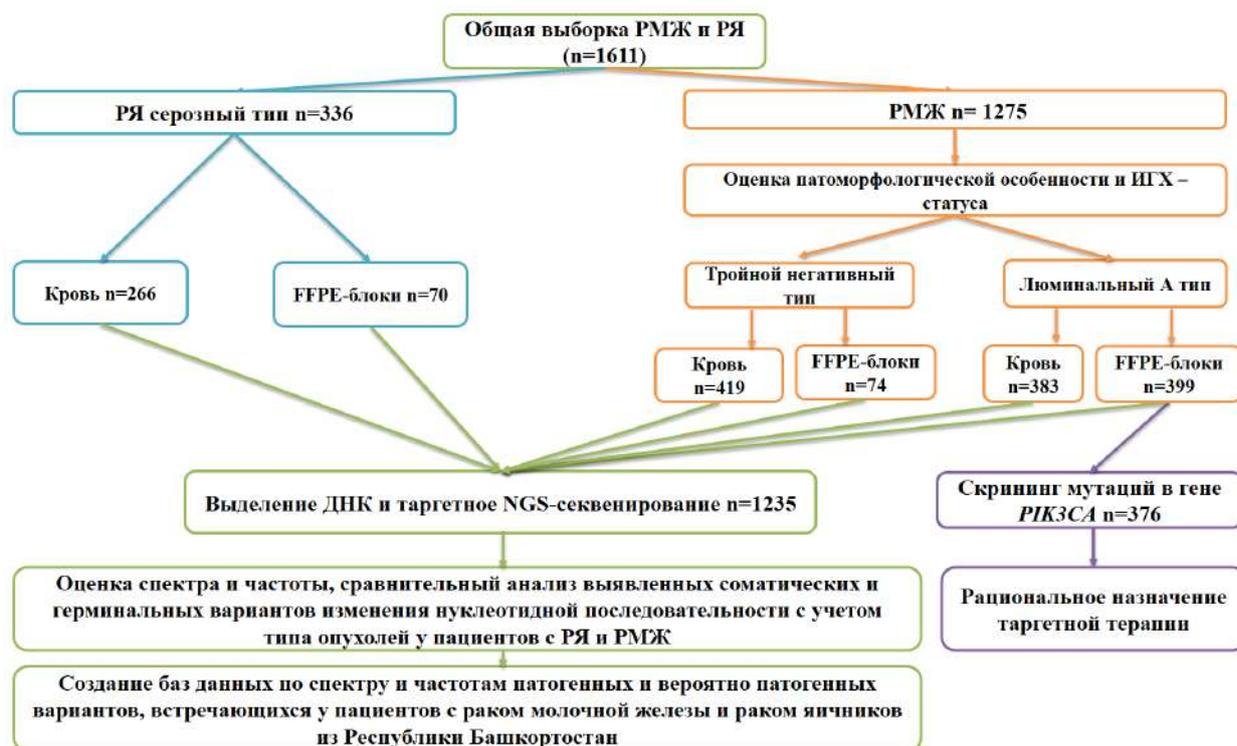


Рисунок 7– Схема дизайна исследования

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Поиск и идентификация вариантов изменения нуклеотидной последовательности в опухолевой ткани женщин с раком молочной железы

С помощью метода высокопроизводительного секвенирования на платформе Illumina было выполнено молекулярное профилирование 97 образцов, залитых в формалин и фиксированных в парафине (ФФЗП) тканей рака молочной железы (PMЖ) для выявления патогенных вариантов изменения нуклеотидной последовательности. Из них 74 образца принадлежали пациенткам с тройным негативным раком молочной железы (ТНPMЖ), а 23 – с гормонопозитивным раком молочной железы (ГР+HER2- PMЖ).

Анализировалась таргетная панель, включающая 17 генов: *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BARD1*, *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK1*, *CHEK2*, *FANCL*, *PALB2*, *RAD51B*, *RAD51C*, *RAD51D*, *RAD54L*, *PPP2R2A*, *PTEN*, *TP53*.

3.1.1 Идентификация вариантов изменения нуклеотидной последовательности в опухолевой ткани женщин с трижды негативным раком молочной железы

В 43/74 образцах опухолевой ткани пациентов с ТНPMЖ было идентифицировано 62 варианта изменений нуклеотидной последовательности, включающие миссенс/нонсенс мутации, мутации сайта сплайсинга и сдвига рамки считывания. Данные изменения были обнаружены в генах *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *PTEN* и *TP53*. В гене *BRCA2* выявлено 38,1%, *TP53* - 34,9%, *BRCA1* – 23,8%, в генах *ATM* и *PTEN* – по 1,6% (рисунок 8). Среди обнаруженных нами вариантов по результатам биоинформатического анализа данных и аннотирования мутаций было установлено, что доля патогенных вариантов составляет 46,7%, вероятно патогенных – 14,5%.

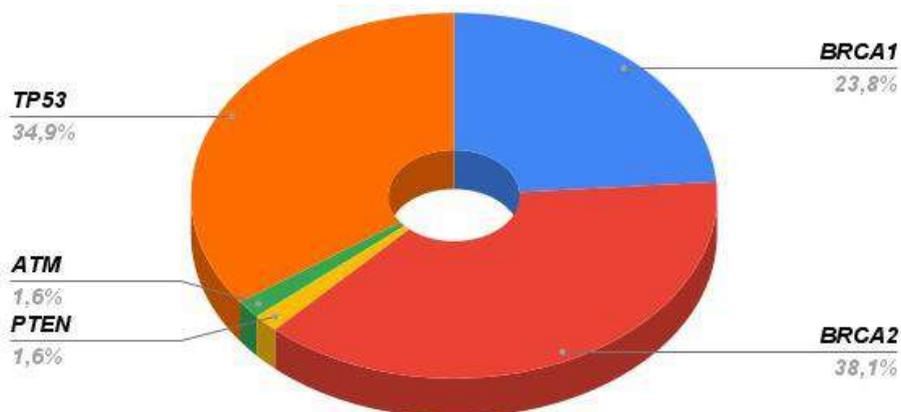


Рисунок 8 – Процентное соотношение выявленных изменений нуклеотидной последовательности в опухолевой ткани пациентов с трижды негативным типом рака молочной железы

В ходе нашего исследования было идентифицировано 29 патогенных и 6 вероятно патогенных вариантов в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *PTEN* и *TP53* у 33 женщин (44,6%) (таблица 5). Среди выявленных патогенных вариантов наибольшая частота была отмечена для дупликации с.5266dupC в гене *BRCA1*, которая встретилась в 16,2% образцов опухоли. Эта мутация представляет собой вставку одного нуклеотида, приводящую к сдвигу рамки считывания и образованию укороченного белка, что существенно нарушает функцию белка *BRCA1* и способствует развитию опухоли.

Другие патогенные варианты включали с.181T>G (p.Cys61Gly) в гене *BRCA1*, с.9097delA (p.T3033fsTer29) в гене *BRCA2* и с.916C>T (p.R306Ter) в гене *TP53*, каждый из которых был обнаружен в 2,67% образцах опухоли. Вариант с.181T>G вызывает замену аминокислоты цистеина на глицин в критически важном участке белка *BRCA1*, что нарушает его способность к связыванию с другими молекулами и ведет к утрате функции. Мутация с.9097delA в гене *BRCA2* также вызывает сдвиг рамки считывания и преждевременную терминацию белка, что существенно снижает его роль в процессе репарации ДНК. Мутация с.916C>T в гене *TP53* приводит к замене аргинина на стоп-кодон в положении 306, что вызывает

укорочение белка p53 и нарушает его способность к регуляции клеточного цикла и апоптоза.

Остальные патогенные варианты были обнаружены единожды (1,4%), включают варианты, приводящие к сдвигу рамки считывания, нонсенс-варианты и миссенс-варианты, негативно влияющие на функциональную активность соответствующих белков. В таблице 5 представлен спектр и частоты выявленных патогенных вариантов в ФФЗП тканях пациентов с ТНРМЖ, что иллюстрирует разнообразие мутационного профиля и акцентирует внимание на ключевых изменениях, наиболее часто ассоциированных с ТНРМЖ.

Таблица 5 - Спектр и частоты патогенных вариантов, идентифицированных в образцах опухолевой ткани пациентов с трижды негативным типом рака молочной железы

Ген	Название мутации	dbSNP	Абсолютное число	Частота	Эффект
<i>BRCA1</i>	c.181T>G	rs28897672	2	0,027	Миссенс
	c.1918C>T	rs886039981	1	0,014	Стоп-кодон
	c.3700_3704del	rs80357609	1	0,014	Сдвиг рамки считывания
	c.3779T>G	rs886038025	1	0,014	Стоп-кодон
	c.5266dupC	rs80357906	12	0,162	Сдвиг рамки считывания
	c.5395+1G>A	rs80358041	1	0,014	Сайт сплайсинга
	c.5453A>G	rs80357477	1	0,014	Миссенс
	c.68_69delAG	rs80357914	1	0,014	Сдвиг рамки считывания
<i>BRCA2</i>	c.-39-1_-39del	rs758732038	1	0,014	Сайт сплайсинга
	c.3847_3848delGT	rs80359405	1	0,014	Сдвиг рамки считывания
	c.475+1G>A	rs81002797	1	0,014	Сайт сплайсинга
	c.5073delA	rs80359479	1	0,014	Сдвиг рамки считывания

	c.8023A>G	c.8023A>G	1	0,014	Миссенс
	c.9097delA	rs397507419	2	0,027	Сдвиг рамки считывания
<i>PTEN</i>	c.733C>T	rs786202918	1	0,014	Стоп-кодон
<i>TP53</i>	c.1015G>T	rs17882252	1	0,014	Стоп-кодон
	c.267del	rs587783062	1	0,014	Сдвиг рамки считывания
	c.322_326del	-	1	0,014	Сдвиг рамки считывания
	c.328del	rs587780066	1	0,014	Сдвиг рамки считывания
	c.329G>C	rs11540654	1	0,014	Миссенс
	c.475G>C	rs730882000	1	0,014	Миссенс
	c.524G>A	rs28934578	1	0,014	Миссенс
	c.574C>T	rs397514641	1	0,014	Стоп-кодон
	c.659A>G	rs121912666	1	0,014	Миссенс
	c.709delA	-	1	0,014	Сдвиг рамки считывания
	c.742C>T	rs121912651	1	0,014	Миссенс
	c.796G>A	rs1057519990	1	0,014	Миссенс
	c.817C>T	rs121913343	1	0,014	Миссенс
c.916C>T	rs121913344	2	0,027	Стоп-кодон	

Гены *BRCA1* и *BRCA2* играют ключевую роль в поддержании геномной стабильности благодаря своей функции онкосупрессоров, отвечающих за репарацию ДНК. Эти гены были впервые идентифицированы в 1990-х годах как основные гены, связанные с предрасположенностью к раку молочной железы и раку яичников. Патогенные варианты в генах *BRCA1* и *BRCA2* существенно увеличивают риск развития этих видов рака, передаваясь по аутосомно-доминантному типу наследования. В популяциях мира распространенность патогенных вариантов в генах *BRCA1* и *BRCA2* составляет примерно 0,3% (1 из 300) и 0,1% (1 из 800) соответственно, хотя эти цифры могут значительно варьироваться в зависимости от этнической принадлежности и географического региона. Например, среди евреев ашкенази частота патогенных вариантов в генах *BRCA1* и *BRCA2* составляет 2,5% (1

из 40) (Zannini et al., 2023). В России также активно проводится определение мутаций в генах *BRCA1/2* с целью диагностики и профилактики. Мутация с.5266dup в гене *BRCA1*, также известная как 5382insC, широко изучена и имеет высокую распространенность в популяциях России и Восточной Европы, включая такие страны, как Польша, Литва, Латвия, Украина и Беларусь и значительно влияет на риск наследственного РМЖ и РЯ (Gorodetska et al., 2015; Cybulski et al., 2019, Sokolenko et al., 2020). Она появилась примерно 1500-1800 лет назад на севере и северо-западе европейской части России (Hamel et al., 2011). Данный вариант является известным примером «эффекта основателя» в популяции евреев-ашкенази (Safra et al., 2013). Кроме того, в исследованиях бразильских пациенток с раком молочной железы также описано, что вариант с.5266dupC является вариантом «эффекта основателя», а данные о предках показывают вклад Центральной Европы в бразильский генетический фон. Показано, что частота этой мутации особенно важна среди пациентов из южных и юго-восточных регионов Бразилии, где велик вклад европейского происхождения (Palmero et al., 2018; Gomes et al., 2020).

В нашем исследовании миссенс мутация с.181T>G выявлена в 2,67% образцов опухоли с ТНРМЖ. Данное изменение широко представлено среди семейных форм РМЖ/РЯ у пациентов из России и других стран мира. Этот вариант встречается с высокой частотой в странах Восточной Европы и считается мутацией-основателем в этих странах (Uglanitsa et al., 2010). Особенно часто встречается у пациентов из Словакии (Konecny et al., 2021). По данным Genome Aggregation Database вариант встречается в общей популяции с общей частотой аллелей 0,003% (8/250 754 аллелей). Этот миссенс-вариант заменяет консервативный цистеин на глицин в RING-домене белка *BRCA1*. Функциональные исследования показали, что этот вариант нарушает олигомеризационные свойства *BRCA1*, отменяет взаимодействие с *BARD1* и убиквитин-лигазную активность, связанную с *BRCA1*, ингибирует *BARD1*-зависимое подавление транскрипционной активности *BRCA1* и отменяет гомологически-направленную активность репарации ДНК (Ransburgh et al., 2010).

Делеция с.3700_3704del (p.Val1234fs), обнаруженная в 1,4% образцов опухоли с ТНРМЖ в нашем исследовании, приводит к потере функциональности *BRCA1*, что

критически важно для процессов репарации ДНК. По данным литературы, эта мутация описана при наследственных формах РМЖ и РЯ (Heramb et al., 2018). С частотой 3,12% в исследовании, проведенном Rechsteiner и его коллегами, этот вариант был обнаружен у пациентки с трижды негативным раком молочной железы и положительной семейной историей (Rechsteiner et al., 2018).

В гене *BRCA1* был обнаружен также патогенный вариант с.68_69delAG (p.E23fs*17) в 1,4% образцов опухоли, который также приводит к сдвигу рамки считывания и преждевременному прекращению синтеза белка. Этот вариант был выявлен у пациентки без отягощенного семейного анамнеза РМЖ/РЯ (Wang et al., 2012).

В гене *BRCA2* патогенный вариант с.9097delA обнаружен в образцах 2,67% опухолевой ткани пациентов. По данным литературы этот вариант был зарегистрирован у нескольких человек с раком молочной железы (Santonocito et al., 2020).

Среди обнаруженных патогенных вариантов были выявлены ранее не описанные варианты в гене *TP53*: с.322_326del (p.G108fs) и с.709delA (p.M237fsTer10). Согласно предсказательным программам PolyPhen-2 и SIFT, данные мутации существенно влияют на функциональную активность белка. На основании этих оценок, а также дополнительных программ, таких как MutationTaster и CADD, эти варианты могут быть охарактеризованы как патогенные, поскольку они, вероятно, приводят к развитию заболевания, вызывая дестабилизацию и нарушение нормальной функции белка.

Потеря или уменьшение функциональной активности *BRCA1* и *PTEN* играет решающую роль в развитии различных онкологических заболеваний. При этом, активность гена *BRCA1* тесно сопряжена с активностью гена *PTEN* (Minami et al., 2014). В свою очередь, комплекс *PTEN* и p53 усиливает связывание p53 с ДНК и транскрипционными факторами (Todorova et al., 2006), что может усиливать экспрессию самого *PTEN* и p21WAF1 – ключевой молекулы, участвующей в остановке клеточного цикла (Mitsuuchi et al., 2000).

Другие исследования также подтверждают значимость соматических мутаций в развитии ТНРМЖ. Например, в исследовании с использованием секвенирования следующего поколения (NGS) был выявлен спектр патогенных соматических мутаций, где наибольшее количество мутаций было обнаружено в гене *TP53* – у 23,1% женщин с ТНРМЖ. Патогенные мутации в гене *PTEN* были выявлены у 7,7% пациенток (Al-Shamsi et al., 2021).

В крупномасштабном исследовании соматических мутаций, выполненном с использованием кастомной панели на 151 ген, было установлено, что мутации в гене *TP53* являются наиболее частыми, обнаруженными в 63,4% образцов ДНК опухолевой ткани афроамериканок и 75,8% образцов ДНК опухолевой ткани пациенток европеоидного происхождения с ТНРМЖ, что предполагает этнические различия в мутационном профиле ТНРМЖ (Omilian et al., 2020).

Помимо выявленных патогенных вариантов, нами также были обнаружены вероятно патогенные изменения (таблица 5). Хотя в доступных базах данных и программах имеется ограниченная информация о данных мутациях, результаты *in silico* анализа свидетельствуют о том, что эти варианты могут отрицательно влиять на функцию белка. Диагностирование этих мутаций в опухолевой ткани является критерием для подбора таргетной терапии пациентов.

У одной пациентки в гене *BRCA1* обнаружен вероятно патогенный вариант с.1291_1295delTTACT(p.L431fsTer3), который вызывает нарушение структуры белка, из-за чего он теряет значительную часть функциональных доменов, необходимых для нормального выполнения своей роли в репарации ДНК. Результаты *in silico* анализа подтверждают вероятную патогенность этого варианта: программы, такие как PolyPhen-2 и SIFT, предсказывают высокую вероятность разрушения функции белка, что связано с укорочением белка и потерей его ключевых функций. Эти изменения могут привести к увеличению риска развития тройного негативного РМЖ и РЯ, что согласуется с известными данными о других патогенных вариантах в гене *BRCA1*. Таким образом, *in silico* анализ подтверждает, что вариант с.1291_1295delTTACT(p. L431fs3) в гене *BRCA1* является вероятно патогенным и связан с высоким риском онкологических заболеваний. Данная

пациентка 57 лет с тройным негативным раком молочной железы стадии IIIA и имеет отягощенный семейный анамнез: у её матери диагностирован рак поджелудочной железы, а у сестры — рак молочной железы. Морфологическое исследование материала выявило картину неспецифической карциномы левой молочной железы третьей степени злокачественности. Метастазы рака молочной железы обнаружены в четырёх из семи исследованных лимфатических узлов.

У другой пациентки 52 лет, с тройным негативным типом рака правой молочной железы стадии 2A, степень 4, T2N0M1, обнаружен вероятно патогенный вариант c.5156A>T (p.Asn1719Ile) в гене *BRCA2*. *In silico* анализ этого варианта указывает на потенциально значительное влияние замены аспарагина на изолейцин в позиции 1719 на структуру и функцию белка *BRCA2*, критически важного для процесса репарации ДНК. Программы предсказания, такие как SIFT, PolyPhen-2 и MutationTaster, демонстрируют высокую вероятность того, что вариант может нарушить нормальную функцию этого белка, что, в свою очередь, может способствовать канцерогенезу. Важно отметить, что для окончательной оценки патогенности этого генетического варианта необходимо проведение дополнительных функциональных исследований, а также анализ клинических данных. В клинической картине пациентки также наблюдаются метастазы в легкие, подмышечные и субпекторальные лимфатические узлы, однако семейный анамнез не отягощен.

У следующей пациентки, 64 лет выявлен вероятно патогенный вариант c.560-9_561delTGCTCTTAGGT в гене *TP53*. У пациентки диагностирован рак левой молочной железы стадии IA, степень злокачественности III, T1cN0M0. Морфологическое исследование показало инфильтрирующую карциному молочной железы неспецифического типа, умеренной степени злокачественности, с наличием внутрипротокового компонента. В исследованных лимфатических узлах метастазы карциномы не обнаружены. Наследственность пациентки отягощена: у матери и отца был диагностирован рак прямой кишки. *In silico* анализ варианта c.560-9_561delTGCTCTTAGGT в гене *TP53*, проведенный с использованием программы MutationTaster, свидетельствует о потенциально значительном влиянии данного

варианта на функцию гена *TP53*. Программы предсказывают, что данная делеция может нарушить нормальный процесс сплайсинга мРНК, что в свою очередь приведет к aberrантной транскрипции и продукции дефектного белка p53. Белок p53 играет ключевую роль в контроле клеточного цикла и апоптозе, и его потеря функции ассоциируется с повышенным риском развития различных форм рака, включая рак молочной железы.

У пациентки 51 года выявлен вероятно патогенный вариант c.373_374delACinsTA(p.T125Ter) в гене *TP53*. Пациентке диагностирован рак левой молочной железы стадии IA, степень злокачественности II, T1cN0M0. Гистологическое исследование показало инфильтрирующую карциному молочной железы протокового типа умеренной степени злокачественности. Лимфоваскулярная, венозная и периневральная инвазия опухоли не выявлены, а также по линиям резекции опухолевых клеток не обнаружено, что свидетельствует о полном удалении новообразования. Наследственность пациентки не отягощена, эпидемиологический анамнез также спокоен, что не указывает на дополнительные риски. Вариант c.373_374delACinsTA(p.T125Ter) в гене *TP53* представляет собой deletивно-инсерционное изменение, приводящее к преждевременному стоп-кодону и, как следствие, к укорочению белка p53. Результаты *in silico* анализа этого варианта, полученные с использованием предсказательных инструментов, таких как MutationTaster и другие, показывают высокую вероятность потери функции белка p53. Этот белок является важным фактором клеточного цикла и апоптоза, и его функциональная потеря может привести к неконтролируемому клеточному делению и развитию злокачественных новообразований. В частности, нарушение функции p53 приводит к утрате контроля над репарацией ДНК и клеточным циклом, что способствует канцерогенезу.

У пациентки 65 лет были идентифицированы два вероятно патогенных варианта: c.1287delA(p.D430fs30) в гене *BRCA2* и c.240_264delTACA(p.T81fs34) в гене *TP53*. У пациентки диагностирован рак правой молочной железы стадии IB, степень злокачественности II, T1bN0M0. Гистологическое исследование выявило инфильтрирующую неспецифированную карциному молочной железы с

признаками 1-2 степени спонтанного патоморфоза. Лимфатические узлы свободны от метастазов, что указывает на отсутствие регионарного распространения опухоли. Семейный анамнез пациентки не отягощен, что исключает наследственные факторы риска в клинической картине.

Мутация c.1287delA(p.D430fsTer30) в гене *BRCA2* приводит к сдвигу рамки считывания, что вызывает преждевременный стоп-кодон. *In silico* анализ с использованием программ, таких как MutationTaster, SIFT и PolyPhen-2, показал, что данная мутация, вероятно, приводит к утрате функции белка *BRCA2*, который играет ключевую роль в поддержании стабильности генома через репарацию двуцепочечных разрывов ДНК. Потеря функции белка *BRCA2* значительно повышает риск развития злокачественных новообразований, особенно в тканях молочной железы.

Второй выявленный вариант, c.240_264delTACA(p.T81fsTer34) в гене *TP53*, также приводит к сдвигу рамки считывания и, согласно анализу *in silico*, указывают на высокую вероятность патогенности данного варианта, поскольку нарушение в гене *TP53* может привести к утрате способности белка p53 контролировать клеточный цикл и индукцию апоптоза. Это, в свою очередь, может способствовать прогрессии опухолевого процесса.

Комбинация мутаций в двух ключевых генах, *BRCA2* и *TP53*, значительно усложняет прогноз для пациентки, так как оба гена играют критическую роль в поддержании геномной стабильности и предотвращении опухолевого роста. Тем не менее, отсутствие метастазов в лимфатических узлах и спонтанный патоморфоз опухоли могут свидетельствовать о частичной эффективности имеющихся механизмов контроля за опухолевым процессом. Для окончательной оценки клинического значения выявленных мутаций необходимы дальнейшие исследования, включая функциональные эксперименты и долгосрочное наблюдение за пациенткой.

В рамках нашего исследования был выявлен 21 вариант с неопределенной клинической значимостью (VUS) в генах *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2* и *TP53* у женщин с ТНРМЖ. Эти варианты представляют собой мутации, для которых пока не

установлена однозначная связь с развитием заболевания, однако они могут иметь потенциальное влияние на предрасположенность к раку. Наиболее часто встречались два варианта: с.4837A>G (p.S1613G) в гене *BRCA1* и с.5183A>G (p.D1728G) в гене *BRCA2*, оба в 4,1% образцах опухолей. Следующими по частоте оказались варианты с.240T>C (p.S80S) и с.5446A>G (p.T1816A) в гене *BRCA1*, а также с.1972T>C (p.S658P) и с.2672T>C (p.V891A) в гене *BRCA2*, в 2,7% образцов опухоли. Остальные варианты с неопределенной клинической значимостью были выявлены в 1,4% образцов опухоли (таблица 6). Детальный анализ этих вариантов необходим для дальнейшего понимания их роли в патогенезе ТНPMЖ. Возможно, что некоторые из этих VUS могут быть переклассифицированы как патогенные или доброкачественные на основе дополнительной информации, включая данные из функциональных исследований, клинических наблюдений и личного анамнеза.

Таблица 6 - Спектр и частоты вариантов с неопределенной клинической значимостью, идентифицированных в опухолевых тканях у женщин с трижды-негативным раком молочной железы

Ген	Локус	dbSNP	Абсолютное число	Частота	Эффект
<i>ATM</i>	с.5258A>G	rs777481236	1	0,014	Миссенс
<i>BRCA1</i>	с.1959A>G	-	1	0,014	Миссенс
	с.240T>C	rs2054689945	2	0,027	Сайленс
	с.4837A>G	rs1799966	3	0,041	Миссенс
	с.499A>G	rs886037792	1	0,014	Миссенс
	с.5446A>G	rs2050983010	2	0,027	Миссенс
<i>BRCA2</i>	с.10060T>C	-	1	0,014	Миссенс
	с.1972T>C	-	2	0,027	Миссенс
	с.2128T>C	-	1	0,014	Миссенс
	с.2672T>C	rs1593897497	2	0,027	Миссенс
	с.3931G>A	-	1	0,014	Миссенс
	с.4104A>C	-	1	0,014	Миссенс
	с.5183A>G	-	3	0,041	Миссенс
	с.7379A>C	-	1	0,014	Миссенс
	с.7544C>T	rs28897744	1	0,014	Миссенс
	с.8187G>T	rs80359065	1	0,014	Миссенс
	с.9266del	-	1	0,014	Делеция
	с.9976A>T	rs11571833	1	0,014	Нонсенс

TP53	c.1159A>G	-	1	0,014	Миссенс
	c.847C>T	rs149633775	1	0,014	Миссенс
	c.919+14A>G	-	1	0,014	Инtron

Миссенс вариант с.4837A>G (p.S1613G) в гене *BRCA1* является спорным по своему клиническому значению. Согласно некоторым исследованиям, он описан у людей или семей с наследственным раком молочной железы и яичников, а также в контрольных хромосомах здоровых людей. В большинстве исследований склоняются к тому, что данный вариант является доброкачественным. (Tavtigian et al., 2006; Carvalho et al., 2007; Tommasi et al., 2008). В проекте Exome Variant Server данный вариант был идентифицирован в 2809 из 8600 (частота: 0.326627) аллелей европейских американцев и в 1069 из 4406 (частота: 0.2426) аллелей афроамериканцев. В базе данных Exome Aggregation Consortium (ExAC) (опубликована 20 октября 2014 года) вариант был идентифицирован в 42424 из 121360 хромосом, с 7852 гомозиготами (частота: 0,3496) из популяции южноазиатских, европейских (нефинских), восточноазиатских, африканских, латиноамериканских, европейских (финских) популяций. Тем не менее данный вариант встречался с патогенными вариантами согласно базам данных ClinVar и COSMIC. В связи с этим клиническая значимость варианта с.4837A>G остается спорной.

Варианты с неопределённой клинической значимостью с.5183A>G (p.D1728G) и с.1972T>C (p.S658P) в гене *BRCA2* не описаны в существующих базах данных. Поскольку базы данных, такие как ClinVar, преимущественно включают информацию о вариантах, распространённых в крупных и более изученных популяциях, редкие или частные мутации, характерные для локальных групп, могут оставаться неучтёнными. Помимо этого, для того чтобы вариант был включён в базы данных как клинически значимый, необходимо наличие функциональных данных, подтверждающих его патогенность. Кроме того, данные варианты могут отсутствовать в базах данных из-за недостатка клинических наблюдений, таких как семейная история или клинические проявления, связанные с этими мутациями.

Клиническая значимость синонимичного варианта с.240T>C (p.S80S) в гене *BRCA1* остается предметом дискуссий. Хотя этот вариант не изменяет аминокислотную последовательность белка, он может потенциально влиять на другие уровни регуляции экспрессии гена, такие как сплайсинг или стабильность мРНК. В одном крупномасштабном исследовании вариантов гена *BRCA1* было предпринято изучение возможного функционального эффекта этого синонимичного варианта, однако окончательные выводы по его клинической значимости сделаны не были. На данный момент отсутствуют убедительные данные, подтверждающие патогенность или доброкачественность данного варианта, что требует дальнейших исследований для уточнения его роли в онкогенезе (Findlay et al., 2018).

Вариант с.5446A>G (p.T1816A) в гене *BRCA1* классифицируется как VUS. Тем не менее, в некоторых исследованиях его описывают как потенциально доброкачественный на основании ряда факторов. Вариант был обнаружен у здоровых индивидуумов, что снижает вероятность его патогенности. Кроме того, частота этого варианта в общей популяции, отсутствие нарушений функции белка, несегрегация с заболеванием в семьях, а также результаты анализа РНК и *in silico* моделей, предсказывающих сохранение аминокислотной последовательности (Findlay et al., 2018).

В настоящее время также недостаточно имеющихся данных для определения роли варианта с.2672T>C (p.V891A) в гене *BRCA2* в развитии РМЖ. Усовершенствованное моделирование последовательности белка и его биофизических свойств, таких как структурная, функциональная и пространственная информация, сохранность аминокислот, физико-химические изменения, подвижность остатков и термодинамическая стабильность, проведенное многими компаниями, показывает, что данный миссенс-вариант не нарушает функцию белка *BRCA2*. В литературе не сообщалось о наличии этого варианта у лиц с заболеваниями, связанными с геном *BRCA2*. Этот вариант не присутствует в популяционных базах данных.

В ходе нашего исследования были идентифицированы шесть вероятно доброкачественных вариантов в генах *BRCA1*, *BRCA2* и *TP53* у женщин с ТНРМЖ.

Наиболее часто среди исследованных вариантов встречался с.215C>G (p.P72R) в гене *TP53*, выявленный в 21,6% опухолей. Этот вариант приводит к замене пролина на аргинин в позиции 72 белка *TP53*, но по имеющимся данным считается вероятно доброкачественным. Вторым по частоте оказался вариант с.7806-14T>C в гене *BRCA2*, который был обнаружен в 16,2% опухолей.

В гене *BRCA1* был обнаружен синонимичный вариант с.2859T>C (p.C953C) в 4,1% образцов, который не приводит к изменению аминокислотной последовательности белка, но может оказывать влияние на уровень экспрессии или процессинг мРНК. Остальные вероятно доброкачественные варианты были выявлены в 1,4%, что указывает на их редкость в исследуемой выборке.

В результате исследования образцов опухолевой ткани женщин с трижды-негативным раком молочной железы, нами было выявлено 62 изменения нуклеотидной последовательности в генах в 5 генах (*ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *PTEN* и *TP53*) у 43 пациенток, имеющие различную клиническую значимость. Наибольшее количество вариантов было обнаружено в гене *BRCA2* – 38,1%, *TP53* - 34,9%, *BRCA1* – 23,8%, в генах *ATM* и *PTEN* – по 1,6%. У 33 женщин (44,6%) идентифицировано 29 патогенных и 6 вероятно патогенных вариантов в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *PTEN* и *TP53*. С наибольшей частотой выявлен патогенный вариант с.5266dupC в гене *BRCA1* – в 16% образцов опухоли. Варианты с.181T>G в гене *BRCA1*, с.9097delA в гене *BRCA2* и с.916C>T в гене *TP53* обнаружены в 2,67% образцах. Остальные мутации выявлены единожды (1,4%).

Среди обнаруженных патогенных вариантов были выявлены ранее не описанные патогенные варианты в гене *TP53*: с.322_326del (p.G108fs) и с.709delA (p.M237fsTer10), которые обнаружены в 1,4% образцов опухолей.

Идентифицировано шесть вероятно патогенных вариантов у четырех женщин с трижды-негативным раком молочной железы в генах *BRCA1*, *BRCA2* и *TP53* – каждый из которых обнаружен в 1,4% образцов опухолей. Данные пациентки 52-60 лет, имели 2-3 стадию заболевания и отягощенный семейный анамнез.

В рамках нашего исследования также был выявлен 21 вариант VUS в генах *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2* и *TP53* у женщин с ТНРМЖ. Наиболее часто встречались два

варианта: с.4837A>G (p.S1613G) в гене *BRCA1* и с.5183A>G (p.D1728G) в гене *BRCA2*, оба в 4,1% образцах опухолей. Следующими по частоте оказались варианты с.240T>C (p.S80S) и с.5446A>G (p.T1816A) в гене *BRCA1*, а также с.1972T>C (p.S658P) и с.2672T>C (p.V891A) в гене *BRCA2*, в 2,7% образцов опухолей. Остальные варианты с неопределенной клинической значимостью были выявлены в 1,4% образцов опухолей.

Исследование мутационного профиля опухоли при трижды негативном раке молочной железы является критически важным аспектом современной онкологии. ТНРМЖ характеризуется отсутствием экспрессии рецепторов эстрогена, прогестерона и HER2, что делает стандартные гормональные и таргетные терапии неэффективными. В связи с этим идентификация генетических изменений, лежащих в основе данного типа рака, является важным шагом для разработки персонализированных подходов к лечению. Анализ мутационного профиля позволяет выявить как патогенные, так и вероятно патогенные варианты, а также варианты с неопределенной клинической значимостью. Эти данные особенно важны для прогнозирования течения заболевания, так как некоторые мутации могут указывать на наличие повышенного риска рецидива или агрессивного течения заболевания. Выявление спектра мутаций, характерных для ТНРМЖ, позволяет не только лучше понять молекулярные механизмы развития опухоли, но и потенциально предложить пациентам новые подходы к лечению, включая участие в клинических исследованиях новых таргетных препаратов или использование иммунотерапии.

Таким образом, исследование мутационного профиля при ТНРМЖ является важнейшим инструментом для улучшения прогнозирования и разработки эффективных лечебных стратегий для данной группы пациентов.

3.1.2 Идентификация вариантов изменения нуклеотидной последовательности в опухолевой ткани женщин с гормонозависимым раком молочной железы

В результате таргетного NGS-секвенирования 23 образцов ФФЗП тканей пациенток с ER+PR+HER2-PMЖ у 9 было обнаружено 11 вариантов с различным клиническим значением, среди которых встречались миссенс мутации, мутации сайта сплайсинга и сдвига рамки считывания. Все выявленные изменения нуклеотидной последовательности были выявлены в генах *BRCA1*, *BRCA2* и *CHEK2*. Наибольшее количество вариантов было обнаружено в гене *BRCA1* - 26,1%. В гене *BRCA2* - 17,4%, *CHEK2* - 4,3% (рисунок 9).

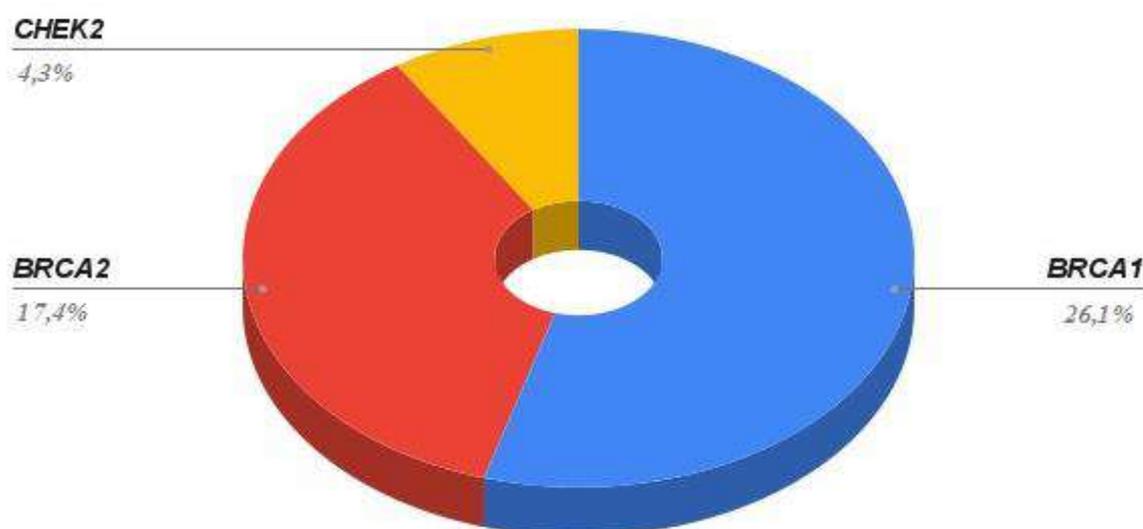


Рисунок 9 – Процентное соотношение выявленных изменений нуклеотидной последовательности в опухолевой ткани пациентов с гормонозависимым типом рака молочной железы

В ходе нашего исследования идентифицировано 8 патогенных вариантов в генах *BRCA1*, *BRCA2* и *CHEK2* у 9 женщин (39,1%). Среди них наибольшая частота была отмечена для вариантов с.5266dupC в гене *BRCA1* и с.444+1G>T в гене *CHEK2*,

которые встречались в 8,7% образцов опухолей. Мутации с.1016delA, с.181T>G, с.3700_3704del в гене *BRCA1* и с.5073delA, с.8478C>A, с.9097delA в гене *BRCA2* были выявлены в 4,3% образцов опухолей. В таблице 10 указан спектр и частоты выявленных патогенных изменений в опухолевой ткани женщин с гормонозависимым РМЖ.

Таблица 7 - Спектр и частоты патогенных вариантов

в образцах опухолевой ткани у пациенток с гормонозависимым раком молочной железы

Ген	Название мутации	dbSNP	Абсолютное число	Частота	Эффект
<i>BRCA1</i>	с.1016delA	rs80357569	1	0,043	Сдвиг рамки считывания
	с.181T>G	rs28897672	1	0,043	Миссенс
	с.3700_3704del	rs80357609	1	0,043	Сдвиг рамки считывания
	с.5266dupC	rs80357906	2	0,087	Сдвиг рамки считывания
<i>BRCA2</i>	с.5073delA	rs80359479	1	0,043	Сдвиг рамки считывания
	с.8478C>A	rs776353983	1	0,043	Нонсенс
	с.9097delA	rs397507419	1	0,043	Сдвиг рамки считывания
<i>CHEK2</i>	с.444+1G>T	rs121908698	2	0,087	Переключение донорного сайта сплайсинга

Ранее мы охарактеризовали дупликацию с.5266dupC в гене *BRCA1* при раке молочной железы (п.3.1.1).

В гене *BRCA1* был выявлен вариант с.1016delA (p.Lys339fs), также известный как 1135delA и 1129delA, который приводит к сдвигу рамки считывания и образованию преждевременного стоп-кодона. Данный вариант ранее был описан в литературе у пациентов с наследственным раком молочной железы и яичников и

считается редким (Loibl et al., 2021). Кроме того, этот вариант был описан в литературе у пациентов иранского происхождения (Keshavarzi et al., 2012).

В гене *BRCA2* делеция с.5073delA (p.Lys1691fs) гена *BRCA1*, обнаруженная в 4,3% образцов ДНК опухолевой ткани пациентов с гормонозависимым РМЖ в нашем исследовании, ранее была описана в когорте голландских пациентов с раком молочной железы (Teixeira et al., 2018), а также в когорте китайских пациентов с раком яичников (Li et al., 2018). Этот вариант возникает в результате делеции нуклеотида в позиции 5073, что вызывает сдвиг рамки считывания и образование преждевременного стоп-кодона.

Нонсенс мутация с.8478C>A (p.Tyr2826Ter) в гене *BRCA2* была также выявлена исключительно у женщины с ER+PR+HER2- РМЖ. Этот вариант присутствует в популяционных базах данных (gnomAD 0,003%). Данное изменение приводит к изменению аминокислоты с тирозина на стоп-кодон в кодирующем экзоне 18, с чем связано приводит к потере функции в результате нонсенс-опосредованного распада мРНК. Этот вариант был зарегистрирован у нескольких человек с наследственным РМЖ и РЯ (Sun et al., 2017; Santonocito et al., 2020).

Патогенный вариант с.9097delA в гене *BRCA2* вызывает преждевременный сигнал остановки трансляции (p.Thr3033Leufs*29). Данные о частоте встречаемости этого варианта в популяционных базах, таких как gnomAD. В нашем регионе данный вариант ранее не описывался, однако он был выявлен у женщин с наследственным раком молочной железы из Северной Африки (ElBiad et al., 2022; Nassar et al., 2023).

Мутации в гене *CHEK2* ассоциированы с наследственным РМЖ и могут существенно нарушить нормальную функцию белка, так как *CHEK2* кодирует треонин-киназу, активация которой происходит в ответ на повреждение ДНК. Она играет ключевую роль в остановке клеточного цикла для проведения репарации, а также в апоптозе клеток. Мутации в *CHEK2* приводят к тому, что клетки с поврежденной ДНК продолжают делиться, что увеличивает вероятность накопления дополнительных мутаций, в том числе в генах, регулирующих клеточный рост и деление. Это способствует развитию генетической нестабильности, что является одной из основных характеристик раковых клеток. Более того, потеря функции

CHEK2 может ослабить активацию других ключевых белков, таких как p53, что еще больше снижает эффективность апоптоза и способствует росту и распространению опухоли (Brown et al., 2022; Haddad et al., 2023). В российской популяции по частоте встречаемости патогенных вариантов при РМЖ ген *CHEK2* уступает лишь генам *BRCA1* и *BRCA2* (Новикова и др., 2021).

В нашей работе была обнаружена транскирующая мутация с.444+1G>T (или IVS2+1G>T) у двух пациентов с гормонозависимым РМЖ (8,7%). Впервые данный вариант обнаружен в США у больного с наследственной формой рака простаты, а также встречается в Германии (0-0,4%), Польше (0,3%) и Белоруссии (0,2%) (Cybulski et al., 2004; Bogdanova et al., 2005; Kleibl et al., 2008; Havranek et al., 2015).

Известно, что серин/треониновая протеинкиназа АТМ фосфорилирует и активирует *CHEK2*, что приводит к модификации нижестоящих субстратов, таких как p53, цикл клеточного деления (CDC) 25A и CDC25C, KAP1 и белок восприимчивости BRCA1. В совокупности этот сигнальный каскад может предотвращать нестабильность генома и развитие рака, индуцируя терминирование пролиферации и стимулируя восстановление поврежденной ДНК, а также активировать апоптоз в ответ на неэффективное или неправильное восстановление ДНК (Boonen et al., 2022). Связь между CHK2 и p53 стала очевидной, когда было показано, что CHK2 фосфорилирует p53 по S20, что приводит к диссоциации предварительно сформированных комплексов p53-Mdm2 и приводит к стабилизации p53. Эти наблюдения позволили предположить, что CHK2 является белком-супрессором опухолей, который действует в рамках сигнального пути p53 (Chehab et al., 2000).

В ходе нашего исследования у одной пациентки с ER+PR+HER2- РМЖ в гене *BRCA2* выявлен доброкачественный вариант с.7806-14T>C. Этот интронный вариант описан в исследовании Южно-Африканской группы с наследственным РМЖ (Van der Merwe et al., 2022). По данным проекта 1000 геномов, частота данного варианта в азиатской популяции составила 0,5507, африканской – 0,5589 и европейской – 0,5409.

Нами было обнаружено два варианта с неопределенной клинической значимостью в гене *BRCA1*: с.1974G>C (p.Met658Ile) и с.3466G>A (p.Asp1156Asn). По данным анализа *in silico*, эти варианты не оказывают значительного влияния на функцию белка. Вариант с.1974G>C упоминался в литературе среди пациентов с наследственным раком молочной железы и/или яичников (Li et al., 2014), однако данные исследования не предоставляют убедительных доказательств связи варианта с данным синдромом. В базе данных BIC зарегистрировано по крайней мере одно совпадение этого варианта с другим патогенным вариантом (*BRCA1* с.66_67delAG (с.68_69del), p.Glu23fs), что указывает на его вероятную доброкачественную роль. На данный момент отсутствуют экспериментальные данные, подтверждающие влияние варианта с.1974G>C на функцию белка (Abkevich et al., 2004). Другой миссенс вариант *BRCA1** с.3466G>A (p.Asp1156Asn), имеющий неопределенную клиническую значимость, был зарегистрирован в исследованиях «случай-контроль» у пациентов с наследственным раком молочной железы из Японии, раком поджелудочной железы и простаты, а также выявлен в контрольной группе пациентов (Momozawa et al., 2018; Mizukami et al., 2020).

Таким образом, в результате исследования мутационного профиля 17 генов в образцах опухолевых тканей гормонозависимого рака молочной железы идентифицировано 8 патогенных вариантов в генах *BRCA1* (с.1016delA, с.181T>G, с.3700_3704del, с.5266dupC), *BRCA2* (с.5073delA, с.8478C>A, с.9097delA) и *CHEK2* (с.444+1G>T) у 9 женщин (39,1%). Среди них наибольшая частота была отмечена для вариантов с.5266dupC (p.Gln1756fs*74) в гене *BRCA1* и с.444+1G>T в гене *CHEK2*, которые обнаружены в 8,7% образцов опухолей. Остальные мутации выявлены в 4,35% образцов ДНК опухолевой ткани пациентов с гормонозависимым типом рака молочной железы. У одной пациентки в гене обнаружен доброкачественный вариант с.7806-14T>C в гене *BRCA2*. Кроме того, у двух других пациентов было обнаружено два варианта с неопределенной клинической значимостью в гене *BRCA1*: с.1974G>C (p.Met658Ile) и с.3466G>A (p.Asp1156Asn), которые были обнаружены в 4,35% образцов опухолевой ткани с гормонозависимым раком молочной железы.

В результате проведенного исследования получены данные о спектре мутаций в образцах опухолевой ткани гормонозависимого рака молочной железы. Эти результаты имеют важное практическое значение для разработки персонализированных стратегий лечения, поскольку помогают идентифицировать целевые мутации, влияющие на выбор лекарственных препаратов и тактики ведения пациентов.

3.1.3 Сравнительный анализ выявленных патогенных вариантов в образцах опухолевой ткани у пациентов с трижды негативным и гормонозависимым раком молочной железы

Мы провели сравнительный анализ мутаций, выявленных в нашем исследовании, в образцах опухолевой ткани трижды негативного и гормонозависимого РМЖ (таблица 8). В результате анализа были идентифицированы как общие для обоих типов опухолей мутации, так и специфичные для каждого подтипа варианты. Результаты патогенных вариантов у пациентов с трижды негативным и гормонозависимым раком молочной железы выявили существенные различия в частоте и типах мутаций в ключевых генах: *BRCA1*, *BRCA2*, *TP53*, *CHEK2* и *PTEN*. Анализ профиля выявленных мутаций среди этих групп позволяет формировать более персонализированные подходы к терапии, опираясь на молекулярный портрет опухоли.

Таблица 8 - Сравнительный анализ мутаций в опухолевой ткани пациентов с трижды негативным и гормонозависимым раком молочной железы

Ген	Название мутации	ТНРМЖ (N=74)		ER+PR+HER2- РМЖ (N=23)	
		Абсолютное число	Частота	Абсолютное число	Частота
<i>BRCA1</i>	c.181T>G	2	0,027	1	0,043

	c.1918C>T	1	0,014	0	0
	c.3700_3704del	1	0,014	1	0,043
	c.3779T>G	1	0,014	0	0
	c.5266dupC	12	0,162	2	0,087
	c.5395+1G>A	1	0,014	0	0
	c.5453A>G	1	0,014	0	0
	c.68_69delAG	1	0,014	0	0
	c.1016delA	0	0	1	0,043
<i>BRCA2</i>	c.-39-1_-39del	1	0,014	0	0
	c.3847_3848delG T	1	0,014	0	0
	c.475+1G>A	1	0,014	0	0
	c.5073delA	1	0,014	1	0,043
	c.8023A>G	1	0,014	0	0
	c.9097delA	2	0,027	1	0,043
	c.8478C>A	0	0	1	0,043
<i>PTEN</i>	c.733C>T	1	0,014	0	0
<i>CHEK2</i>	c.444+1G>T	0	0	2	0,087
<i>TP53</i>	c.1015G>T	1	0,014	0	0
	c.267del	1	0,014	0	0
	c.322_326del	1	0,014	0	0
	c.328del	1	0,014	0	0
	c.329G>C	1	0,014	0	0
	c.475G>C	1	0,014	0	0
	c.524G>A	1	0,014	0	0
	c.574C>T	1	0,014	0	0
	c.659A>G	1	0,014	0	0
	c.709delA	1	0,014	0	0
	c.742C>T	1	0,014	0	0
	c.796G>A	1	0,014	0	0
	c.817C>T	1	0,014	0	0
c.916C>T	2	0,027	0	0	

Ген *BRCA1* участвует в механизмах гомологичной рекомбинации для репарации двунитевых разрывов ДНК. Выявленные мутации в этом гене, такие как

c.5266dupC и c.181T>G, встречались в обоих типах опухолей, но с различной частотой.

Наиболее часто встречающаяся мутация — c.5266dupC в гене *BRCA1*, приводящая к сдвигу рамки считывания, была обнаружена в 16,2% (12/74) образцов опухолей среди пациентов с ТНPMЖ и в 8,7% (2/23) при ER+PR+HER2-PMЖ. Высокая частота этой дупликации при ТНPMЖ подтверждает гипотезу о ее связи с более агрессивными формами опухолей, лишенных экспрессии рецепторов гормонов и подчеркивает роль гена *BRCA1* в развитии трижды негативного фенотипа. Это подтверждается исследованиями высокой распространенности этой мутации у пациентов с трижды негативным PMЖ (Mahfoudh et al., 2019; Maksimenko et al., 2014).

В нашем исследовании средний возраст пациентов с мутацией c.5266dupC в гене *BRCA1* составил 51 год, что говорит о раннем дебюте заболевания. Кроме того, опухоли имели высокий индекс пролиферации Ki-67, в среднем составляющий около 70%, что свидетельствует о быстром росте опухоли. У 63% пациентов с данной мутацией наблюдалось раннее метастазирование в лимфатические узлы, а у 32% — в другие органы, такие как легкие и печень. Эти данные подтверждают, что мутация c.5266dupC в гене *BRCA1* связана с более агрессивным течением заболевания и ухудшает прогноз для пациентов с ТНPMЖ.

Миссенс-мутация c.181T>G в гене *BRCA1* присутствует у пациентов обоих подтипов опухолей, встречаясь в 2,7% (2/74) образцов опухолей ТНPMЖ и в 4,3% (1/23) образцов опухолей ER+PR+HER2-PMЖ. Это указывает на потенциально широкое распространение данного варианта среди различных подтипов рака молочной железы. Ее присутствие в обоих типах опухолей свидетельствует о важности этой мутации для механизма репарации ДНК и подчеркивает ее потенциальную роль как маркера для выявления наследственной предрасположенности к PMЖ (Sun et al., 2023; Zannini et al., 2023).

Гормонопозитивный HER2-негативный PMЖ с мутациями в генах *BRCA1* и/или *BRCA2* представляет собой уникальный подтип PMЖ с двойными драйверами: дефицитом гомологичной рекомбинации и сигнализацией гормональных

рецепторов. В нормальном состоянии белки BRCA1 и BRCA2 подавляют сигнализацию, опосредованную эстрогеновыми рецепторами. Однако потеря функции вследствие мутаций в генах *BRCA1/2* устраняет это подавление, что приводит к снижению чувствительности к эндокринной терапии. Ингибиторы поли (АДФ-рибоза) полимеразы (PARP) оказывают противоопухолевое действие на этот подтип и могут использоваться в комбинации с эндокринной терапией (Yan et al., 2023).

Для пациентов с ТНPMЖ и мутацией с.181T>G в гене *BRCA1* средний возраст в момент постановки диагноза составил 55 лет, при этом у большинства пациентов (около 65%) в анамнезе отсутствовали онкологические заболевания у родственников, однако в личном анамнезе у части пациентов (23%) ранее наблюдались доброкачественные опухоли молочных желез. Эти пациенты чаще демонстрировали агрессивное течение заболевания с высоким индексом пролиферации и склонностью к метастазированию в регионарные лимфатические узлы.

У пациентки с ER+PR+HER2-PMЖ и мутацией с.181T>G в гене *BRCA1* возраст составил 58 лет, а также был зарегистрирован семейный анамнез рака молочной железы и/или яичников у ближайших родственников, что указывает на возможную наследственную предрасположенность. Опухоль у этой женщины имела более низкий индекс пролиферации по сравнению с ТНPMЖ и демонстрировала лучшую реакцию на эндокринную терапию, что подтверждает эффективность гормонального подхода для лечения в данном случае.

Таким образом, мутация с.181T>G в гене *BRCA1* проявляется как в трижды негативных, так и в гормоноположительных опухолях, что подчеркивает ее значение как потенциального маркера для стратификации пациентов и определения индивидуальных подходов к лечению.

Мутация с.3700_3704del в гене *BRCA1* также наблюдается в обеих группах — по одному случаю как среди образцов опухоли ТНPMЖ, так и ER+PR+HER2-PMЖ. В обоих подтипах эта мутация встречалась с частотой 1,4% и 4,3% соответственно. Этот вариант мутации, нарушая функцию белка BRCA1, предположительно

ослабляет процессы репарации ДНК, что способствует развитию злокачественного процесса (Prodosmo et al., 2016). Тем не менее, частота этой мутации в обеих группах была слишком низкой для статистически значимого различия.

Для единственного пациента с ТНРМЖ, у которого была выявлена мутация c.3700_3704del, заболевание проявлялось агрессивным течением. Пациентка, возраст которой составил 46 лет, имела в анамнезе эпизоды атипической гиперплазии молочной железы, что потребовало регулярного наблюдения еще до постановки диагноза. На момент диагностики опухоль продемонстрировала выраженный инвазивный потенциал, потребовав проведения радикальной хирургии на раннем этапе.

У пациентки с ER+PR+HER2-PMЖ и мутацией c.3700_3704del заболевание проявилось относительно умеренным течением. Пациентка, возраст которой составил 52 года, имела в семейном анамнезе случаи рака молочной железы у ближайших родственников, что позволяет предполагать возможную наследственную предрасположенность. На момент постановки диагноза опухоль демонстрировала низкий индекс пролиферации, что позволило начать лечение с эндокринной терапии. Пациентка хорошо ответила на стандартную первую линию гормонального лечения, и в течение нескольких месяцев наблюдалось стабилизация опухоли. Однако в дальнейшем, при появлении признаков прогрессирования, потребовалось подключение химиотерапии согласно клиническим рекомендациям.

Особый интерес представляют мутации, уникальные для одного из подтипов. Например, в гормонозависимых опухолях была обнаружена мутация c.1016delA в гене *BRCA1*, присутствующая у 4,3% пациентов, в то время как среди трижды негативных опухолей она не встречалась. Это свидетельствует о возможной связи данной мутации с менее агрессивными формами опухолей, ассоциированными с наличием гормональных рецепторов (Burstain et al., 2019).

Анализ мутаций в гене *BRCA2* показал интересные результаты. Ген *BRCA2* также участвует в репарации ДНК, а его мутации связаны с повышенным риском развития агрессивных форм РМЖ. В данном исследовании была отмечена значительная частота некоторых мутаций в гене *BRCA2* при ТНРМЖ.

Мутация с.9097delA в гене *BRCA2*, вызывающая сдвиг рамки считывания, была обнаружена в 2,7% (2/74) образцов опухолей при ТНРМЖ и в 4,3% (1/23) образцов опухолей при ER+PR+HER2-PMЖ. Исследования показали, что носители мутаций в гене *BRCA2* имеют повышенный риск агрессивных подтипов PMЖ, особенно среди молодых пациентов (Pogoda et al., 2020).

У двух пациентов с ТНРМЖ и мутацией с.9097delA заболевание проявлялось высокой агрессивностью и ранним началом, с диагнозом, установленным в возрасте 43 и 46 лет соответственно. В личном анамнезе у обоих пациентов отмечались доброкачественные новообразования молочной железы, и у одного из них в семейном анамнезе были случаи рака молочной железы у ближайших родственников. В обоих случаях опухоли демонстрировали склонность к быстрому прогрессированию и развитию метастазов на ранних стадиях, что потребовало многокомпонентного подхода к лечению и регулярного мониторинга.

У пациентки с гормонопозитивным HER2-негативным PMЖ и мутацией с.9097delA диагноз был установлен в возрасте 51 года. В семейном анамнезе у нее отмечались случаи рака яичников у ближайших родственников. На ранних этапах лечения опухоль демонстрировала умеренную пролиферативную активность и хороший ответ на эндокринную терапию. Однако со временем было зафиксировано прогрессирование заболевания, что потребовало пересмотра стратегии лечения и применения дополнительных методов. Наличие мутации с.9097delA в обоих подтипах PMЖ указывает на повышенный риск прогрессирования и необходимость индивидуализированного подхода к лечению и динамическому наблюдению, даже в случае гормонопозитивных опухолей.

Мутация с.5073delA в гене *BRCA2*, которая приводит к сдвигу рамки считывания, была обнаружена в 1,4% (1/74) образцов опухолей при ТНРМЖ и в 4,3% (1/23) образцов опухолей при ER+PR+HER2-PMЖ. Это генетическое изменение также наблюдалось в исследованиях популяций с высоким риском развития рака молочной железы и яичников (Willems et al., 2008).

Мутации в гене *TP53* играют ключевую роль в опухолевой прогрессии, контролируя клеточный цикл и поддерживая стабильность генома. В этом

исследовании выявленные варианты в гене *TP53* продемонстрировали отличия по частоте мутаций между подтипами РМЖ.

В нашем исследовании был выявлен широкий спектр мутаций в гене *TP53*, исключительно при ТНРМЖ, где они встречались в 20,3% (15/74) образцов опухолей. Для ER+PR+HER2- РМЖ мутации в этом гене не были обнаружены. Интересно, что среди идентифицированных вариантов в *TP53* встречались как миссенс-мутации, так и мутации со сдвигом рамки считывания, что предполагает многообразие нарушений в функции белка p53.

Известно, что мутации в гене *TP53* характерны именно для опухолей с высокой геномной нестабильностью, как это наблюдается при ТНРМЖ. Подобные изменения усиливают агрессивность опухолей за счет увеличения склонности к накоплению генетических повреждений и, следовательно, метастазированию (Pollock et al., 2022). Многообразие мутаций в гене *TP53* в нашем исследовании также подчеркивает важность профилирования этого гена при ТНРМЖ, так как его нарушение может выступать маркером прогрессирования опухоли и сниженной чувствительности к некоторым видам терапии, что подчеркивает необходимость индивидуализированного подхода к лечению.

Ген *CHEK2* играет ключевую роль в ответе на повреждение ДНК и контроле клеточного цикла, обеспечивая остановку клеточного деления при наличии дефектов в ДНК и предотвращая мутации. В нашем исследовании, в гене *CHEK2* мутация с.444+1G>T была обнаружена в 8,7% образцов опухолей (2/23) исключительно у пациентов с ER+PR+HER2- РМЖ. Эта мутация связана с модификацией уровня риска РМЖ, но её значимость для ТНРМЖ менее изучена. Ранее эта мутация ассоциировалась с умеренно повышенным риском развития РМЖ и встречается в популяциях с высокой заболеваемостью гормонозависимым РМЖ (Cybulski et al., 2011).

Интересно, что оба пациента с мутацией с.444+1G>T в гене *CHEK2* имелиотягощенный семейный анамнез по РМЖ у ближайших родственников, что может указывать на наследственную предрасположенность. Средний возраст постановки диагноза составил 54 года. Оба пациента также имели сопутствующие заболевания,

такие как гипертония и метаболический синдром, что может указывать на более высокий риск развития гормонозависимых опухолей, учитывая влияние метаболических нарушений на уровень эстрогенов.

Ген *PTEN*, участвуя в регуляции пролиферации и апоптоза, играет значимую роль в патогенезе ТНРМЖ. Мутация с.733C>T, приводящая к стоп-кодону, была обнаружена в 1,4% образцов опухолей (1/74) исключительно при ТНРМЖ. Потеря функции белка *PTEN* усиливает активность сигнального пути PI3K/AKT, который стимулирует выживание и пролиферацию клеток при трижды негативных формах рака. Кроме того, пациент с данной мутацией имел быстрое прогрессирование опухоли с ранним метастазированием в лимфатические узлы, что подчеркивает агрессивный характер заболевания при утрате функции *PTEN*. Данное наблюдение подтверждается в литературе, где показано, что *PTEN* является важным маркером агрессивности опухолей, особенно при ТНРМЖ (Hollander et al., 2011).

Таким образом, сравнение мутационных профилей ТНРМЖ и ER+PR+HER2-РМЖ выявило более высокую частоту и разнообразие мутаций в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *TP53* и *PTEN* в образцах опухолевой ткани при ТНРМЖ, что подтверждает значимость этих генов в развитии более агрессивных подтипов. Гормонозависимый РМЖ чаще ассоциирован с мутациями в генах *BRCA1*, *BRCA2* и *CHEK2*, что свидетельствует о влиянии гормональной регуляции на механизмы канцерогенеза и репарации ДНК.

Наш анализ подчеркивает необходимость изучения мутаций как в образцах опухолей трижды негативного, так и гормонозависимого рака молочной железы, поскольку каждый подтип обладает уникальным профилем. Различия в молекулярных изменениях указывают на то, что стратегии лечения должны учитывать специфику мутаций, чтобы предложить более персонализированный подход к терапии.

3.2. Идентификация зародышевых мутаций в генах, ассоциированных с онкологическими заболеваниями, при трижды негативном раке молочной железы

Поиск и идентификация, анализ спектра и частот герминальных мутаций у пациенток с трижды негативным и гормонозависимым раком молочной железы представляют собой важное направление исследований в области онкологии. Такие мутации могут иметь значительное клиническое значение, поскольку могут влиять на склонность к развитию рака и требовать особого подхода к лечению и профилактике. С помощью NGS- секвенирования было проведено исследование 802 пациенток, среди которых 419 пациенток с ТНPMЖ, а 383 с ER+PR+HER2-PMЖ по данным ИГХ. Кастомная панель включала гены *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BARD1*, *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK1*, *CHEK2*, *FANCL*, *PALB2*, *RAD51B*, *RAD51C*, *RAD51D*, *RAD54L*, *PPP2R2A*, *PTEN*, *TP53*.

3.2.1 Изучение наследственных форм рака молочной железы у женщин с трижды негативным типом

В ходе исследования герминальных мутаций у 419 пациенток с ТНPMЖ было выявлено 78 изменений нуклеотидной последовательности, включающие миссенс/нонсенс мутации, мутации сайта сплайсинга и сдвига рамки считывания. Данные изменения были обнаружены в генах *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BARD1*, *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK1*, *CHEK2*, *FANCL*, *PALB2*, *RAD51C*, *RAD51D* и *PPP2R2A* у 102 женщин. Наибольшее количество патогенных/VUS вариантов обнаружено в гене *BRCA2* – у 5,7% женщин. В гене *BRCA1* – у 4,5% женщин, *ATM* – 4,9%, *BRIP1* – 1,2%, *PALB2* – 1%, *CDK12* – 0,7% и *FANCL* – 0,5%. В генах *BARD1*, *CHEK1*, *CHEK2*, *RAD51C*, *RAD51D* и *PPP2R2A* - 0,2% (рисунок 10). Эти результаты подчеркивают гетерогенность генетических изменений, связанных с развитием ТНPMЖ, и важность дальнейшего изучения роли различных генов в патогенезе этого агрессивного подтипа рака молочной железы. По итогам биоинформатического анализа и аннотирования мутаций с использованием баз данных, значительную долю выявленных изменений составили патогенные мутации, их количество

достигло 12,2% от общего числа выявленных вариантов. Также были идентифицированы варианты с неопределенным клиническим значением, составляющие 6,4%.

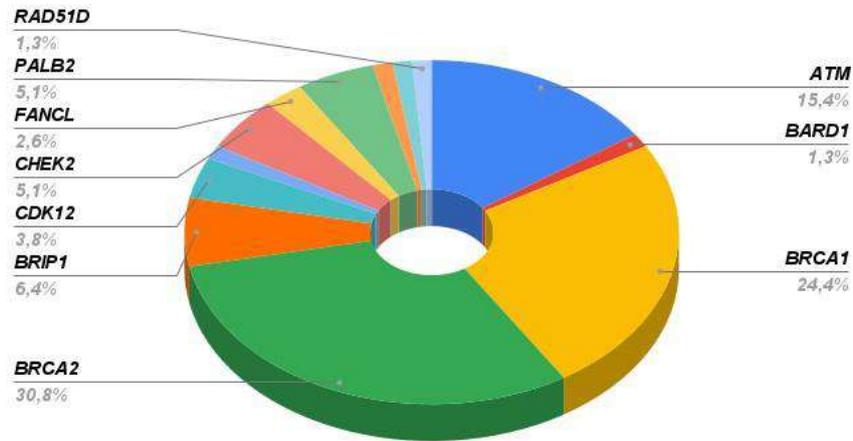


Рисунок 10 - Процентное соотношение выявленных герминальных вариантов изменения нуклеотидной последовательности у пациентов с трижды негативным типом рака молочной железы

В рамках нашего исследования был идентифицирован 51 герминальный патогенный вариант (таблица 9) в генах *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BARD1*, *CHEK2*, *FANCL*, *PALB2* и *RAD51C* у 17,4% женщин (73/419). Наиболее часто встречающимся оказался патогенный вариант с.5266dupC в гене *BRCA1*, обнаруженный у 2,86% женщин. Вторым по частоте был герминальный патогенный вариант с.444+1G>A в гене *CHEK2*, встречающийся у 0,95% женщин.

Мутации с.181T>G (p.Cys61Gly) в гене *BRCA1* и с.5286T>G (p.Tyr1762Ter) в гене *BRCA2* были обнаружены у 0,72% женщин. Патогенные варианты с.1510del (p.Arg504ValfsTer28) в гене *BRCA1*, с.4423del (p.Met1475TrpfsTer4), с.6469C>T (p.Gln2157Ter), с.6591_6592del (p.Glu2198AsnfsTer4), с.8946dup (p.Asp2983ArgfsTer35) в гене *BRCA2* и вариант с.712_714del (p.Asn238del) в гене *FANCL* были идентифицированы у 0,48% женщин. Остальные мутации выявлены у 0,24% женщин (таблица 9).

Таблица 9 - Спектр и частоты герминальных патогенных вариантов, идентифицированных у женщин с трижды негативным раком молочной железы

Ген	Название мутации	dbSNP	Абсолютное число	Частота	Эффект
<i>ATM</i>	c.1027_1030del	rs587780612	1	0,002	Сдвиг рамки считывания
	c.1037_1040del	rs2135268548	1	0,002	Сдвиг рамки считывания
	c.3372C>G	rs587779833	1	0,002	Стоп-кодон
	c.3577-9_3583del	rs1555092219	1	0,002	Сайт сплайсинга
	c.8010+2G>T	rs1591184927	1	0,002	Сайт сплайсинга
<i>BARD1</i>	c.1932_1933del	rs587782504	1	0,002	Сдвиг рамки считывания
<i>BRCA1</i>	4154delA	rs80357711	1	0,002	Сдвиг рамки считывания
	c.1016dup	rs80357569	1	0,002	Сдвиг рамки считывания
	c.1430del	-	1	0,002	Сдвиг рамки считывания
	c.1510del	rs80357908	2	0,005	Сдвиг рамки считывания
	c.181T>G	rs28897672	3	0,007	Миссенс
	c.2241dupC	rs80357650	1	0,002	Сдвиг рамки считывания
	c.2496del	-	1	0,002	Сдвиг рамки считывания
	c.4065_4068del	rs80357508	1	0,002	Сдвиг рамки считывания
	c.4752C>G	rs80357433	1	0,002	Нонсенс
	c.493_494del	rs397509206	1	0,002	Сдвиг рамки считывания
	c.5117G>A	rs80356860	1	0,002	Миссенс
	c.5159G>A	-	1	0,002	Миссенс
	c.5161C>T	rs878854957	1	0,002	Нонсенс
	c.5215+1G>T	rs80358094	1	0,002	Сайт сплайсинга
	c.5266dupC	rs80357906	12	0,029	Сдвиг рамки считывания
	c.5566C>T	-	1	0,002	Миссенс
c.68_69delAG	rs80357914	1	0,002	Сдвиг рамки считывания	
<i>BRCA2</i>	c.1796_1800del	rs276174813	1	0,002	Нонсенс
	c.2312T>G	rs587782095	1	0,002	Нонсенс

	c.2808_2811del	rs80359351	1	0,002	Сдвиг рамки считывания
	c.2945del	rs886040453	1	0,002	Сдвиг рамки считывания
	c.3023_3026del	-	1	0,002	Нонсенс
	c.3975_3978dup	rs397515636	1	0,002	Сдвиг рамки считывания
	c.4322_4323del	rs1593902043	1	0,002	Сдвиг рамки считывания
	c.4423del	rs80359447	2	0,005	Сдвиг рамки считывания
	c.476-3_476-2del	-	1	0,002	-
	c.5162del	rs1555284090	1	0,002	Сдвиг рамки считывания
	c.5217T>A	rs80358746	1	0,002	Нонсенс
	c.5286T>G	rs80358754	3	0,007	Нонсенс
	c.6124C>T	rs80358851	1	0,002	Нонсенс
	c.6469C>T	rs397507859	2	0,005	Нонсенс
	c.6494del	rs276174874	1	0,002	Сдвиг рамки считывания
	c.658_659del	rs80359604	1	0,002	Сдвиг рамки считывания
	c.6580dup	rs886040668	1	0,002	Сдвиг рамки считывания
	c.6591_6592del	rs80359605	2	0,005	Сдвиг рамки считывания
	c.8673_8674del	rs80359724	1	0,002	Сдвиг рамки считывания
	c.8946dup	rs80359733	2	0,005	Сдвиг рамки считывания
	c.9097delA	rs397507419	1	0,002	Сдвиг рамки считывания
	c.961C>T	rs80359234	1	0,002	Нонсенс
<i>CHEK2</i>	c.319+2T>A	rs587782401	1	0,002	Сайт сплайсинга
	c.444+1G>A	rs121908698	4	0,010	Сайт сплайсинга
<i>FANCL</i>	c.712_714del	-	2	0,005	Сдвиг рамки считывания
<i>PALB2</i>	c.3501_3504del	rs2142251992	1	0,002	Сдвиг рамки считывания
	c.3523C>T	rs1555457841	1	0,002	Стоп-кодон
<i>RAD51C</i>	c.502A>T	rs587781490	1	0,002	Стоп-кодон

По этническому составу женщины с ТНРМЖ были разделены на русских - 375 образцов, татарок – 26 и башкирок – 18.

На сегодняшний день проведено множество исследований, описывающих мутации в различных генах, частота которых значительно варьируется в зависимости от этнической принадлежности пациентов. Эти исследования подтверждают, что некоторые мутации могут быть уникальными для определённых популяций или иметь гораздо более высокую частоту среди представителей конкретных этнических групп.

Согласно нашим результатам анализа этнического спектра герминальных патогенных вариантов в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *ATM*, *BARD1*, *CHEK2*, *FANCL*, *PALB2* и *RAD51C* у женщин русского этнического происхождения были выявлены следующие данные (таблица 10). Герминальный патогенный вариант с.5266dupC (p.Gln1756fs*74) в гене *BRCA1* был обнаружен у 3,2% женщин. Вариант с.444+1G>A в гене *CHEK2* был выявлен у 1,1% женщин. Мутации с.181T>G (p.Cys61Gly) в гене *BRCA1* и с.5286T>G (p.Tyr1762Ter) в гене *BRCA2* обнаружены у 0,8% женщин. Варианты с.1510del (p.Arg504ValfsTer28) в гене *BRCA1*, с.4423del (p.Met1475TrpfsTer4), с.6469C>T (p.Gln2157Ter), с.6591_6592del (p.Glu2198AsnfsTer4), с.8946dup (p.Asp2983ArgfsTer35) в гене *BRCA2*, а также с.712_714del (p.Asn238del) в гене *FANCL* были выявлены у 0,5% женщин. Остальные герминальные варианты были обнаружены у 0,3% женщин с тройным негативным раком молочной железы.

Таблица 10. Сравнительный анализ распределения спектра и частот герминальных патогенных вариантов с учетом этнической принадлежности женщин с тройным негативным раком молочной железы

Ген	Название мутации	Башкиры	Русские	Татары
<i>ATM</i>	с.1027_1030del	0	0,003	0
	с.1037_1040del	0	0,003	0
	с.3372C>G	0	0,003	0

	c.3577-9_3583del	0	0,003	0
	c.8010+2G>T	0	0	0,038
<i>BARD1</i>	c.1932_1933del	0	0,003	0
<i>BRCA1</i>	4154delA	0	0	0,038
	c.1016dup	0	0,003	0
	c.1430del	0	0,003	0
	c.1510del	0	0,005	0
	c.181T>G	0	0,008	0
	c.2241dupC	0	0,003	0
	c.2496del	0	0,003	0
	c.4065_4068del	0	0,003	0
	c.4752C>G	0	0,003	0
	c.493_494del	0	0,003	0
	c.5117G>A	0	0,003	0
	c.5159G>A	0	0,003	0
	c.5161C>T	0	0	0,038
	c.5215+1G>T	0,056	0	0
	c.5266dupC	0	0,032	0
c.5566C>T	0	0,003	0	
c.68_69delAG	0	0,003	0	
<i>BRCA2</i>	c.1796_1800del	0	0,003	0
	c.2312T>G	0	0,003	0
	c.2808_2811del	0	0,003	0
	c.2945del	0	0,003	0
	c.3023_3026del	0	0,003	0
	c.3975_3978dup	0	0,003	0
	c.4322_4323del	0	0	0,038
	c.4423del	0	0,005	0
	c.476-3_476-2del	0	0,003	0
	c.5162del	0	0,003	0
	c.5217T>A	0	0,003	0
	c.5286T>G	0	0,008	0
	c.6124C>T	0	0,003	0
c.6469C>T	0	0,005	0	
c.6494del	0	0,003	0	
c.658_659del	0	0,003	0	

	c.6580dup	0	0,003	0
	c.6591_6592del	0	0,005	0
	c.8673_8674del	0	0,003	0
	c.8946dup	0	0,005	0
	c.9097delA	0	0,003	0
	c.961C>T	0	0,003	0
<i>CHEK2</i>	c.319+2T>A	0	0,003	0
	c.444+1G>A	0	0,011	0
<i>FANCL</i>	c.712_714del	0	0,005	0
<i>PALB2</i>	c.3501_3504del	0	0,003	0
	c.3523C>T	0	0,003	0
<i>RAD51C</i>	c.502A>T	0	0,003	0

В результате многочисленных исследований на сегодняшний день сформировалось чёткое понимание географического распределения мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2*. Спектр и частота мутаций в этих генах варьируются в зависимости от стран и популяций.

Ранее в Республике Башкортостан также были проведено исследование вариантов генов *BRCA1/2* среди различных этнических групп. В этом исследовании наиболее часто встречающейся мутацией у пациенток с раком молочной железы из Башкортостана оказалась дупликация c.5266dupC в гене *BRCA1*, выявленная в 3,6% случаев. У женщин русской этнической принадлежности – 58,3%, татарского – 30,5%, в единичных случаях она была выявлена у представительниц башкирской этнической группы, а также у представителей финно-угорских народов – мари и мордвы (Бермишева, 2021).

Дупликация c.5266dupC является наиболее распространённым не только среди женщин этого региона. Из-за миграции рабочих и других демографических перемещений эта мутация была обнаружена и в других этнических группах. Так, в одном крупном исследовании была оценена распространённость мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* у больных раком молочной железы, проживающих в Восточной Европе и Северной Азии (или Сибири). Результаты исследования подтвердили, что герминальный патогенный вариант c.5266dupC в гене *BRCA1*, часто встречающийся

у славянских народов, также был выявлен среди чеченцев, армян, башкир, украинцев, мордвы, марийцев, кабардинцев, татар, узбеков, киргизов, осетин, ханты и адыгов (Gervas et al., 2024).

В нашем исследовании патогенный вариант с.181T>G (p.Cys61Gly) в гене *BRCA1*, выявленный у 0,8% женщин, также был описан Бермишевой М.А. и соавторами в группе пациенток с раком молочной железы из Республики Башкортостан, где он встречался у пяти женщин (0,5%). В нашем исследовании данный вариант был обнаружен исключительно у женщин русской этнической принадлежности, тогда как в исследовании Бермишевой М.А он был выявлен у трёх русских и двух татарских пациенток с РМЖ (Бермишева, 2021). В другом исследовании крымской популяции, эта мутация была найдена с частотой 0,03% в группе пациенток с РМЖ славянского происхождения (Салиева и др., 2023). Дополнительно, этот же герминальный патогенный вариант с.181T>G (p.Cys61Gly) в гене *BRCA1* был обнаружен в исследовании Бровкиной О.И. и соавторов у двух женщин татарского происхождения с РМЖ, что составило 0,03% от исследованной выборки (Бровкина и др., 2016). Эти данные подчеркивают, что вариант с.181T>G (p.Cys61Gly) может быть важным маркером для диагностики рака молочной железы в разных этнических группах, хотя её частота и распространённость варьируют в зависимости от популяции.

Патогенный вариант с.5286T>G (p.Tyr1762Ter) в гене *BRCA2* был обнаружен в нашем исследовании у 5 женщин (0,8%) русской этнической принадлежности. Согласно данным литературы, данный вариант ассоциирован с повышенным риском развития рака яичников и рака простаты (Willems et al., 2008; Kechin et al., 2023), тогда как при раке молочной железы его роль описана реже (Zheng et al., 2018). Вариант с.5286T>G вызывает появление преждевременного стоп-кодона (p.Tyr1762*), что приводит к прерыванию трансляции и отсутствию белкового продукта вследствие нонсенс-опосредованного распада мРНК. Это нарушение критически влияет на нормальную функцию белка *BRCA2*, ответственного за репарацию ДНК через механизм гомологичной рекомбинации. Утрата этой

активности приводит к повышенной геномной нестабильности, что существенно увеличивает риск онкологических заболеваний.

В гене *BRCA2* делеция с.4423del (p.Met1475TrpfsTer4) выявлена у 0,5% женщин русской этнической принадлежности в нашем исследовании. Ранее о ней уже сообщалось в исследовании российской популяции, где она была обнаружена среди женщин русской этнической принадлежности с частотой 1,6% (Sokolenko et al., 2020). Преждевременный стоп-кодон, возникающий вследствие мутации, приводит к активации механизма нонсенс-опосредованного распада мРНК, что предотвращает накопление дефектных белков в клетке. В результате этого процесса синтез функционального белка *BRCA2* прекращается, что лишает клетку его ключевой активности.

Нонсенс-вариант с.6469C>T (p.Gln2157Ter), выявленный в нашем исследовании у 0,5% женщин в гене *BRCA2*, был также описан российскими исследователями в рамках диагностики наследственных опухолевых синдромов методом массового параллельного секвенирования у одной женщины с раком молочной железы русской этнической принадлежности и с отягощенным семейным анамнезом (Абрамов и др., 2021). Кроме того, эта мутация была обнаружена в китайских популяциях с наследственным раком молочной железы и яичников (Bhaskaran et al., 2019).

У женщин татарского происхождения герминальные патогенные варианты были выявлены в генах *BRCA1*, *BRCA2* и *ATM*. Примечательно, что эти мутации не совпадали с данными, полученными для других этнических групп, и были обнаружены исключительно у женщин татарской этнической принадлежности с ТНPMЖ. В частности, варианты с.8010+2G>T в гене *ATM*, 4154delA и с.5161C>T (p.Gln1721Ter) в гене *BRCA1*, а также вариант с.4322_4323del (p.Glu1441ValfsTer3) в гене *BRCA2* были идентифицированы у 3,8% женщин.

В гене *BRCA1* нонсенс-мутация с.5161C>T (p.Gln1721Ter) ранее была описана в работе китайских исследователей, где обнаружена у пациентки 32 лет с PMЖ, у матери - PЯ, а у сестры – PMЖ (Cao et al., 2013). Также этот вариант выявлен у двух женщин с трижды негативным PMЖ из Германии, у одного из которых в семье

встречался РМЖ (Muendlein et al., 2015). В группах женщин молодого возраста с РМЖ и РЯ из Иордании также был определен вариант с.5161C>T (Abdel-Razeq et al., 2021). В исследованиях Бровкиной и соавт. данная мутация была выявлена с частотой 0,8% у пациенток с РМЖ и РЯ из Татарстана (Бровкина и др., 2016). В Республике Башкортостан было изучено распространение мутации *BRCA1**с.5161C>T среди пациентов с раком молочной железы, яичников и простаты татарской и башкирской этнической принадлежности. По данным исследования, мутация была выявлена с частотой 1,3% исключительно у пациентов татарской этнической принадлежности, что позволяет предположить её специфичность для этой группы в популяции республики (Бермишева и др., 2021). В нашем исследовании, несмотря на преобладание пациентов русской этнической принадлежности, мутация с.5161C>T была выявлена только у 3,8% женщин татарского происхождения. Это позволяет сделать вывод, что в Республике Башкортостан патогенный вариант с.5161C>T (p.Gln1721Ter) в гене *BRCA1* встречается преимущественно у пациентов татарской этнической принадлежности.

Патогенный вариант 4154delA (с.4035del, p.Glu1346LysfsX20) в гене *BRCA1*, выявленный у 3,8% женщин в нашем исследовании, был также исследован в предыдущих работах. В частности, в одном из исследований популяций Республики Башкортостан, эта мутация обнаружена у двух женщин славянской этнической принадлежности (Бермишева, 2021). В нашем исследовании данный вариант был идентифицирован у пациентки татарского этнического происхождения, что подчеркивает его присутствие в различных этнических группах и возможные различия в его распространённости среди них. Данный вариант приводит к отсутствию белкового продукта. Этот вариант является мажорным во многих популяциях у женщин с РМЖ (Elsakov et al., 2010; Goidescu et al., 2018), и известен как мутация «эффекта основателя» в балтийской популяции (Janavičius et al., 2013). Вариант 4154delA также был обнаружен в метаанализе случай-контроль у пациентов с раком молочной железы (Dorling et al., 2021).

У женщин башкирского этнического происхождения в нашем исследовании обнаружена одна мутация сайта сплайсинга в гене *BRCA1* - с.5215+1G>T у 5,6%

женщин и больше не встречается в других этнических группах. Данный вариант ассоциирован с наследственным РМЖ и РЯ и был выявлен у пациентов из Республики Татарстан с частотой 0,5% (Brovkina et al., 2018).

Кроме частых и ранее описанных патогенных вариантов в популяциях нашего региона, стоит уделить внимание редким и уникальным вариантам, обнаруженным в гене *BRCA1/2* в нашем исследовании. В гене *BRCA1* патогенные варианты с.1430del (p.Val477GlufsTer5), с.2496del (p.Leu833TrpfsTer13), с.5159G>A (p.Arg1720Gln), с.5566C>T(p.Arg1856Ter) и патогенные варианты в гене *BRCA2* - с.3023_3026del (p.Ser1008ThrfsTer34) и с.476-3_476-2del не описаны в известных базах данных, таких как ClinVar или HGMD, а также не встречаются в популяциях мира, что свидетельствует о их редкости. Согласно данным программ *in silico*, таких как SIFT, PolyPhen-2 и MutationTaster, данные варианты предсказываются как патогенные. Программа SIFT прогнозирует, что эти вариант являются повреждающими, указывая на высокую вероятность нарушения функции белка. PolyPhen-2 классифицирует их как вероятно патогенные, что также подтверждает значительное нарушение функции белка. MutationTaster оценивает эти варианты как патогенные, ссылаясь на потерю белковой функции из-за преждевременного стоп-кодона и возможного нонсенс-опосредованного распада мРНК. Таким образом, несмотря на отсутствие данных в популяциях мира, результаты *in silico* анализа указывают на высокую вероятность того, что данные варианты, которые обнаружены у 0,24% женщин с ТНРМЖ в нашем исследовании, являются патогенным и могут быть ассоциированы с развитием заболеваний, связанных с мутациями в гене *BRCA1*, таких как рак молочной железы и яичников.

Согласно литературным данным, исследователи отмечают важность анализа не только генов *BRCA1* и *BRCA2*, но и других генов (Dean et al., 2023; Zhang et al., 2023). Это особенно актуально для трижды негативного рака молочной железы, где отсутствие экспрессии рецепторов эстрогена, прогестерона и HER2 ограничивает возможности традиционной терапии. В нашем исследовании у 16 (3,3%) женщин с ТНРМЖ, помимо вариантов в генах *BRCA1/2*, было обнаружено 12 вариантов с установленной патогенной значимостью в 6 генах: *ATM*, *BARD1*, *CHEK2*, *FANCL*,

PALB2 и *RAD51C*. Остальные 23 выявленных варианта в 9 генах *ATM*, *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK1*, *CHEK2*, *FANCL*, *PALB2*, *RAD51D*, *PPP2R2A* аннотировались как варианты с неопределенной клинической значимостью (VUS) (таблица 11).

В гене-супрессоре опухоли *ATM* выявлено 12 вариантов, среди которых 5 вариантов являются клинически значимыми и встречаются с одинаковой частотой у 0,24% женщин: с.1027_1030del, с.3577-9_3583del, с.1037_1040del, с.8010+2G>T, с.3372C>G. Мутация с.1027_1030del(p.Glu343IlefsTer2) была обнаружена у пациентки русского этнического происхождения и представляет собой делецию четырех нуклеотидов, которая вызывает сдвиг рамки считывания, в связи с чем нормальная функция белка *ATM* теряется. Этот вариант присутствует в популяционных базах данных (gnomAD 0,04%) (Richards et al., 2015; Dorling et al., 2021). Вариант с.3577-9_3583del в гене *ATM* был идентифицирован также у одной русской пациентки. Согласно анализу *in silico*, это изменение ослабит нативный сплайс-акцепторный сайт и может привести к созданию или усилению нового сплайс-донорного сайта. Согласно базе данных ClinVar, изменения, нарушающие канонический сайт сплайсинга, приводят к aberrantному сплайсингу, в результате которого образуется аномальный белок или транскрипт, подверженный нонсенс-опосредованному распаду мРНК (Bishop et al., 2020; Dorling et al., 2021). Патогенный вариант с.1037_1040del приводит к сдвигу рамки считывания, вследствие чего происходит преждевременное усечение белка. Этот вариант считается редким на основании частот в базе данных gnomAD, также, как и мутация с.8010+2G>T, приводящая к нарушению нормального процесса сплайсинга мРНК. В нашем исследовании эта мутация была идентифицирована у пациентки татарской этнической принадлежности. Вариант с.3372C>G создает сигнал преждевременной остановки трансляции, что приводит к отсутствию белкового продукта. Согласно литературным данным, этот вариант был обнаружен у пациентки с наследственным раком молочной железы и раком легких (Susswein et al., 2016; Lovejoy et al., 2020). Нами также были выявлены варианты с неопределенным клиническим значением. В гене *ATM* миссенс-мутация с.6497T>C была описана в литературе у пациентов с раком предстательной железы (Karlsson et al., 2021), а также у контрольной группы

(Momozawa et al., 2018). Насколько известно, экспериментальные данные о влиянии этого варианта на функцию белка отсутствуют. Другой миссенс-вариант с.8066A>G в этом же гене был выявлен у пациента, у которого в возрасте 45 лет был диагностирован двусторонний инвазивный протоковый рак молочной железы. Исследование проводилось в группе из 113 пациентов из Италии с использованием панели из 25 генов, связанных с раком молочной железы/яичников и поджелудочной железы, у которых не было выявлено мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2*, (Germani et al., 2020). Данная позиция аминокислоты не является высоко консервативной среди известных видов позвоночных, а результаты *in silico* анализа для этого изменения остаются неоднозначными.

В гене *BARD1* обнаружен патогенный вариант с.1932_1933del(p.Cys645Ter) у пациентки русской этнической принадлежности. Данный вариант приводит к преждевременному терминирующему кодону, и, в последствии, к усечению кодируемого белка. Согласно литературным данным, эта мутация встречалась в исследованиях у пациентов, имеющих клинический диагноз рак молочной железы и колоректальный рак (gnomAD) (Couch et al., 2015; Shirts et al., 2016; Edvardson et al., 2019).

В гене *BRIP1* выявлено 5 вариантов с неопределенной клинической значимостью: с.1054T>C (p.Tyr352His), с.133G>A (p.Glu45Lys) с.2854A>G (p.Ple952Val) и с.595C>A (p.Leu199Met) – у 0,24% женщин, с.143C>A (p.Thr48Lys) – у 0,48% женщин. Данные варианты являются редкими в популяционных когортах (Ramus et al., 2015; Nykamp et al., 2017). Программы SIFT, PolyPhen-2 и Align-GVGD прогнозируют, что эти варианты могут оказаться патогенными. Мутация с.143C>A в гене *BRIP1* в нашем исследовании была обнаружена у двоих женщин с ТНРМЖ. Результаты *in silico* анализа указывают на то, что данный миссенс-вариант оказывает негативное воздействие на функцию белка. Насколько нам известно, данные о его патогенности или доброкачественности ранее не публиковались. Вариант был выявлен у европейских пациентов с раком яичников (Ramus et al., 2015).

В гене *CDK12* было идентифицировано 3 варианта VUS: с.1072A>G (p.Arg358Gly) – у 1,2% женщин, с.1102T>A (p.Ser368Thr) - у 0,48% женщин и с.1558A>G (p.Thr520Ala) – у 0,24% женщин.

В гене *CHEK2* выявлено две мутации - с.444+1G>A и с.319+2T>A, а также два варианта с неопределенной клинической значимостью - с.670C>T(p.Arg224Cys) и с.1312G>C (p.Val438Leu). Вариант с.444+1G>A был обнаружен у 0,95% женщин с трижды негативным РМЖ. Данная мутация разрушает канонический донорский сайт сплайсинга, что приводит к нонсенс-опосредованному распаду мРНК. Согласно данным литературы, он ассоциирован с более тяжелым личным и семейным анамнезом (Pruss et al., 2014). Частота этого варианта составляет 0,00052 в gnomAD. В настоящее время особое внимание уделяется идентификации мутаций в *CHEK2*, который ассоциирован с повышенным риском развития наследственного РМЖ (Yadav et al., 2023). Крупномасштабное исследование «случай-контроль» показало, что этот вариант связан с повышенным риском развития наследственного РМЖ (OR=2.085, 95%CI). Данный вариант считается мутацией основателя в польской популяции (Cybulski et al., 2011). В Республике Башкортостан также проводился анализ варианта с.444+1G>A, где он обнаружен с частотой 0.4% (4 / 1006) у больных РМЖ и 0.2% (2 / 1069) в группе контроля. Средний возраст пациенток с вариантом *CHEK2**с.444+1G>A составлял 47+12,7 лет, и все они имели славянское происхождение (Бермишева, 2021). В нашем исследовании эта мутация также выявлена у пациентов русской этнической принадлежности с частотой 1,1%.

Патогенный вариант с.319+2T>A в гене *CHEK2* нарушает канонический сплайс-донорный сайт и препятствует нормальному сплайсингу мРНК. В опубликованной литературе о данном варианте сообщалось у женщин с наследственным РМЖ/РЯ (Brovkina et al., 2018; Dominguez-Valentin et al., 2018; Jarhelle et al., 2019), а также у женщин с колоректальным раком (Rohlin et al., 2017).

Миссенс-вариант с.670C>T в гене *CHEK2*, имеющий неопределенное клиническое значение был выявлен у пациентов с различными онкологическими заболеваниями, включая рак простаты, рак молочной железы, рак толстой кишки, детский острый лимфобластный лейкоз и саркому Юинга (Delimitsou et al., 2019;

Dorling et al., 2021; Wallander et al., 2021). Он также встречался у пациентов с множественными первичными опухолями. Однако, несмотря на его присутствие в группе больных, данный вариант был также обнаружен в контрольных группах, что не позволяет однозначно связать его с развитием этих патологий (Narang et al., 2020).

В гене *FANCL* обнаружен патогенный вариант с.712_714del (p.Asn238del) у 0,48% женщин. Мутации в гене *FANCL* нарушают взаимодействие ядерного комплекса FANC и белка BRCA1, что, в свою очередь, приводит к накоплению повреждений в ДНК (Bonnet et al., 2022).

Ген *FANCL* локализуется на 2-й хромосоме и кодирует белок E3 убиквитин-белковую лигазу, участвующий в репарации поврежденной ДНК. Этот ген кодирует одноименный белок, входящий в состав ядерного белкового комплекса FANC (Meetei et al., 2003). Гены *FANC* имеют разную структуру, каждый ген отвечает за синтез определенного белка ядерного белкового комплекса, участвующего в процессе репарации ДНК (Pace et al., 2002). В местах повреждения ДНК ядерный белковый комплекс FANC активирует белок FANCD2 путем моноубиквитинирования и привлекает белок BRCA1 (Smogorzewska et al., 2007). *FANCL* содержит 3 домена: RING-домен взаимодействует с убиквитин-конъюгирующими ферментами (тип E2), центральный домен необходим для взаимодействия с субстратом, N-концевой E2-подобный складчатый (ELF) домен взаимодействует с белком FANCB (Van Twest Sylvie et al., 2017). ELF-домен также необходим для обеспечения нековалентного взаимодействия между *FANCL* и убиквитином. Помимо этого, домен ELF участвует в моноубиквитинировании белка FANCD2 в местах повреждения ДНК (Miles et al., 2015). Поскольку деятельность *FANCL* связана с репарацией ДНК, аномальная форма этого белка ведет к неконтролируемому делению клеток при таких онкологических заболеваниях, как колоректальный рак и рак молочной железы (Del Valle et al., 2020; Esteban-Jurado et al., 2016).

Выявленная в нашем исследовании делеция с.712_714del не была описана в литературе у пациентов с РМЖ и/или РЯ, но была обнаружена у 6/543 пациентов с раком поджелудочной железы у пациентов из России (Emelyanova et al., 2022).

В гене *PALB2* выявлено два патогенных варианта, которые встречаются в единичных случаях с.3501_3504del и с.3296C>G. Информация о данном варианте в базах данных отсутствует. Согласно литературным данным, делеция с.3501_3504del была обнаружена при наследственном РМЖ в Австралии (Thompson et al., 2015). Эта мутация находится ближе к С-концу белка, после WD40-домена, и нарушает связывание *PALB2* с *BRCA2* и *RAD51* — ключевыми компонентами для восстановления повреждений ДНК. Это приводит к значительному снижению эффективности гомологичной рекомбинации, повышению геномной нестабильности и увеличению риска развития рака, в частности РМЖ/РЯ.

Патогенный вариант с.3296C>G, расположенный в кодирующем экзоне 12 гена *PALB2*. Мутация хорошо описана в литературе и встречается у пациентов с наследственным раком молочной железы, яичников, поджелудочной железы и колоректального рака (Deckere et al., 2017; Ramus et al., 2015; Tsaousis et al., 2019; Zhunussova et al., 2019).

Патогенный нонсенс-вариант с.502A>T (p.Arg168Ter) в гене *RAD51C* вызывает преждевременный стоп-кодон, приводящий к образованию укороченного, нефункционального белка, неспособного полноценно участвовать в репарации ДНК. Этот вариант встречается у 0,24% женщин и практически отсутствует в крупных популяционных когортах, что подтверждает его связь с наследственным раком молочной железы и яичников. Клинические данные указывают на повышенный риск заболевания у женщин с этой мутацией, особенно при наличии семейного анамнеза рака. В большинстве случаев рак молочной железы или яичников у носителей этой мутации развивается в возрасте 40-50 лет и протекает агрессивно, требуя ранней диагностики и активного лечения (Lhota et al., 2016; Yang et al., 2020)

В генах *RAD51D* и *PPP2R2A* были выявлены варианты с неопределенной клинической значимостью. Миссенс-вариант с.992T>A (p.Ile331Asn) в гене *RAD51D* обнаружен у 1,83 % женщин, тогда как вариант с.38_40del (p.Gly13del) в гене *PPP2R2A* был обнаружен в единичном случае (у 0,92% женщин). Вариант с.38_40del был идентифицирован в следующих популяциях: Европейская (нефинская) – 26 из 126716 хромосом (частота 0,0002), Восточноазиатская – 83 из 18868 хромосом

(включая 1 гомозиготный случай, частота 0,004), Европейская (финская) – 2 из 25794 хромосом (частота 0,00008), Южноазиатская – 9 из 30782 хромосом (частота 0,0003), и другая – 2 из 6468 хромосом (частота 0,0003) (Stavropoulos et al., 2016).

Таблица 11 - Спектр и частоты герминальных вариантов с неопределенной клинической значимостью в генах *ATM*, *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK1*, *CHEK2*, *FANCL*, *PALB2*, *RAD51D* и *PPP2R2A* у женщин с трижды негативным раком молочной железы

Ген	Выявленные варианты	dbSNP	Абсолютное число	Частота	gnomAD	Эффект
<i>ATM</i>	c.115A>G	rs779297339	1	0,0092	0.00006	Миссенс
	c.1727T>C	rs730881342	1	0,0092	0.00011	Миссенс
	c.2204T>C	rs1565395012	1	0,0092	0	Миссенс
	c.2756G>C	rs2135525539	1	0,0092	0	Миссенс
	c.421T>G	rs1565357020	1	0,0092	0	Миссенс
	c.6497T>C	rs1232551114	1	0,0092	0.00008	Миссенс
	c.8066A>G	rs759779781	1	0,0092	0	Миссенс
<i>BRIP1</i>	c.1054T>C	rs730881632	1	0,0092	0.00001	Миссенс
	c.133G>A	rs587781292	1	0,0092	0	Миссенс
	c.143C>A	rs755317452	2	0,0183	0.00001	Миссенс
	c.2854A>G	rs200239986	1	0,0092	0.00003	Миссенс
	c.595C>A	-	1	0,0092	0	Миссенс
<i>CDK12</i>	c.1072A>G	-	5	0,0459	0	Миссенс
	c.1102T>A	-	2	0,0183	0	Миссенс
	c.1558A>G	-	1	0,0092	0	Миссенс
<i>CHEK1</i>	c.601A>G	-	1	0,0092	0	Миссенс
<i>CHEK2</i>	c.1312G>C	rs200050883	1	0,0092	0	Миссенс
	c.670C>T	rs137853010	1	0,0092	0.00006	Миссенс
<i>FANCL</i>	c.332A>G	rs757683704	1	0,0092	0.00001	Миссенс
<i>PALB2</i>	c.1926G>A	-	1	0,0092	0	Миссенс
	c.3296C>G	rs142132127	1	0,0092	0.00003	Миссенс
<i>PPP2R2A</i>	c.38_40del	-	1	0,0092	0	Сдвиг рамки считывания
<i>RAD51D</i>	c.992T>A	rs145309168	2	0,0183	0.00041	Миссенс

Учитывая, что в целом в патогенез рака молочной железы вовлечено множество генов, использование расширенной таргетной NGS панели для поиска

патогенных изменений представляется необходимым условием для оптимизации алгоритмов молекулярно-генетических исследований онкопатологий с учетом региональных и этнических особенностей генофонда популяций.

Эти гены участвуют в сложных сигнальных путях, которые обеспечивают репарацию ДНК и поддержание геномной стабильности. Например, Ген *ATM* активируется в ответ на двухцепочечные разрывы ДНК и фосфорилирует множество белков, включая *CHEK2*, *BRCA1* и *p53*. *CHEK2*, в свою очередь, активируется *ATM* и фосфорилирует белки, такие как *BRCA1*, усиливая сигнал к остановке клеточного цикла и репарации ДНК. Это взаимодействие создает эффективную систему обнаружения и устранения повреждений ДНК. *BARD1* образует гетеродимер с *BRCA1*, и этот комплекс активно участвует в процессе гомологичной рекомбинации для репарации двухцепочечных разрывов ДНК. *PALB2* связывает *BRCA2* и способствует правильному функционированию *BRCA1-BRCA2* комплекса. *RAD51C* участвует в гомологичной рекомбинации и образует комплексы с другими белками *RAD51*-подобного семейства для обеспечения точной репарации ДНК. Нарушение функций любого из этих генов может дестабилизировать всю систему репарации ДНК, что приводит к накоплению генетических повреждений и повышает риск развития ТНРМЖ (Garbe et al., 2022; Loveday et al., 2022).

ТНРМЖ является одной из самых агрессивных форм рака молочной железы и часто не поддается стандартным методам лечения. Выявление мутаций в генах *ATM*, *BARD1*, *CHEK2*, *FANCL*, *PALB2* и *RAD51C* позволяет расширить понимание молекулярных механизмов развития этого заболевания, улучшить диагностику и разработать более эффективные и персонализированные стратегии лечения.

Кроме того, изучение вариантов с неопределенной клинической значимостью (VUS) представляет собой актуальную и важную задачу в контексте исследований трижды негативного рака молочной железы (Castillo-Guardiola et al., 2022). Учитывая, что в ТНРМЖ вовлечены многие гены, анализ VUS может выявить новые гены и сигнальные пути, связанные с развитием и прогрессией ТНРМЖ, что способствует более глубокому пониманию молекулярных механизмов этого заболевания. Помимо этого, варианты генов могут иметь различную частоту и

значимость в разных популяциях. Изучение VUS в конкретных этнических и региональных группах позволяет учитывать генетические особенности этих популяций, что важно для разработки эффективных стратегий скрининга и лечения (Wolfson et al., 2021; Bolze et al., 2024).

Таким образом, результаты проведенных исследований способствуют расширению знаний о спектре и частотах мутаций в этнически подразделенном регионе России. Получены ценные сведения о наличии редких и новых патогенных вариантов.

При анализе выявленных герминальных патогенных вариантов у женщин ТНPMЖ с учетом их этнического происхождения, установлено, что все выявленные патогенные варианты не пересекались между этническими группами. У женщин русского этнического происхождения мутация с.5266dupC (p.Gln1756fs*74) в гене *BRCA1* была обнаружена у 3,2% женщин. Мутация с.444+1G>A в гене *CHEK2* была выявлена у 1,1% женщин. Варианты с.181T>G (p.Cys61Gly) в гене *BRCA1* и с.5286T>G (p.Tyr1762Ter) в гене *BRCA2* обнаружены у 0,8% женщин. Варианты с.1510del (p.Arg504ValfsTer28) в гене *BRCA1*, с.4423del (p.Met1475TrpfsTer4), с.6469C>T (p.Gln2157Ter), с.6591_6592del (p.Glu2198AsnfsTer4), с.8946dup (p.Asp2983ArgfsTer35) в гене *BRCA2*, а также с.712_714del (p.Asn238del) в гене *FANCL* были выявлены у 0,5% женщин. Остальные мутации были обнаружены у 0,3% пациенток с ТНPMЖ.

У женщин татарского происхождения герминальные патогенные варианты были выявлены в генах *BRCA1*, *BRCA2* и *ATM*. Мутации с.8010+2G>T в гене *ATM*, 4154delA и с.5161C>T (p.Gln1721Ter) в гене *BRCA1*, а также с.4322_4323del (p.Glu1441ValfsTer3) в гене *BRCA2* были идентифицированы у 3,8% женщин. Было подтверждено, что мутация с.5161C>T в гене *BRCA1* преимущественно встречается у пациентов с PMЖ татарского этнического происхождения, что указывает на его возможную этническую специфичность.

У женщин башкирского этнического происхождения в нашем исследовании обнаружен один патогенный вариант в гене *BRCA1* - с.5215+1G>T у 5,6% женщин.

Таким образом, в результате проведенного исследования герминальных мутаций у 419 пациенток с ТНРМЖ было выявлено 78 изменений нуклеотидной последовательности в 13 генах, включая *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BARD1*, *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK1*, *CHEK2*, *FANCL*, *PALB2*, *RAD51C*, *RAD51D* и *PPP2R2A*, которые были обнаружены у 102 женщин. Идентифицирован 51 герминальный патогенный вариант в генах *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BARD1*, *CHEK2*, *FANCL*, *PALB2* и *RAD51C* у 73 женщин (17,4%). Наиболее часто встречающаяся – мутация с.5266dupC в гене *BRCA1*, обнаруженная у 2,86% женщин. Вторая по частоте с.444+1G>A в гене *CHEK2* - у 0,95% женщин. Варианты с.181T>G (p.Cys61Gly) - *BRCA1* и с.5286T>G (p.Tyr1762Ter) - *BRCA2* обнаружены у 0,72% женщин. Мутации с.1510del (p.Arg504ValfsTer28) - *BRCA1*, с.4423del (p.Met1475TrpfsTer4), с.6469C>T (p.Gln2157Ter), с.6591_6592del (p.Glu2198AsnfsTer4), с.8946dup (p.Asp2983ArgfsTer35) в гене *BRCA2* и с.712_714del (p.Asn238del) в гене *FANCL* идентифицированы у 0,48% женщин.

Выявлены ранее не описанные патогенные варианты в гене *BRCA1* - с.1430del (p.Val477GlufsTer5), с.2496del (p.Leu833TrpfsTer13), с.5159G>A (p.Arg1720Gln) и с.5566C>T (p.Arg1856Ter); в гене *BRCA2*- с.3023_3026del (p.Ser1008ThrfsTer34) и с.476-3_476-2del; в гене *FANCL* - с.712_714del (p.Asn238del).

Остальные 27 выявленных вариантов в 11 генах (*ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK1*, *CHEK2*, *FANCL*, *PALB2*, *RAD51D* и *PPP2R2A*) аннотировались как VUS.

Исследования герминальных мутаций при трижды негативном раке молочной железы методом массового параллельного секвенирования являются ключевым направлением в поиске генетических факторов, способствующих развитию этого типа рака. Такие исследования могут помочь установить наличие связи между конкретными герминальными мутациями и риском развития ТНРМЖ, а также предоставить информацию о мутационной нагрузке, которая может быть ценной для прогнозирования течения болезни. Результаты исследований герминальных мутаций при ТНРМЖ могут иметь важное значение для практики клинической медицины. Например, обнаружение мутаций в генах *BRCA* может быть основанием

для рекомендации профилактических мастэктомий или использования таргетированных терапий, таких как ингибиторы PARP-ингибиторов. Такие методы исследования не только расширяют наше понимание генетической основы ТНРМЖ, но и могут обеспечить основу для разработки персонализированных стратегий лечения и более эффективного управления этим сложным и агрессивным видом рака молочной железы.

3.2.2 Изучение наследственных форм рака молочной железы у женщин с гормоноположительном типом

В образцах ER+PR+HER2-PMЖ нами было выявлено 65 изменений нуклеотидной последовательности, включающие миссенс/нонсенс мутации, мутации сайта сплайсинга и сдвига рамки считывания, в генах *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BARD1*, *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK2*, *FANCL*, *PALB2*, *RAD51B*, *RAD54L* у 84/383 женщин. Наибольшее количество вариантов было обнаружено в гене *BRCA2* – у 4,96% женщин, в гене *BRCA1* - 3,13%, *ATM* – 2,35%, в генах *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK2* - 1,31%, *PALB2* – 1,04%, в генах *BARD1* и *RAD54L* у 0,52% женщин, *RAD51B* – 0,26% (рисунок 11). Среди обнаруженных нами вариантов доля патогенных составила 10,7%, VUS – 6,3%.

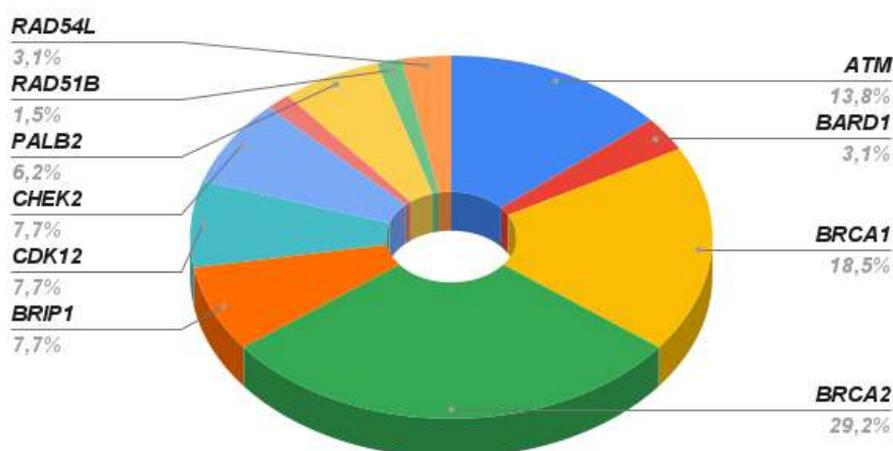


Рисунок 11 - Процентное соотношение выявленных герминальных вариантов изменения нуклеотидной последовательности у пациентов с гормонозависимым типом рака молочной железы

В ходе исследования было идентифицировано 39 герминальных патогенных вариантов у женщин с ER+PR+HER2-PMЖ. Эти изменения были выявлены в генах *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BARD1*, *CHEK2*, *BRIP1*, *PALB2* у 58 женщин (15,14%). Среди выявленных вариантов наибольшая частота была отмечена для дупликации c.5266dupC в гене *BRCA1*, которая обнаружена у 3,39% женщин. Мутация в гене *CHEK2* – c.444+1G>A выявлена у 1,57% женщин. В гене *BRCA2* обнаружена делеция c.6591_6592del у 0,78% женщин. В этом гене были идентифицированы ещё два патогенных варианта – c.4423del и c.5286T>G, каждый из которых был обнаружен у 0,52% женщин. Все остальные патогенные варианты идентифицированы у 0,26% женщин (таблица 12).

Таблица 12 - Спектр и частоты герминальных патогенных вариантов изменения нуклеотидной последовательности у женщин с гормонозависимым типом рака молочной железы

Ген	Название мутации	dbSNP	Абсолютное число	Частота	Эффект
<i>ATM</i>	c.3576G>A	rs587776551	1	0,003	Миссенс
	c.497-1G>T	rs778624615	1	0,003	Сайт сплайсинга
	c.7240C>T	rs863224462	1	0,003	Нонсенс
	c.8147T>C	rs587782652	1	0,003	Миссенс
<i>BARD1</i>	c.1690C>T	rs587780021	1	0,003	Нонсенс
<i>BRCA1</i>	c. 2080delA	rs80357522	1	0,003	Сдвиг рамки считывания
	c. 4154delA	rs80357711	1	0,003	Сдвиг рамки считывания
	c.1612C>T	rs80356893	1	0,003	Нонсенс
	c.181T>G	rs28897672	1	0,003	Миссенс
	c.4065_4068del	rs80357508	1	0,003	Сдвиг рамки считывания
	c.4738G>A	rs80356988	1	0,003	Миссенс
	c.5136G>A	rs80357418	1	0,003	Нонсенс
	c.5266dupC	rs80357906	13	0,034	Сдвиг рамки считывания
	c.5404G>T	rs397509268	1	0,003	Нонсенс
	c.5503C>T	rs41293465	1	0,003	Нонсенс

	c.81-2A>T	rs397509326	1	0,003	Сайт сплайсинга
<i>BRCA2</i>	c.1310_1313del	rs80359277	1	0,003	Сдвиг рамки считывания
	c.2653_2656del	rs80359340	1	0,003	Сдвиг рамки считывания
	c.3847_3848delGT	rs80359405	1	0,003	Сдвиг рамки считывания
	c.4423del	rs80359447	2	0,005	Сдвиг рамки считывания
	c.476-2A>T	-	1	0,003	Сайт сплайсинга
	c.5238dup	rs80359499	1	0,003	Нонсенс
	c.5240_5243del	-	1	0,003	Сдвиг рамки считывания
	c.5286T>G	rs80358754	2	0,005	Нонсенс
	c.5874T>A	-	1	0,003	Нонсенс
	c.658_659del	rs80359604	1	0,003	Сдвиг рамки считывания
	c.6591_6592del	rs80359605	3	0,008	Сдвиг рамки считывания
	c.771_775del	rs80359671	1	0,003	Сдвиг рамки считывания
	c.7758G>A	rs80359004	1	0,003	Нонсенс
	c.7879A>T	rs80359014	1	0,003	Миссенс
	c.8754+1G>A	rs397508006	1	0,003	Сайт сплайсинга
	c.8755-2A>G	rs1566252482	1	0,003	Сайт сплайсинга
	c.9097delA	rs397507419	1	0,003	Сдвиг рамки считывания
<i>BRIP1</i>	c.507G>A	rs876660937	1	0,003	Нонсенс
<i>CHEK2</i>	c.1137+1G>A	-	1	0,003	Сайт сплайсинга
	c.1497dup	-	1	0,003	Сдвиг рамки считывания
	c.444+1G>A	rs121908698	6	0,016	Сайт сплайсинга
<i>PALB2</i>	c.1240C>T	rs180177100	1	0,003	Нонсенс
	c.338del	rs1555461825	1	0,003	Сдвиг рамки считывания

Среди женщин с с ER+PR+HER2-PMЖ были русских – 339 образцов, татарок – 30 образцов и башкирок – 14 образцов.

Ранее подробно рассмотрены мутации с.5266dupC в гене *BRCA1* и с.444+1G>A в гене *CHEK2*, которые играют значимую роль в развитии рака молочной железы.

При анализе результатов с учетом этнического происхождения пациенток с ER+PR+HER2-PMЖ с выявленными патогенными вариантами в генах *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BARD1*, *CHEK2*, *BRIP1*, *PALB2* обнаружено, что делеция с.5266dupC в гене *BRCA1* обнаружена у 3,5% женщин русской этнической принадлежности и у 3,3% женщин татарской этнической принадлежности, что сопоставимо с другим исследованием нашего региона (Бермишева, 2021) (таблица 13).

Вариант с.4738G>A (p.Glu1580Lys) в гене *BRCA1*, также известный как с.4675G>A, в нашем исследовании выявлен единожды у пациентки русской этнической принадлежности (0,26%). Он был обнаружен у трёх женщин с наследственным раком молочной железы с помощью метода секвенирования нового поколения в работе Гордиева М. Г. с соавторами (Гордиев и др., 2018). Данный вариант зарегистрирован в популяционных базах данных с частотой 0,007% (gnomAD <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/37604/>). Это миссенс-изменение также наблюдалось у женщин с раком молочной железы и/или яичников в мировых популяциях (Wappenschmidt et al., 2012; Lyra et al., 2021) и показало сегрегацию с заболеванием у родственных индивидуумов. На основе многофакторного алгоритма вероятности, который включает генетические, *in silico* и статистические данные, было установлено, что этот вариант обладает высокой патогенностью (Parsons et al., 2019).

Мутация с.5136G>A (p.Trp1712Ter) в гене *BRCA1* приводит к появлению преждевременного стоп-кодона, что может вызвать усечение кодируемого белка или его отсутствие вследствие нонсенс-опосредованного распада мРНК. Вариант с.5136G>A описан в литературе у пациентов с наследственным PMЖ и РЯ (Rebbecket al., 2018). В популяционных базах данных частота его составляет 0,0009% (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/55410/>). Данных о

распространенности варианта в России не было найдено, однако в нашем регионе этот вариант был выявлен у одной женщины русской этнической принадлежности.

Две мутации в гене *BRCA1* – с.5503C>T (p.Arg1835Ter) и с.81-2A>T – оказывают значительное влияние на функцию белка, приводя к его нарушению или полной потере активности. Оба варианта ранее не были зарегистрированы в российской популяции. Согласно исследованиям, эти варианты были выявлены у пациентов с наследственным РМЖ/РЯ в популяциях стран Ближнего Востока, Северной Африки и Южной Европы, что указывает на их возможное географическое распределение и популяционную специфичность (Findlay et al., 2018; Laitman et al., 2019).

В гене *BRCA2* с наибольшей частотой выявлены варианты с.4423del (p.Met1475TrpfsTer4) и с.5286T>G (p.Tyr1762Ter) – 0,52%. Патогенный вариант с.4423del описан в литературе у женщин с наследственным РМЖ и РЯ (Sokolenko et al., 2020). Данное изменение последовательности создает сигнал преждевременной остановки трансляции в гене *BRCA2*, в связи с чем приводит к отсутствию белкового продукта.

Патогенный вариант *BRCA2**с.5286T>G приводит к отсутствию белкового продукта и не присутствует в популяционных базах данных. Данный вариант описан в литературе у женщин с наследственным РМЖ/РЯ и раком простаты (Willems et al., 2008; Rebbeck et al., 2018; Zheng et al., 2018).

Нами также были выявлены редкие патогенные варианты в гене *BRCA2*. Вариант с.476-2A>T представляет собой изменение, затрагивающее критический участок сплайсинга, что нарушает нормальный процесс созревания мРНК. В ходе анализа консенсусной нуклеотидной последовательности в области сайта сплайсинга для мутации с.476-2A>T в гене *BRCA2* было установлено, что данная мутация существенно ослабляет акцепторный сайт сплайсинга, что может привести к возникновению aberrантного сплайсинга. Согласно расчетам программы MaxEntScan (http://mit.edu/burgelab/maxent/Xmaxentscan_scoreseq_acc.html), референсный акцепторный сайт сплайсинга имеет энтропийное значение 7,08, что указывает на высокую эффективность его распознавания сплайсосомаой и

корректный процессинг мРНК. Однако мутация с.476-2A>T снижает энтропийное значение акцепторного сайта до 3,69, что указывает на резкое ослабление способности данного участка к сплайсингу. Результаты MaxEntScan показывают, что данное понижение балла фактически нивелирует работу референсного сайта. В этом случае поиск альтернативного 3'-сайта сплайсинга маловероятен, так как он не будет иметь силу, сопоставимую с исходным сайтом. Из-за значительного снижения энтропийного значения с 7,08 до 3,69, мутация с.476-2A>T, вероятно, приведет к пропуску экзона или включению части интрона, что вызовет аномальный процессинг мРНК и может привести к нонсенс-опосредованному распаду. Если дефектная мРНК избежит распада, возможен синтез укороченного или нефункционального белка BRCA2, что может иметь патогенные последствия. Вариант с.476-2A>T не был зарегистрирован в популяционных базах данных. Однако его патогенность подтверждается биоинформационными прогнозами и функциональными исследованиями, демонстрирующими его влияние на сплайсинг и потерю функции белка.

Следующий патогенный вариант с.5240_5243del(p.Arg1747LysfsTer3) в гене *BRCA2* приводит к сдвигу рамки считывания и образованию преждевременного стоп-кодона. Кроме того, согласно результатам анализа с использованием *in silico* программ, таких как MutationTaster, PolyPhen и SIFT, данный вариант вызывает потерю функции белка, что подтверждает его возможное влияние на риск развития онкологических заболеваний. Вариант с.5240_5243del не был зарегистрирован в крупных международных популяционных базах данных, таких как gnomAD, и отсутствуют исследования, описывающие его среди популяций России и других регионов мира. В нашем регионе этот вариант был обнаружен впервые, что подчеркивает его уникальность и потенциальное значение для исследования наследственного рака молочной железы в локальных популяциях.

Мутация со сдвигом рамки считывания с.6591_6592del в гене *BRCA2* выявлена у 0,6% женщин русской этнической принадлежности и у 7,1% женщин башкирской этнической принадлежности с гормонозависимым РМЖ. Эта мутация описана у одного пациента (0,1%) 45 лет с трижды негативным РМЖ из Танзании

(Rweyemamu et al., 2023) и у 9 (3,65%) женщин с трижды негативным РМЖ из Италии (Santonocito et al., 2020). Однако среди российских пациентов с РМЖ мутация с.6591_6592del не была описана, что указывает на ее неоднородное распределение среди этнических групп.

Делеция 5 нуклеотидов в 9 экзоне гена *BRCA2* с.771_775del(p.Asn257LysfsTer17) приводит к сдвигу рамки считывания создавая сигнал преждевременной остановки трансляции. Эта мутация обнаружена у 3,3% женщин татарской этнической принадлежности. Согласно данным литературы, данный вариант имеет «эффект основателя» в Исландии, на долю которого приходится 7-8% всех случаев рака молочной железы и яичников в стране (Mikaelsdottir et al., 2004). Анализ гаплотипов также указывает на наличие двух общих гаплотипов для этого варианта в финских семьях с раком молочной железы (Barkardottir et al., 2001). Этот вариант также наблюдался у лиц и семей с раком молочной железы и яичников в Австрии, Египте, Франции и Южной Корее (Bensam et al., 2014; Tea et al., 2014; Castéra et al., 2014). Потеря функции белка *BRCA2* является известным механизмом развития заболевания.

В гене *ATM* синонимичная мутация с.3576G>A(p.Lys1192=) не изменяет кодируемую аминокислоту в последовательности белка *ATM*. Синонимичные мутации в белок-кодирующих генах не изменяют последовательность белка. Считается, что эти мутации нейтральны или практически нейтральны. Предположение о нейтральности синонимичных мутаций широко используется в исследованиях. Однако анализ РНК показал, что этот вариант индуцирует измененный сплайсинг и приводит к укорочению белкового продукта. В базе данных gnomAD описана с частотой 0,004%, (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/3035>). Этот вариант наблюдался у лиц с атаксией-телеангиэктазией, ранним раком молочной железы и щитовидной железы (Prodosmo et al., 2016; Cirillo et al., 2022). Экспериментальные исследования показали, что данный вариант влияет на функцию белка *ATM* (Van et al., 2019). Варианты, нарушающие консенсусный сайт сплайсинга, являются относительно распространенной причиной aberrантного сплайсинга (Buratti et al., 2007).

Исследования показали, что этот вариант приводит к пропуску экзона 24, но сохраняет целостность рамки считывания (Renault et al., 2018).

Мутация сайта сплайсинга с.497-1G>T в гене *ATM* происходит в акцепторном участке интрона, что приводит к нарушению корректного вырезания интронов из пре-мРНК. В ходе анализа консенсусной нуклеотидной последовательности в области сайта сплайсинга гена *ATM* было установлено, что для варианта с.497-1G>T существует значительное нарушение работы акцепторного сайта сплайсинга, что приводит к возникновению аберрантного сплайсинга. Согласно предсказанию, референсный акцепторный сайт сплайсинга до мутации имел энтропийное значение 8,45 по шкале MaxEntScan (http://mit.edu/burgelab/maxent/Xmaxentscan_scoreseq_acc.html), что указывало на стабильное и высокое распознавание данного сайта сплайсингом. После мутации с.497-1G>T энтропийное значение падает до 2,35, что указывает на ослабление этого сайта и потерю его функции как акцепторного сплайсинга. Программа MaxEntScan не выявила формирования полноценного альтернативного сайта сплайсинга с подобной силой, что означает высокую вероятность пропуска ближайшего экзона или неэффективного соединения экзонов, что нарушает структуру мРНК. Таким образом, вариант с.497-1G>T в гене *ATM* значительно снижает способность данного участка быть акцепторным сайтом, создавая условия для аберрантного сплайсинга, что, вероятно, приведет к образованию аномальной мРНК.

Патогенный вариант с.7240C>T (p.Gln2414Ter) в гене *ATM* ранее не был описан у пациентов с РМЖ, в нашем исследовании он обнаружен среди женщин с гормонозависимым типом РМЖ. Это изменение не было описано среди женщин с атаксией-телеангиэктазией (Bindels-de Neus et al., 2020). Данный вариант был выявлен у одного пациента 81 года с протоковой аденокарциномой поджелудочной железы (Brand et al., 2018). Данный вариант вызывает потерю функции белка вследствие нонсенс-опосредованного распада мРНК.

Патогенный вариант с.1690C>T (p.Gln564Ter) в экзоне 8 гена *BARD1* представляет собой замену одного нуклеотида, что создаёт сигнал преждевременной остановки трансляции и приводит к образованию нефункционального белкового

продукта. Этот вариант был описан у 15 женщин с наследственным РМЖ/РЯ (Ramus et al., 2015; Ratajska et al., 2015; Susswein et al., 2016), а также у одного пациента с раком эндометрия (Ring et al., 2016). В крупном мета-анализе «случай-контроль» рака молочной железы данный вариант был обнаружен у 17 из 60 449 пациентов и у 6 из 53 455 человек в контрольной группе. У пациентов с мутацией был диагностирован трижды негативный РМЖ, семейная история отсутствовала (Dorling et al., 2021).

Ген *BARD1* (BRCA1 associated RING domain 1) кодирует одноименный белок, который образует гетеродимер с белком BRCA1. В составе гетеродимера BARD1 участвует в репарации ДНК, регуляции клеточного цикла, поддержании геномной стабильности.

Мутации гена *BARD1* ассоциированы с наследственным синдромом рака молочной железы и яичников. BARD1 взаимодействует с N-концевой областью белка BRCA1, образуя с ним гетеродимер (Baer et al., 2002). Взаимодействие BARD1-BRCA1 имеет важное значение для стабильности BRCA1. Гетеродимер координирует процесс репарации ДНК, участвует в поддержании геномной стабильности, играет центральную роль в регуляции клеточного цикла в ответ на повреждение ДНК, а также участвует в подавлении развития опухолей (Fabbro et al., 2004). Мутации гена *BARD1* нарушают взаимодействие BARD1 с BRCA1, в результате чего снижается способность гетеродимера BARD1-BRCA1 подавлять развитие опухолей (Ransburgh et al., 2010). ClinVar описывает 116 патогенных мутаций, связанных с этим видом рака. В целом, ClinVar описывает 2104 вариации гена *BARD1*, 205 из которых являются патогенными. Патогенные мутации представлены преимущественно делециями, однонуклеотидными заменами, дупликациями, инсерциями и мутациями сдвига рамки считывания.

В нашем исследовании у одной пациентки русской этнической принадлежности с гормонозависимым РМЖ выявлен синонимичный патогенный вариант с.507G>A (p.Gln169=) в кодирующей экзоне 4 гена *BRIP1*. Этот вариант наблюдался в 4/706 случаях рака яичников, 1/6341 случаев рака молочной железы и в 0/36687 контрольных случаях (Weber-Lassalle et al., 2018; Suszynska et al., 2020).

Этот вариант считается редким на основе популяционных когорт в базе данных gnomAD. Анализ сайта сплайсинга *in silico* предсказывает, что это данный патогенный вариант ослабит нативный донорный сайт сплайсинга.

В исследовании был выявлен патогенный вариант с.1047-2A>G в гене *CDK12* у женщины русской этнической принадлежности. Ген *CDK12* кодирует циклин-зависимую серин/треониновую киназу, которая играет ключевую роль в регуляции гомологичной рекомбинационной репарации ДНК (Dubbury et al., 2018). Нарушение функции *CDK12* ассоциировано с фенотипом тандемного дубликатора, который часто встречается при ряде онкологических заболеваний, таких как рак молочной железы, яичников, простаты, эндометрия и печени (Menghi et al., 2018; Quigley et al., 2018). Потеря функции белка *CDK12* подавляет экспрессию генов, ответственных за гомологичную рекомбинацию, вероятно, через нарушение полиаденилирования, что приводит к фенотипу "BRCAness", характерному для наследственных форм рака.

Исследование Бровкиной и соавторов показало, что мутация сплайсингового сайта с.1047-2A>G в гене *CDK12* с высокой частотой (7,6%) встречается среди пациенток с наследственным раком молочной железы и яичников татарской этнической принадлежности (Brovkina et al, 2018). Кроме того, в 2019 году в исследовании Богдановой Н.В. и коллег была подтверждена высокая распространенность данного варианта в популяциях татар и башкир (Bogdanova, 2019). Аналогичные результаты были получены М.А. Бермишевой, которая также отметила высокую частоту варианта с.1047-2A>G в гене *CDK12* у татар и башкир, проживающих на смежных территориях. Однако дальнейший анализ альтернативного сайта сплайсинга не выявил статистически значимой ассоциации этого варианта с повышенным риском развития рака молочной железы у женщин в нашем регионе. В связи с чем, данное исследование случай-контроль демонстрирует, что вариант с.1047-2A>G в гене *CDK12* не является клинически патогенной мутацией (Бермишева, 2021). Таким образом, эта мутация была исключена как патогенная из нашего дальнейшего анализа.

В гене *PALB2* были выявлены две герминальные мутации, каждая из которых обнаружена у 0,26% женщин. Один из этих вариантов, с.1240C>T (p.Arg414Ter)

ассоциируется с наследственным РМЖ/РЯ и раком поджелудочной железы (Janatova et al., 2013; Kanchi et al., 2014; Tung et al., 2015). В исследовании «случай-контроль» рака молочной железы, вариант с.1240C>T был обнаружен в 22 из 64 780 случаев заболевания и в 3 из 49 825 контрольных образцов (OR 5,89; 95% CI 1,76–19,74; p = 0,004) (Doerk et al., 2019). Данный вариант вызывает замену одного нуклеотида в экзоне 4 гена *PALB2*, что приводит к образованию преждевременного стоп-кодона и, соответственно, к отсутствию белкового продукта. В исследованиях, проведённых Бермишевой М.А. в Республике Башкортостан, данный патогенный вариант был выявлен у женщины с раком молочной железы в возрасте 73 лет, принадлежащей к русской этнической группе (Бермишева, 2021). В нашем исследовании мутация с.1240C>T обнаружена также у женщины 67 лет русской этнической принадлежности с отягощенным семейным анамнезом, мама – рак яичников, сестра – рак молочной железы.

Другой патогенный вариант, с.338del (p.Pro113GlnfsTer64), выявленный в гене *PALB2*, не зарегистрирован в популяционных базах данных, таких как gnomAD или ClinVar, что подчеркивает его редкость. Это делеционное изменение вызывает сдвиг рамки считывания, приводящий к образованию преждевременного стоп-кодона (p.Pro113GlnfsTer64), который прерывает процесс трансляции. Как следствие, формируется укороченный белковый продукт, что в свою очередь приводит к утрате функции белка *PALB2*. Белок *PALB2* играет критическую роль в механизмах гомологичной рекомбинации, участвуя в репарации двухцепочечных разрывов ДНК и взаимодействуя с белками *BRCA1* и *BRCA2*. Нарушения в функционировании этого белка приводят к повышенному риску развития злокачественных новообразований, включая рак молочной железы. Согласно литературным данным, вариант с.338del был ранее описан у женщин с люминальными А и В типами РМЖ из Италии и Чехии, имеющие ранний возраст манифестации заболевания (<55 лет) и положительной семейной историей РМЖ, что указывает на его потенциальную значимость в исследовании популяционных и этнических особенностей в различных регионах (Janatova et al., 2013; Antoniou et al., 2014).

Таким образом, изучение редких патогенных вариантов, их активности и частоты в различных популяциях имеет ключевое значение для понимания генетической предрасположенности к онкологическим заболеваниям. Выявление таких вариантов позволяет более точно прогнозировать риск развития заболеваний, а также разрабатывать персонализированные стратегии профилактики и лечения. Исследование редких мутаций, особенно в этнически специфичных популяциях, способствует улучшению диагностики наследственных форм рака и раскрытию новых механизмов патогенеза.

Таблица 13 - Сравнительный анализ распределения спектра и частот герминальных патогенных вариантов с учетом этнической принадлежности женщин с гормонозависимым типом рака молочной железы

Ген	Название мутации	Башкиры	Русские	Татары
<i>ATM</i>	c.3576G>A	0,071	0	0
	c.497-1G>T	0	0,003	0
	c.7240C>T	0	0,003	0
	c.8147T>C	0	0,003	0
<i>BARD1</i>	c.1690C>T	0	0,003	0
<i>BRCA1</i>	2080delA	0	0,003	0
	4154delA	0	0,003	0
	c.1612C>T	0	0,003	0
	c.181T>G	0	0,003	0
	c.4065_4068del	0	0,003	0
	c.4738G>A	0	0,003	0
	c.5136G>A	0	0,003	0
	c.5266dupC	0	0,035	0,033
	c.5404G>T	0	0,003	0
	c.5503C>T	0	0,003	0
c.81-2A>T	0	0,003	0	
<i>BRCA2</i>	c.1310_1313del	0	0,003	0
	c.2653_2656del	0	0,003	0
	c.3847_3848delGT	0	0,003	0

	c.4423del	0	0,006	0
	c.476-2A>T	0	0,003	0
	c.5238dup	0	0,003	0
	c.5240_5243del	0	0,003	0
	c.5286T>G	0	0,006	0
	c.5874T>A	0	0,003	0
	c.658_659del	0	0,003	0
	c.6591_6592del	0,071	0,006	0
	c.771_775del	0	0	0,033
	c.7758G>A	0	0,003	0
	c.7879A>T	0	0,003	0
	c.8754+1G>A	0	0,003	0
	c.8755-2A>G	0	0	0,033
	c.9097delA	0	0,003	0
<i>BRIP1</i>	c.507G>A	0	0,003	0
<i>CHEK2</i>	c.1137+1G>A	0	0,003	0
	c.1497dup	0	0,003	0
	c.444+1G>A	0	0,018	0
<i>PALB2</i>	c.1240C>T	0	0,003	0
	c.338del	0	0,003	0

В ходе нашего исследования, помимо выявленных герминальных патогенных вариантов, было обнаружено 24 варианта с неопределённым клиническим значением (VUS) в 26 образцах крови женщин с гормонозависимым раком молочной железы (6,78%). Это представляет значительный интерес для дальнейших исследований. Варианты с неопределённым клиническим значением были идентифицированы в таких *ATM*, *BRCA1*, *BARD1*, *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK2*, *FANCL*, *PALB2*, *RAD51B* и *RAD54L* (таблица 14).

Вариант c.1897A>C (p.Leu633Leu) в гене *BRIP1* выявлен у 0,78% женщин. Анализ данного миссенс-варианта с помощью программ SIFT, PolyPhen-2 и MutationTaster с вероятностью 80% не оказывает негативного влияния на функцию белка BRIP1. Данный вариант ранее не был опубликован как патогенный или доброкачественный, хотя он был обнаружен у пациента с раком желудка (Liu et al., 2014).

Другие варианты с неопределенным клиническим значением были выявлены у 0,26% женщин. Большинство этих вариантов описаны в популяционных базах данных и ассоциированы с наследственным РМЖ и РЯ.

Миссенс-вариант с.659C>T (p.Ala220Val), расположен в кодирующем экзоне 5 гена *ATM*. Частота носительства данного варианта, согласно литературным данным, составляет 0,00113 среди 7051 пациентки с раком молочной железы и 0,0014 среди 12490 мужчин из Японии (Momozawa et al., 2018). Также этот вариант был выявлен у пациента с ранним РМЖ в когорте 1781 евреев, протестированных на мутации в генах *BRCA1/2* на основании личного анамнеза заболевания (Tung et al., 2015.). Тем не менее, согласно анализу *in silico*, это изменение может не оказывать значимого влияния на структуру и функцию белка. Однако, учитывая ограниченность подтверждающих клинических данных, точное значение этого варианта в патогенезе заболеваний остается неопределённым.

В гене *BRCA2* вариант с.6281A>G(p.Tyr2094Cys) был впервые обнаружен у пациента с раком молочной железы в польской популяции (Kowalik et al., 2018). Также известно, что с.6281A>G встречается у носителей других популяций, включая когорты из России, где частота этого варианта была оценена в 0,00087 среди женщин с раком молочной железы (Walter et al., 2019). В исследовании на американской популяции европейского происхождения его частота составила 0,00053, что предполагает, что данный вариант является редким, но может быть значимым для отдельных этнических групп (Hodges et al., 2018). Анализ *in silico* прогнозирует потенциальную патогенность данного изменения на основании биохимических различий между тирозином и цистеином.

Миссенс-вариант с.2469G>T (p.Arg823Ser) в гене *BRIP1* приводит к замене аргинина, положительно заряженной аминокислоты, на серин, нейтральную и полярную аминокислоту, в кодоне 823 белка BRIP1. Аргинин является ключевой аминокислотой для образования ионных взаимодействий в белках, тогда как замена на серин может существенно изменить локальную структуру из-за потери заряда и изменённой способности к водородным связям. Это изменение, согласно вычислительным прогнозам, может оказать негативное влияние на структуру и

функцию белка, хотя функциональные исследования данного варианта до сих пор не проводились. Вариант был обнаружен у пациентов с раком молочной железы (Seal et al., 2006), раком поджелудочной железы (Shindo et al., 2017) и раком яичников (Collet et al., 2015). Также он был выявлен среди контрольной группы (Weber-Lassalle et al., 2018), что указывает на его наличие и в общей популяции. В базе данных gnomAD данный вариант идентифицирован в 12 из 249930 аллелей, включая 10 из 10054 аллелей евреев ашкенази. Дополнительно, этот вариант был зарегистрирован в европейской и латиноамериканской популяциях, хотя его частота остаётся крайне низкой, что подчеркивает его редкость и неопределённое клиническое значение (Mannini et al., 2013).

Вариант с.3235G>T (p.Ala1079Ser) в гене *PALB2* был описан в литературе у пациентов с раком молочной железы (Dorling et al., 2021) и острым миелоидным лейкозом (Beer et al., 2021), однако отсутствуют убедительные доказательства его причинной роли в развитии этих заболеваний. Также он был найден среди контрольных лиц без признаков заболевания (Dorling et al., 2021), что указывает на возможное отсутствие прямой связи с онкологическими патологиями. Дополнительно, этот вариант был зарегистрирован в когортах населения Восточной Европы, но частота его встречаемости была столь низкой, что сделать однозначные выводы о его патогенности затруднительно (Mannini et al., 2013). Согласно данным программ *in silico*, таких как SIFT, PolyPhen-2 и MutationTaster, данный вариант не является патогенным.

Другой миссенс-вариант с.226G>A (p.Ala76Thr) в гене *RAD51B* был обнаружен у пациентов с раком молочной железы в азиатской популяции (Chun et al., 2018), а также был зарегистрирован в небольшой доле контрольных лиц (Khalili et al., 2015). Кроме того, вариант с.226G>A был выявлен в латиноамериканской популяции, однако его частота была крайне низкой, что затрудняет точное определение его клинического значения (Kane et al., 2017). В совокупности, существующие данные недостаточны для однозначных выводов о патогенности данного варианта. Согласно анализу *in silico* данный вариант прогнозируется как доброкачественный.

Весь спектр и частоты герминальных вариантов с неопределенной клинической значимостью показан в таблице. Стоит отметить, что варианты с.1072A>G(p.Arg358Gly) в гене *CDK12*, с.670C>T(p.Arg224Cys) в гене *CHEK2* и с.332A>G(p.Tyr111Cys) в гене *FANCL* были выявлены в образцах крови женщин как с ТНPMЖ, так и с ER+PR+HER2-PMЖ.

Таблица 14 - Спектр и частоты герминальных вариантов изменений нуклеотидной последовательности с неопределенной клинической значимостью в генах *ATM*, *BRCA1*, *BARD1*, *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK2*, *FANCL*, *PALB2*, *RAD51B* и *RAD54L* у женщин с гормонозависимым раком молочной железы

Ген	Выявленные варианты	dbSNP	Абсолютное число	Частота	gnomAD	Эффект
<i>ATM</i>	с.3281A>G	rs1944236208	1	0,0026	0	Миссенс
	с.659C>T	rs145355104	1	0,0026	0.00005	Миссенс
	с.7446G>T	-	1	0,0026	0	Миссенс
	с.8495G>A	rs529296539	1	0,0026	0.00006	Миссенс
	с.8968G>A	rs1800558	1	0,0026	0.00004	Миссенс
<i>BARD1</i>	с.1544C>A	rs746878509	1	0,0026	0	Миссенс
<i>BRCA2</i>	с.6281A>G	rs397507838	1	0,0026	0.00001	Миссенс
	с.6542G>C	rs371067421	1	0,0026	0	Миссенс
<i>BRIP1</i>	с.1567A>G	-	1	0,0026	0	Миссенс
	с.1594A>G	rs876658383	1	0,0026	0.00001	Миссенс
	с.1897A>C	rs765314472	3	0,0078	0.0003	Миссенс
	с.2469G>T	rs587780239	1	0,0026	0.00003	Миссенс
<i>CDK12</i>	с.1072A>G	-	1	0,0026	0	Миссенс
	с.1471C>T	-	1	0,0026	0	Миссенс
	с.1742C>G	-	1	0,0026	0	Миссенс
	с.2941C>T	rs587780619	1	0,0026	0.00002	Миссенс
<i>CHEK2</i>	с.1082G>T	-	1	0,0026	0	Миссенс
	с.670C>T	rs137853010	1	0,0026	0.00006	Миссенс
<i>FANCL</i>	с.332A>G	rs757683704	1	0,0026	0.00001	Миссенс
<i>PALB2</i>	с.3235G>T	rs730881878	1	0,0026	0.00003	Миссенс
	с.677C>T	-	1	0,0026	0	Миссенс
<i>RAD51B</i>	с.226G>A	rs190059291	1	0,0026	0.00053	Миссенс
<i>RAD54L</i>	с.1537A>G	-	1	0,0026	0	Миссенс

	c.2062C>T	-	1	0,0026	0	Миссенс
--	-----------	---	---	--------	---	---------

Таким образом, в ходе нашего исследования образцов ДНК пациентов с ER+PR+HER2-PMЖ было идентифицировано 65 изменений нуклеотидной последовательности в 11 генах: *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BARD1*, *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK2*, *FANCL*, *PALB2*, *RAD51B*, *RAD54L* у 84/383 женщин. Варианты обнаружены в гене *BRCA2* – у 4,96% женщин, в гене *BRCA1* – 3,13%, в гене *ATM* – 2,35%, в генах *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK2* у 1,31% женщин, в гене *PALB2* – 1,04%, в генах *BARD1* и *RAD54L* у 0,52%, в гене *RAD51B* – 0,26%. Доля патогенных составила 10,7%, VUS – 6,3%.

Идентифицировано 39 мутаций у 59 женщин (15,4%) с ER+PR+HER2-PMЖ в генах *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BARD1*, *CHEK2*, *BRIP1*, *PALB2*, *CDK12*. С наибольшей частотой выявлена дупликация c.5266dupC в гене *BRCA1* – у 3,39% женщин. Следующим обнаружен патогенный вариант в гене *CHEK2* – c.444+1G>A у 1,57% женщин. В гене *BRCA2* вариант c.6591_6592del обнаружен у 0,78% женщин. В этом же гене варианты c.4423del и c.5286T>G выявлены у 0,52% женщин. Остальные патогенные варианты идентифицированы у 0,26% женщин (таблица 12).

Выявлены ранее не описанные варианты в генах *BRCA2* – c.476-2A>T, c.5240_5243del (p.Arg1747LysfsTer3), c.5874T>A (p.Cys1958Ter) и *CHEK2* – c.1137+1G>A, c.1497dup (p.Glu500ArgfsTer33), для которых анализ *in silico* прогнозирует высокую вероятность патогенности, что указывает на потенциальное влияние этих мутаций на процессы, связанные с развитием PMЖ.

В гене *ATM* и *BRIP1* выявлены синонимичные мутации c.3576G>A(p.Lys1192=) и c.507G>A (p.Gln169=) соответственно. Анализ сайта сплайсинга и результаты предсказательных программ показали, что данные мутации имеют клиническое значение в нашем исследовании.

Анализ результатов, учитывающий этническое происхождение пациенток с ER+PR+HER2-PMЖ, выявил, что у женщин русской этнической принадлежности патогенный вариант c.5266dupC в гене *BRCA1* был обнаружен у 3,5% женщин, а среди женщин татарского происхождения – в 3,3%. Вариант c.6591_6592del в гене

BRCA2 обнаружен среди женщин башкирской этнической принадлежности (7,1%) и у 0,6% женщин русской этнической принадлежности. Мутации *c.771_775del* и *c.8755-2A>G* выявлены у 3,3% женщин татарской этнической принадлежности. Остальные патогенные варианты обнаружены у женщин русской этнической принадлежности (таблица 13).

Также было обнаружено 24 варианта с неопределённым клиническим значением (VUS) у 6,78% женщин с ER+PR+HER2-PMЖ. Данные варианты с были идентифицированы в генах *ATM*, *BRCA1*, *BARD1*, *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK2*, *FANCL*, *PALB2*, *RAD51B* и *RAD54L*.

Изучение герминальных вариантов, уже описанных в литературе и ранее зарегистрированных в Республике Башкортостан, имеет важное значение для подтверждения их наличия в популяции данного региона и уточнения их клинической значимости. Эти данные позволяют сопоставить локальные результаты с мировыми исследованиями и углубить понимание влияния наследственных факторов на развитие гормонозависимого HER2-негативного рака молочной железы. Однако не менее важно фокусироваться на выявлении новых редких герминальных вариантов, которые могут быть специфичны для населения Башкортостана. Генетическая структура популяции может существенно отличаться в зависимости от региона, и редкие мутации, выявленные на местном уровне, могут играть критическую роль в предрасположенности к РМЖ, а также в разработке профилактических стратегий. Изучение новых вариантов особенно актуально для создания более точных программ скрининга и профилактики, направленных на группы высокого риска. Это поможет повысить точность генетического тестирования, улучшить раннюю диагностику и предложить персонализированные подходы к лечению. Таким образом, совмещение анализа известных мутаций с активным поиском новых редких герминальных вариантов представляет собой ключевой аспект исследования генетических факторов РМЖ в региональном контексте.

3.3 Сочетания мутаций в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *PTEN* и *TP53* в образцах ДНК опухолевой ткани пациентов с раком молочной железы

Для более точного определения риска развития РМЖ и выбора наиболее эффективного лечения актуально анализировать не только отдельные генетические варианты, но и их сочетания. Анализ каждого случая позволяет выявить взаимосвязи между генетическими особенностями, гистологической характеристикой опухоли и семейным анамнезом, что имеет важное значение для прогнозирования течения заболевания и разработки персонализированных подходов к лечению.

В результате анализа всех выявленных вариантов в образцах ДНК опухолевой ткани пациентов с РМЖ, было обнаружено 14 случаев сочетанных вариантов мутаций в генах-супрессорах *BRCA1*, *BRCA2*, *PTEN*, *CHEK2* и *TP53* (таблица 15). Сочетанные мутации в таких генах могут иметь существенное значение для формирования ракового фенотипа и определения прогноза заболевания. Например, мутация в гене-супрессоре *BRCA1* может привести к дальнейшему нарушению функции других генов или биологических путей, что усиливает онкогенный потенциал клеток и способствует развитию опухоли.

Так, у одной пациентки было обнаружены мутации в генах *BRCA2* (с.8023A>G) и *TP53*(с.659A>G). Пациентка 60 лет с установленным клиническим диагнозом злокачественное новообразование правой молочной железы (верхненаружного квадранта) II б стадии. По гистологическим данным имеет инфильтрирующую карциному неспецифицированного типа, умеренной степени злокачественности с тройным негативным РМЖ по ИГХ. Помимо этого, пациентка прошла гистерэктомию и имеет отягощенный семейный анамнез- обе бабушки с установленным диагнозом РМЖ. Исследования миссенс мутации в гене *TP53* (с.659A>G) демонстрирует сильное нарушение связывания и трансактивацию белка p53, а также ко-сегрегационно связан с заболеванием у пораженных членов, генотипированных в течение двух поколений (Lin et al., 2009). Другой миссенс вариант с.8023A>G в гене *BRCA2* расположен в потенциально критическом домене

белка и, как следствие, влияет на нормальный сплайсинг мРНК (Fraile-Bethencourt et al., 2017).

У другой пациентки было идентифицировано 3 различных варианта в генах *BRCA1*, *TP53* и *PTEN*. В гене *BRCA1* обнаружена мажорная мутация с.5266dupC, в гене *TP53* - с.796G>A, а в гене *PTEN* – с.733C>T. Пациентка 59 лет с установленным диагнозом злокачественное новообразование левой молочной железы (верхненаружного квадранта) стадии II a. Гистологически имеет инфильтрирующую карциному неспецифицированного типа низкой степени злокачественности и тройным негативным ИГХ. В 2008 году была проведена операция по удалению матки. Помимо этого, пациентка имеет отягощенный семейный анамнез – у матери РМЖ. Выявленные мутации являются повреждающими и ведут к потере функции белкового продукта.

У пациентки с установленным диагнозом злокачественное новообразование левой молочной железы (верхненаружного квадранта) IIa стадии было выявлено 2 патогенных варианта с.3847_3848delGT в гене *BRCA2* и с.329G>C в гене *TP53*. Делеция двух пар оснований из экзона 11 мРНК *BRCA2* (с.3847_3848delGT), вызывающая сдвиг рамки считывания, приводит к образованию усеченного нефункционального белка, встречается у членов семей с заболеваниями РМЖ и РЯ (Zhang et al., 2011). Гистологически данная пациентка имеет инфильтрирующую карциному неспецифицированного типа, умеренной степени злокачественности. В 2012 года пациентка прошла ампутацию матки, в 2014 году радикальную резекцию правой молочной железы. Помимо этого, имеет отягощенный семейный анамнез-РМЖ у матери и бабушки.

Следующая пациентка с установленным диагнозом злокачественное новообразование правой молочной железы (верхневнутреннего квадранта) идентифицирована с мутациями с.5453A>G и с.1918C>T в гене *BRCA2* и мутацию с.742C>T в гене *TP53*. Гистологически пациентка имела рецидивную инфильтрирующую карциному умеренной степени злокачественности. В 2018 году прошла резекцию молочной железы, после которой наблюдался рецидив

заболевания. Присутствует отягощенный семейный анамнез – у матери рак яичников.

У одной пациентки с установленным в 2020 году диагнозом злокачественное новообразование левой молочной железы (центральной части) на стадии обнаружены частые мутации в генах *BRCA1* (с.181T>G) и *CHEK2* (с.444+1G>T). Гистологически пациентка имеет инфильтрирующую карциному молочной железы неспецифического типа умеренной степени злокачественности, по данным ИГХ – ER+, PR+,HER2-. У бабушки и матери пациентки установленный диагноз РМЖ. Помимо этого, в 2023 году у пациентки появляется еще одно злокачественное новообразование молочной железы неуточненной части.

Пациентка 53 лет с медулярной карциномой умеренной степени злокачественности и семейную предрасположенность к РМЖ, так как её мать также болела данным заболеванием. У пациентки обнаружены мутации *TP53* (с.327_328dupC) и *BRCA1* (с.5266dupC). Известно, что мутация *BRCA1* (с.5266dupC) ассоциируется с высоким риском развития рака молочной железы и яичников, а наличие мутации в гене *TP53* дополнительно способствует нарушению регуляции клеточного цикла, что может усилить агрессивность опухоли, так как оба гена играют центральные роли в путях репарации повреждений ДНК и апоптозе. Ген *TP53* активирует путь p53, который контролирует клеточный цикл и индуцирует апоптоз в ответ на повреждения ДНК. Ген *BRCA1* участвует в гомологичной рекомбинации, способствуя точному восстановлению ДНК.

Другая пациентка в возрасте 63 лет имеет инфильтрирующую карциному неспецифицированного типа умеренной степени злокачественности. В семейном анамнезе также отмечен случай РМЖ у матери. У пациентки выявлены мутации *TP53* (с.659A>G) и *BRCA2* (с.475+1G>A). Комбинация этих мутаций может значительно повышать риск онкологических заболеваний из-за нарушений в механизмах репарации ДНК и контроля роста опухолей.

Пациентка 57 лет с инфильтрирующей карциномой высокой степени злокачественности имеет отягощенный семейный анамнез. У неё обнаружены мутации *TP53* (с.524G>A) и *BRCA2* (с.68_69delAG). Высокая степень

злокачественности указывает на агрессивность опухоли, что может быть связано с сочетанием данных мутаций, нарушающих репарацию ДНК и контроль клеточного цикла.

У пациентки 71 года с инфильтрирующей карциномой высокой степени злокачественности и семейной предрасположенностью (РМЖ у родственника первой степени родства) обнаружены мутации *TP53* (с.574C>T) и *BRCA2* (с.-39-1_-39del). Эта комбинация генетических изменений может способствовать быстрому прогрессированию заболевания и повышенному риску рецидивов за счёт нарушений в репарации ДНК и подавлении опухолевого роста.

Пациентка 59 лет с инфильтрирующей карциномой высокой степени злокачественности имеет отягощенный семейный анамнез – у бабушки РМЖ. Обнаруженные мутации *BRCA1* (с.3700_3704del), *BRCA2* (с.5073delA) и *BRCA2* (с.9097delA) свидетельствуют о высокой генетической предрасположенности к онкологическим заболеваниям. Наличие множественных мутаций в этих генах связано с нарушениями в механизмах восстановления ДНК и может усиливать агрессивный потенциал опухоли.

У другой пациентки 43 лет с инфильтрирующей карциномой умеренной степени злокачественности и семейным анамнезом (близкий родственник болел РМЖ) выявлены мутации *BRCA1* (с.5266dupC) и *TP53* (с.267del). Сочетание данных мутаций существенно повышает риск и вероятность агрессивного течения заболевания, поскольку обе мутации влияют на ключевые механизмы репарации и контроля клеточного цикла.

У пациентки 48 лет с инфильтрирующей карциномой умеренной степени злокачественности и семейной предрасположенностью к РМЖ обнаружены мутации *BRCA1* (с.5266dupC) и *TP53* (с.916C>T). Это сочетание генетических изменений также нарушают функции подавления опухолевого роста и восстановления повреждений ДНК, что связано с высоким риском рецидивов.

У пациентки 75 лет с инфильтрирующей карциномой высокой степени злокачественности и семейной историей (мать болела РМЖ) также выявлены сочетания в генах *BRCA2* (с.475+1G>A) и *TP53* (с.817C>T). Нарушение функций

этих белков подрывает клеточную целостность, что, в случае с высокой злокачественностью опухоли, способствует агрессивному течению.

Пациентка 56 лет с инфильтрирующей карциномой высокой степени злокачественности и семейной историей РМЖ у близкого родственника первой степени родства имеет мутации *TP53* (с.916С>Т) и *BRCA2* (с.8023А>G). Данная комбинация мутаций предполагает высокий риск развития агрессивной формы заболевания, что требует более тщательного мониторинга и персонализированных подходов к лечению.

Таким образом, представленные данные демонстрируют влияние различных сочетаний мутаций в генах *TP53*, *BRCA1*, *BRCA2* и *CHEK2* на клинические характеристики опухолей молочной железы, степень их злокачественности и семейный анамнез. Эти сочетания генетических изменений имеют ключевое значение для оценки прогноза заболевания и разработки индивидуализированных терапевтических стратегий, направленных на минимизацию риска рецидивов и агрессивного течения заболевания. Проведённое исследование продемонстрировало, что у пациенток с раком молочной железы чаще всего выявляются мутации в генах *BRCA2* и *TP53*, причём их сочетание значительно влияет на степень агрессивности и злокачественности опухолей. В свете полученных данных, дальнейшие исследования должны сосредоточиться на выявлении конкретных механизмов влияния мутаций *BRCA2* и *TP53* на патогенез рака молочной железы, а также на разработке целевых терапий, направленных на коррекцию или компенсацию дефектов в этих сигнальных путях. Наличие нескольких мутаций, особенно в генах-супрессорах опухолей или генах, связанных с репарацией ДНК, может синергически увеличить вероятность возникновения рака молочной железы. Это может быть связано с тем, что такие мутации могут нарушать различные механизмы контроля клеточной пролиферации, апоптоза и репарации ДНК, что в конечном итоге способствует развитию опухоли.

Таблица 15 - Клинические характеристики пациентов с раком молочной железы с сочетанными вариантами соматических мутаций в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *PTEN*, *CHEK2* и *TP53*.

№	Возраст	Стадия заболевания	Гистологический тип	ИГХ-статус	Анамнез заболевания	Семейный анамнез	Сочетание мутаций
1	53 года	ст. IIA	Медуллярная карцинома умеренной степени злокачественности	Тройной негативный	нет	мать-РМЖ	<i>TP53</i> (с.327_328dupC), <i>BRCA1</i> (с.5266dupC)
2	63 года	ст IA	Инфильтрирующая карцинома неспецифицированного типа, умеренной ст. злокачественности	Тройной негативный	2010г. Удаление полипов в цервикальном канале	мать-РМЖ	<i>TP53</i> (с.659A>G), <i>BRCA2</i> (с.475+1G>A)
3	57 лет	ст IIA	Инфильтрирующая карцинома неспецифицированного типа, высокой ст злокачественности	Тройной негативный	2017 г. Удаление молочной железы	1 степень родства РМЖ	<i>TP53</i> (с.524G>A), <i>BRCA2</i> (с.68_69delAG)
4	71 год	ст. IIB	Инфильтрирующая карцинома неспецифицированного типа, высокой ст злокачественности	Тройной негативный	2016г. Удаление матки	1 степень родства РМЖ	<i>TP53</i> (с.574C>T), <i>BRCA2</i> (с.-39-1_-39del)

5	59 лет	ст.ПА	Инфильтрирующая карцинома неспецифицированного типа низкой ст. злокачественности	Тройной негативный	2008 г. Удаление матки	мать- РМЖ	<i>BRCA1</i> (c.5266dupC), <i>TP53</i> (c.796G>A), <i>PTEN</i> (c.733C>T)
6	59 лет	ст.ІА	Инфильтрирующая карцинома неспецифицированного типа, высокой ст. злокачественности.	Тройной негативный	нет	1 степень родства РМЖ	<i>BRCA1</i> (c.3700_3704del), <i>BRCA2</i> (c.5073delA, c.9097delA)
7	60 лет	ст.ПА	Инфильтрирующая карцинома неспецифицированного типа, умеренной ст. злокачественности	Тройной негативный	2012г. Удаление матки, 2014 г. Удаление молочной железы.	1 степень родства РМЖ	<i>BRCA1</i> (c.3847_3848delGT), <i>TP53</i> (c.329G>C)
8	60 лет	ст. ПБ	Инфильтрирующая карцинома неспецифицированного типа, умеренной ст. злокачественности	Тройной негативный	2006г. Удаление матки	1 степень родства РМЖ	<i>TP53</i> (c.659A>G); <i>BRCA2</i> (c.8023A>G)
9	61 год	ст.ПА	Инфильтрирующая карцинома неспецифицированного типа, высокой ст злокачественности	Тройной негативный	2018г Удаление молочной железы	мать- РЯ	<i>BRCA2</i> (c.5453A>G, c.1918C>T), <i>TP53</i> (c.742C>T)

10	43 года	ст.ПА	Инфильтрирующая карцинома неспецифицированного типа, умеренной ст. злокачественности	Тройной негативный	2008г. Удаление молочной железы	1 степень родства РМЖ	<i>BRCA1</i> (c.5266dupC), <i>TP53</i> (c.267del)
11	48 лет	ст. ПБ	Инфильтрирующая карцинома неспецифицированного типа, умеренной ст. злокачественности	Тройной негативный	2020г. Удаление молочной железы	1 степень родства РМЖ	<i>BRCA1</i> (c.5266dupC), <i>TP53</i> (c.916C>T)
12	75 лет	ст. ПБ	Инфильтрирующая карцинома неспецифицированного типа, высокой ст злокачественности	Тройной негативный	2020г. Удаление молочной железы	мать- РМЖ	<i>BRCA2</i> (c.475+1G>A), <i>TP53</i> (c.817C>T)
13	56 лет	ст. ПА	Инфильтрирующая карцинома неспецифицированного типа, высокой ст злокачественности	Тройной негативный	2017г. Удаление молочной железы	1 степень родства РМЖ	<i>TP53</i> (c.916C>T), <i>BRCA2</i> (c.8023A>G)
14	50 лет	ст.ПА	Инфильтрирующая карцинома неспецифицированного типа, умеренной ст. злокачественности	ER+,PR+,HER2-	Отсроченная реконструкция молочной железы	1 степень родства РМЖ	<i>BRCA1</i> (c.181T>G), <i>CHEK2</i> (c.444+1G>T)

3.4 Поиск и идентификация вариантов изменения нуклеотидной последовательности у женщин с серозным типом рака яичников

Проведено исследование по идентификации спектра и частоты выявленных изменений у 336 женщин с серозным типом РЯ из Республики Башкортостан методом массового параллельного секвенирования. Молекулярное профилирование выполнено на 70 образцах, залитых в формалин и фиксированных в парафине тканей серозного рака яичников и 266 образцах цельной крови этого же типа рака яичников. По этнической принадлежности среди женщин, чьи исследования были проведены на образцах крови, были русские – 248, татарки – 2, башкирки – 2.

Анализировалась таргетная панель, включающая 17 генов: *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BARD1*, *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK1*, *CHEK2*, *FANCL*, *PALB2*, *RAD51B*, *RAD51C*, *RAD51D*, *RAD54L*, *PPP2R2A*, *PTEN*, *TP53*.

3.4.1 Идентификация вариантов изменения нуклеотидной последовательности в опухолевой ткани женщин с серозным раком яичников

В результате секвенирования ДНК 70 образцов опухолевых блоков женщин с серозным подтипом РЯ, нами было выявлено 57 изменений нуклеотидной последовательности в генах *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK2*, *FANCL*, *PTEN*, *TP53* у 48 женщин. Данные изменения включали миссенс/нонсенс мутации, мутации сайта сплайсинга и сдвига рамки считывания. Наибольшее количество вариантов было обнаружено в гене *TP53*- 21,43%. В гене *ATM* – 14,29%, *BRCA1* – 8,57%, *FANCL*- 2,86% (рисунок 12). В генах *BRCA2*, *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK2*, *PTEN*, *TP53* - 1,43%. Среди обнаруженных нами вариантов по результатам биоинформатической обработки данных и аннотирования мутаций с применением баз данных доля патогенных составила 47,14%, вероятно патогенных – 4,29%, доброкачественных – 2,86% и VUS – 28,57%.

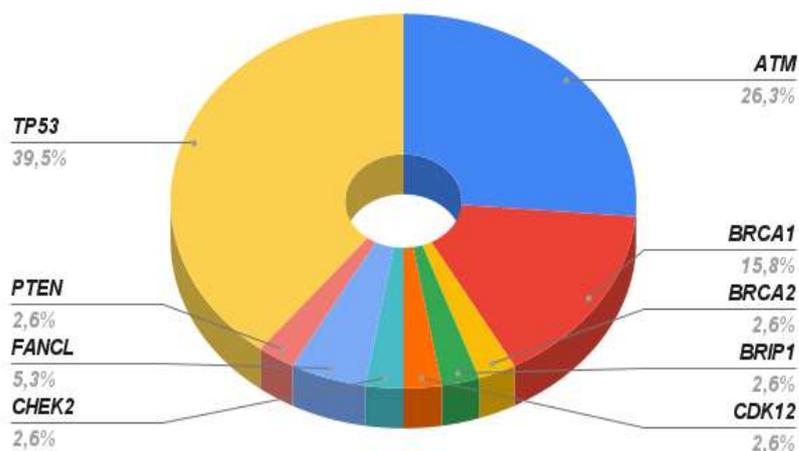


Рисунок 12 - Процентное соотношение выявленных изменений нуклеотидной последовательности в опухолевой ткани пациентов с серозным типом рака яичников

В ходе нашего исследования в опухолевой ткани серозного типа рака яичников было обнаружено 33 патогенных варианта и 2 вероятно патогенных варианта в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *PTEN*, *TP53* у 35 женщин (50%). Среди выявленных патогенных вариантов наибольшая частота была отмечена для варианта с.5266dupC в гене *BRCA1*, который встречался в 7,14% образцов опухолей. Мутации с.4035del (p.Glu1346LysfsTer20) в гене *BRCA1* и с.743G>A (p.Arg248Gln) в гене *TP53*, обнаружены в 4,29% образцов опухолей. Патогенные варианты в гене *BRCA1* – с.181T>G(p.Cys61Gly), с.5161C>T(p.Gln1721Ter), а также в гене *TP53* – с.711G>A(p.Met237Ile), с.825T>G(p.Cys275Trp) и с.844C>T(p.Arg282Trp) выявлены в 2,86% образцов опухолей. Остальные патогенные варианты идентифицированы в 1,43% образцов (таблица 16).

Таблица 16 - Спектр и частоты патогенных вариантов, идентифицированных в опухолевой ткани у женщин с серозным типом рака яичников

Ген	Название мутации	dbSNP	Абсолютное число	Частота	Эффект
<i>BRCA1</i>	с.1086_1087del	rs80357897	1	0,014	Сдвиг рамки считывания
	с.117T>G	rs886040898	1	0,014	Миссенс

	c.181T>G	rs28897672	2	0,029	Миссенс
	c.3143delG	rs886040100	1	0,014	Сдвиг рамки считывания
	c.3743_3752del	-	1	0,014	Сдвиг рамки считывания
	c.4035del	rs80357711	3	0,043	Сдвиг рамки считывания
	c.4810C>T	rs80357352	1	0,014	Нонсенс
	c.5161C>T	rs878854957	2	0,029	Нонсенс
	c.5266dupC	rs80357906	5	0,071	Сдвиг рамки считывания
	c.9463_9464insG	-	1	0,014	Сдвиг рамки считывания
<i>BRCA2</i>	c.2312T>G	rs587782095	1	0,014	Нонсенс
	c.2990T>G	rs397507649	1	0,014	Нонсенс
	c.51_52delAC	rs80359483	1	0,014	Сдвиг рамки считывания
	c.6373dup	rs80359577	1	0,014	Сдвиг рамки считывания
	c.8021delA	rs397507952	1	0,014	Сдвиг рамки считывания
	c.8754+1G>A	rs397508006	1	0,014	Сайт сплайсинга
<i>CHEK2</i>	c.470T>C	rs17879961	1	0,014	Миссенс
<i>PTEN</i>	c.274G>T	rs1554898067	1	0,014	Миссенс
<i>TP53</i>	c.128T>A	rs1555526777	1	0,014	Нонсенс
	c.173delC	rs2151042416	1	0,014	Сдвиг рамки считывания
	c.320dupA	-	1	0,014	Сдвиг рамки считывания
	c.375+2T>G	rs1555526469	1	0,014	Сайт сплайсинга
	c.452C>G	rs1057520000	1	0,014	Миссенс
	c.488A>G	rs148924904	1	0,014	Миссенс
	c.524G>A	rs28934578	1	0,014	Миссенс
	c.637C>T	rs397516436	1	0,014	Нонсенс
	c.711G>A	rs587782664	2	0,029	Миссенс
	c.712T>C	rs1057519981	1	0,014	Миссенс
	c.742C>T	rs121912651	1	0,014	Миссенс
	c.743G>A	rs11540652	3	0,043	Миссенс
	c.825T>G	rs1555525279	2	0,029	Миссенс

c.844C>T	rs28934574	2	0,029	Миссенс
c.919+1G>T	rs1131691039	1	0,014	Сайт сплайсинга

Вероятно патогенные варианты обнаружены в генах *BRCA1* - c.728delA (p.N243fsTer8) в 2,86% образцов опухолей и *TP53* – c.418A>G(p.T140A) в 1,43% образцов опухолей.

Соматические варианты генов *BRCA* выявляются в 6-8% случаев серозного РЯ высокой степени злокачественности и составляют не менее 20% случаев *BRCA*-ассоциированного рака яичника. Соматические мутации определяют характер и тактику лечения пациентов с РЯ (Talwar et al., 2022). Стоит отметить, что в нашем исследовании, наиболее частые выявленные мутации c.5266dup (p.Gln1756fs), c.4035del (p.Glu1346LysfsTer20) и c.181T>G (p.Cys61Gly) в гене *BRCA1* были также подтверждены в образцах крови этих же пациентов.

В гене *BRCA1* мутация со сдвигом рамки считывания c.1086_1087del (p.Asn363fs) обнаружена у одной женщины с серозным типом РЯ. Согласно данным литературы, данная мутация выявлена у пациентов с наследственным РМЖ и РЯ (Bellcross et al., 2022). В одном из исследований этот вариант был выявлен с частотой 1,6% у женщин с наследственным РМЖ и РЯ из Германии (Meisel et al., 2017).

Миссенс-мутация c.117T>G (p.Cys39Trp) в гене *BRCA1* нарушает аминокислотный остаток p.Cys39, один из восьми высококонсервативных остатков Cys/His в N-концевом RING-домене белка (Findlay et al., 2018). Этот вариант был описан у двух семей с наследственным РМЖ/РЯ из Франции (Lecarpentier et al., 2012). Кроме того, данный вариант включен в Лейденскую базу данных вариаций (LOVD), где был описан у пациентов с серозным типом РЯ.

Вариант c.3143delG расположенный в 9 экзоне гена *BRCA1*, вызывает трансляционный сдвиг рамки считывания, в результате чего формируется альтернативный стоп-кодон (p. G1048VfsTer14). Этот вариант был обнаружен у одного пациента с наследственным РМЖ/РЯ из Франции (Lecarpentier et al., 2012). В Республике Башкортостан данная мутация выявлена у одной женщины в образце

ДНК из цельной крови с помощью таргетного секвенирования пациентов с серозным типом РЯ (Валова, 2023).

Нонсенс-вариант с.4810C>T (p.Gln1604Ter) в гене *BRCA1* локализован в BRCT-домене (*BRCA1* C-terminus) белка *BRCA1*, который находится на его С-конце. Этот домен играет ключевую роль в связывании с другими белками, необходимыми для восстановления ДНК. Данная мутация была выявлена в семьях с высоким риском развития РМЖ/РЯ во Франции и Испании (Lecarpentier et al., 2012; Recalde et al., 2021).

В гене *BRCA1* обнаружены ранее не описанные патогенные варианты с.3743_3752del (p.Ala1248ValfsTer13) и с.9463_9464insG (p.Phe3155CysfsTer13), выявленные в 1,43% образцов опухолей. Пациенткой с мутацией с.3743_3752del является 45-летняя женщина с диагнозом серозного типа рака яичников, стадия III. В семейном анамнезе рак молочной железы у матери, выявленный в возрасте 50 лет, а также рак яичников у бабушки по материнской линии. Пациентка с мутацией с.9463_9464insG: 52-летняя женщина с серозным типом раком яичников, стадия II. В семейном анамнезе случаи рака яичников у тети по материнской линии, диагностированный в возрасте 48 лет.

В гене *BRCA2* были обнаружено шесть редких патогенных вариантов, влияющих на структуру белка. Например, вариант с.8754+1G>A затрагивает донорный сайт сплайсинга в интроне 21 гена *BRCA2*. Анализ РНК показал, что нарушение этого сайта сплайсинга приводит к изменению сплайсинга и может привести к отсутствию или нарушению белкового продукта. Данный вариант не присутствует в популяционных базах данных. Нарушение этого сайта сплайсинга наблюдалось у женщин с наследственным РМЖ/РЯ (Solano et al., 2016). По крайней мере у одного человека этот вариант был обнаружен *de novo*. Он часто встречается у лиц австрийского происхождения. Исследования показали, что нарушение этого сайта сплайсинга приводит к вставке интронной последовательности и вводит преждевременный терминирующий кодон (Janavičius et al., 2010).

Другой патогенный вариант с.51_52delAC (p.R18fsTer12) в гене *BRCA2* был обнаружен у более чем 10 человек с *BRCA2*-ассоциированным раком, включая 2

мужчин с раком молочной железы (Li et al., 2016). Функциональные исследования *in vitro* подтверждают влияние на функцию белка (Kuznetsov et al., 2008). Предполагается, что этот вариант вызывает сдвиг рамки считывания, который изменяет аминокислотную последовательность белка.

Миссенс-мутация с.470Т>С (p.Ile157Thr) в гене *CHEK2* расположена в Forkhead-associated (FHA) домене белка CHEK2. FHA-домен играет важную роль в распознавании фосфорилированных белков-субстратов и в передаче сигнала о повреждении ДНК, что делает его критически важным для клеточного ответа на повреждение генома (Voonen et al., 2022). Данный вариант зарегистрирован у 0,5% пациентов в базе данных gnomAD, и особенно распространен в финской европейской популяции (2,5%) (<http://gnomad.broadinstitute.org/variant/22-29121087-A-G>). В Республике Башкортостан уже была описана мутация с.470Т>С у ~5% женщин с РМЖ и РЯ в работе Бермишевой М.А. (Бермишева, 2021) и у одной женщины с РЯ в работе Валовой Я.В (Валова, 2023).

В нашем исследовании в образцах опухолевой ткани был выявлен широкий спектр патогенных вариантов в гене *TP53*. Среди них основную часть составили миссенс –мутации, нонсенс-мутации и мутации со сдвигом рамки считывания. Согласно литературным данным, *TP53* является геном, в котором чаще всего обнаруживаются соматические патогенные варианты. Белки, кодируемые геном *TP53* (p53), играют ключевую роль в регуляции контрольных точек клеточного цикла, старении, репарации ДНК, апоптозе и ответе на клеточный стресс. *TP53* – один из наиболее часто инактивируемых генов-супрессоров опухолей при различных онкологических заболеваниях (Blandino et al., 2018). Кроме того, многочисленные исследования показывают, что большинство патогенных вариантов в серозном типе рака яичников обнаруживаются именно в этом гене (Watanabe et al., 2021). Согласно данным исследовательской сети The Cancer Genome Atlas (TCGA), патогенные варианты в гене *TP53* выявляются в 96% опухолей серозного типа рака яичников высокой степени злокачественности (Cancer Genome Atlas Research Network, 2011). Эти данные подчеркивают важность *TP53* как ключевого гена в развитии и прогрессировании данного типа опухолей.

В ходе нашего исследования мутация с.711G>A (p.Met237Ile) в гене *TP53* обнаружена у двух женщин с серозным типом РЯ. Соматический патогенный вариант с.711G>A (p.Met237Ile) в гене *TP53* является мутацией, которая приводит к замене метионина на изолейцин в 237-м положении белка p53. Эта аминокислотная замена может значительно нарушать функциональную активность белка, что влияет на его способность выполнять свои основные функции в регуляции клеточного цикла, репарации ДНК, апоптозе и реакции на клеточный стресс. Мутация с.711G>A была описана в контексте своего онкогенного потенциала и выявлена у пациентов с серозным типом рака яичников и другими опухолями высокой степени злокачественности. Согласно данным The IARC TP53 Database и исследованиям Bouaoun et al. (2016), мутации в положении 237 гена *TP53* являются клинически значимыми и часто встречаются при онкологических заболеваниях, что подчеркивает важность контроля за этим вариантом при выборе терапевтических стратегий (Bouaoun et al., 2016).

У трех женщин в нашем исследовании мутация с.743G>A (p.Arg248Gln) в гене *TP53* является одной из наиболее распространённых. Этот вариант затрагивает одну из критически важных аминокислот в ДНК-связывающем домене белка p53, что существенно нарушает его способность связываться с ДНК и активировать транскрипцию генов, ответственных за контроль клеточного цикла и апоптоз. Данный вариант с.743G>A известен как «горячая точка» в гене *TP53*, что означает его частое возникновение в различных типах рака, включая рак легких, молочной железы, яичников и колоректальный рак (Wang et al., 2022). Нарушение функции белка p53 в результате этого варианта приводит к неконтролируемому росту клеток и развитию злокачественных опухолей. Данный вариант также ассоциируется с неблагоприятным прогнозом, поскольку потеря нормальной функции p53 снижает эффективность клеточных механизмов репарации ДНК и апоптоза. Согласно данным базы данных IARC TP53 Database и исследований группы Olivier et al. (2010), патогенный вариант с.743G>A является одним из самых часто встречающихся вариантов в опухолевых клетках и связан с агрессивным течением заболевания (Olivier et al., 2010).

Другой миссенс-вариант с.825Т>G (р.Cys275Trp) в гене *TP53* был обнаружен у двух женщин с серозным РЯ и представляет собой важную мутацию, которая приводит к замене в позиции ДНК-связывающего домена белка p53. Этот домен является критическим для выполнения функции p53 как опухолевого супрессора, регулирующего клеточный цикл, репарацию ДНК и апоптоз. Нарушение, вызванное мутацией с.825Т>G, приводит к потере нормальной функции белка p53, что способствует неконтролируемой пролиферации клеток и развитию опухолей. Данный вариант с.825Т>G ассоциируется с агрессивными формами различных видов рака, включая рак легких и молочной железы (Wang et al., 2022). В исследовании Vaugh et al. (2018) соматические патогенные варианты в гене *TP53*, включая с.825Т>G, были рассмотрены в контексте их частого появления в опухолях и влияния на прогноз заболевания. Было отмечено, что с.825Т>G встречается в более агрессивных формах опухолей и снижает чувствительность раковых клеток к химиотерапии, что делает лечение менее эффективным (Deshwal et al., 2018).

У двух других женщин в гене *TP53* обнаружена мутация с.844С>Т (р.Arg282Trp). Мутации в этой области существенно ослабляют способность p53 взаимодействовать с ДНК и регулировать процессы клеточного цикла и репарации ДНК. В исследовании, посвящённом выявленным патогенным вариантам в гене *TP53*, отмечается, что вариант с.844С>Т является одним из частых вариантов, приводящих к нарушению функции p53 и повышенному риску развития злокачественных опухолей (Zhang et al., 2010).

В нашем исследовании был обнаружен патогенный вариант с.274G>Т (р.Asp92Tyr) в гене *PTEN* у одной женщины с серозным типом РЯ. Этот вариант затрагивает функционально важную часть белка, которая вовлечена в регуляцию клеточного роста и пролиферации через ингибирование сигнального пути PI3K/АКТ. Мутация с.274G>Т находится в фосфатазном домене PTEN, который отвечает за его способность дезфосфорилировать липиды и тем самым ингибировать активность PI3K/АКТ. Изменение аспарагиновой кислоты на тирозин в данной позиции может нарушить структурную стабильность и функцию этого домена, что приводит к утрате опухолевого супрессорного эффекта PTEN. В одном из

исследований также подчеркивается значение патогенного варианта с.274G>T при РЯ (Amante et al., 2021).

Ген *PTEN* является геном-супрессором опухолевого роста. Он кодирует фермент липидную фосфатазу. Белок *PTEN* состоит из 403 аминокислотных остатков, содержит тензиноподобный домен, а также каталитический домен, аналогичный домену тирозинфосфатаз двойной специфичности (Li et al., 2017). Липидная фосфатаза подавляет формирование серин/треонинкиназы (участвует в опухолеобразовании), блокирует гиперактивацию фосфоинозитид-3-киназного пути (связан с развитием онкологических заболеваний). Таким образом, в норме ген *PTEN* помогает контролировать процессы пролиферации клеток и усиливать их апоптоз, блокируя неконтролируемое деление (Minami et al., 2014).

Соматические мутации в гене *PTEN* при серозном раке яичников менее распространены по сравнению с другими типами рака яичников, такими как эндометриоидный или светлоклеточный рак. Однако исследования показывают, что *PTEN* всё же играет роль в патогенезе серозного рака яичников, хотя и в меньшей степени. Соматические патогенные варианты и потеря функции гена *PTEN* обнаружены в нескольких исследованиях, связанных с серозным раком яичников. Например, работа The Cancer Genome Atlas (TCGA) выявила, что патогенные варианты в гене *PTEN* встречаются в 5-10% случаев серозного рака яичников. Эти мутации связаны с активацией сигнального пути PI3K/AKT, что может способствовать опухолевому росту и прогрессии (Cancer Genome Atlas Research Network, 2011). Исследование Testa с соавторами также подтверждает наличие соматических патогенных вариантов в гене *PTEN* при серозном раке яичников, хотя их частота и частота потерянной гетерозиготности ниже, чем в других подтипах рака яичников. Это исследование указывает на то, что нарушения в гене *PTEN* могут играть вспомогательную роль в патогенезе серозного рака яичников, часто в сочетании с другими вариантами в генах *BRCA1* и *BRCA2* (Testa et al., 2018).

Особый интерес представляет изучение вариантов с неопределенной клинической значимостью у пациенток с серозным типом РЯ. Так, в результате нашего исследования у 11 женщин в опухолевой ткани обнаружен интронный

вариант с.7806-14T>C в гене *BRCA2*. Данный вариант является спорным в отношении своего клинического значения. Он представляет собой мутацию в не кодирующей области гена, которая затрагивает интронное пространство и потенциально может влиять на сплайсинг мРНК.

У других 11 женщин был обнаружен вариант с неопределенным клиническим значением с.215C>G (p.Pro72Arg) в гене *TP53*. Этот вариант, который расположен в транскрипционном активаторе, что может влиять на функцию белка p53. В результате замены пролина на аргинин, возможно нарушение структурной целостности белка и его взаимодействия с ДНК, что может нарушать его опухолевый супрессорный эффект. Модели предсказания, такие как SIFT, PolyPhen-2 и MutationTaster, оценивают данный вариант как потенциально патогенный из-за изменения в консервативной аминокислотной позиции, которая может нарушать структуру и функцию белка. Эти инструменты предсказывают, что мутация может негативно сказываться на функциональной активности p53, потенциально приводя к повышенному риску развития рака яичников. В одном из обзоров рассматривались новые данные о вариантах в гене *TP53*, включая с.215C>G, и их влияние на функцию белка p53 и развитие рака. Обзор включал информацию о методах *in silico* предсказания патогенности и их применении для оценки VUS (Daghghi et al., 2020). Другое исследование также посвящено анализу выявленных вариантов в гене *TP53* в контексте рака яичников, включая вариант с.215C>G. В статье рассматриваются современные подходы к оценке функционального значения мутаций с неопределенным клиническим значением и их связь с клиническими характеристиками (Zhang et al., 2022).

В результате молекулярно-генетического исследования 70 образцов ДНК из опухолевых блоков у женщин с серозным типом РЯ нами выявлено 57 изменений нуклеотидной последовательности в генах *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK2*, *FANCL*, *PTEN*, *TP53* у 48 пациенток. Наибольший спектр изменений был идентифицирован в гене *TP53*- 21,43%. В гене *ATM* – 14,29%, *BRCA1* – 8,57%, *FANCL* – 2,86%. В генах *BRCA2*, *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK2*, *PTEN*, *TP53* - 1,43%. Доля

патогенных составила 47,14%, вероятно патогенных – 4,29%, доброкачественных – 2,86% и VUS – 28,57%.

В генах *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *PTEN* и *TP53* было обнаружено 33 патогенных и 2 вероятно патогенных варианта у 35 женщин (50%). Наибольшая частота среди патогенных вариантов отмечена для с.5266dupC в гене *BRCA1*, который был выявлен в 7,14% образцов опухолей. Мутации с.4035del (p.Glu1346LysfsTer20) в гене *BRCA1* и с.743G>A (p.Arg248Gln) в гене *TP53*, обнаружены в 4,29% образцов опухолей. В гене *BRCA1* – с.181T>G (p.Cys61Gly) и с.5161C>T (p.Gln1721Ter), а также в гене *TP53* – с.711G>A (p.Met237Ile), с.825T>G (p.Cys275Trp) и с.844C>T (p.Arg282Trp) выявлены в 2,86% образцов опухолей. Остальные патогенные варианты идентифицированы в 1,43% образцов опухолей.

Выявлены ранее не описанные патогенные варианты в гене *BRCA1*: с.3743_3752del (p.Ala1248ValfsTer13) и с.9463_9464insG (p.Phe3155CysfsTer13), а также в гене *TP53* – с.320dupA (p.Tyr107Ter).

В образцах ДНК опухолевой ткани был выявлен широкий спектр патогенных вариантов в гене *TP53*. Среди них основную часть составили миссенс – мутации, нонсенс-мутации и мутации со сдвигом рамки считывания. Наиболее частые из них: с.743G>A (p.Arg248Gln) – в 4,29% образцов опухолей, с.711G>A (p.Met237Ile), с.825T>G (p.Cys275Trp), с.844C>T (p.Arg282Trp) - в 2,86% образцов опухолей.

Обнаружены вероятно патогенные варианты в генах *BRCA1* – с.728delA (p.N243fs*8) в 2,86% образцов опухолей и *TP53* – с.418A>G (p.T140A) в 1,43% образцов опухолей.

Выявлен широкий спектр вариантов VUS в генах *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CDK12*, *FANCL*, и *TP53*. Наиболее частыми среди них оказались варианты с.7806-14T>C в гене *BRCA2* и 215C>G (p.Pro72Arg) в гене *TP53*, которые были обнаружены в 4,14% образцов опухолей. Также был выявлен вариант с.4837A>G (p.Ser1613Gly) в гене *BRCA1* – в 3,8% образцов опухолей.

В результате применения технологии NGS-секвенирования удалось выявить широкий спектр нуклеотидных изменений с различной клинической значимостью в

образцах ДНК опухолевых блоков пациенток с серозным типом рака яичников. Описаны частоты выявленных вариантов, среди которых преобладали патогенные, вероятно патогенные и варианты с неопределенной клинической значимостью. Многие из выявленных вариантов подтверждены в литературе, что подчеркивает их роль в патогенезе заболевания. Полученные данные имеют важное значение для разработки индивидуализированной стратегии лечения, позволяя учитывать генетический профиль опухоли каждой пациентки и повышать эффективность терапии.

3.4.2 Идентификация зародышевых мутаций в генах, ассоциированных с онкологическими заболеваниями, у женщин с серозным типом рака яичников

В образцах цельной крови женщин с серозным подтипом РЯ было выявлено 51 изменение нуклеотидной последовательности в 11 генах (*ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BARD1*, *BRIP1*, *CHEK2*, *FANCL*, *PALB2*, *RAD51C*, *RAD54L*, *PPP2R2A*) у 78/266 женщин. Выявленные варианты включали миссенс/нонсенс мутации, мутации сайта сплайсинга и сдвига рамки считывания. Наибольшее количество вариантов было обнаружено в гене *BRCA1* – 4,51%. В генах *BRCA2*- 3,76%, *ATM*- 2,63%, *CHEK2* - 2,26%, *BRIP1* – 1,88%, *RAD51C*- 1,5%, *FANCL*- 1,13%. В генах *PALB2*, *RAD54L*, *PPP2R2A* выявлено по 0,38% (рисунок 13). Доля патогенных вариантов составила 11%, VUS – 8,27%.

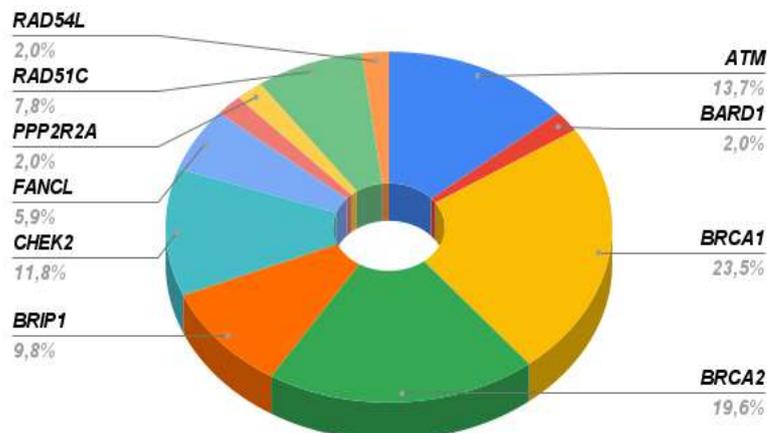


Рисунок 13 - Процентное соотношение выявленных герминальных вариантов изменения нуклеотидной последовательности у женщин с серозным типом рака яичников

Патогенные изменения были обнаружены у 59 (22,2%) пациенток русской этнической принадлежности в 7 генах: *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CHEK2*, *FANCL* и *RAD51C*. Наиболее часто встречающимся оказалась дупликация с.5266dupC в гене *BRCA1*, обнаруженная у 5,26% женщин. Вторым по частоте был патогенный вариант с.5286T>G (p.Tyr1762Ter) в гене *BRCA2* - у 1,5% женщин. Мутации с.3756_3759del (p.Ser1253ArgfsTer10), с.4035del (p.Glu1346LysfsTer20) в гене *BRCA1*, с.4423del(p.Met1475TrpfsTer4) и с.444+1G>A в гене *CHEK2* выявлены у 1,13% женщин. Остальные патогенные варианты обнаружены у 0,38% женщин (таблица 17).

Таблица 17 - Спектр и частоты герминальных патогенных вариантов, идентифицированных у женщин с серозным типом рака яичников

Ген	Название мутации	dbSNP	Абсолютное число	Частота	gnomAD	Эффект
<i>ATM</i>	с.6095G>A	rs139770721	1	0,004	0.00001	Миссенс
<i>BRCA1</i>	с.1687C>T	rs80356898	1	0,004	0.0000092	Нонсенс
	с.181T>G	rs28897672	2	0,008	0,000032	Миссенс
	с.1961del	rs80357522	1	0,004	0.0000068	Сдвиг рамки считывания
	с.3700_3704del	rs80357609	2	0,008	0,000004	Сдвиг рамки считывания
	с.3756_3759del	rs80357868	3	0,011	0.000014	Сдвиг рамки считывания
	с.4035del	rs80357711	3	0,011	0,0005	Сдвиг рамки считывания
	с.4738G>A	rs80356988	1	0,004	0.00001	Миссенс
	с.4689C>G	rs80357433	1	0,004	0.00001	Нонсенс
	с.493_494del	rs750440690	1	0,004	0.0000099	Сдвиг рамки считывания
	с.5208C>G	rs2051525820	1	0,004	0,00001	Миссенс

	c.5266dup	rs80357906	14	0,053	0,0004	Сдвиг рамки считывания
	c.844_850dup	rs80357989	1	0,004	0.0000013	Сдвиг рамки считывания
<i>BRCA2</i>	c.3847_3848del	rs80359405	2	0,008	0.000040	Сдвиг рамки считывания
	c.4423del	rs80359447	3	0,011	0,0000	Сдвиг рамки считывания
	c.5279C>G	rs80358751	2	0,008	0.0000041	Нонсенс
	c.5286T>G	rs80358754	4	0,015	0.00001	Нонсенс
	c.6469C>T	rs397507859	1	0,004	0.0000016	Нонсенс
	c.6494del	rs276174874	1	0,004	0,0000	Сдвиг рамки считывания
	c.6952C>T	rs80358920	1	0,004	0.00001	Нонсенс
	c.6998dup	rs754611265	1	0,004	0.00001	Сдвиг рамки считывания
	c.7279_7283del	rs1555286065	1	0,004	0,0000	Сдвиг рамки считывания
<i>BRIP1</i>	c.507G>A	rs876660937	2	0,008	0.0000065	Миссенс
<i>CHEK2</i>	c.1465G>T	rs1420382294	1	0,004	0.00000	Нонсенс
	c.1298A>C	rs200928781	1	0,004	0.00002	Миссенс
	c.444+1G>A	rs121908698	3	0,011	0.000090	Сайт сплайсинга
<i>FANCL</i>	c.1092G>A	rs577063114	1	0,004	0.00002	Миссенс
<i>RAD51C</i>	c.502A>T	rs587781490	2	0,008	0.0000027	Нонсенс
	c.706-2A>G	rs587780259	1	0,004	0.00002	Переключен ие акцепторног о сайта сплайсинга

Согласно результатам ряда российских исследований, наиболее часто встречающимися патогенными вариантами в генах *BRCA1/2* при РМЖ и РЯ на территории Российской Федерации являются c.5266dupC, c.181T>G, c.68_69delAG, c.4035delA, c.1961delA и c.3700_3704delGTAAA. Эти варианты охватывают до 70-90% всего спектра выявленных мутаций в данных генах (Бровкина и др., 2017; Бермишева и др., 2018; Sokolenko et al., 2020; Фаисханова, 2021; Валова, 2023).

Однако, учитывая многообразный этнический состав населения Российской Федерации, спектр и частота патогенных вариантов в генах *BRCA1* и *BRCA2* варьируются в зависимости от региона (Валова, 2023; Бермишева и др., 2018).

Наши данные подтверждают результаты предыдущих исследований, однако в нашем исследовании спектр патогенных вариантов в этих генах оказался шире, что свидетельствует о выявлении дополнительных герминальных вариантов, характерных для Республики Башкортостан.

В гене *BRCA1* с высокой частотой была обнаружена мутация с.3756_3759del (p.Ser1253ArgfsTer10) у трех пациенток русской этнической принадлежности. Этот вариант создает сдвиг рамки считывания и сигнал преждевременной остановки трансляции, что приводит к потере функции белка. Данный вариант был описан как французская мутация основателя и представлен как распространенная причина наследственного рака молочной железы и яичников во француско-канадской популяции (Janavičius et al., 2010). Помимо этого, в исследовании Yanus с соавт, данный вариант был обнаружен с частотой 1,8% у пациенток с РЯ в российской популяции (Yanus et al., 2024).

В ходе исследования у четырёх женщин русской этнической принадлежности был выявлен патогенный вариант с.5286T>G (p.Tyr1762Ter) в гене *BRCA2*, который приводит к образованию преждевременного сигнала остановки трансляции, что нарушение вызывает дефект синтеза белка. Исследование Yanus и его коллег показало, что данный патогенный вариант был обнаружен у 17 из 238 (7,1%) носителей *BRCA2* в российской популяции, и они предположили, что мутация возникла около 700 лет назад как новая мутация-основатель (Yanus et al., 2024). Yanus с коллегами также обнаружили, что этот вариант был идентифицирован у 7 из 15 (46,7%) носителей *BRCA2*, проживающих в Архангельской области, в то время как в других регионах России его частота составляла лишь 2,3% (13/574). Интересно, что двое из шести носителей из других регионов указали, что один из их родителей происходил из Архангельска, что подтверждает гипотезу о мутации-основателе на Севере России (Yanus et al., 2024).

Анализ семейного анамнеза пациенток в нашем исследовании показал удивительное совпадение: 3 из 4 пациенток с данным вариантом происходят из Архангельской области, но с раннего возраста проживают в Республике Башкортостан. Это подчёркивает важность генетической миграции и влияние региональных мутаций-основателей на различные популяции.

Мутация c.4423del (p.Met1475TrpfsTer4) в гене *BRCA2*, которая вызывает сдвиг рамки считывания и преждевременную остановку трансляции, приводящую к потере функции белка, был выявлен у трёх пациенток русской этнической принадлежности. Насколько нам известно, данный вариант отсутствует в популяционных базах данных, таких как gnomAD. Данный вариант был обнаружен у пациентов с РМЖ и РЯ в российской популяции (Sokolenko et al., 2020), однако в Республике Башкортостан ранее не изучался.

Патогенные варианты c.3847_3848del (p.Val1283LysfsTer2) и c.5279C>G (p.Ser1760Ter) в этом же гене были выявлены у двух женщин русской этнической принадлежности. Вариант c.3847_3848del, приводящий сдвигу рамки считывания и преждевременной терминации белка, встречается с частотой 0,0098 % у пациентов с РМЖ и РЯ скандинавского происхождения (Janavičius et al., 2010; Hu et al., 2024). Вариант c.5279C>G создает преждевременный сигнал остановки трансляции (p.Ser1760Ter) в гене *BRCA2*, что приводит к отсутствию белкового продукта. Этот вариант не присутствует в популяционных базах данных gnomAD, однако был найден в исследованиях пациентов с наследственным РМЖ и РЯ в южноафриканских популяциях (Combrink et al., 2021).

В гене *ATM* у одной женщины русской этнической принадлежности обнаружена миссенс-мутация c.6095G>A (p.Arg2032Lys). Этот вариант был описан как мутация-основатель в польской популяции у пациентов с атаксией-телеангиэктазией (Mitui et al., 2005). Также эта мутация была идентифицирована у пациентов с фокальной дистонией из Венгрии (Salamon et al., 2023). Вариант c.6095G>A также был описан у пациентов с раком молочной железы из Польши, у лиц, страдающих раком молочной железы, раком простаты и раком поджелудочной железы (Podralska et al., 2018; Roberts et al., 2012; Huang et al., 2015). При этом, на

данный момент, нет исследований, где данная мутация встречается у пациентов с РЯ. Эта замена происходит в домене FAT. Домен FAT является ключевым для регуляции активности белка ATM, поскольку он участвует во взаимодействии с другими белковыми доменами, включая киназный домен и домен FATC, которые вместе обеспечивают фосфорилирование белка ATM и его способность к запуску процессов репарации ДНК при наличии повреждений.

В гене *CHEK2* обнаружена мутация с.1465G>T (p.Glu489Ter) у женщины русской этнической принадлежности. Данный вариант был выявлен у 1,8% пациентов с наследственным РМЖ и РЯ из северного и центрального региона Польши (Ваґ et al., 2014). Эта нонсенс-мутация находится в киназном домене белка *CHEK2*. Киназный домен критически важен для фосфорилирования субстратов, участвующих в репарации ДНК и контроле клеточного цикла. Преждевременный стоп-кодон на позиции 489 нарушает этот домен, и, как следствие, функция *CHEK2* как регулятора клеточного ответа на повреждение ДНК значительно нарушается, что может способствовать канцерогенезу.

В этом же гене у одной пациентки выявлена миссенс-мутация с.1298A>C (p.Tyr390Ser), которая находится в киназном домене. Данный вариант также выявлен с помощью массового параллельного секвенирования у пациентов с наследственным РМЖ и РЯ из Португалии (Pinto et al., 2016).

У двух пациенток русской этнической принадлежности был обнаружен синонимичный вариант с.507G>A (p.Gln169=) в гене *BRIP1*, локализованный в кодирующем экзоне 4. Вариант с.507G>A был зарегистрирован в 4 из 706 случаев рака яичников, 1 из 6341 случаев рака молочной железы и не был найден в 36687 контрольных случаях (Weber-Lassalle et al., 2018; Suszynska et al., 2020). Согласно последним данным, этот вариант также был зафиксирован в популяциях Финляндии и Польши. Эти недавние исследования подчеркивают важность изучения этого синонимичного варианта и его влияния на канцерогенез, особенно среди носителей в разных этнических группах, включая славянские популяции (Bufman et al., 2024).

В гене *RAD51C* выявлен патогенный вариант с.502A>T (p.Arg168Ter) у двух женщин русской этнической принадлежности. Этот вариант зарегистрирован в

популяционных базах данных и создает преждевременный стоп-кодон, что приводит к раннему завершению трансляции белка. В результате данного изменения предсказывается отсутствие белкового продукта, что потенциально связано с нарушениями репарации ДНК, в которой участвует белок RAD51C.

Нами был проанализирован спектр вариантов с неопределенным клиническим значением, которые встречались в крови пациенток с серозным типом РЯ. Большая часть таких вариантов сосредоточена в генах *ATM*, *BRIP1*, *CHEK2* и *PPP2R2A*. С наибольшей частотой выявлен вариант в гене *PPP2R2A* – у 1,13% женщин, следующие по частоте варианты с.133G>A (p.Glu45Lys) и с.143C>A (p.Thr48Lys) в гене *BRIP1* – у 0,75% женщин. Остальные варианты с неопределенным клиническим значением встретились единожды у 0,38% женщин.

Ген *PPP2R2A* кодирует регуляторную субъединицу протеинфосфатазы 2A, фермента, участвующего в регуляции клеточного цикла, роста и апоптоза. Вариант с.1196G>A (p.Arg399His) был нами обнаружен у троих пациенток русской этнической принадлежности. На данный момент недостаточно данных о том, каким образом данный вариант влияет на функцию белка PPP2R2A. Тем не менее, замена полярной аминокислоты аргинин на менее полярную гистидин в функционально значимой области белка может иметь потенциальные последствия для его структуры или взаимодействий с другими молекулами. Продукт этого гена принадлежит к семейству регуляторной субъединицы В фосфатазы 2. Протеиновая фосфатаза 2 является одной из четырех основных фосфатаз Ser/Thr и участвует в отрицательном контроле роста и деления клеток. Она состоит из общего гетеромерного основного фермента, который состоит из каталитической субъединицы и постоянной регуляторной субъединицы, которая ассоциируется с различными регуляторными субъединицами. Регуляторная субъединица В может модулировать селективность субстрата и каталитическую активность. Этот ген кодирует альфа-изоформу регуляторной субъединицы семейства B55 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5520>).

В гене *BRIP1* были выявлены два варианта с неопределенной клинической значимостью у двух пациентов русской этнической принадлежности: с.133G>A (p.Glu45Lys) и с.143C>A (p.Thr48Lys). Миссенс-вариант с.133G>A может влиять на

заряд и пространственную структуру белка, что потенциально может нарушать его взаимодействия с другими молекулами и негативно отражаться на его функции. Этот вариант зарегистрирован в популяционных базах данных, таких как gnomAD, с частотой 0,007%, что указывает на его редкость. Программы SIFT, PolyPhen-2 и Align-GVGD, предполагают, что этот вариант может быть патогенным.

Другой вариант, с.143C>A (p.Thr48Lys), расположен в кодирующем экзоне 2 гена *BRIP1* и вызывает замену треонина на лизин в кодоне 48. Оба этих аминокислотных остатка обладают схожими полярными свойствами, но их замена может оказывать влияние на локальные структурные характеристики белка. Вариант также был оценен с использованием *in silico* методов, которые указывают на возможное негативное воздействие на функцию белка, однако экспериментальные данные по его клиническому значению отсутствуют (Richards et al., 2015).

Таким образом, нами идентифицировано 51 изменение нуклеотидной последовательности, включающие миссенс/нонсенс мутации, мутации сайта сплайсинга и сдвига рамки считывания, в генах *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BARD1*, *BRIP1*, *CHEK2*, *FANCL*, *PALB2*, *RAD51C*, *RAD54L*, *PPP2R2A*) у 78/266 женщин. Наибольшее количество вариантов было обнаружено в гене *BRCA1* – 4,51%. В генах *BRCA2*- 3,76%, *ATM*- 2,63%, *CHEK2* -2,26%, *BRIP1* – 1,88%, *RAD51C*- 1,5%, *FANCL*- 1,13%. В остальных генах выявлено по 0,38%. Все выявленные варианты оказались либо патогенными- 29(11%), либо VUS - 22 (8,27%).

Патогенные изменения были обнаружены у 59 (22,2%) пациенток русской этнической принадлежности в генах: *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CHEK2*, *FANCL* и *RAD51C*. Наиболее часто встречающаяся мутация - с.5266dupC в гене *BRCA1* у 5,26% женщин. Мутация с.5286T>G в гене *BRCA2* - у 1,5% женщин. Патогенные варианты с.3756_3759del, с.4035del в гене *BRCA1*, с.4423del и вариант с.444+1G>A в гене *CHEK2* выявлены у 1,13% женщин.

Варианты с неопределенным клиническим значением сосредоточены в генах *ATM*, *BRIP1*, *CHEK2* и *PPP2R2A*. С наибольшей частотой выявлен вариант с.1196G>A в гене *PPP2R2A* – у 1,13% женщин, следующие по частоте варианты с.133G>A и с.143C>A в гене *BRIP1*- у 0,75% женщин.

Наши исследования подтверждают результаты предыдущих работ, однако, выявленный в нашей работе спектр патогенных вариантов в исследуемых генах оказался шире. Это расширяет существующие знания о генетическом портрете мутаций в Республике Башкортостан среди женщин с серозным подтипом рака яичников, что может способствовать улучшению диагностики и персонализированного подхода к лечению данного заболевания в этом регионе. Кроме того, полученные данные подчеркивают важность генетического тестирования членов семей пациентов для своевременной профилактики и раннего выявления заболеваний у носителей патогенных вариантов.

3.5 Оценка герминального происхождения мутаций, выявленных при профилировании опухолевой ткани у женщин с раком молочной железы и раком яичников

В ходе проведенного исследования была осуществлена детальная оценка носительства мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* у пациенток с различными подтипами рака молочной железы РМЖ и серозным подтипом рака яичников РЯ. Для этого были проанализированы парные образцы тканей и крови от одной и той же пациентки, что позволило определить герминальное (наследственное) происхождение выявленных мутаций.

В исследование вошли 45 парных образцов от пациенток с РМЖ, среди которых 37 образцов принадлежали к трижды-негативному подтипу, а 8 – к гормонозависимому. Также были включены 33 парных образца от женщин с серозным подтипом РЯ. В общей сложности исследовано 79 парных образцов. Выявленные патогенные варианты в опухолевой ткани мы анализировали в образцах крови методом ПЦР.

Анализ показал, что при ТНРМЖ и ER+PR+HER2-РМЖ в гене *BRCA1* как в опухолевой ткани, так и в цельной крови подтвердились патогенные варианты с.5266dupC(p.Gln1756fsTer74), с.181T>G (p.Cys61Gly) и с.3700_3704del (p.V1234fs).

Таким образом, при исследовании трижды негативного РМЖ у 56% женщин были выявлены три типа мутаций в гене *BRCA1*: с.5266dup (p.Gln1756fs) у 11 из 12 женщин, с.181T>G (p.Cys61Gly) у двух пациенток и с.3700_3704del (p.V1234fs) у одной пациентки. В гене *BRCA2* мутации герминального происхождения у этих женщин не были обнаружены.

В группе женщин с гормонозависимым РМЖ в 80% образцов крови выявлены три мутации в гене *BRCA1*: с.5266dupC (p.Gln1756fs*74), с.181T>G (p.Cys61Gly) и с.3700_3704del (p.V1234fs) у четырех из пяти женщин. В гене *BRCA2* была выявлена одна мутация герминального происхождения – с.8478C>A (p.Tyr2826Ter) – в 33% образцов, то есть у одной из женщин (таблица 18).

Таблица 18 - Анализ наследственного происхождения мутаций, обнаруженных при профилировании опухолевой ткани у женщин с раком молочной железы

ТИП	Ген	Мутация	Блок/ N	Блок частот а	Кровь/ N	Кровь частот а
ТНРМЖ	<i>BRCA1</i>	с.5266dupC	12	0,48	11	0,44
		с.181T>G	2	0,08	2	0,08
		с.3700_3704del	1	0,04	1	0,04
		с.4837A>G	1	0,04	0	0
		с.3779T>G	1	0,04	0	0
		с.2859T>C	1	0,04	0	0
		с.1918C>T	1	0,04	0	0
		с.5395+1G>A	1	0,04	0	0
		с.68_69delAG	1	0,04	0	0
		с.240T>C	1	0,04	0	0
		с.5453A>G	1	0,04	0	0
		с.4837A>G	1	0,04	0	0
		с.1291_1295delTT AC	1	0,04	0	0
		Всего	25	100%	14	56%
	<i>BRCA2</i>	с.8023A>G	1	0,08	0	0
		с.-39-1_-39del	1	0,08	0	0
		с.5156A>T	1	0,08	0	0
с.7806-14T>C		3	0,23	0	0	

		c.5183A>G	1	0,08	0	0
		c.7806-14T>C	1	0,08	0	0
		c.3847_3848delGT	1	0,08	0	0
		c.1287delA	1	0,08	0	0
		c.8187G>T	1	0,08	0	0
		c.475+1G>A	1	0,08	0	0
		c.5073delA	1	0,08	0	0
		Всего	13	100%	0	0
ER+PR+,HER 2-PMЖ	BRCA1	c.5266dupC	2	0,4	2	0,4
		c.181T>G	1	0,2	1	0,2
		c.3700_3704del	1	0,2	1	0,2
		c.3466G>A	1	0,2	0	0
		Всего	5	100%	4	80%
	BRCA2	c.8478C>A	1	0,33	1	0,33
		c.7806-14T>C	1	0,33	0	0
		c.5073delA	1	0,33	0	0
		Всего	3	100%	1	33,30%

При анализе серозного типа РЯ в 39% образцов крови выявлено три типа мутаций в гене *BRCA1*: c.5266dup (p.Gln1756fs) у пяти женщин, c.4035del (p.Glu1346LysfsTer20) у двух из трех женщин, и c.181T>G (p.Cys61Gly) у двух женщин. Мутации герминального происхождения в гене *BRCA2* при этом обнаружены не были (таблица 19).

Таблица 19 - Оценка наследственного статуса мутаций, обнаруженных в опухолевой ткани у женщин с раком яичников

ТИП	Ген	Мутация	Блок/Н	Блок частота	Кровь/Н	Кровь частота
Серозный	<i>BRCA1</i>	c.5266dup	5	0,217	5	0,217
		c.4035del	3	0,130	2	0,087
		c.181T>G	2	0,087	2	0,087
		c.5161C>T	2	0,087	0	0
		c.4837A>G	3	0,130	0	0
		c.4810C>T	1	0,043	0	0
		c.3955G>A	1	0,043	0	0
		c.1225G>C	1	0,043	0	0
		c.3743_3752del	1	0,043	0	0
		c.117T>G	1	0,043	0	0
		c.3143delG	1	0,043	0	0

		c.1086_1087del	1	0,043	0	0	
		c.2612C>T	1	0,043	0	0	
		Всего	23	1,000	9	39%	
	<i>BRCA2</i>		c.7806-14T>C	1	0,1	0	0
			c.4104A>C	1	0,1	0	0
			c.9463_9464insG	1	0,1	0	0
			c.8021delA	1	0,1	0	0
			c.2990T>G	1	0,1	0	0
			c.51_52delAC	1	0,1	0	0
			c.8754+1G>A	1	0,1	0	0
			c.2405A>G	1	0,1	0	0
			c.6373dup	1	0,1	0	0
			c.2312T>G	1	0,1	0	0
	Всего	10	1	0	0		

В результате проведенного исследования удалось подтвердить герминальное происхождение патогенных вариантов, выявленных при профилировании опухолевой ткани, в образцах крови пациенток с различными подтипами рака молочной железы РМЖ и серозным подтипом рака яичников РЯ. Анализ парных образцов опухолевой ткани и крови, проведенный методом ПЦР, показал, что в большинстве случаев патогенные мутации, обнаруженные в опухоли, также присутствуют в герминальной ДНК, что указывает на их наследственный характер. Подтверждение мутаций в крови важно для точной диагностики и прогнозирования, так как герминальные мутации несут высокий риск наследственного рака, что имеет значение для профилактики и ранней диагностики у родственников пациенток. Результаты исследования подчеркивают необходимость проведения комплексного анализа как опухолевой ткани, так и крови для определения клинически значимых наследственных мутаций, что позволяет улучшить персонализированный подход в лечении и консультировании пациентов с РМЖ и РЯ.

3.6 Скрининг мутаций в гене *PIK3CA* при раке молочной железы

Мы провели скринг мутаций в гене *PIK3CA* в 376 образцах опухолевой ткани женщин с ER+PR+HER2- РМЖ из Республики Башкортостан с помощью ПЦР в

режиме реального времени (real-time PCR) согласно двум протоколам (раздел 2.2.3). Среди них 91 образец был выполнен набором theascreen® *PIK3CA* RGQ PCR Kit, включающий 11 мутаций в экзонах 7,9 и 20. Остальные образцы (285шт.) анализировались с помощью теста cobas® *PIK3CA*. В связи с тем, что панель генов для ПЦР-анализа была разной, анализ результатов описан отдельно по двум группам пациентов: 1 группа- 91 образец ДНК с ER+PR+HER2- РМЖ, выполненный с помощью теста theascreen® *PIK3CA* RGQ PCR Kit, 2 группа- 285 образцов ДНК с ER+PR+HER2- РМЖ, выполненные с помощью теста cobas® *PIK3CA*.

Мутации в гене *PIK3CA* приводят к гиперактивации сигнального пути PI3K/АКТ/mTOR, который отвечает за регуляцию клеточного роста, выживания и пролиферации. В результате клетки начинают бесконтрольно делиться, что и способствует развитию опухоли. Особенно часто мутации в гене *PIK3CA* наблюдаются при люминальном типе рака молочной железы, так как этот подтип, как правило, гормонально-зависим и часто ассоциируется с нарушениями в сигнальных путях, регулирующих рост и выживание клеток под воздействием гормонов (Guerrero-Zotano et al., 2016). Для пациентов с мутациями в гене *PIK3CA* разработана и одобрена таргетная терапия с использованием ингибиторов PI3K, таких как алпелисиб. Этот препарат избирательно блокирует активность мутантного PI3K, снижая пролиферацию опухолевых клеток и потенциально замедляя прогрессирование болезни. Применение алпелисиба в комбинации с гормональной терапией показало высокую эффективность именно у пациентов с люминальным подтипом, обладающим мутациями PI3K, что делает его важным компонентом персонализированного подхода в лечении (André et al., 2019).

В результате скрининга образцов ДНК опухолевой ткани (1 группы) идентифицировано 5 патогенных вариантов в гене *PIK3CA* у 46/91 пациентов с РМЖ, что составило 50,5% опухолей. Самая частая мутация, расположенная в 9 экзоне гена *PIK3CA* - с.1624G>A (p.Glu542Lys), обнаружена в 21,98% образцов опухолей. Мутации с.3140A>G (p.His1047Arg) – в 14,29% образцов опухолей, с.1633G>A (p.Glu545Lys) – в 10,99% образцов опухолей. Мутация с.3140A>T (p.His1047Leu) - 2,2%, с.1637A>G (p.Gln546Arg) - 1,1% (таблица 20).

Миссенс - мутация с.1624G>A (p.Glu542Lys) приводит к лиганд-независимой активации PI3K-АКТ-mTOR-пути. Этот вариант локализуется в спиральном домене, который играет критическую роль в регулировании активности PI3K. Спиральный домен является одной из горячих точек мутагенеза гена *PIK3CA*, и мутации в этой области часто приводят к гиперактивации PI3K-сигнального пути, что усиливает клеточную пролиферацию и выживание, способствуя опухолевому росту. По данным gnomAD v.3.1.2, мутация p.Glu542Lys встречается редко в популяциях и, как правило, выявляется в соматической форме. В некоторых редких случаях могут быть обнаружены и герминальные формы мутации (Gymnopoulos et al., 2007).

Следующий по частоте встречаемости является мутация с.3140A>G (p.His1047Arg), обнаруженная в 14,29% образцов опухолей - одна из наиболее распространённых мутаций в гене *PIK3CA*. Эта мутация находится в 20 экзоне, которая кодирует киназный домен каталитической субъединицы p110 α фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K). Замена гистидина на аргинин в позиции 1047 приводит к повышению киназной активности PI3K, что запускает неконтролируемую активацию сигнального каскада PI3K/АКТ/mTOR. Активация этого пути ведёт к гиперфосфорилированию mTOR, что запускает процессы, связанные с клеточным ростом и ингибированием апоптоза, создавая условия для опухолевого роста. В связи с этим, мутация p.His1047Arg рассматривается как потенциальная мишень для терапии ингибиторами PI3K, такими как алпелисиб в комбинации с фулвестрантом, особенно в гормонально-зависимых опухолях, где эта мутация часто встречается (Guerrero-Zotano et al., 2016).

Мутации с.1633G>A (p.Glu545Lys) в 9 экзоне была идентифицирована в 10,99% образцах опухолей женщин с РМЖ. Экзон 9 содержит информацию о хеликазном домене p110 α . Мутации в этом домене приводят к подавлению взаимодействия N-концевого участка p85 с p110 α . Некоторые из редких мутаций обнаружены в области, кодирующей N-концевой участок p110 α , который взаимодействует с p85. Этот тип мутаций увеличивает липидную активность PI3K, но не влияет на образование комплекса p85 α – p110 α (Hanker et al., 2019).

Таблица 20 - Спектр и частоты обнаруженных мутаций в гене *PIK3CA* у 1 группы пациентов с гормонозависимым раком молочной железы

Ген	Название мутации	dbSNP	Абсолютное число	Частота	Эффект
<i>PIK3CA</i>	c.1624G>A (p.Glu542Lys)	rs121913273	20	21,98%	Миссенс
	c.1633G>A (p.Glu545Lys)	rs104886003	10	10,99%	Миссенс
	c.3140A>T (p.His1047Leu)	rs121913279	2	2,20%	Миссенс
	c.3140A>G (p.His1047Arg)	rs121913279	13	14,29%	Миссенс
	c.1637A>G (p.Gln546Arg)	rs397517201	1	1,10%	Миссенс

В результате скрининга образцов ДНК опухолевой ткани 2 группы пациентов с ER+PR+HER2- РМЖ идентифицировано 7 мутаций в гене *PIK3CA* у 99/285 женщин, что составило 34,73% опухолей (таблица 21).

Самой частой мутацией оказалась His1047X (которая приводит к одной из замен: c.3140A>T, c.3140A>G или c.3139C>T), обнаруженная в 17,54% образцов опухолей 20 экзона гена *PIK3CA*.

Второй по частоте обнаружен вариант Glu545X в 9 экзоне гена *PIK3CA*, который выявлен в 9,47% образцов опухолей пженщин с ER+PR+HER2- РМЖ. Данная мутация приводит к одной из замен: c.1624G>A, c.1634A>C, c.1635G>T, c.1634A>G, c.1633G>A.

В 4,21% образцах опухолей была идентифицирована мутация c.1035T>A (p.Asn345Lys) в 4 экзоне гена *PIK3CA*. Эта мутация отсутствует в общей популяции, согласно данным gnomAD v.3.1.2. Этот вариант локализован в С2-домене каталитической субъединицы p110 α белка *PIK3CA*, который является важной функциональной областью, участвующей во взаимодействии PI3K с мембраной клетки и в стабилизации её структуры (Madsen et al., 2018). Мутация p.Asn345Lys классифицируется как сильный онкогенный вариант, что подчёркивает её вклад в развитие злокачественных опухолей (Gymnopoulos et al., 2007). Функциональные

исследования *in vitro* показали, что мутация p.Asn345Lys вызывает автономное фосфорилирование АКТ и активацию нисходящего сигнального пути АКТ-mTOR, что способствует клеточной пролиферации и устойчивости к апоптозу. Эти изменения в сигнальном каскаде PI3K/АКТ/mTOR обеспечивают неконтролируемое клеточное деление, способствуя прогрессированию опухоли. Считается, что мутация p.Asn345Lys в основном является соматической, однако в редких случаях она может присутствовать в герминальной линии, что требует подтверждения и дополнительного исследования (Yu et al., 2022).

Замены с.1258Т>С(p.Cys420Arg) в 7 экзоне и с.3145G>С (p.Gly1049Arg) в 20 экзоне гена *PIK3CA* были обнаружены в 1,05% образцов опухолей у пациентов с РМЖ. Мутация p.Cys420Arg локализована вблизи С2-домена каталитической субъединицы p110 α , ключевого для взаимодействия PI3K с клеточной мембраной и стабильности белка. Вариант p.Gly1049Arg локализуется в киназном домене каталитической субъединицы p110 α , который играет важную роль в регуляции фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K) и поддержании её киназной активности. Нарушения в этой области могут приводить к изменению структуры активного центра фермента и вызывать неконтролируемую активацию сигнального пути PI3K/АКТ/mTOR (Madsen et al., 2018).

Вариант Gln546X в 9 экзоне, приводящий к одной их замен: с.1636С>G, с.1636С>А, с.1637А>Т, с.1637А>G, а также с.263G>А(Arg88Gln) в 1 экзоне гена *PIK3CA* были обнаружены у двух пациентках в 0,70% образцов. Патогенные варианты в этом экзоне оказывают влияние на функцию белка PI3KCA.

Таблица 21 - Спектр и частоты выявленных мутаций в гене *PIK3CA* у 2 группы пациентов с гормонозависимым раком молочной железы

Ген	Название мутации	Абсолютное число	Частота	Эффект
<i>PIK3CA</i>	с.1258Т>С (p.Cys420Arg)	3	1,05%	Миссенс
	с.1624G>А, с.1634А>С, с.1635G>Т,	27	9,47%	Миссенс

c.1634A>G, c.1633G>A (Glu545X)			
c.3145G>C (p.Gly1049Arg)	3	1,05%	Миссенс
c.3140A>T, c.3140A>G, c.3139C>T (His1047X)	50	17,54%	Миссенс
c.1035T>A (p.Asn345Lys)	12	4,21%	Миссенс
c.1636C>G, c.1636C>A, c.1637A>T, c.1637A>G (Gln546X)	2	0,70%	Миссенс
c.263G>A (Arg88Gln)	2	0,70%	Миссенс

Таким образом, спектр выявленных изменений в гене *PIK3CA* ограничен каноническими «горячими точками» мутаций, при этом абсолютное большинство найденных вариантов пришлось всего на две замены: c.3140A>G (p.His1047Arg) и c.1624G>A (p.Glu542Lys). Более информативной оказалась панель cobas® *PIK3CA*, так как содержит более широкую панель мутаций в различных экзонах гена *PIK3CA*, однако с помощью данного теста мы не видим конкретное изменение.

В результате проведённого скрининга мутаций в гене *PIK3CA* с использованием двух различных коммерческих тестов было установлено, что 38,56% женщин соответствуют критериям для назначения таргетной терапии с применением алпелисиба в сочетании с фулвестрантом. Эти данные подчеркивают важность генетического анализа для персонализированной медицины в онкологии, открывая новые возможности для эффективного лечения пациенток с гормонозависимыми формами рака молочной железы. Таргетная терапия, основанная на результатах молекулярного скрининга, не только способствует улучшению прогнозов, но и повышает качество жизни пациентов, позволяя более точно нацеливаться на механизмы, способствующие прогрессированию заболевания.

ОБСУЖДЕНИЕ

Рак молочной железы и рак яичников остаются значительными вызовами для системы здравоохранения. Согласно данным ВОЗ, в 2022 году смертность от рака молочной железы составила 6,9% от общего числа смертей, связанных с злокачественными новообразованиями, а смертность от рака яичников достигла 2,1% (Каприн и др., 2022). Тем не менее, благодаря NGS-секвенированию и GWAS-исследованиям достигнут значительный прогресс в определении наиболее значимых патогенных вариантов риска данных заболеваний, что позволяет значительно продвинуться в области диагностики и таргетной терапии данных заболеваний (Han et al., 2021). Однако, чем больше исследований проводится в области исследований молекулярно-генетической природы РЯ и РМЖ, тем сложнее становится картина и представления о молекулярных механизмах данных нозологий. При РМЖ и РЯ выявляются различные сочетания мутаций, как на герминальном, так и на соматическом уровне. Более того, все комбинации патогенных вариантов могут существенно различаться в зависимости от изучаемой когорты пациентов и даже внутри популяций из одной страны могут наблюдаться разные спектры и частоты мутаций. Поэтому все исследования, направленные на систематизацию и накопление данных о генетической структуре РЯ и РМЖ имеют фундаментальное значение.

В настоящее время в доступной литературе отсутствуют данные о секвенировании образцов опухолевой ткани у пациенток с трижды негативным и гормоноположительным раком молочной железы, проживающих в Республике Башкортостан. Наше исследование является первым шагом в этом направлении, предоставляя важные сведения о молекулярном портрете опухолей женщин с разными типами РМЖ и РЯ. Результаты нашего исследования по спектру мутаций в генах *ATM*, *TP53* и *BRCA1/2* в целом согласуются с данными литературы, в соответствии с которыми при РМЖ к наиболее часто встречающимся мутациям относятся изменения в гене *TP53*. Сопоставимы с известными данными и результаты оценки разнообразия генетических вариантов в генах *BRCA1/2* (Гришина и др., 2016;

Цуканов и др., 2017). Тем не менее нами были выявлены и ранее не описанные мутации в исследуемых генах, что расширяет спектр известных изменений и потенциально может способствовать более точной терапии. Эти данные имеют значительную ценность для понимания генетических особенностей рака молочной железы и подчеркивают необходимость дальнейших исследований, которые могут привести к более точному, прогнозированию и разработке персонализированных подходов к лечению пациентов с РМЖ и РЯ из Республики Башкортостан.

Результаты исследования герминальных вариантов при РМЖ и РЯ, а также некоторых соматических вариантов при РЯ, частично совпадают с данными предыдущих исследований, в частности, проведенных в Институте биохимии и генетики УФИЦ РАН под руководством Бермишевой Марины Алексеевны, Валовой Яны Валерьевны, Фаисхановой Рании Разяповны и их коллег. Однако наше исследование также выявило новые данные, впервые зафиксированные для популяции Республики Башкортостан.

В частности, во всех исследованиях, включая наше, у пациенток с РМЖ и РЯ был подтвержден патогенный вариант c.5266dupC (p.Gln1756fs) в гене *BRCA1*, обнаруженный с наибольшей частотой во всех группах. Также подтверждены патогенные варианты c.181T>G (p.Cys61Gly) и c.4035delA (p.Glu1346LysfsTer20) в том же гене. Эти мутации детально описаны в трудах коллег из Республики Башкортостан.

Работа М.А. Бермишевой отмечает патогенный вариант c.444+1G>A в гене *CHEK2* при РМЖ, частота которого согласуется с нашими данными. Другие патогенные мутации в гене *CHEK2* в нашем исследовании не обнаружены. Кроме этого, в гене *BRCA1* была обнаружена нонсенс - мутация c.5161C>T (p.Gln1721Ter). Согласно данным Бермишевой и соавторов, данная мутация наиболее часто встречается у пациентов татарской этнической группы. При анализе спектра обнаруженных вариантов в нашей выборке, включающей преимущественно пациентов русской этнической принадлежности, было подтверждено, что мутация c.5161C>T обнаружена исключительно у женщины татарской этнической принадлежности с ТНРМЖ. В исследованиях Я.В. Валовой и Р.Р. Фаисхановой был

описан патогенный вариант с.3700_3704delGTAAA в гене *BRCA1*, который также был выявлен в нашем исследовании пациенток с РЯ, но с различными частотами. Кроме того, Р.Р. Фаисханова описала патогенный вариант с.1961del (p.Lys654SerfsTer47) у женщин с РЯ, который также подтвержден в нашем исследовании (Бермишева, 2021; Фаисханова, 2021; Валова, 2023).

Однако нами был обнаружен широкий спектр патогенных вариантов, включающие миссенс/нонсенс мутации, мутации сайта сплайсинга и сдвига рамки считывания, которые не пересекались с данными предыдущих исследований. Такие варианты были найдены в генах *BRCA2*, *BRIP1*, *PTEN*, *CDK12*, *BARD1* и *RAD51C*. Кроме того, мы обнаружили широкий спектр вариантов с неопределенным клиническим значением, которые представляют интерес для дальнейшего изучения.

Работа Р.Р. Фаисхановой также затрагивала соматические варианты при РЯ, в результате чего были выявлены 4 патогенных соматических варианта в генах *BRCA1*, *BRCA2* и *ATM*. Среди них вариант с.5161C>T (p.Gln1721Ter) в *BRCA1* был подтвержден и в нашем исследовании с большей частотой. Остальные варианты не пересекались с нашими данными. В исследовании Я.В. Валовой также представлен спектр вариантов с неопределенным клиническим значением на основе таргетного секвенирования образцов пациенток с РЯ из Республики Башкортостан. Сравнительный анализ VUS показал, что выявленные нами варианты не пересекаются с их данными, что свидетельствует о разнообразии генетических изменений (Фаисханова, 2021; Валова, 2023).

Таким образом, наше исследование не только подтверждает существующие данные о генетических мутациях в Республике Башкортостан, но и расширяет спектр вариантов с различным клиническим значением.

В 2022 году в журнале «Молекулярная генетика и геномика» Мария Молина-Заяс с соавт. опубликовали результаты поиска патогенных вариантов в герминальной линии, предрасполагающих как раку молочной железы, так и раку яичников в Гранаде (Испания) у 824 европеоидных пробандов. Патогенные варианты, предрасполагающие к этим заболеваниям, были выявлены у 11,9% (98/824) лиц в *BRCA2* (47/98), *BRCA1* (24/98), *PALB2* (8/51), *ATM* (7/51), *CHEK2*

(6/51) *MSH6*, (2/51), *RAD51C* (2/51) и *TP53* (2/386). Как видно, перечень генов, в которых выявлены мутации в нашей работе шире, единственным исключением является ген *MSH6*, который не входил в панель секвенирования (de Baumont et al., 2024).

Помимо секвенирования экзона, секвенирование всего генома (WGS) привлекло внимание благодаря своей мощности в анализе как кодирующих, так и некодирующих областей. WGS производит высокопроизводительные данные, что обуславливает необходимость мощного и целенаправленного биоинформатического анализа. В работе Нонеса и соавторов сравнивались 78 парных образцов ДНК из крови и опухоли, полученных от женщин, имеющих патогенные мутации *BRCA1* или *BRCA2*, и от пациентов, не имеющих мутаций *BRCA*. Сопоставленный анализ позволил авторам подтвердить биаллельную инактивацию генов, играющую роль в повышении риска рака, который ассоциирован с накоплением соматических мутаций. Потеря функции *BRCA1/2* и *PALB2* коррелировала с мутационной нагрузкой и дефектной гомологичной рекомбинацией (HR). Тринадцать опухолей, не относящихся к *BRCA*, были *BRCA*-профицитными и показали структурные перестройки, коррелирующие с амплификацией онкогенов и патогенными вариантами зародышевой линии на уровне *TP53*, *ATM* и *CHEK2*, что согласуется с результатами нашего исследования (Zelli et al., 2020).

В немецком исследовании Гремке с соавт. у 36 пациентов с раком молочной железы были наиболее часто встречающимися патогенными вариантами были мутации в генах *TP53* (n = 20/36, 55,6%), *PIK3CA* (n=14/36, 38,9%), *ATM* (n=6/36, 16,7%) и *BRCA1/2* (n=4/36, 11,1%). В том же исследовании установлено, что у 45 пациентов с онкогинекологическими заболеваниями наиболее часто измененными генами были *TP53* (n = 22/45, 48,9%), *ARID1A* (n = 6/45, 13,3%), *BRCA1/2* (n = 6/45, 13,3%) и *KRAS* (n = 5/45, 11,1%) (Gremke et al., 2024).

Похожее исследование было проведено в Турции, в котором установлено, что патогенные варианты в генах *BRCA1* и *BRCA2* обнаруживаются у ~15% женщин с

наследственным раком молочной железы (Elcin et al., 2022), что несколько ниже по сравнению с когортой пациентов из нашего исследования.

Недавно в журнале Nature было проведено исследование, в котором авторы оценили связь между популяционными показателями полигенного риска РЯ с рисками рака у носителей патогенных вариантов *BRCA1* и *BRCA2*. Для этого они использовали ретроспективные когортные данные по 18935 женщинам-носителям патогенного варианта в гене *BRCA1* и в гене 12339 *BRCA2* у лиц европейского происхождения. Результат – популяционные PRS (полигенные оценки риска) тесно связаны с рисками рака молочной железы и рака яичников у носителей *BRCA1/2* и прогнозируют существенные абсолютные различия в риске для женщин при крайних значениях распределения PRS (Barnes et al., 2020).

Так или иначе, мы видим, что результаты нашего исследования не только подтверждают существующие данные, но и также привносят новые данные, что особенно касается уточнения спектров мутаций по генам *BRCA2*, *CHEK2*, *ATM*, *RAD51C* и *PIK3CA* у пациентов из Республики Башкортостан.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На сегодняшний день рак молочной железы и яичников занимают лидирующие позиции в структуре онкологических заболеваний среди женского населения, а также являются основной причиной смерти от опухолевого процесса у данной категории пациенток. Главными причинами, обуславливающими высокие показатели летальных исходов, остаются прогрессирование заболевания на разных этапах болезни более чем у половины больных, а также недостаточная эффективность проводимого системного лечения. Согласно отечественным и международным рекомендациям, выбор терапии и прогноз заболевания при раке молочной железы и яичников в данный момент определяется биологическими характеристиками опухоли и назначается с учетом ее молекулярных подтипов. Однако понимание генетической природы онкологического заболевания кардинально меняет его диагностику, открывая путь к таргетной терапии.

В результате исследования проведена оценка патоморфологической особенности и ИГХ-статуса 1611 образцов ДНК женщин с РМЖ и РЯ. Для исследования отобрали 74 образца опухолевой ткани с ТНРМЖ и 23 образца опухолевой ткани с ER+PR+HER2- РМЖ, а также 419 образцов цельной крови с ТНРМЖ и 383 образца с ER+PR+HER2- РМЖ. Для анализа мутаций в гене *PIK3CA* отдельно отобрано 376 образцов ДНК из опухолевой ткани пациентов с ER+PR+HER2- РМЖ. В исследовании серозного типа рака яичников использовали 70 образцов опухолевой ткани и 266 образцов цельной крови. После чего, методом массового параллельного секвенирования (NGS) было проведено исследование 1275 образцов опухолевой ткани и цельной крови женщин с ТНРМЖ и ER+PR+HER2-РМЖ, а также образцов опухолевой ткани и цельной крови серозного типа РЯ с помощью кастомной панели на 17 генов: *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BARD1*, *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK1*, *CHEK2*, *FANCL*, *PALB2*, *RAD51B*, *RAD51C*, *RAD51D*, *RAD54L*, *PPP2R2A*, *PTEN*, *TP53*. Отдельно проводился скрининг мутаций гена *PIK3CA* в образцах опухолевой ткани 376 женщин с ER+PR+HER2- РМЖ методом ПЦР в режиме реального времени.

В результате исследования 74 образцов опухолевой ткани женщин с трижды-негативным раком молочной железы, нами было выявлено 62 изменения нуклеотидной последовательности в генах в 5 генах (*ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *PTEN* и *TP53*) у 43 пациенток, включающие миссенс/нонсенс мутации, мутации сайта сплайсинга и сдвига рамки считывания. Доля патогенных вариантов составила 46,7%, вероятно патогенных – 14,5%. Наибольшее количество вариантов было обнаружено в гене *BRCA2* – 38,1%, *TP53* – 34,9%, *BRCA1* – 23,8%, в генах *ATM* и *PTEN* – по 1,6%. У 33 женщин (44,6%) идентифицировано 29 патогенных и 6 вероятно патогенных вариантов в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *PTEN* и *TP53*. С наибольшей частотой выявлен патогенный вариант с.5266dupC в гене *BRCA1* – в 16% образцов опухоли. Варианты с.181T>G в гене *BRCA1*, с.9097delA в гене *BRCA2* и с.916C>T в гене *TP53* обнаружены в 2,67% образцах опухолей. Остальные мутации выявлены единожды (1,4%).

Среди обнаруженных патогенных вариантов были выявлены ранее не описанные патогенные варианты в гене *TP53*: с.322_326del (p.G108fs) и с.709delA (p.M237fs*10), которые обнаружены в 1,4% образцов опухолей.

Идентифицировано шесть вероятно патогенных вариантов у четырех женщин с трижды-негативным раком молочной железы в генах *BRCA1*, *BRCA2* и *TP53* – каждый из которых обнаружен в 1,4% образцов опухолей. Данные пациентки 52-60 лет, имели 2-3 стадию заболевания и отягощенный семейный анамнез.

В рамках нашего исследования также был выявлен 21 вариант VUS в генах *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2* и *TP53* у женщин с ТНРМЖ. Наиболее часто встречались два варианта: с.4837A>G (p.S1613G) в гене *BRCA1* и с.5183A>G (p.D1728G) в гене *BRCA2*, оба в 4,1% образцах опухолей. Следующими по частоте оказались варианты с.240T>C (p.S80S) и с.5446A>G (p.T1816A) в гене *BRCA1*, а также с.1972T>C (p.S658P) и с.2672T>C (p.V891A) в гене *BRCA2*, в 2,7% образцов опухолей. Остальные варианты с неопределенной клинической значимостью были выявлены в 1,4% образцов опухолей.

В результате исследования 23 образцов опухолевой ткани с ER+PR+HER2-РМЖ у 9 пациенток было обнаружено 11 вариантов с различным клиническим

значением, среди которых встречались миссенс мутации, мутации сайта сплайсинга и сдвига рамки считывания. Все выявленные изменения нуклеотидной последовательности были обнаружены в генах *BRCA1*, *BRCA2* и *CHEK2*. Наибольшее количество вариантов было выявлено в гене *BRCA1* - 26,1%. В гене *BRCA2* - 17,4%, *CHEK2* - 4,3%. Среди обнаруженных вариантов идентифицировано 8 мутаций в генах *BRCA1* (с.1016delA, с.181T>G, с.3700_3704del, с.5266dupC), *BRCA2* (с.5073delA, с.8478C>A, с.9097delA) и *CHEK2* (с.444+1G>T) у 9 женщин (39,1%). Среди них наибольшая частота была отмечена для вариантов с.5266dupC (p.Gln1756fsTer74) в гене *BRCA1* и с.444+1G>T в гене *CHEK2*, которые обнаружены в 8,7% образцов опухолей. Остальные мутации выявлены в 4,35% образцов ДНК опухолевой ткани пациентов с гормонозависимым типом рака молочной железы. У одной пациентки в гене обнаружен доброкачественный вариант с.7806-14T>C в гене *BRCA2*. Кроме того, у двух других пациентов было обнаружено два варианта с неопределенной клинической значимостью в гене *BRCA1*: с.1974G>C (p.Met658Ile) и с.3466G>A (p.Asp1156Asn), которые были обнаружены в 4,35% образцов опухолевой ткани с гормонозависимым раком молочной железы.

Нами был проведен сравнительный анализ мутаций, выявленных в образцах опухолевой ткани женщин с ТНРМЖ и ER+PR+HER2-РМЖ. В результате были обнаружены общие и специфические мутации для разных типов опухолей молочной железы, что имеет значение для подбора терапии. В ТНРМЖ наиболее часто встречается мутация с.5266dupC в гене *BRCA1* в 16,2% образцов опухолей, тогда как в ER+PR+HER2-РМЖ — 8,7%. Это указывает на связь этой мутации с агрессивными формами опухоли. Также у ТНРМЖ наблюдаются частые мутации в гене *TP53* (20,3%), тогда как при ER+PR+HER2-РМЖ такие изменения отсутствуют, подчеркивая геномную нестабильность при ТНРМЖ. Миссенс-мутация с.181T>G в гене *BRCA1* присутствует в обоих подтипах: в 2,7% образцов опухолей при ТНРМЖ и в 4,3% при ER+PR+HER2-РМЖ. Важность этой мутации подчеркивает ее роль в репарации ДНК, что делает ее возможным потенциальным маркером для раннего выявления наследственной предрасположенности к РМЖ. Гормонозависимые

опухоли часто имеют мутацию с.444+1G>T в гене *CHEK2* (8,7%), указывая на ее связь с повышенным риском ER+PR+HER2- РМЖ.

Сравнение мутационных профилей ТНРМЖ и ER+PR+HER2-РМЖ выявило более высокую частоту и разнообразие мутаций в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *TP53* и *PTEN* в образцах опухолевой ткани при ТНРМЖ, что подтверждает значимость этих генов в развитии более агрессивных подтипов. Гормонозависимый РМЖ чаще ассоциирован с мутациями в генах *BRCA1*, *BRCA2* и *CHEK2*, что свидетельствует о влиянии гормональной регуляции на механизмы канцерогенеза и репарации ДНК.

В результате исследования герминальных мутаций у 419 пациенток с ТНРМЖ было выявлено 78 изменений нуклеотидной последовательности в генах *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BARD1*, *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK1*, *CHEK2*, *FANCL*, *PALB2*, *RAD51C*, *RAD51D* и *PPP2R2A*, которые были обнаружены у 102 женщин. Изменения включали миссенс/нонсенс мутации, мутации сайта сплайсинга и сдвига рамки считывания. Доля патогенных мутаций составило 12,2%, VUS – 6,4%. Идентифицирован 51 герминальный патогенный вариант в генах *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BARD1*, *CHEK2*, *FANCL*, *PALB2* и *RAD51C* у 73 женщин (17,4%). Наиболее часто встречающаяся – мутация с.5266dupC в гене *BRCA1*, обнаруженная у 2,86% женщин. Вторая по частоте с.444+1G>A в гене *CHEK2* - у 0,95% женщин. Варианты с.181T>G (p.Cys61Gly) - *BRCA1* и с.5286T>G (p.Tyr1762Ter) - *BRCA2* обнаружены у 0,72% женщин. Мутации с.1510del (p.Arg504ValfsTer28) - *BRCA1*, с.4423del (p.Met1475TrpfsTer4), с.6469C>T (p.Gln2157Ter), с.6591_6592del (p.Glu2198AsnfsTer4), с.8946dup (p.Asp2983ArgfsTer35) в гене *BRCA2* и с.712_714del (p.Asn238del) в гене *FANCL* идентифицированы у 0,48% женщин.

Выявлены ранее не описанные патогенные варианты в гене *BRCA1* - с.1430del (p.Val477GlufsTer5), с.2496del (p.Leu833TrpfsTer13), с.5159G>A (p.Arg1720Gln) и с.5566C>T (p.Arg1856Ter); в гене *BRCA2*- с.3023_3026del (p.Ser1008ThrfsTer34) и с.476-3_476-2del; в гене *FANCL* - с.712_714del (p.Asn238del). Ген *FANCL*, участвующий в репарации ДНК, вызывает особый интерес при ТНРМЖ из-за потенциального влияния на развитие агрессивных подтипов опухоли. Нарушение функции *FANCL*, связанное с этой мутацией, приводит к накоплению повреждений

ДНК и способствует канцерогенезу. Важно отметить, что мутация с.712_714del не описывалась ранее у пациентов с РМЖ/РЯ, что подчеркивает ее новизну и потенциальную роль в патогенезе ТНРМЖ.

При анализе выявленных герминальных мутаций у женщин ТНРМЖ с учетом их этнического происхождения, установлено, что все выявленные патогенные варианты не пересекались между этническими группами. У женщин русского этнического происхождения мутация с.5266dupC (p.Gln1756fsTer74) в гене *BRCA1* была обнаружена у 3,2% женщин. Мутация с.444+1G>A в гене *CHEK2* была выявлена у 1,1% женщин. Варианты с.181T>G (p.Cys61Gly) в гене *BRCA1* и с.5286T>G (p.Tyr1762Ter) в гене *BRCA2* обнаружены у 0,8% женщин. Варианты с.1510del (p.Arg504ValfsTer28) в гене *BRCA1*, с.4423del (p.Met1475TrpfsTer4), с.6469C>T (p.Gln2157Ter), с.6591_6592del (p.Glu2198AsnfsTer4), с.8946dup (p.Asp2983ArgfsTer35) в гене *BRCA2*, а также с.712_714del (p.Asn238del) в гене *FANCL* были выявлены у 0,5% женщин.

У женщин татарского происхождения герминальные патогенные варианты были выявлены в генах *BRCA1*, *BRCA2* и *ATM*. Мутации с.8010+2G>T в гене *ATM*, 4154delA и с.5161C>T (p.Gln1721Ter) в гене *BRCA1*, а также с.4322_4323del (p.Glu1441ValfsTer3) в гене *BRCA2* были идентифицированы у 3,8% женщин. Было подтверждено, что мутация с.5161C>T в гене *BRCA1* преимущественно встречается у пациентов с РМЖ татарского этнического происхождения, что указывает на его возможную этническую специфичность.

У женщин башкирского этнического происхождения в нашем исследовании обнаружен один патогенный вариант в гене *BRCA1* - с.5215+1G>T у 5,6% женщин.

Полученные результаты проведенных исследований способствуют расширению знаний о спектре и частотах мутаций в этнически подразделенном регионе России. Получены ценные сведения о наличии редких и новых патогенных вариантов.

В результате исследования образцов ДНК из цельной крови пациентов с ER+PR+HER2-РМЖ было идентифицировано 65 изменений нуклеотидной последовательности, включающие миссенс/нонсенс мутации, мутации сайта

сплайсинга и сдвига рамки считывания, в генах *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BARD1*, *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK2*, *FANCL*, *PALB2*, *RAD51B*, *RAD54L* у 84/383 женщин. Варианты обнаружены в гене *BRCA2* – у 4,96% женщин, в гене *BRCA1* – 3,13%, в гене *ATM* – 2,35%, в генах *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK2* у 1,31% женщин, в гене *PALB2* – 1,04%, в генах *BARD1* и *RAD54L* у 0,52%, в гене *RAD51B* – 0,26%. Доля патогенных составила 10,7%, VUS – 6,3%.

Идентифицировано 39 мутаций у 59 женщин (15,4%) с ER+PR+HER2-PMЖ в генах *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BARD1*, *CHEK2*, *BRIP1*, *PALB2*, *CDK12*. С наибольшей частотой выявлена дупликация с.5266dupC в гене *BRCA1* – у 3,39% женщин. Следующим обнаружен патогенный вариант в гене *CHEK2* – с.444+1G>A у 1,57% женщин. В гене *BRCA2* вариант с.6591_6592del обнаружен у 0,78% женщин. В этом же гене варианты с.4423del и с.5286T>G выявлены у 0,52% женщин. Остальные патогенные варианты идентифицированы у 0,26% женщин (таблица 11).

Выявлены ранее не описанные варианты в генах *BRCA2* – с.476-2A>T, с.5240_5243del (p.Arg1747LysfsTer3), с.5874T>A (p.Cys1958Ter) и *CHEK2* – с.1137+1G>A, с.1497dup (p.Glu500ArgfsTer33), для которых анализ *in silico* прогнозирует высокую вероятность патогенности, что указывает на потенциальное влияние этих мутаций на процессы, связанные с развитием PMЖ.

В гене *ATM* и *BRIP1* выявлены синонимичные мутации с.3576G>A(p.Lys1192=) и с.507G>A (p.Gln169=) соответственно. Анализ сайта сплайсинга и результаты предсказательных программ показали, что данные мутации имеют клиническое значение в нашем исследовании.

Анализ результатов, учитывающий этническое происхождение пациенток с ER+PR+HER2-PMЖ, выявил, что у женщин русской этнической принадлежности патогенный вариант с.5266dupC в гене *BRCA1* был обнаружен у 3,5% женщин, а среди женщин татарского происхождения – в 3,3%. Вариант с.6591_6592del в гене *BRCA2* обнаружен среди женщин башкирской этнической принадлежности (7,1%) и у 0,6% женщин русской этнической принадлежности. Мутации с.771_775del и с.8755-2A>G выявлены у 3,3% женщин татарской этнической принадлежности.

Также было обнаружено 24 варианта с неопределённым клиническим значением (VUS) у 6,78% женщин с ER+PR+HER2-PMЖ. Данные варианты с были идентифицированы в генах *ATM*, *BRCA1*, *BARD1*, *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK2*, *FANCL*, *PALB2*, *RAD51B* и *RAD54L*.

В результате исследования выявленных мутаций методом массового параллельного секвенирования, мы провели анализ клинических характеристик женщин с выявленными сочетанными мутаций в образцах опухолевой ткани женщин с раком молочной железы. Было обнаружено 14 случая таких вариантов в генах-супрессорах опухоли *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *PTEN*, *CHEK2* и *TP53*. Исследуя анамнез заболевания и семейный анамнез, было выявлено, что большая часть таких пациенток имеет родственников 1 степени с данным заболеванием, а также перенесенные операции по удалению репродуктивных органов (молочные железы, матка, яичники). В связи с этим можно предположить, что сочетанные мутации в данных генах усиливают онкогенный потенциал клеток у женщин с наследственной отягощенностью.

В результате молекулярно-генетического исследования 70 образцов ДНК из опухолевых блоков у женщин с серозным типом РЯ нами выявлено 57 изменений нуклеотидной последовательности в генах *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK2*, *FANCL*, *PTEN*, *TP53* у 48 пациенток. Наибольший спектр изменений был идентифицирован в гене *TP53*- 21,43%. В гене *ATM* – 14,29%, *BRCA1* – 8,57%, *FANCL* – 2,86%. В генах *BRCA2*, *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK2*, *PTEN*, *TP53* - 1,43%. Доля патогенных составила 47,14%, вероятно патогенных – 4,29%, доброкачественных – 2,86% и VUS – 28,57%.

В генах *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *PTEN* и *TP53* было обнаружено 33 патогенных и 2 вероятно патогенных варианта у 35 женщин (50%). Наибольшая частота среди патогенных вариантов отмечена для с.5266dupC в гене *BRCA1*, который был выявлен в 7,14% образцов опухолей. Мутации с.4035del (p.Glu1346LysfsTer20) в гене *BRCA1* и с.743G>A (p.Arg248Gln) в гене *TP53*, обнаружены в 4,29% образцов опухолей. В гене *BRCA1* – с.181T>G (p.Cys61Gly) и с.5161C>T(p.Gln1721Ter), а также в гене *TP53* – с.711G>A(p.Met237Ile),

с.825T>G(p.Cys275Trp) и с.844C>T(p.Arg282Trp) выявлены в 2,86% образцов опухолей. Остальные патогенные варианты идентифицированы в 1,43% образцов опухолей.

Выявлены ранее не описанные патогенные варианты в гене *BRCA1*: с.3743_3752del (p.Ala1248ValfsTer13) и с.9463_9464insG(p.Phe3155CysfsTer13), а также в гене *TP53* – с.320dupA (p.Tyr107Ter).

В образцах ДНК опухолевой ткани был выявлен широкий спектр патогенных вариантов в гене *TP53*. Среди них основную часть составили миссенс –мутации, нонсенс-мутации и мутации со сдвигом рамки считывания. Наиболее частые из них: с.743G>A (p.Arg248Gln) – в 4,29% образцов опухолей, с.711G>A (p.Met237Ile), с.825T>G (p.Cys275Trp), с.844C>T (p.Arg282Trp) - в 2,86% образцов опухолей.

Обнаружены вероятно патогенные варианты в генах *BRCA1* – с.728delA (p.N243fs*8) в 2,86% образцов опухолей и *TP53* – с.418A>G(p.T140A) в 1,43% образцов опухолей.

Выявлен широкий спектр вариантов VUS в генах *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CDK12*, *FANCL*, и *TP53*. Наиболее частыми среди них оказались варианты с.7806-14T>C в гене *BRCA2* и 215C>G (p.Pro72Arg) в гене *TP53*, которые были обнаружены в 4,14% образцов опухолей. Также был выявлен вариант с.4837A>G (p.Ser1613Gly) в гене *BRCA1* – в 3,8% образцов опухолей.

В образцах цельной крови женщин с серозным подтипом РЯ было идентифицировано 51 изменение нуклеотидной последовательности, включающие миссенс/нонсенс мутации, мутации сайта сплайсинга и сдвига рамки считывания, в генах *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BARD1*, *BRIP1*, *CHEK2*, *FANCL*, *PALB2*, *RAD51C*, *RAD54L*, *PPP2R2A*) у 78/266 женщин. Наибольшее количество вариантов было обнаружено в гене *BRCA1* – 4,51%. В генах *BRCA2*- 3,76%, *ATM*- 2,63%, *CHEK2* - 2,26%, *BRIP1* – 1,88%, *RAD51C*- 1,5%, *FANCL*- 1,13%. В остальных генах выявлено по 0,38%. Все выявленные варианты оказались либо патогенными- 29(11%), либо VUS - 22 (8,27%).

Патогенные изменения были обнаружены у 59 (22,2%) пациенток русской этнической принадлежности в генах: *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CHEK2*, *FANCL*

и *RAD51C*. Наиболее часто встречающаяся мутация - с.5266dupC в гене *BRCA1* у 5,26% женщин. Мутация с.5286T>G в гене *BRCA2* - у 1,5% женщин. Патогенные варианты с.3756_3759del, с.4035del в гене *BRCA1*, с.4423del и вариант с.444+1G>A в гене *CHEK2* выявлены у 1,13% женщин.

Варианты с неопределенным клиническим значением сосредоточены в генах *ATM*, *BRIP1*, *CHEK2* и *PPP2R2A*. С наибольшей частотой выявлен вариант с.1196G>A в гене *PPP2R2A* – у 1,13% женщин, следующие по частоте варианты с.133G>A и с.143C>A в гене *BRIP1*- у 0,75% женщин.

Наши исследования подтверждают результаты предыдущих работ, однако, выявленный в нашей работе спектр патогенных вариантов в исследуемых генах оказался шире. Это расширяет существующие знания о генетическом портрете мутаций в Республике Башкортостан среди женщин с серозным подтипом рака яичников, что может способствовать улучшению диагностики и персонализированного подхода к лечению данного заболевания в этом регионе.

Нами был проведен скрининг мутаций в гене *PIK3CA* в 376 образцах опухолевой ткани женщин с ER+PR+HER2- РМЖ из Республики Башкортостан с помощью ПЦР в режиме реального времени. Спектр выявленных изменений в гене *PIK3CA* ограничен каноническими «горячими точками» мутаций, при этом абсолютное большинство найденных вариантов пришлось всего на две замены: с.1624G>A (p.Glu542Lys), обнаруженная в 21,98% образцов опухолей и с.3140A>G (p.His1047Arg), обнаруженная в 14,29% образцов опухолей. В результате проведенного скрининга было установлено, что 38,56% женщин соответствуют критериям для назначения таргетной терапии с применением алпелисиба в сочетании с фулвестрантом.

В исследовании проведена оценка герминального происхождения мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* у пациенток с РМЖ и РЯ. Для анализа использовали парные образцы тканей и крови от одной пациентки, что позволило определить наследственный характер выявленных мутаций. Всего было исследовано 79 парных образцов: 45 от пациенток с РМЖ (37 — ТНРМЖ, 8 — ER+PR+HER2-РМЖ) и 33 образца от пациенток с серозным подтипом РЯ. Патогенные варианты,

обнаруженные в опухолевой ткани, были подтверждены в образцах крови с помощью ПЦР.

При ТНPMЖ у 56% пациенток выявлены три мутации в гене *BRCA1*: с.5266dup (p.Gln1756fs) у 11 из 12 женщин, с.181T>G (p.Cys61Gly) у двух и с.3700_3704del (p.V1234fs) у одной пациентки. В гене *BRCA2* герминальные мутации не были найдены. В группе с ER+PR+HER2-PMЖ у 80% пациенток выявлены те же мутации в *BRCA1*, а в *BRCA2* — мутация с.8478C>A (p.Tyr2826Ter) у одной из женщин (33%). Анализ серозного типа РЯ показал наличие мутаций *BRCA1* в 39% образцов крови: с.5266dup у пяти пациенток, с.4035del у двух из трех и с.181T>G у двух. В гене *BRCA2* герминальные мутации не обнаружены.

Таким образом, понимание молекулярных механизмов взаимодействий генов, ассоциированных с PMЖ и РЯ имеет фундаментальное значение. Генетическая предрасположенность к этим заболеваниям остается предметом научных дискуссий ввиду своей сложной природы высокой вариативности у разных когорт пациентов. PMЖ и РЯ – это сложные заболевания, которые может приобретать более инвазивный и резистентный характер из-за многочисленных молекулярных изменений, которые вызывают пролиферацию клеток и генетическую нестабильность. Результаты работы расширяют фундаментальные знания об этих нозологиях и приближают к более полному пониманию молекулярных процессов, связанных со злокачественными трансформациями.

Онкология больше не рассматривается как одно заболевание – это совокупность большого числа заболеваний, каждое из которых имеет свои уникальные характеристики и собственный генетический состав (геномный профиль) для конкретного больного. Появление молекулярной информации, ставшее возможным благодаря достижениям в области секвенирования ДНК и способности быстро собирать и обрабатывать большие объемы данных посредством биоинформатики, сыграло решающую роль в развитии онкологических исследований, результаты которых все более активно внедряются в клиническую практику. В соответствии с этим, комплексная оценка различных аспектов патогенеза PMЖ и РЯ позволит персонализировать и повысить эффективность лечения.

ВЫВОДЫ

1. Выявлено 46,7% (29/62) патогенных и 9,6% (6/62) вероятно патогенных вариантов в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *PTEN* и *TP53* в образцах опухолевой ткани 44,6% женщин с трижды негативной формой рака молочной железы, два из которых в гене *TP53* (с.322_326del, с.709delA) ранее не были описаны. В образцах опухолевой ткани 39,1% женщин с гормонозависимым типом рака молочной железы обнаружено 72,7% (8/11) патогенных вариантов в генах *BRCA1*, *BRCA2* и *CHEK2*.
2. Идентифицировано 65,4% (51/78) герминальных мутаций в генах *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BARD1*, *CHEK2*, *FANCL*, *PALB2* и *RAD51C* у 17,4% женщин с трижды негативной формой рака молочной железы, из них ранее не были описаны варианты в генах *BRCA1* (с.1430del, с.2496del, с.5159G>A, с.5566C>T), *BRCA2* (с.3023_3026del, с.476-3_476-2del) и *FANCL* (с.712_714del). У 15,4 % женщин с гормонозависимым типом рака молочной железы обнаружено 60% (39/65) герминальных мутаций в генах *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BARD1*, *CHEK2*, *BRIP1*, *PALB2*, *CDK12*, среди которых ранее не описанные варианты в генах *BRCA2* (с.476-2A>T, с.5240_5243del, с.5874T>A) и *CHEK2* (с.1137+1G>A, с.1497dup).
3. Выявлено 12 мутаций в гене *PIK3CA* в опухолевой ткани женщин с гормонозависимым раком молочной железы из Республики Башкортостан, где абсолютное большинство найденных вариантов пришлось на две замены: с.3140A>G (p.His1047Arg) - в 21,98% образцов опухолей и с.1624G>A (p.Glu542Lys) - в 14,29% образцов опухолей. Установлено, что 38,56% женщин с мутациями в гене *PIK3CA* подходят для таргетной терапии алпелисибом в комбинации с фулвестрантом.
4. Выявлено 57,9% (33/57) патогенных варианта в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *PTEN*, *TP53* в образцах опухолевой ткани 50% женщин с серозным подтипом рака яичников, варианты в генах *TP53* (с.3743_3752del, с.9463_9464insG) и *BRCA1* (с.320dupA) не были описаны ранее. У 22,2% женщин с раком яичников обнаружено 56,8% (29/51) герминальных мутаций в генах *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CHEK2*, *FANCL* и *RAD51C*.

5. Созданы две базы данных по спектру и частотам выявленных соматических и герминальных вариантов в генах системы репарации ДНК у женщин с раком молочной железы и раком яичников из Республики Башкортостан с учетом формы заболевания и типа опухоли.

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

РМЖ – Рак молочной железы

РЯ – Рак яичников

ТНРМЖ – Трижды-негативный рак молочной железы

ГР+ HER2-РМЖ – Гормонозависимый рак молочной железы

РБ – Республика Башкортостан

ДНК – Дезоксирибонуклеиновая кислота

ПЦР – Полимеразная цепная реакция

NGS – Next generation sequencing (секвенирование следующего поколения)

ФФЗП – Фиксированная в формалине и заключённая в парафин

ИГХ – Иммуногистохимия

VUS – Variant of uncertain significance (варианты с неопределённым клиническим значением)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамов И.С. Диагностика наследственных опухолевых синдромов методом высокопроизводительного секвенирования. Опыт создания базы данных / И.С. Абрамов, Т.С. Лисица, А.М. Строганова, и др. // Клиническая практика. - 2021. - Т. 12. - №3. - С. 36-42.
2. Бермишева, М.А. Этнические особенности формирования генетической предрасположенности к развитию рака молочной железы / М.А. Бермишева, Н.В. Богданова, И.Р. Гилязова, и др. // Генетика. – 2018. – Т. 54. – №. 2. – С. 233-242.
3. Бермишева М.А. Генетическая структура и популяционные аспекты онкопатологии молочных желез и яичников. 03.02.07. - генетика / М.А. Бермишева // Диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук. – Уфа. - 2021. – 363 с.
4. Бермишева М. А. Распространенность мутации с.5161С>Т гена *BRCA1* у пациентов с онкологическими заболеваниями из Республики Башкортостан / М. А. Бермишева, Г. Ф. Зиннатуллина, И. Р. Гилязова, и др. // Успехи молекулярной онкологии. – 2021. – Т. 8, № 4. – С. 84-93.
5. Бровкина О.И. Гены *BRCA1* и *BRCA2*: популяционные особенности развития рака молочной железы у татарских женщин / О.И. Бровкина, М.Г. Гордиев, Л.Х. Шигапова и др. // Медицинская генетика. – 2016. – Т.15. – С.50-52.
6. Валова, Я.В. Исследование молекулярно-генетических основ наследственного и спорадического рака яичников. 1.5.7. - генетика / Я.В. Валова // Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук. – Уфа. – 2023. – 260 с.
7. Гервас П.А. Этнические аспекты наследственного рака молочной железы / П.А. Гервас, А.Ю. Молоков, Е.В. Панферова, и др. // Сибирский онкологический журнал. – 2019. – Т.18. – С.102–108.
8. Гордиев М. Г. Таргетное секвенирование нового поколения генов для выявления редких мутаций при наследственном раке молочной железы / М. Г.

- Гордиев, Д. Д. Сакаева, В.В. Петкау, и др. // Злокачественные опухоли. – 2018. – Т.3. – С.107–109.
9. Гришина К. А. Молекулярно-генетические маркеры молочной железы / К. А. Гришина, Т. А. Музаффарова, В. А. Хайленко, и др. // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2016. – Т.12. – С. 36–42.
10. Каприн, А.Д. Злокачественные новообразования в России в 2021 году (заболеваемость и смертность) / А. Д. Каприн, В. В. Старинский, А. О. Шахзадова // М.: ФГБУ «МНИОИ им. ПА Герцена» Минздрава России. – 2022. – 252 с.
11. Липатов О.Н. Опыт определения мутаций в гене *PIK3CA* у больных раком молочной железы в Республике Башкортостан / О.Н. Липатов, Н.И. Султанбаева, К.В. Меньшиков // Злокачественные опухоли. - 2020. – Т.3. – С.31-34.
12. Новикова Е.И. Исследование влияния генетического варианта с. 470Т> С в гене *SNEK2* на повышение риска развития рака молочной железы у населения Российской Федерации / Е.И. Новикова, В.К. Боженко, Е.А. Кудинова, и др. // Успехи молекулярной онкологии. – 2021. – Т. 8. – №. 1. – С. 26-31.
13. Патышева М.Р. Молекулярный фенотип клеток крови, ассоциированный с прогрессированием трижды негативного рака молочной железы / М.Р. Патышева, А.А. Фролова, О.Д. Брагина, и др. // Сибирский онкологический журнал. – 2023. – Т.22. - С.197-204.
14. Салиева Г. М. Сравнительная характеристика молекулярно-генетических особенностей наследственного рака молочной железы и рака яичников у пациентов республики Крым / Г. М. Салиева, А. В. Камышева, К. А. Алиев // Теоретические и практические аспекты современной медицины. – 2023. – С. 180-182.
15. Строганова А.М. Анализ результатов многолетнего массового скрининга мутаций в генах *BRCA1/2* у больных с различными типами злокачественных новообразований / А.М. Строганова, Н.И. Поспехова, Д.А. Головина, и др. // РМЖ. Медицинское обозрение – 2022. – Т.6. – С. 297–308.

16. Тюляндина А. С. Практические рекомендации по лекарственному лечению рака яичников, первичного рака брюшины и рака маточных труб / А. С. Тюляндина, Л. А. Коломиец, К. Ю. Морхов, и др. // Злокачественные опухоли. – 2021. – Т.11. – С.158–171.
17. Честнова Т.В. Эпидемиология люминального гормонозависимого рака молочной железы и роль молекулярно-генетического исследования гена *PIK3CA* / Т.В. Честнова, М.И. Шатиришвили, Н.В. Ромашкина, и др. // ВНМТ. - 2024. – Т.1. – С. 26-31.
18. Фаисханова Р.Р. Особенности клинического течения и молекулярно-генетическая характеристика наследственного рака яичников. 3.1.6 онкология, лучевая терапия. 1.5.7.– генетика / Р.Р. Фаисханова // 203 Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. – Москва. – 2021. – 190 с.
19. Цуканов, К. Ю. Рак молочной железы: анализ спектра соматических драйверных мутаций с применением высокопроизводительного секвенирования / К. Ю. Цуканов, А. Ю. Красненко, Д. О. Коростин, и др. // Вестник РГМУ. - 2017. - №6. - С. 52–58.
20. Abdel-Razeq H. Prevalence and predictors of germline *BRCA1* and *BRCA2* mutations among young patients with breast cancer in Jordan / H. Abdel-Razeq, L. AbuJamous, M. Abunasser, et al. // Sci Rep. – 2021. – Vol.11. – P. 1490.
21. Abdulaziz G. Assessment of gynecological and lifestyle-related risk factors of ovarian cancer / G. Abdulaziz, N.A. Welc, E. Gąsiorowska, E. Nowak-Markwitz // Prz. Menopauzalny. – 2021. – Vol. 20, № 4. – P. 184-192.
22. Abkevich V. Analysis of missense variation in human *BRCA1* in the context of interspecific sequence variation / V. Abkevich, A. Zharkikh, A.M. Deffenbaugh et al. // J Med Genet. – 2004. – Vol.7. – P. 492-507.
23. Alam Md S. Statistics and network-based approaches to identify molecular mechanisms that drive the progression of breast cancer / Md S. Alam, Md. M. Rahaman, A. Sultana, et al. // Comput. Biol. Med. – 2022. – № 145. – P. 105508.

24. Ali A.T. Epidemiology and risk factors for ovarian cancer / A.T. Ali, O. Al-Ani, F. Al-Ani // *Prz. Menopauzalny*. – 2023. – Vol. 22, № 2. – P. 93–104.
25. Ali A.T. Towards prevention of ovarian cancer / A.T. Ali // *Curr. Cancer Drug Targets*. – 2018. – Vol. 18, № 6. – P. 522–537.
26. Al-Shamsi H.O. Molecular Spectra and Frequency Patterns of Somatic Mutations in Arab Women with Breast Cancer / H.O. Al-Shamsi, I. Abu-Gheida, A.S. Abdulsamad, et al. // *Oncologist*. – 2021. – Vol.11. – P.2086-2089.
27. Amante S. Low-grade serous epithelial ovarian cancer: a comprehensive review and update for radiologists / S. Amante, F. Santos, T.M. Cunha // *Insights Imaging*. – 2021. – Vol. 12, № 1. – P. 60.
28. Anastasi E. Recent insight about he4 role in ovarian cancer oncogenesis / E. Anastasi, A. Farina, T. Granato, et al. // *Int. J. Mol. Sci*. – 2023. – Vol. 24, № 13. – P. 10479.
29. André F. Alpelisib for *PIK3CA*-mutated, hormone receptor–positive advanced breast cancer / F. André, E. Ciruelos, G. Rubovszky, et al. // *New England Journal of Medicine*. – 2019. – T. 380. – №. 20. – C. 1929-1940.
30. Antoniou A.C. Breast-cancer risk in families with mutations in *PALB2* / A.C. Antoniou, S. Casadei, T. Heikkinen, et al. // *New Engl. J. Med*. – 2014. – Vol. 371, № 6. – P. 497–506.
31. Asaka S. Analysis of telomere lengths in p53 signatures and incidental serous tubal intraepithelial carcinomas without concurrent ovarian cancer / S. Asaka, C. Davis, S.-F. Lin, et al. // *Am. J. Surg. Pathol*. – 2019. – Vol. 43, № 8. – P. 1083–1091.
32. Bachmann C. New achievements from molecular biology and treatment options for refractory/relapsed ovarian cancer – a systematic review / C. Bachmann // *Cancers*. – 2023. – Vol. 15, № 22. – P. 5356.
33. Baer R. The BRCA1/BARD1 heterodimer, a tumor suppressor complex with ubiquitin E3 ligase activity / R. Baer, T. Ludwig // *Current Opinion in Genetics & Development*. – 2002. – Vol. 12. – P. 86–91.

34. Bąk A. A risk of breast cancer in women - carriers of constitutional *CHEK2* gene mutations, originating from the North - Central Poland / A. Bąk, H. Janiszewska, A. Junkiert-Czarnecka, et al. // *Hered Cancer Clin Pract.* – 2014. – Vol.12. – P.10.
35. Barkardottir R.B. Haplotype analysis in Icelandic and Finnish *BRCA2* 999del5 breast cancer families / R.B. Barkardottir, L. Sarantaus, A. Arason, et al. // *Eur J Hum Genet.* – 2001. – Vol.10. – P.773-779.
36. Barnes D.R. Consortium of Investigators of Modifiers of *BRCA* and *BRCA2*. Polygenic risk scores and breast and epithelial ovarian cancer risks for carriers of *BRCA1* and *BRCA2* pathogenic variants / D.R. Barnes, M.A. Rookus, L. McGuffog // *Genet Med.* – 2020. – Vol.10. – P.1653-1666.
37. Beer A. A rare *PALB2* germline variant causing G2/M cell cycle arrest is associated with isolated myelosarcoma in infancy / A. Beer, R. Beck, A. Schedel, et al. // *Mol Genet Genomic Med.* – 2021. – Vol. – P.1746.
38. Beirne J.P. Defining the molecular evolution of extrauterine high grade serous carcinoma / J.P. Beirne, D.G. McArt, A. Roddy, et al. // *Gynecol. Oncol.* – 2019. – Vol. 155, № 2. – P. 305–317.
39. Belaiba F. *BRCA1/BRCA2* Mutations Shaped by Ancient Consanguinity Practice in Southern Mediterranean Populations / F. Belaiba, I. Medimegh, Y. Bidet, et al. // *Asian Pac J Cancer Prev.* – 2018. – Vol.19. – P.2963-2972.
40. Bellcross C.A. Hereditary breast and ovarian cancer / C.A. Bellcross // *Obstetr. Gynecol. Clin. North Am.* – 2022. – Vol. 49, № 1. – P. 117–147.
41. Ben-Dror, J. The history of early breast cancer treatment / J. Ben-Dror, M. Shalamov, A. Sonnenblick // *Genes.* – 2022. – Vol. 13, № 6. – P. 960.
42. Bensam M. Detection of new point mutations of *BRCA1* and *BRCA2* in breast cancer patients / M. Bensam, E. Hafez, D. Awad, et al. // *Biochem Genet.* – 2014. – Vol.52. – P.15-28.
43. Berek J.S. FIGO staging of endometrial cancer: 2023 / J.S. Berek, X. Matias-Guiu, C. Creutzberg, et al. // *Int. J. Gynecol. Obstetr.* – 2023. – Vol. 162, № 2. – P. 383–394.

44. Berger, M.F. The emerging clinical relevance of genomics in cancer medicine / M.F. Berger, E.R. Mardis // *Nat. Rev. Clin. Oncol.* – 2018. – Vol. 15, № 6. – P. 353–365.
45. Bhaskaran S.P. Germline variation in *BRCA1/2* is highly ethnic-specific: Evidence from over 30,000 Chinese hereditary breast and ovarian cancer patients / S.P. Bhaskaran, K. Chandratre, H. Gupta // *Int J Cancer.* – 2019. – Vol.15. – P.962-973.
46. Bishop M.R. Gene panel screening for insight towards breast cancer susceptibility in different ethnicities / M.R. Bishop, S.M. Omeler-Fenaud, A.L.W. Huskey, N.D. Merner // *PLoS One.* – 2020. – Vol.15. – P.82-95.
47. Blandino G. New therapeutic strategies to treat human cancers expressing mutant p53 proteins / Blandino G, Di Agostino S // *J Exp Clin Cancer Res.* – 2018. – Vol.37. – P.30.
48. Bodewes F.T. Mammographic breast density and the risk of breast cancer: A systematic review and meta-analysis / F.T.H. Bodewes, A. A. Van Asselt, M. D. Dorrius et al. // *The Breast.* – 2022. – Vol. 66. – P. 62–68.
49. Bufman H. Breast cancer diagnosed after age 70 years in Israeli *BRCA1/BRCA2* pathogenic sequence variant carriers: a single institution experience / Bufman H, Faermann R, Halshtok-Neiman O., et al. // *Breast Cancer Res Treat.* – 2024. – Vol. – 205. – P.281-285.
50. Bogdanova N.V. A Splice Site Variant of *CDK12* and Breast Cancer in Three Eurasian Populations // N. V. Bogdanova, P. Schürmann, Y. Valova, et al. // *Front Oncol.* – 2019. – Vol. 9. – P.493.
51. Bolze A. The Potential of Genetics in Identifying Women at Lower Risk of Breast Cancer / A. Bolze, E.T. Cirulli, C. Hajek, et al. // *JAMA Oncol.* – 2024. – Vol. – P.236-239.
52. Bonnet E. Alterations in Homologous Recombination-Related Genes and Distinct Platinum Response in Metastatic Triple-Negative Breast Cancers: A Subgroup Analysis of the ProfILER-01 Trial / E. Bonnet, V. Haddad, S. Quesada, et al. // *J Pers Med.* – 2022. – Vol. – P.1595.

53. Boonen R.A. *CHEK2* variants: linking functional impact to cancer risk / R.A.C.M. Boonen, M.P.G. Vreeswijk, H. van Attikum, et al. // *Trends Cancer*. – 2022. – Vol. 8 – P.759-770.
54. Bora E. Evaluation of hereditary/familial breast cancer patients with multigene targeted next generation sequencing panel and MLPA analysis in Turkey / E. Bora, A.O. Caglayan, A. Koc, et al. // *Cancer Genetics*. – 2022. – T. 262. – C.118-133.
55. Borella F. Immune checkpoint inhibitors in epithelial ovarian cancer: an overview on efficacy and future perspectives / F. Borella, E. Ghisoni, G. Giannone, et al. // *Diagnostics*. – 2020. – Vol. 10, № 3. – P. 146.
56. Borsos B.N. BC-miR: monitoring breast cancer-related miRNA profile in blood sera – a prosperous approach for tumor detection / B.N. Borsos, Z.G. Páhi, Z. Ujfaludi, et al. // *Cells*. – 2022. – Vol. 11, № 17. – P. 2721.
57. Bouaoun L. *TP53* Variations in Human Cancers: New Lessons from the IARC *TP53* Database and Genomics Data / L. Bouaoun, D. Sonkin, M. Ardin, et al. // *Hum Mutat*. – 2016. – Vol. 37. – P. 865-876.
58. Bowen D. The role of stress in breast cancer incidence: risk factors, interventions, and directions for the future / D. Bowen, S.F. Poole, M. White et al. // *Int. J. Environ. Res. Public Health*. – 2021. – Vol. 18, № 4. – P. 1871.
59. Finkelman B.S. Breast and Ovarian Cancer Risk and Risk Reduction in Jewish *BRCA1/2* Mutation Carriers / B.S. Finkelman, W.S. Rubinstein, S. Friedman, et al. // *JCO* 30. – 2012. – P.1321-1328.
60. Britt K.L. Key steps for effective breast cancer prevention / K.L. Britt, J. Cuzick, K.-A. Phillips // *Nat. Rev. Cancer*. – 2020. – Vol. 20, № 8. – P. 417–436.
61. Brovkina O. The contribution of Fanconi anemia genes mutations in breast cancer development / O. Brovkina, M. Gordiev, R. Enikeev, et al. // *FEBS OPEN BIO*. – 2021. – T. 11. – C. 329-329.
62. Brovkina O.I. The Ethnic-Specific Spectrum of Germline Nucleotide Variants in DNA Damage Response and Repair Genes in Hereditary Breast and Ovarian Cancer Patients of Tatar Descent / O.I. Brovkina, L. Shigapova, D.A. Chudakova, et al. // *Front Oncol*. – 2018. – Vol.8. – P.421.

63. Brown L.J. Epigenetic Therapies and Biomarkers in Breast Cancer / L.J. Brown, J. Achinger-Kawecka, N. Portman et al. *Cancers (Basel)*. – 2022. – Vol. 14. – P.474.
64. Buchholz T.A. Molecular biology and genetics of breast cancer development: a clinical perspective / T.A. Buchholz, D.E. Wazer // *Semin Radiat Oncol*. – 2002. – Vol. – P.285-295.
65. Buono G. Circulating tumor DNA analysis in breast cancer: Is it ready for prime-time? / G. Buono, L. Gerratana, M. Bulfoni, et al. // *Cancer Treat. Rev.* – 2019. – Vol. 73. – P. 73–83.
66. Buratti E. Aberrant 5' splice sites in human disease genes: mutation pattern, nucleotide structure and comparison of computational tools that predict their utilization / E. Buratti, M. Chivers, J. Královicová, et al. // *Nucleic Acids Res.* - 2007. – Vol.13. – P. 4250-42.
67. Burstein H.J. Adjuvant endocrine therapy for women with hormone receptor-positive breast cancer: ASCO clinical practice guideline focused update / H.J. Burstein, C. Lacchetti, H. Anderson // *J. Clin. Oncol.* – 2019. – Vol. 37, № 5. – P. 423–438.
68. Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma // *Nature*. – 2012. – Vol. 474. – P.609-615.
69. Cao W. *BRCA1* Germline mutations and tumor characteristics in eastern Chinese women with familial breast cancer / W. Cao, X. Wang, Y. Gao, et al. // *Anat Rec (Hoboken)*. - 2013. – Vol.296. – P.273–278.
70. Cardinali B. Targeting *PIK3CA* actionable mutations in the circulome: a proof of concept in metastatic breast cancer / B. Cardinali, G. De Luca, R. Tasso. et al. // *Int. J. Mol. Sci.* – 2022. – Vol. 23, № 11. – P. 6320.
71. Carnevali I. Inherited cancer syndromes in 220 Italian ovarian cancer patients / I. Carnevali, C. Riva, A.M. Chiaravalli, et al. // *Cancer Genet.* – 2019. – Vol. 237. – P. 55–62.
72. Castéra L. Next-generation sequencing for the diagnosis of hereditary breast and ovarian cancer using genomic capture targeting multiple candidate genes / L.

- Castéra, S. Krieger, A. Rousselin, et al. // *Eur J Hum Genet.* – 2014. – Vol.22. – P.1305-1313.
- 73.Castillo-Guardiola V. Next step in molecular genetics of hereditary breast/ovarian cancer: Multigene panel testing in clinical actionably genes and prioritization algorithms in the study of variants of uncertain significance / V. Castillo-Guardiola, L. Rosado-Jiménez, M.D. Sarabia-Meseguer // *Eur J Med Genet.* – 2022. – Vol.65. – P.104-468.
- 74.Castro E. Germline *BRCA* mutations are associated with higher risk of nodal involvement, distant metastasis, and poor survival outcomes in prostate cancer / E. Castro, C. Goh, D. Olmos, et al. // *J Clin Oncol.* – 2013. – Vol.31. – P.1748-1757.
- 75.Chang A.J. High-risk prostate cancer—classification and therapy / A.J. Chang, K.A. Autio, M. Roach, H.I. Scher // *Nat. Rev. Clin. Oncol.* – 2014. – Vol. 11, № 6. – P. 308–323.
- 76.Chang M.T. Identifying recurrent mutations in cancer reveals widespread lineage diversity and mutational specificity / M. Chang, S. Asthana, S.P. Gao, et al. // *Nat Biotechnol.* – 2016. – Vol.34. – P.155-163.
- 77.Chang Y.S. Pathway mutations in breast cancer using whole-exome sequencing / Y.S. Chang, C.M. Chang, C.Y. Lin, et al. // *Oncol. Res. Featuring Preclin. Clin. Cancer Ther.* – 2020. – Vol. 28, № 2. – P. 107–116.
- 78.Chehab N.H. Chk2/hCds1 functions as a DNA damage checkpoint in G(1) by stabilizing p53 / N.H. Chehab, A. Malikzay, M. Appel, et al. // *Genes Dev.* – 2000. –Vol.14. – P.278-288.
- 79.Chen H. Association of *PIK3CA* mutation with outcomes in HER2-positive breast cancer treated with anti-HER2 therapy: A meta-analysis and bioinformatic analysis of TCGA-BRCA data / H. Chen, X. Hu, D. Wang et al. // *Transl Oncol.* – 2023. – Vol.37. – P. 101738.
- 80.Choi B. Axillary staging in ductal carcinoma in situ with microinvasion: A meta-analysis / B. Choi, L. Jegatheeswaran, M. Nakhoul, et al. // *Surg. Oncol.* – 2021. – Vol. 37. – P. 101557.

81. Choi Y. ER β isoforms have differential clinical significance in breast cancer subtypes and subgroups / Y. Choi, H. Kim, S. Pollack // *Cur. Iss. Mol. Biol.* – 2022. – Vol. 44, № 4. – P. 1564–1586.
82. Choi Y. Estrogen receptor β expression and its clinical implication in breast cancers: favorable or unfavorable? / Y. Choi // *J. Breast. Cancer.* – 2022. – Vol. 25, № 2. – P. 75.
83. Chun K. Assessing copy number aberrations and copy-neutral loss-of-heterozygosity across the genome as best practice: An evidence-based review from the Cancer Genomics Consortium (CGC) working group for chronic lymphocytic leukemia / K. Chun, G.D. Wenger, A. Chaubey, et al. // *Cancer Genet.* – 2018. – Vol.3. – P.236-250.
84. Cirillo E. Progressive Depletion of B and T Lymphocytes in Patients with Ataxia Telangiectasia: Results of the Italian Primary Immunodeficiency Network / E. Cirillo, A. Polizzi, A. Soresina, et al. // *J Clin Immunol.* – 2022. – Vol.42. – P.783-797.
85. Claussen C. Treatment of recurrent epithelial ovarian cancer / C. Claussen, A. Rody, L. Hanker // *Geburtshilfe Frauenheilkd.* – 2020. – Vol. 80, № 12. – P. 1195–1204.
86. Clusan L. A basic review on estrogen receptor signaling pathways in breast cancer / L. Clusan, F. Ferrière, G. Flouriot, et al. // *International journal of molecular sciences.* – 2023. – T. 24. – №. 7. – C. 6834.
87. Cobb, L. Novel therapeutics in low-grade serous ovarian cancer / L. Cobb, D. Gershenson // *Int. J. Gynecol. Cancer.* – 2023. – Vol. 33, № 3. – P. 377–384.
88. Colas C. Decoding hereditary breast cancer» benefits and questions from multigene panel testing / C. Colas, L. Golmard, A. de Pauw, et al. // *Breast.* – 2019. – Vol. 45. – P. 29–35.
89. Combrink H.M. Mutations in *BRCA*-related breast and ovarian cancer in the South African Indian population: A descriptive study / H.M. Combrink, J. Oosthuizen, B. Visser, et al. // *Cancer Genet.* – 2021. – Vol. – P.258-259.

90. Collet A. Pros and cons of HaloPlex enrichment in cancer predisposition genetic diagnosis / A. Collet, J. Tarabeux, E. Girard // *AIMS Genetics*. – 2015. – T. 2. – №. 04. – P. 263-280.
91. Corso G. E-cadherin deregulation in breast cancer / G. Corso, J. Figueiredo, De Angelis, et al. // *J. Cell. Mol. Med.* – 2020. – Vol. 24, № 11. – P. 5930–5936.
92. Corso G. Hereditary gastric and breast cancer syndromes related to CDH1 germline mutation: a multidisciplinary clinical review / G. Corso, G. Montagna, J. Figueiredo, et al. // *Cancers*. – 2020. – Vol. 202012, № 6. – P. 1598.
93. Coscia F. Integrative proteomic profiling of ovarian cancer cell lines reveals precursor cell associated proteins and functional status / F. Coscia, K.M. Watters, M. Curtis, et al. // *Nat. Communicat.* – 2016. – Vol. 7, № 1. – P. 12645.
94. Couch F.J. Inherited mutations in 17 breast cancer susceptibility genes among a large triple-negative breast cancer cohort unselected for family history of breast cancer / F.J. Couch, S.N. Hart, P. Sharma, et al. // *J Clin Oncol.* – 2015. – Vol. 33. – P. 304-311.
95. Cserni G. Triple-negative breast cancer histological subtypes with a favourable prognosis / G. Cserni, C.M. Quinn, M.P. Foschini, et al. // *Cancers*. – 2021. – Vol. 13, № 22. – P. 5694.
96. Cucciniello L. Tailoring adjuvant endocrine therapy in early breast cancer: When, how, and how long? / L. Cucciniello, L. Gerratana, L. Del Mastro, et al. // *Can. Treatm. Rev.* – 2022. – Vol. 110. – P. 102445.
97. Cybulski C. Risk of breast cancer in women with a *CHEK2* mutation with and without a family history of breast cancer / C. Cybulski, D. Wokołorczyk, A. Jakubowska // *J Clin Oncol.* – 2011. – Vol. 29. – P. 3747-3752.
98. Dean M. Factors that differentiate cancer risk management decisions among females with pathogenic/likely pathogenic variants in *PALB2*, *CHEK2*, and *ATM* / M. Dean, A.L. Tezak, S. Johnson // *Genet Med.* – 2023. – Vol. 25. – P. 100945.
99. Del Valle J. Exploring the Role of Mutations in Fanconi Anemia Genes in Hereditary Cancer Patients / J. Del Valle, P. Rofes, J. Moreno-Cabrera, et al. // *Cancers (Basel)*. – 2020. – Vol. 12. – P. 829.

100. Deshwal S. Monoamine oxidase-dependent endoplasmic reticulum-mitochondria dysfunction and mast cell degranulation lead to adverse cardiac remodeling in diabetes / S. Deshwal, M. Forkink, C. Hu, et al. // *Cell Death Differ.* – 2018. – Vol.9. – P.1671-1685.
101. Dochez V. Biomarkers and algorithms for diagnosis of ovarian cancer: CA125, HE4, RMI and ROMA, a review / V. Dochez, H. Caillon, E. Vaucel, et al. // *J. Ovarian Res.* – 2019. – Vol. 12, № 1. – P. 28.
102. Dominguez-Valentin M. Cancer risks by gene, age, and gender in 6350 carriers of pathogenic mismatch repair variants: findings from the prospective lynch syndrome database / M. Dominguez-Valentin, J.R. Sampson, T.T. Seppälä, et al. // *Genet. Med.* – 2020. – Vol. 22, № 1. – P. 15–25.
103. Dominguez-Valentin M. Potentially pathogenic germline *CHEK2* c.319+2T>A among multiple early-onset cancer families / M. Dominguez-Valentin, S. Nakken, H. Tubeuf, et al. // *Fam Cancer.* - 2018. – Vol.1. – P.141-153.
104. Dong C. Activation of PI3K/AKT/mTOR pathway causes drug resistance in breast cancer / C. Dong, J. Wu, Y. Chen, et al. // *Front. Pharmacol.* – 2021. – № 12. – P. 628690.
105. Doerk T. Two truncating variants in *FANCC* and breast cancer risk / T. Doerk, P. Peterlongo, A. Mannermaa, et al. // *Sci Rep.* – 2019. – Vol.9. – P.12524.
106. Dorling L. Breast Cancer Risk Genes - Association Analysis in More than 113,000 Women / L. Dorling, S. Carvalho, J. Allen, et al. // *N Engl J Med.* – 2021. – Vol.5. – P.428-439.
107. Edvardson S. Heterozygous *RNF13* Gain-of-Function Variants Are Associated with Congenital Microcephaly, Epileptic Encephalopathy, Blindness, and Failure to Thrive / S. Edvardson, C.M. Nicolae, G.J. Noh, et al. // *Am J Hum Genet.* – 2019. – Vol.104. – P.179-185.
108. ElBiad O. Prevalence of specific and recurrent/founder pathogenic variants in *BRCA* genes in breast and ovarian cancer in North Africa / O. ElBiad, A. Laraqui, F. El Boukhrissi, et al. // *BMC Cancer.* – 2022. – Vol.22. – P.208.

109. Elsakov P. The contribution of founder mutations in *BRCA1* to breast and ovarian cancer in Lithuania / P. Elsakov, J. Kurtinaitis, S. Petraitis, et al. // *Clin Genet.* – 2010. – Vol.78. – P.373-376.
110. Emelyanova M. Platinum-based chemotherapy for pancreatic cancer: impact of mutations in the homologous recombination repair and Fanconi anemia genes / M. Emelyanova, E. Pudova, D. Khomich, et al. // *Ther Adv Med Oncol.* – 2022. – Vol.15. – P. 36-39.
111. Escala-Garcia M. Breast cancer risk factors and their effects on survival: a Mendelian randomisation study / M. Escala-Garcia, A. Morra, S. Canisius, et al. // *BMC Med.* – 2020. – Vol. 18, № 1. – P. 327.
112. Esteban-Jurado C. The Fanconi anemia DNA damage repair pathway in the spotlight for germline predisposition to colorectal cancer / C. Esteban-Jurado, S. Franch-Expósito, J. Muñoz, et al. // *Eur J Hum Genet.* – 2016. – Vol. – 24. – P. 1501–1505.
113. Fabbro M. BRCA1-BARD1 complexes are required for p53Ser-15 phosphorylation and a G1/S arrest following ionizing radiation- induced DNA damage / M. Fabbro, K. Savage, K. Hobson, et al. // *The Journal of Biological Chemistry.* - 2004. – Vol. 279. – P. 31251–31258.
114. Felicio P.S. Whole-exome sequencing of non- *BRCA1/BRCA2* mutation carrier cases at high-risk for hereditary breast/ovarian cancer / P.S. Felicio, R.S. Grasel, N. Campacci, et al. // *Hum. Mutat.* – 2021. – Vol. 42, № 3. – P. 290–299
115. Feng Y. Breast cancer development and progression: Risk factors, cancer stem cells, signaling pathways, genomics, and molecular pathogenesis / Y. Feng, M. Spezia, S. Huang, et al. // *Genes Dis.* – 2018. – Vol. 5, № 2. – P. 77–106.
116. Ferris J.S. Risk factors for developing both primary breast and primary ovarian cancer: A systematic review / J.S. Ferris, D.A. Morgan, A.S. Tseng, et al. // *Crit. Rev. Oncol/Hematol.* – 2023. – № 190. – P. 104081.
117. Fierheller, C.T. The genetic analyses of french Canadians of quebec facilitate the characterization of new cancer predisposing genes implicated in hereditary

- breast and/or ovarian cancer syndrome families / C.T. Fierheller, W.M. Alenezi, P.N. Tonin // *Cancers*. – 2021. – Vol. 13, № 14. – P. 3406.
118. Findlay G.M. Accurate classification of *BRCA1* variants with saturation genome editing / G.M. Findlay, R.M. Daza, B. Martin, et al. // *Nature*. – 2018. – Vol. – P.217-222.
119. Flaum N. Optimization of polygenic risk scores in *BRCA1/2* pathogenic variant heterozygotes in epithelial ovarian cancer / N. Flaum, J. Bowes, M.J. Smith, et al. // *Genet. Med.* – 2023. – Vol. 25, № 9. – P. 100898.
120. Fraile-Bethencourt E. Functional classification of DNA variants by hybrid minigenes: Identification of 30 spliceogenic variants of *BRCA2* exons 17 and 18 / E. Fraile-Bethencourt, B. Díez-Gómez, V. Velásquez-Zapata, et al. // *PLoS Genet.* – 2017. – Vol.13. – P.1006.
121. Francis J.H. Increased risk of secondary uterine leiomyosarcoma in hereditary retinoblastoma / J.H. Francis, R.A. Kleinerman, J.M. Seddon, et al. // *Gynecol Oncol.* – 2012. – Vol.124. – P. 254-259.
122. Fu Z. Lifetime ovulatory years and risk of epithelial ovarian cancer: a multinational pooled analysis / Z. Fu, M.M. Brooks, S. Irvin, et al. // *J. Nat. Cancer Inst.* – Vol. 115, № 5. – P. 539–551.
123. Fusco N. Low-risk triple-negative breast cancers: Clinico-pathological and molecular features / N. Fusco, E. Sajjadi, K. Venetis, et al. // *Crit. Rev. Oncol/Hematol.* - 2022. – № 172. – P. 103643.
124. Garbe C. European Dermatology Forum (EDF), the European Association of Dermato-Oncology (EADO), and the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) / C. Garbe, T. Amaral, K. Peris, et al. // *European consensus-based interdisciplinary guideline for melanoma. Part 1: Diagnostics: Update 2022. Eur J Cancer.* – 2022. – Vol.170. – P.236-255.
125. Germani A. Beyond *BRCA1* and *BRCA2*: Deleterious Variants in DNA Repair Pathway Genes in Italian Families with Breast/Ovarian and Pancreatic Cancers / A. Germani, S. Petrucci, L. De Marchis, et al. // *J Clin Med.* – 2020. – Vol.9. – P.3003.

126. Gershenson D.M. Trametinib versus standard of care in patients with recurrent low-grade serous ovarian cancer (GOG 281/LOGS): an international, randomised, open-label, multicentre, phase 2/3 trial / D.M. Gershenson, A. Miller, W.E. Brady, et al. // *Lancet*. – 2022. – Vol. 399, № 10324. – P. 541–553.
127. Gervas P. A Systematic Review of the Prevalence of Germline BRCA mutations in North Asia Breast Cancer Patients / P. Gervas, M.Y. Aleksey, B.N. Nataliya, et al. // *Asian Pac J Cancer Prev*. - 2024. – Vol.6. – P.1891-1902.
128. Goidescu I.G. Prevalence of deleterious mutations among patients with breast cancer referred for multigene panel testing in a Romanian population / I.G. Goidescu, G. Caracostea, D.T. Eniu, et al. // *Clujul Med*. – 2018. – Vol.91. – P.157-165.
129. Gomes R. Haplotypic characterization of *BRCA1* c.5266dupC, the prevailing mutation in Brazilian hereditary breast/ovarian cancer / R. Gomes, B.L. Soares, P.S. Felicio, et al. // *Genet Mol Biol*. – 2020. – Vol.43. – P.2019.
130. Gorodetska, I. *BRCA* genes: the role in genome stability, cancer stemness and therapy resistance / I. Gorodetska, I. Kozeretska, A. Dubrovskaya // *J. Cancer*. – 2019. – Vol. 10, № 9. – P. 2109–2127.
131. Gorodnova T. *BRCA1*-associated and sporadic ovarian carcinomas: outcomes of primary cytoreductive surgery or neoadjuvant chemotherapy / T. Gorodnova, A. Sokolenko, V. Ni, et al. // *Int. J. Gynecol. Cancer*. – 2019. – Vol. 29, № 4. – P.
132. Gremke N. NGS-Guided Precision Oncology in Breast Cancer and Gynecological Tumors-A Retrospective Molecular Tumor Board Analysis / N. Gremke, F.R. Rodepeter, J. Teply-Szymanski, et al. // *Cancers (Basel)*. - 2024. – Vol.16. – P.1561.
133. Grosselin K. High-throughput single-cell ChIP-seq identifies heterogeneity of chromatin states in breast cancer / K. Grosselin, A. Durand, J. Marsolier, et al. // *Nat. Genet*. – 2019. – Vol. 51, № 6. – P. 1060–1066.
134. Guerrero-Zotano A. PI3K/AKT/mTOR: role in breast cancer progression, drug resistance, and treatment / A. Guerrero-Zotano, I.A. Mayer, C.L. Arteaga // *Can. Metastas. Rev*. – 2016. – Vol. 35, № 4. – P. 515–524.

135. Guidozzi F. Endometriosis-associated cancer / F. Guidozzi // *Climacteric*. – 2021. – Vol. 24, № 6. – P. 587–592.
136. Gymnopoulos M. Rare cancer-specific mutations in *PIK3CA* show gain of function / M. Gymnopoulos, M. Elsliger, P. Vogt // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2007. – Vol.104. – P.5569-5574.
137. Haddad S.A. Sequencing systemic therapy in hormone-receptor positive metastatic breast cancer: a modern paradigm / S.A. Haddad, D.S. Dizon, S.L. Graff // *Chin Clin Oncol*. – 2023. – Vol.4. – P.42.
138. Han W. Next-generation sequencing-based biomarkers in breast cancer / W. Han, W. Lim // *Adv. Exp. Med. Biol*. – 2021. – № 1187. – P. 323–335.
139. Hanker A.B. Challenges for the clinical development of PI3K inhibitors: strategies to improve their impact in solid tumors / A.B. Hanker, V. Kaklamani, C.L. Arteaga, et al.//*Cancer discovery*. – 2019. – T. 9. – №. 4. – C. 482-491.
140. Hannafon B.N. Plasma exosome microRNAs are indicative of breast cancer / B.N. Hannafon, Y.D. Trigoso, C.L. Calloway et al. // *Breast Cancer Res*. – 2016. – Vol. 18, № 1. – P. 90.
141. Hao D. Integrated analysis reveals tubal- and ovarian-originated serous ovarian cancer and predicts differential therapeutic responses / D. Hao, J. Li, S. Jia, et al. // *Clin. Cancer Res*. – 2017. – Vol. 23, № 23. – P. 7400–7411.
142. Harbeck N. Breast cancer / N. Harbeck, F. Penault-Llorca, J. Cortes, et al. // *Nat. Rev. Dis. Prim*. – 2019. – Vol. 5, № 1. – P. 66.
143. Havranek O. Association of Germline *CHEK2* Gene Variants with Risk and Prognosis of Non-Hodgkin Lymphoma / O. Havranek, P. Kleiblova, J. Hojny, et al. // *PLoS One*. – 2015. – Vol.10. – P.819.
144. Hendrikse C.S.E. The potential of RAS/RAF/MEK/ERK (MAPK) signaling pathway inhibitors in ovarian cancer: A systematic review and meta-analysis / C.S.E. Hendrikse, P.M.M. Theelen, P. Van der Ploeg, et al. // *Gynecol. Oncol*. – 2023. – № 171. – P. 83–94.
145. Heramb C. *BRCA1* and *BRCA2* mutation spectrum - an update on mutation distribution in a large cancer genetics clinic in Norway / C. Heramb, T.

- Wangensteen, E.M. Grindedal, et al. // *Hered Cancer Clin Pract.* – 2018. – Vol.16. – P.3.
146. Herzog H. Targeted sequencing of plasma-derived vs. urinary cfDNA from patients with triple-negative breast cancer / H. Herzog, S. Dogan, B. Aktas, I. Nel // *Cancers.* – 2022. – Vol. 14, № 17. – P. 4101.
147. Hodges A.M. RheoScale: A tool to aggregate and quantify experimentally determined substitution outcomes for multiple variants at individual protein positions / A.M. Hodges, A.W. Fenton, L.L. Dougherty, et al. // *Hum Mutat.* – 2018. – Vol.12. – P.1814-1826.
148. Hodgson D. Analysis of mutation status and homologous recombination deficiency in tumors of patients with germline *BRCA1* or *BRCA2* mutations and metastatic breast cancer: OlympiAD / D. Hodgson, Z. Lai, S. Dearden, et al. // *Ann. Oncol.* - 2021. – Vol. 32, № 12. – P.
149. Hollander M.C. *PTEN* loss in the continuum of common cancers, rare syndromes and mouse models / M.C. Hollander, G.M. Blumenthal, P.A. Dennis // *Nat Rev Cancer.* – 2011. – Vol.11. – P.289-301.
150. Holsbø E. Metastatic breast cancer and pre-diagnostic blood gene expression profiles—the Norwegian women and cancer (NOWAC) post-genome cohort / E. Holsbø, K.S. Olsen // *Front. Oncol.* – 2020. – № 10. – P. 575461.
151. Hong R. Breast cancer: an up-to-date review and future perspectives / R. Hong, B. Xu // *Cancer Commun.* – 2022. – Vol. 42, № 10. – P. 913–936.
152. Hu C. A population-based study of genes previously implicated in breast cancer / C. Hu, S.N. Hart, R. Gnanaolivu et al. // *New England Journal of Medicine.* – 2021. – T. 384. – №. 5. – C. 440-451.
153. Huang J. Targeting the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in the treatment of human diseases: Current status, trends, and solutions / J. Huang, L. Chen, J. Wu et al. // *J. Med. Chem.* – 2022. – Vol. 65, № 24 – P. 16033–16061.
154. Huang X. Tumor suppressor function of miR-483-3p on breast cancer via targeting of the cyclin E1 gene / X. Huang, J. Lyu // *Exp. Ther. Med.* – 2018. – Vol. 16, № 3. – P. 2615-2620.

155. Huang C. Risk factors associated with epithelial ovarian cancer in women with endometriosis / C.Y. Huang, N.M. Cheng, P.H. Wang // Taiwan J. Obst. Gynecol. – 2020. – Vol. 59, № 3. – P. 353–355.
156. Huang D.S. Prevalence of deleterious ATM germline mutations in gastric cancer patients / D.S. Huang, H.Q. Tao, X.J. He, et al. // Oncotarget. – 2015. – Vol.6. – P.40953-40958.
157. Ibragimova M.K. Whole transcriptome analysis of breast cancer tumors during neoadjuvant chemotherapy: association with hematogenous metastasis / M.K. Ibragimova, M.M. Tsyganov, N.V. Litviakov // Int. J. Mol. Sci. – 2022. – Vol. 23, № 22. – P. 13906.
158. Imyanitov E.N. Hereditary cancer syndromes / E.N. Imyanitov, E.S. Kuligina, A.P. Sokolenko, et al. // World J. Clin. Oncol. – 2023. – Vol. 14, № 2. – P. 40–68.
159. Iyevleva A.G. Somatic loss of the remaining allele occurs approximately in half of CHEK2-driven breast cancers and is accompanied by a border-line increase of chromosomal instability / A.G. Iyevleva, S.N. Aleksakhina, A.P. Sokolenko, et al. // Breast Cancer Res. Treat. – 2022. – Vol. 192, № 2. – P. 283–291.
160. Jacobson A. Feasibility of integrating a mobile decision-support app into a multicomponent CME initiative: developing clinician competence at the point of care / A. Jacobson, C.L. Macfarlane, E. Pozniak // J. Eur. CME. – 2020. – Vol. 9, № 1. – P. 1834.
161. Janatova M. The *PALB2* gene is a strong candidate for clinical testing in BRCA1- and BRCA2-negative hereditary breast cancer / M. Janatova, Z. Kleibl, J. Stribrna, et al. // Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. – 2013. – Vol.12. – P. 2323-32.
162. Janavičius R. Haplotype analysis and ancient origin of the *BRCA1* c.4035delA Baltic founder mutation / R. Janavičius, V. Rudaitis, B.J. Feng, et al. // Eur J Med Genet. – 2013. – Vol.56. – P.125-30.
163. Janavičius R. Founder *BRCA1/2* mutations in the Europe: implications for hereditary breast-ovarian cancer prevention and control / Janavičius R // EPMA J. – 2010. – Vol.3. – P.397-412.

164. Jeibouei S. Personalized medicine in breast cancer: pharmacogenomics approaches / S. Jeibouei, M.E. Akbari, A. Kalbasi, et al. // *Pharmacogenom. Pers. Med.* – 2019. – № 12. – P. 59–73.
165. Jiang Y. Infertility and ovarian cancer risk: Evidence from nine prospective cohort studies / Y. Jiang, T. Gong, J. Zhang, et al. // *Int. J. Can.* – Vol. 147, № 8. – P. 2121–2130.
166. Jonsson P. Tumour lineage shapes *BRCA*-mediated phenotypes / P. Jonsson, C. Bandlamudi, M.L. Cheng, et al. // *Nature.* – 2019. – Vol. 571, № 7766. – P. 576–579.
167. Kanchi K.L. Integrated analysis of germline and somatic variants in ovarian cancer / K.L. Kanchi, K.J. Johnson, C. Lu, et al. // *Nat Commun.* – 2014. – Vol.5. – P.3156.
168. Kane E. Emergency admission and survival from aggressive non-Hodgkin lymphoma: A report from the UK's population-based Haematological Malignancy Research Network / E. Kane, D. Howell, A. Smith, et al. // *Eur J Cancer.* – 2017. – Vol.78. – P.53-60.
169. Karami F. A comprehensive focus on global spectrum of *BRCA1* and *BRCA2* mutations in breast cancer / F. Karami, P. Mehdipour // *Biomed Res Int.* - 2013. – Vol.92. – P.8562.
170. Karlsson T. Time-dependent effects of oral contraceptive use on breast, ovarian, and endometrial cancers / T. Karlsson, T. Johansson, J. Höglund, et al. // *Cancer Res.* – 2021. – Vol. 81, № 4. – P. 1153–1162.
171. Kartti S. Metagenomics analysis of breast microbiome highlights the abundance of rothia genus in tumor tissues / S. Kartti, H. Bendani, N. Boumajdi, et al. // *J. Pers. Med.* – 2023. – Vol. 13, № 3. – P. 450.
172. Kashyap D. Coding roles of long non-coding RNAs in breast cancer: Emerging molecular diagnostic biomarkers and potential therapeutic targets with special reference to chemotherapy resistance / D. Kashyap, R. Sharma, N. Goel, et al. // *Front. Genet.* – 2022. – Vol. 13. – P. 993.

173. Katsura C. Breast cancer: presentation, investigation and management / C. Katsura, I. Ogunmwonyi, H.K. Kankam, S. Saha // *Brit. J. Hosp. Med.* – 2022. – Vol. 83, № 2. – P. 1–7.
174. Kechin, A. A spectrum of *BRCA1* and *BRCA2* germline deleterious variants in ovarian cancer in Russia / A. Kechin, U. Boyarskikh, A. Barinov, et al. // *Breast Cancer Res Treat.* – 2023. – Vol. 197. – P.387–395.
175. Kerin E. P. Comparison of the Nottingham prognostic index and oncotype DX© recurrence score in predicting outcome in estrogen receptor positive breast cancer / E. P. Kerin, M.G. Davey, R.P. McLaughlin, et al. // *Breast.* – 2022. – № 66. – P. 227–235.
176. Keshavarzi F. *BRCA1* and *BRCA2* germline mutations in 85 Iranian breast cancer patients / F. Keshavarzi, G.R. Javadi, S. Zeinali // *Familial Cancer.* – 2012. – Vol.11. – P. 57–67.
177. Khakpour G. Methylomics of breast cancer: Seeking epimarkers in peripheral blood of young subjects / G. Khakpour, M. Noruzinia, P. Izadi, et al. // *Tumor Biol.* – 2017. – Vol. 39, № 3. – P. 101.
178. Khalili H. Identification of a common variant with potential pleiotropic effect on risk of inflammatory bowel disease and colorectal cancer / H. Khalili, J. Gong, H. Brenner, et al. // *Carcinogenesis.* – 2015. – Vol.39. – P.999-1007.
179. Khanlarkhani N. Metabolic risk factors of ovarian cancer: a review / N. Khanlarkhani, E. Azizi, F. Amidi, et al. // *JBRA Assist. Reprod.* – 2022. – Vol. 26, № 2. – P. 335-347.
180. Kim B. Diagnostic performance of CA 125, HE4, and risk of ovarian malignancy algorithm for ovarian cancer / B. Kim, Y. Park, B. Kim, et al. // *J. Clin. Lab. Anal.* – 2019. – Vol. 33, № 1. – P.226-224.
181. Kim M.C. Characteristics and prognosis of estrogen receptor low-positive breast cancer / M.C. Kim, M.H. Park, J.E. Choi, et al. // *J. Breast Canc.* – 2022. – Vol. 25, № 4. – P. 318.

182. Kleibl Z. Analysis of *CHEK2* FHA domain in Czech patients with sporadic breast cancer revealed distinct rare genetic alterations / Z. Kleibl, O. Havranek, J. Novotny, et al. // *Breast Cancer Res Treat.* – 2008. – Vol.112. – P.159-164.
183. Kleiblova P. Identification of deleterious germline *CHEK2* mutations and their association with breast and ovarian cancer / P. Kleiblova, L. Stolarova, K. Krizova, et al. // *Int. J. Canc.* – 2019. – Vol. 145, № 7. – P. 1782–1797.
184. Konecny M. The results of multigene panel sequencing in Slovak HBOC families / M. Konecny, K. Kosova, P. Tilandyova, et al. // *Neoplasma.* – 2021. – Vol.68. - P.652-664.
185. Kowalik A. *BRCA1* founder mutations and beyond in the Polish population: A single-institution *BRCA1/2* next-generation sequencing study / A. Kowalik, M. Siołek, J. Kopczyński, et al. // *PLoS One.* – 2018. – Vol.13. – P. 86.
186. Kratz C.P. Analysis of the li-fraumeni spectrum based on an international germline tp53 variant data set / C.P. Kratz, C. Freycon, K.N. Maxwell, et al. // *JAMA Oncol.* – 2021. – Vol. 7, № 12. – P. 1800.
187. Kraus C. Gene panel sequencing in familial breast/ovarian cancer patients identifies multiple novel mutations also in genes others than *BRCA1/2* / C. Kraus, J. Hoyer, G. Vasileiou // *Int J Cancer.* – 2017. – Vol.140. – P.95-102.
188. Kuchenbaecker K.B. Risks of breast, ovarian, and contralateral breast cancer for *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers / K.B. Kuchenbaecker, J.L. Hopper, D.R. Barnes, et al. // *JAMA.* – 2017. – Vol. 317, № 23. – P. 2402.
189. Kurian A.W. Genetic testing and results in a population-based cohort of breast cancer patients and ovarian cancer patients / A.W. Kurian, K.C. Ward, N. Howlader, et al. // *J. Clin. Oncol.* – 2019. – Vol. 37, № 15. – P. 1305–1315
190. Kurian A.W. Refining breast cancer risk stratification: additional genes, additional information / A.W. Kurian, A.C. Antoniou, S.M. Domchek // *Am. Soc. Clin. Oncol. Educat. Book.* – 2016. – № 36. – P. 44–56.
191. Kuznetsov SG. Mouse embryonic stem cell-based functional assay to evaluate mutations in *BRCA2* / Kuznetsov SG, Liu P, Sharan SK. // *Nat Med.* – 2008. – Vol.14. – P. - 875-881.

192. Kwong A. Comprehensive spectrum of *BRCA1* and *BRCA2* deleterious mutations in breast cancer in Asian countries / A. Kwong, V. Shin, J. Ho, et al. // *J Med Genet.* – 2016. – Vol.53. – P.15-23.
193. Laitman Y. The spectrum of *BRCA1* and *BRCA2* pathogenic sequence variants in Middle Eastern, North African, and South European countries / Y. Laitman, T.M. Friebel, D. Yannoukakos, et al. // *Hum Mutat.* – 2019. – Vol.40. – P.1-23.
194. Lecarpentier J. Variation in breast cancer risk associated with factors related to pregnancies according to truncating mutation location, in the French National *BRCA1* and *BRCA2* mutations carrier cohort (GENEPSO). J. Lecarpentier, C. Noguès, E. Mouret-Fourme, et al. // *Breast Cancer Res.* – 2012. – Vol.14. – P.99 .
195. Le Saux O. Challenges for immunotherapy for the treatment of platinum resistant ovarian cancer / O. Le Saux, I. Ray-Coquard, S.I. Labidi-Galy // *Sem. Canc. Biol.* – 2021. – № 77. – P. 127–143.
196. Lerner-Ellis J. Multigene panel testing for hereditary breast and ovarian cancer in the province of Ontario / J. Lerner-Ellis, C. Mighton, C. Lazaro et al. // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* – 2021. – Vol. 147, № 3. – P. 871–879.
197. Levin R.J. Prostate-induced orgasms: A concise review illustrated with a highly relevant case study / R.J. Levin // *Clin. Anat.* – 2018. – Vol. 31, № 1. – P. 81–85.
198. Lheureux S. Epithelial ovarian cancer / S. Lheureux, C. Gourley, I. Vergote, A.M. Oza // *Lancet.* – 2019. – Vol. 393, № 10177. – P. 1240–1253.
199. Lhota F. Hereditary truncating mutations of DNA repair and other genes in *BRCA1/BRCA2/PALB2*-negatively tested breast cancer patients / F. Lhota, P. Zemankova, P. Kleiblova, et al. // *Clin Genet.* – 2016. – Vol.90. – P. 324-333.
200. Li A. *BRCA* germline mutations in an unselected nationwide cohort of Chinese patients with ovarian cancer and healthy controls / A. Li, R. Xie, Q. Zhi, et al. // *Gynecol Oncol.* – 2018. – Vol.151. – P.145-152.

201. Li A. *BRCA* germline mutations in an unselected nationwide cohort of Chinese patients with ovarian cancer and healthy controls / Li A, Xie R, Zhi Q, et al. // *Gynecol Oncol.* - 2018. – Vol.151. – P.145-152.
202. Li D. Epigenetic repression of phosphatidylethanolamine N-methyltransferase (PEMT) in *BRCA1*-mutated breast cancer / D. Li, F. Bi, N. Chen, et al. // *Oncotarget.* – 2014. – Vol.5. – P.131513-131525.
203. Li J. Targeted massively parallel sequencing of a panel of putative breast cancer susceptibility genes in a large cohort of multiple-case breast and ovarian cancer families / J. Li, H. Meeks, B. Feng, et al. // *J Med Genet.* – 2016. – Vol.53. – P.34-42.
204. Li H. Targeting PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in breast cancer / H. Li, L. Prever, E.Hirsch, et al. // *Cancers.* – 2021. – Vol. 13, № 14. – P. 3517.
205. Li S. Loss of *PTEN* expression in breast cancer: association with clinicopathological characteristics and prognosis / S. Li, Y. Shen, M. Wang, et al. // *Oncotarget.* – 2017. – Vol. 8, № 19. – P. 32043–32054.
206. Li W. Targeting histone modifications in breast cancer: a precise weapon on the way / W. Li, H. Wu, S. Sui, et al. // *Front. Cell Dev. Biol.* – 2021. – № 9. – P. 736.
207. Li, S. A model for RAS mutation patterns in cancers: finding the sweet spot / S. Li, A. Balmain, C.M. Counter // *Nat. Rev. Cancer.* – 2018. – Vol. 18, № 12. – P. 767–777.
208. Liang Y. Metastatic heterogeneity of breast cancer: Molecular mechanism and potential therapeutic targets / Y. Liang, H. Zhang, X. Song, Q. Yang // *Sem. Cancer Biol.* – 2020. – № 60. – P. 14–27.
209. Lin M.T. Early detection of adrenocortical carcinoma in a child with Li-Fraumeni syndrome / M.T. Lin, J.J. Shieh, J.H. Chang, et al. // *Pediatr Blood Cancer.* – 2009. – Vol.52. – P.541-544.
210. Liu C. AZD5153 reverses palbociclib resistance in ovarian cancer by inhibiting cell cycle-related proteins and the MAPK/PI3K-AKT pathway / C. Liu, Y. Huang, T. Qin, et al. // *Canc. Letters.* – 2022. – № 528. – P. 31–44.

211. Liu F. Targeting ERK, an Achilles Heel of the MAPK pathway, in cancer therapy / F. Liu, X. Yang, M. Geng, et al. // *Acta Pharmaceut. Sinica B.* – 2018. – Vol. 8, № 4. – P. 552–562.
212. Liu J. Integrated exome and transcriptome sequencing reveals ZAK isoform usage in gastric cancer / J. Liu, M. McClelland, E.W. Stawiski, et al. // *Nat Commun.* – 2014. – Vol.5. – P.3830.
213. Loh H.Y. The regulatory role of microRNAs in breast cancer / H.Y. Loh, B.P. Norman, K.S. Lai, et al. // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – Vol. 20, № 19. – P. 4940.
214. Loibl S. Breast cancer / S. Loibl, P. Poortmans, M. Morrow et al. // *Lancet.* – 2021. – Vol. 397, № 10286. – P. 1750–1769.
215. Lopez G. Molecular insights into the classification of luminal breast cancers: the genomic heterogeneity of progesterone-negative tumors / G. Lopez, J. Costanza, M. Colleoni, et al. // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – Vol. 20, № 3. – P. 510.
216. Lovejoy L.A. Heritability of Low ER Staining/HER2-Breast Tumors: Are We Missing an Opportunity for Germline Testing? / L.A. Lovejoy, C.E. Turner, J.M. Wells, et al. // *Genes (Basel).* – 2020. Vol. 12. – P.1469.
217. Lyra P.C.M. Jr. Integration of functional assay data results provides strong evidence for classification of hundreds of *BRCA1* variants of uncertain significance / P.C.M. Jr Lyra, T.C. Nepomuceno, M.L.M. de Souza, et al. // *Genet Med.* – 2021. – Vol.2. – P.306-315.
218. Ma H. Body mass index at age 18 years and recent body mass index in relation to risk of breast cancer overall and ER/PR/HER2-defined subtypes in white women and African-American women: a pooled analysis / H. Ma, G. Ursin, X. Xu, et al. // *Breast Cancer Res.* – 2018. – Vol. 20, № 1. – P. 5.
219. Ma M. Predicting the molecular subtype of breast cancer and identifying interpretable imaging features using machine learning algorithms / M. Ma, R. Liu, C. Wen, et al. // *Eur. Radiol.* – 2022. – Vol. 32, № 3. – P. 1652–1662.
220. Madsen R. Cancer-Associated PIK3CA Mutations in Overgrowth Disorders / R. Madsen, B. Vanhaesebroeck, R. Semple // *Trends Mol Med.* – 2018. –Vol.24. – P.856-870.

221. Mahfoudh W. Contribution of *BRCA1* 5382insC mutation in triple negative breast cancer in Tunisia / W. Mahfoudh, I. Bettaieb, R. Ghedira // *J Transl Med.* – 2019. – Vol.17. – P.123.
222. Maksimenko J. Prognostic role of *BRCA1* mutation in patients with triple-negative breast cancer / J. Maksimenko, A. Irmejs, M. Nakazawa-Miklasevica // *Oncol Lett.* – 2014. – Vol.7. – P. - 278-284.
223. Mal R. Estrogen receptor beta (ER β): a ligand activated tumor suppressor / R. Mal, A. Magner, J. David, et al. // *Front. Oncol.* – 2020. – Vol. 10.
224. Manning-Geist B. MAPK pathway genetic alterations are associated with prolonged overall survival in low-grade serous ovarian carcinoma / B. Manning-Geist, S. Gordhandas, Y.L. Liu, et al. // *Clin. Cancer Res.* – 2022. – Vol. 28, № 20. – P. 4456–4465.
225. Martínez-Sáez O. Frequency and spectrum of *PIK3CA* somatic mutations in breast cancer / O. Martínez-Sáez, N. Chic, T. Pascual, et al. // *Breast Cancer.* – 2020. – Vol. 45. – P.126.
226. Martínez-Sánchez M. Retinoblastoma: from discovery to clinical management / M. Martínez-Sánchez, J. Hernandez-Monge, M. Rangel, V. Olivares-Illana // *FEBS J.* – 2022. – Vol. 289, № 15. – P. 4371–4382.
227. Mathioudaki A. Targeted sequencing reveals the somatic mutation landscape in a Swedish breast cancer cohort / A. Mathioudaki, V. Ljungström, M. Melin, et al. // *Scient. Rep.* – 2020. – Vol. 10, № 1. – P. 19304.
228. Meetei A. R. A novel ubiquitin ligase is deficient in Fanconi anemia / A. R. Meetei, J. P. de Winter, A. L. Medhurst, et al. // *Nature Genet.* – 2003. – Vol.35. – P.165–170.
229. Meisel C. Spectrum of genetic variants of *BRCA1* and *BRCA2* in a German single center study // C. Meisel, C. Sadowski, D. Kohlstedt, et al. // *Arch Gynecol Obstet.* – 2017. – Vol.295. – P.1227-1238.
230. Menghi F. The Tandem Duplicator Phenotype Is a Prevalent Genome-Wide Cancer Configuration Driven by Distinct Gene Mutations / F. Menghi, F.P. Barthel, V. Yadav, et al. // *Cancer Cell.* – 2018. – Vol.34. – P.197-210.

231. Menon U. Ovarian cancer population screening and mortality after long-term follow-up in the UK collaborative trial of ovarian cancer screening (UKCTOCS): a randomised controlled trial / U. Menon, A. Gentry-Maharaj, M. Burnell, et al. // *Lancet*. – 2021. – Vol. 397, № 10290. – P. 2182–2193.
232. Michaels E. Breast Cancer / E. Michaels, R.O. Worthington, J. Rusiecki // *Med. Clin. North Am.* – 2023. – Vol. 107, № 2. – P. 271–284.
233. Mikaelsdottir E.K. The Icelandic founder mutation BRCA2 999del5: analysis of expression / E.K. Mikaelsdottir, S. Valgeirsdottir, J.E. Eyfjord, T. Rafnar // *Breast Cancer Res.* – 2004. – Vol.6. – P.284-290.
234. Miles J.A. The Fanconi Anemia DNA Repair Pathway Is Regulated by an Interaction between Ubiquitin and the E2-like Fold Domain of FANCL / J.A. Miles, M.G. Frost, E. Carroll, et al. // *J. Biol. Chem.* – 2015. – Vol. 290. – P. 20995–21006
235. Minami A. Connection between Tumor Suppressor *BRCA1* and *PTEN* in Damaged DNA Repair / A. Minami, A. Nakanishi, Y. Ogura, et al. // *Front Oncol.* – 2014. – Vol.4. – P.318.
236. Minniakhmetov I. Search for pathogenic changes in *BRCA1/2* genes using mass parallel sequencing technology in patients with breast and ovarian cancer from the Republic of Bashkortostan / I. Minniakhmetov, E. Kagirova, O. Mashkov, R. Khusainova // *Probl. Oncol.* – 2022. – Vol. 68, № 1. – P. 48–54.
237. Mitsuuchi Y. The phosphatidylinositol 3-kinase/AKT signal transduction pathway plays a critical role in the expression of p21WAF1/CIP1/SDI1 induced by cisplatin and paclitaxel / Y. Mitsuuchi, S.W. Johnson, M. Selvakumaran, et al. // *Cancer Res.* – 2000. – Vol.60. – P.5390-5394.
238. Mitui M. *ATM* gene founder haplotypes and associated mutations in Polish families with ataxia-telangiectasia. M. Mitui, E. Bernatowska, B. Pietrucha // *Ann Hum Genet.* – 2005. – Vol.69. – P.657-664.
239. Moar K. Potential diagnostic and prognostic biomarkers for breast cancer: A compiled review / K. Moar, A. Pant, V. Saini, et al. // *Pathol. Res. Pract.* – 2023. – № 251. – P. 154893.

240. Momozawa Y. Germline pathogenic variants of 11 breast cancer genes in 7,051 Japanese patients and 11,241 controls / Y. Momozawa, Y. Iwasaki, M.T. Parsons, et al. // *Nat Commun.* – 2018. – Vol.6. – P.4083.
241. Moslemi M. The association between *ATM* variants and risk of breast cancer: a systematic review and meta-analysis / M. Moslemi, Y. Moradi, H. Dehghanbanadaki, et al. // *BMC Cancer.* – 2021. – Vol. 21, № 1. – P. 27.
242. Moujaber T. New therapeutic opportunities for women with low-grade serous ovarian cancer / T. Moujaber, R.L. Balleine, B. Gao, et al. // *Endocr. Relat. Canc.* – 2022. – Vol. 29, № 1. – P. 1–16.
243. Muendlein A. Evaluation of *BRCA1/2* mutational status among German and Austrian women with triple-negative breast cancer / A. Muendlein, B. Rohde, K. Gasser, et al. // *J Cancer Res Clin Oncol.* – 2015. – Vol.141. – P.2005–2012.
244. Murakami K. Endometriosis-associated ovarian cancer occurs early during follow-up of endometrial cysts / K. Murakami, Y. Kotani, R. Shiro, et al. // *Int. J. Clin. Oncol.* – 2020. – Vol. 25, № 1. – P. 51–58.
245. Murillo-Garzón V. WNT signalling in prostate cancer / V. Murillo-Garzón, R. Kypta // *Nat. Rev. Urol.* – 2017. – Vol. 14, № 11. – P. 683–696.
246. Nameki R. Transcription factors in epithelial ovarian cancer: histotype-specific drivers and novel therapeutic targets / R. Nameki, H. Chang, J. Reddy, et al. // *Pharmacol. Ther.* – 2021. – № 220. – P. 107722.
247. Narang A. Frequency spectrum of rare and clinically relevant markers in multiethnic Indian populations (ClinIndb): A resource for genomic medicine in India / A. Narang, B. Uppilli, A. Vivekanand, et al. // *Hum Mutat.* – 2020. – Vol.41. – P.1833-1847.
248. Nassar A. Frequency of Pathogenic Germline Mutations in Early and Late Onset Familial Breast Cancer Patients Using Multi-Gene Panel Sequencing: An Egyptian Study / A. Nassar, A.-R.N. Zekri, M.M. Kamel, et al. // *Genes.* – 2023. – Vol.14. – P.106.

249. Neidhardt G. Association between loss-of-function mutations within the FANCM gene and early-onset familial breast cancer / G. Neidhardt, J. Hauke, J. Ramser, et al. // *JAMA Oncol.* – 2017. – Vol. 3, № 9. – P. 1245.
250. Nepomuceno T. The role of *PALB2* in the DNA damage response and cancer predisposition / T. Nepomuceno, G. De Gregoriis, F.M.B. de Oliveira, et al. // *Int. J. Mol. Sci.* – 2017. – Vol. 18, № 9. – P. 1886.
251. Nguyen-Nielsen M. Diagnostic and therapeutic strategies for prostate cancer / M. Nguyen-Nielsen, M. Borre // *Semin. Nucl. Med.* – 2016. – Vol. 46, № 6. – P. 484–490.
252. Niehoff N. Polycyclic aromatic hydrocarbons and postmenopausal breast cancer: An evaluation of effect measure modification by body mass index and weight change / N. Niehoff, A.J. White, L.E. McCullough, et al. // *Environment. Res.* – 2017. – № 152. – P. 17–25.
253. Norquist B.M. Inherited mutations in women with ovarian carcinoma / B.M. Norquist, M.I. Harrell, M.F. Brady, et al. // *JAMA Oncol.* – 2016. – Vol. 2, № 4. – P. 482.
254. Nykamp K. Sherlock: a comprehensive refinement of the ACMG-AMP variant classification criteria / K. Nykamp, M. Anderson, M. Powers, et al. // *Genet Med.* – 2017. Vol.10. – P.1105-1117.
255. O’Shea A.S. Clinical staging of ovarian cancer / A.S. O’Shea // *Methods Mol. Biol.* – 2022. – № 2424. – P. 3-10.
256. Ochnik, A.M. Combination therapy approaches to target insulin-like growth factor receptor signaling in breast cancer / A.M. Ochnik, R.C. Baxter // *Endocr. Relat. Cancer.* – 2016. – Vol. 23, № 11. – P.527–550.
257. Öfverholm A. Extended genetic analysis and tumor characteristics in over 4600 women with suspected hereditary breast and ovarian cancer / A. Öfverholm, T. Törngren, A. Rosén, et al. // *BMC Cancer.* – 2023. – Vol. 23, № 1. – P. 738
258. Olivier M. TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use / Olivier M, Hollstein M, Hainaut P // *Cold Spring Harb Perspect Biol.* – 2010. – Vol.1. – P.1008.

259. Omilian A.R. Somatic mutations of triple-negative breast cancer: a comparison between Black and White women / A.R. Omilian, L. Wei, C.C. Hong, et al. // *Breast Cancer Res Treat.* – 2020. – Vol.182. – P.503-509.
260. Ördög N. The clinical significance of epigenetic and RNAPII variabilities occurring in clear cell renal cell carcinoma as a potential prognostic marker / N. Ördög, B.N. Borsos, H. Majoros, et al. // *Transl. Oncol.* – 2022. – № 20. – P. 101420.
261. Orhan E. Regulation of *RAD51* at the transcriptional and functional levels: what prospects for cancer therapy? / E. Orhan, C. Velazquez, I. Tabet, et al. // *Cancers.* – 2021. – Vol. 13, № 12. – P. 2930.
262. Orrantia-Borunda E. Subtypes of breast cancer / E. Orrantia-Borunda, P. Anchondo-Nuñez, L.E. Acuña-Aguilar, et al. // *Breast Cancer.* – Brisbane: Exon Publications, 2022. – P. 31–42.
263. Ortega M.A. Signal transduction pathways in breast cancer: the important role of PI3K/Akt/mTOR / M.A. Ortega, O. Fraile-Martínez, Á. Asúnsolo, et al. // *J. Oncol.* – 2020. – Vol. 2020. – P. 925.
264. Ortega M.A. Unravelling the role of MAPKs (ERK1/2) in venous reflux in patients with chronic venous disorder / M.A. Ortega, Á. Asúnsolo, B. Romero, et al. // *Cells Tissues Organs.* – 2018. – Vol. 206, № 4–5. – P. 272–282.
265. Ouhtit A. *BRIP1* a potential candidate gene in development of non-*BRCA1/2* breast cancer / A. Ouhtit // *Front. Biosci.* – 2016. – Vol. 8, № 2. – P. 767.
266. Pace P. FANCE: the link between Fanconi anaemia complex assembly and activity / P. Pace, M. Johnson, W. Tan, et al. // *EMBO J.* – 2002. – Vol.21. – P. 3414–3423.
267. Pankotai-Bodó G. Routine molecular applications and recent advances in breast cancer diagnostics / G. Pankotai-Bodó, O. Oláh-Németh, F. Sükösd, T. Pankotai // *J. Biotechnol.* – 2024. – № 380. – P. 20–28.
268. Parsons M.T. Large scale multifactorial likelihood quantitative analysis of *BRCA1* and *BRCA2* variants: An ENIGMA resource to support clinical variant

- classification / M.T. Parsons, E. Tudini, H. Li, E. Hahnen, et al. // *Hum Mutat.* – 2019. – Vol.9. – P.1557-1578.
269. Pascal L.E. Prostate-specific deletion of *cdh1* induces murine prostatic inflammation and bladder overactivity / L.E. Pascal, S. Mizoguchi, W. Chen, et al. // *Endocrinology.* – 2021. – Vol. 162, № 1. – P.212.
270. Pellegrino B. Luminal breast cancer: risk of recurrence and tumor-associated immune suppression / B. Pellegrino, Z. Hlavata, C. Migali, et al. // *Mol. Diagn. Ther.* – 2021. – Vol. 25, № 4. – P. 409–424.
271. Peltomäki P. Updates in the field of hereditary nonpolyposis colorectal cancer / P. Peltomäki, A. Olkinuora, T.T. Nieminen // *Expert Rev. Gastroenterol. Hepatol.* – 2020. – Vol. 14, № 8. – P. 707–720.
272. Peng Y. PI3K/Akt/mTOR pathway and its role in cancer therapeutics: are we making headway? / Y. Peng, Y. Wang, C. Zhou, et al. // *Front. Oncol.* – 2022. – № 12. – P. 819.
273. Peres L.C. Invasive epithelial ovarian cancer survival by histotype and disease stage / L.C. Peres, K.L. Cushing-Haugen, M. Köbel, et al. // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2019. – Vol. 111, № 1. – P. 60–68.
274. Pescia C. Advances in early breast cancer risk profiling: from histopathology to molecular technologies / C. Pescia, E. Guerini-Rocco, G. Viale, et al. // *Cancers.* – 2023. – Vol. 15, № 22. – P. 5430.
275. Pevzner M.A. Investigation of somatic *PIK3CA* gene mutations in breast cancer patients / M.A. Pevzner, A.K. Gaptulbarova, M.M. Tsyganov, et al. // *J BUON.* – 2021. – Vol.26. – P. 747-752.
276. Phung M.T. Effects of risk factors for ovarian cancer in women with and without endometriosis / M.T. Phung, A. Muthukumar, B. Trabert, et al. // *Fertil. Steril.* – 2022. – Vol. 118, № 5. – P. 960–969.
277. PI3K inhibition to overcome endocrine resistance in breast cancer / N.M. Keegan, J.P. Gleeson, B.T. Hennessy, P.G. Morris // *Expert Opin. Invest. Drugs.* – 2018. – Vol. 27, № 1. – P. 1–15.

278. Pierson W.E. An integrated molecular profile of endometrioid ovarian cancer / W.E. Pierson, P.N. Peters, M.T. Chang, et al. // *Gynecol. Oncol.* – 2020. – Vol. 157, № 1. – P. 55–61.
279. Pietragalla A. Ovarian cancer predisposition beyond *BRCA1* and *BRCA2* genes / A. Pietragalla, M. Arcieri, C. Marchetti, et al. // *Int. J. Gynecol. Cancer.* – 2020. – Vol. 30, № 11. – P. 1803–1810.
280. Pinto P. Implementation of next-generation sequencing for molecular diagnosis of hereditary breast and ovarian cancer highlights its genetic heterogeneity / P. Pinto, P. Paulo, C. Santos // *Breast Cancer Res Treat.* – 2016. – Vol.159. – P. 245-56.
281. Pogoda K. Effects of *BRCA* Germline Mutations on Triple-Negative Breast Cancer Prognosis / K. Pogoda, A. Niwińska, E. Sarnowska // *J Oncol.* – 2020. – Vol.27. – P. 8545.
282. Podralska M. Genetic variants in *ATM*, *H2AFX* and *MRE11* genes and susceptibility to breast cancer in the polish population / M. Podralska, I. Ziółkowska-Suchanek, M. Żurawek, et al. // *BMC Cancer.* – 2018. – Vol.18. – P.452.
283. Pollock N.C. Differences in somatic *TP53* mutation type in breast tumors by race and receptor status / N.C. Pollock, J.R. Ramroop, H. Hampel, et al. // *Breast Cancer Res Treat.* – 2022. – Vol.192. – P.639-648.
284. Poorolajal J. Factors for the primary prevention of breast cancer: a meta-analysis of prospective cohort studies / J. Poorolajal, F. Heidarimoghis, M. Karami et al. // *J. Res. Health Sci.* – 2021. – Vol. 21, № 3. – P.520.
285. Poveda A. Olaparib tablets as maintenance therapy in patients with platinum-sensitive relapsed ovarian cancer and a *BRCA1/2* mutation (SOLO2/ENGOT-Ov21): a final analysis of a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial / A. Poveda, A. Floquet, J.A. Ledermann, et al. // *Lancet Oncol.* – 2021. – Vol. 22, № 5. – P. 620–631.
286. Preobrazhenskaya E.V. Frequency and molecular characteristics of *PALB2* associated cancers in Russian patients / E.V. Preobrazhenskaya, A.U. Shleykina, O.A. Gorustovich, et al. // *Int. J. Cancer.* – 2021. – Vol. 148, № 1. – P. 203–210.

287. Prodosmo A. Detection of *ATM* germline variants by the p53 mitotic centrosomal localization test in *BRCA1/2*-negative patients with early-onset breast cancer / A. Prodosmo, A. Buffone, M. Mattioni, et al. // *J Exp Clin Cancer Res.* – 2016. – Vol.35. – P.135.
288. Pruss D. Development and validation of a new algorithm for the reclassification of genetic variants identified in the *BRCA1* and *BRCA2* genes / D. Pruss, B. Morris, E. Hughes, et al. *Breast Cancer Res Treat.* – 2014. – Vol.147. – P.119-132.
289. Qiu R. Breastfeeding and reduced risk of breast cancer: a systematic review and meta-analysis / R. Qiu, Y. Zhong, M. Hu, et al. // *Comput. Math. Methods Med.* – 2022. – Vol. 2022. – P. 850.
290. Quigley D.A. Genomic Hallmarks and Structural Variation in Metastatic Prostate Cancer / D.A. Quigley, H.X. Dang, S.G. Zhao, et al. // *Cell.* – 2018. – Vol.174. – P. 758-769.
291. Ramus S.J. Germline mutations in the *BRIP1*, *BARD1*, *PALB2*, and *NBN* genes in women with ovarian cancer / S.J. Ramus, H. Song, E. Dicks, et al. // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2015. – Vol. 107, № 11. – P.214.
292. Rana H.Q. Differences in TP53 mutation carrier phenotypes emerge from panel-based testing / H.Q. Rana, R. Gelman, H. LaDuca, et al. // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2018. – Vol. 110, № 8. – P. 863–870.
293. Ranganathan, P. Non-canonical estrogen signaling in endocrine resistance / P. Ranganathan, N. Nadig, S. Nambiar // *Front. Endocrinol.* – 2019. – № 10. – P. 708.
294. Ransburgh D.J. Identification of breast tumor mutations in *BRCA1* that abolish its function in homologous DNA recombination / D.J. Ransburgh, N. Chiba, C. Ishioka, et al. // *Cancer Res.* – 2010. – Vol.70. – P. 988-995.
295. Ratajska M. Cancer predisposing *BARD1* mutations affect exon skipping and are associated with overexpression of specific *BARD1* isoforms / M. Ratajska, M. Matusiak, A. Kuzniacka, et al. // *Oncol Rep.* – 2015. – Vol.34. – P.2609-2617.

296. Rebbeck T. R. Association of type and location of *BRCA1* and *BRCA2* mutations with risk of breast and ovarian cancer / T. R. Rebbeck, N. Mitra, F. Wan, et al. // *JAMA*. - 2015. – Vol. 313, № 13. – P. 1347-1361.
297. Rebbeck T.R. Inheritance of deleterious mutations at both *BRCA1* and *BRCA2* in an international sample of 32,295 women / T.R. Rebbeck, T.M. Friebel, N. Mitra, et al. // *Breast Cancer Res.* – 2016. – Vol. 18, № 1. – P. 112.
298. Rebbeck T.R. Mutational spectrum in a worldwide study of 29,700 families with *BRCA1* or *BRCA2* mutations / T.R. Rebbeck, T.M. Friebel, E. Friedman, et al. // *Hum Mutat.* – 2018. – Vol.39. – P.593-620.
299. Recalde M. Body mass index and waist circumference in relation to the risk of 26 types of cancer: a prospective cohort study of 3.5 million adults in Spain / M. Recalde, V. Davila-Batista, Y. Díaz, et al. // *BMC Med.* – 2021. – Vol. 19, № 1. – P. 10.
300. Rechsteiner M. Somatic *BRCA1* mutations in clinically sporadic breast cancer with medullary histological features / M. Rechsteiner, K. Dedes, D. Fink, et al. // *J Cancer Res Clin Oncol.* – 2018. – Vol.144. – P.865-874.
301. Reinert T. Clinical implication of low estrogen receptor (ER-low) expression in breast cancer / T. Reinert, F. Cascelli, C.A.A. de Resende, et al. // *Front. Endocrinol.* – 2022. – № 13. – P. 101.
302. Renault A.L. Morphology and genomic hallmarks of breast tumours developed by ATM deleterious variant carriers / A.L. Renault, N. Mebirouk, L. Fuhrmann, et al. // *Breast Cancer Res.* – 2018. – Vol.20. – P.28.
303. Rice M.S. Adult dietary fat intake and ovarian cancer risk / M.S. Rice, E.M. Poole, W.C. Willett, et al. // *Int. J. Cancer.* – 2020. – Vol. 146, № 10. – P. 2756–2772.
304. Richards S. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology / S. Richards, N. Aziz, S. Bale, et al. // *Genet Med.* – 2015. Vol.17. – P.405-424.

305. Ring K.L. Germline multi-gene hereditary cancer panel testing in an unselected endometrial cancer cohort / K.L. Ring, A.S. Bruegl, B.A. Allen, et al. // *Mod Pathol.* – 2016. – Vol.29. – P.1381-1389.
306. Roberts N. *ATM* mutations in patients with hereditary pancreatic cancer / N. Roberts, Y. Jiao, J. Yu, et al. // *Cancer Discov.* – 2012. – Vol.2. – P.41-46.
307. Rossing M. Whole genome sequencing of breast cancer / M. Rossing, C.S. Sørensen, B. Ejlersen, F.C. Nielsen // *APMIS.* – 2019. – Vol. 127, № 5. – P. 303–315.
308. Rozenberg S. Menopausal hormone therapy and breast cancer risk / S. Rozenberg, V. Di Pietrantonio, J. Vandromme, et al. // *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2021. – Vol. 35, № 6. – P. 101577.
309. Rweyemamu L.P. Breast cancer in East Africa: Prevalence and spectrum of germline SNV/indel and CNVs in *BRCA1* and *BRCA2* genes among breast cancer patients in Tanzania / L.P. Rweyemamu, B.K. Gültaşlar, G. Akan, et al. // *Cancer Med.* – 2023. – Vol.12. – P.3395-3409.
310. Salamon A. Genetic Screening of a Hungarian Cohort with Focal Dystonia Identified Several Novel Putative Pathogenic Gene Variants / A. Salamon, Z.F. Nagy, M. Pál, et al. // *Int J Mol Sci.* – 2023. – Vol.24. – P.10745.
311. Samuel D. Hereditary ovarian carcinoma: cancer pathogenesis looking beyond *BRCA1* and *BRCA2* / D. Samuel, A. Diaz-Barbe, A. Pinto, et al. // *Cells.* – 2022. – Vol. 11, № 3. – P. 539.
312. Santini D. Network approach in liquidomics landscape / D. Santini, A. Botticelli, A. Galvano, et al. // *J. Exp. Clin. Cancer Res.* – 2023. – Vol. 42, № 1. – P. 193.
313. Santonocito C. Spectrum of Germline *BRCA1* and *BRCA2* variants Identified in 2351 Ovarian and Breast Cancer Patients Referring to a Reference Cancer Hospital of Rome / C. Santonocito, R. Rizza, I. Paris, et al. // *Cancers (Basel).* – 2020. – Vol.12. – P.1286.
314. Santonocito C. Spectrum of Germline *BRCA1* and *BRCA2* Variants Identified in 2351 Ovarian and Breast Cancer Patients Referring to a Reference Cancer

- Hospital of Rome / C. Santonocito, R. Rizza, I. Paris // *Cancers (Basel)*. – 2020. – Vol.12. – P.1286.
315. Schoutrop E. Molecular, cellular and systemic aspects of epithelial ovarian cancer and its tumor microenvironment / E. Schoutrop, L. Moyano-Galceran, S. Lheureux, et al. // *Semin. Cancer Biol.* – 2022. – № 86. – P. 207–223.
316. Schrijver L.H. Oral contraceptive use and ovarian cancer risk for *BRCA1/2* mutation carriers: an international cohort study / L.H. Schrijver, A.C. Antoniou, H. Olsson, et al. // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2021. – Vol. 225, № 1. – P. 51.
317. Seal S. Truncating mutations in the Fanconi anemia J gene *BRIP1* are low-penetrance breast cancer susceptibility alleles / S. Seal, D. Thompson, A. Renwick, et al. // *Nat Genet.* – 2006. – Vol. 38. – P.1239–1241.
318. Setton J. Germline *RAD51B* variants confer susceptibility to breast and ovarian cancers deficient in homologous recombination / J. Setton, P. Selenica, S. Mukherjee, et al. // *NPJ Breast Cancer.* – 2021. – Vol. 7, № 1. – P. 135.
319. Shaath H. Molecular classification of breast cancer utilizing long non-coding RNA (lncRNA) transcriptomes identifies novel diagnostic lncRNA panel for triple-negative breast cancer / H. Shaath, R. Elango, N.M. Alajez // *Cancers.* – 2021. – Vol. 13, № 21. – P. 5350.
320. Shanbhogue K.P. Hereditary ovarian tumour syndromes: current update on genetics and imaging / K.P. Shanbhogue, A.S. Prasad, F.E. Ucisik-Keser, et al. // *Clin. Radiol.* – 2021. – Vol. 76, № 4. – P. 313-315.
321. Shin S. J. Penetrance of different cancer types in families with li-fraumeni syndrome: a validation study using multicenter cohorts / S. J. Shin, E.B. Dodd-Eaton, G. Peng, et al. // *Cancer Res.* – 2020. – Vol. 80, № 2. – P. 354–360.
322. Shindo K. Deleterious Germline Mutations in Patients with Apparently Sporadic Pancreatic Adenocarcinoma / K. Shindo, J. Yu, M. Suenaga, et al. // *J Clin Oncol.* – 2017. – Vol.35. – P.3382-3390.
323. Shirts B.H. Improving performance of multigene panels for genomic analysis of cancer predisposition / B.H. Shirts, S. Casadei, A.L. Jacobson, et al. // *Genet Med.* – 2016. – Vol.10. – P. 974-981.

324. Sigin V.O. DNA methylation and prospects for predicting the therapeutic effect of neoadjuvant chemotherapy for triple-negative and luminal B breast cancer / V.O. Sigin, A.I. Kalinkin, A.F. Nikolaeva, et al. // *Cancers*. – 2023. – Vol. 15, № 5. – P. 1630.
325. Slomovitz B. Low-grade serous ovarian cancer: State of the science / B. Slomovitz, C. Gourley, M.S. Carey, et al. // *Gynecol. Oncol.* – 2020. – Vol. 156, № 3. – P. 715–725.
326. Smogorzewska A. Identification of the FANCI protein, a monoubiquitinated *FANCD2* paralog required for DNA repair / A. Smogorzewska, S. Matsuoka, P. Vinciguerra // *Cell*. – 2007. – Vol.12. – P. 289–301.
327. Sokolenko A.P. Frequency and spectrum of founder and non-founder *BRCA1* and *BRCA2* mutations in a large series of Russian breast cancer and ovarian cancer patients / A.P. Sokolenko, T.N. Sokolova, V.I. Ni, et al. // *Breast Cancer Res Treat.* – 2020. – Vol.184. – P.229-235.
328. Sokolova A. Hereditary breast cancer: syndromes, tumour pathology and molecular testing / A. Sokolova, K.J. Johnstone, Reed McCart, et al. // *Histopathology*. – 2023. – Vol. 82, № 1. – P. 70–82.
329. Solano A.R. Spectrum of BRCA1/2 variants in 940 patients from Argentina including novel, deleterious and recurrent germline mutations: impact on healthcare and clinical practice / A.R. Solano, F.C. Cardoso, V. Romano // *Oncotarget*. – 2016. – Vol.8. – P.60487-60495.
330. Song H. Epitranscriptomics and epiproteomics in cancer drug resistance: therapeutic implications / H. Song, D. Liu, S. Dong, et al. // *Signal Transduct. Target. Ther.* – 2020. – Vol. 5, № 1. – P. 193.
331. Song H. Population-based targeted sequencing of 54 candidate genes identifies PALB2 as a susceptibility gene for high-grade serous ovarian cancer / H. Song, E.M. Dicks, J. Tyrer et al. // *J. Med. Genet.* – 2021. – Vol. 58, № 5. – P. 305–313.
332. Stradella A. *ERCC3*, a new ovarian cancer susceptibility gene? / A. Stradella, J.del Valle, P. Rofes, et al. // *Eur. J. Cancer*. – 2020. – № 141. – P. 1–8.

333. Strunkin D.N. Current aspects of systematics, diagnosis and treatment of breast cancer / D.N. Strunkin, V.V. Kononchuk, L.F. Gulyaeva, et al. // *Tum. Female Reprod. Syst.* – 2022. – Vol. 18, № 1. – P. 25–39.
334. Su D. The G199X and V157fs mutations in the TP53 gene promote malignancy in serous ovarian cancer: an analysis using whole-exome sequencing / D. Su, M. Nie, J. Yue // *Ann. Transl. Med.* – 2021. – Vol. 9, № 8. – P. 710–710.
335. Sun J. BRCA-CRISK: A Contralateral Breast Cancer Risk Prediction Model for BRCA Carriers / J. Sun, F. Chu, J. Pan, et al. // *J. Clin. Oncol.* – 2023. – Vol. 41, № 5. – P. 991–999.
336. Sun J. Germline Mutations in Cancer Susceptibility Genes in a Large Series of Unselected Breast Cancer Patients / J. Sun, H. Meng, L. Yao, et al. // *Clin Cancer Res.* – 2017. – Vol.23. – P.6113-6119.
337. Sung H. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries / H. Sung, J. Ferlay, R. Siegel, et al. // *CA Cancer J. Clin.* – 2021. – Vol. 71, № 3. – P. 209–249.
338. Susswein L.R. Pathogenic and likely pathogenic variant prevalence among the first 10,000 patients referred for next-generation cancer panel testing / L.R. Susswein, M.L. Marshall, R. Nusbaum, et al. // *Genet Med.* – 2016. – Vol.8. – P.823-832.
339. Suszynska M. *RAD51C*, and *RAD51D* mutations are associated with high susceptibility to ovarian cancer: mutation prevalence and precise risk estimates based on a pooled analysis of ~30,000 cases / Suszynska M, Ratajska M, Kozlowski P. // *J Ovarian Res.* – 2020. - Vol.13. - P.50.
340. Szwiec M. Genetic predisposition to male breast cancer in Poland / M. Szwiec, J. Tomiczek-Szwiec, W. Kluźniak, et al. // *BMC Cancer.* – 2021. – Vol.21. – P.975.
341. Talkar S.S. Gene Therapy for Prostate Cancer: A Review / S.S. Talkar, V.B. Patravale // *Endocr. Metab. Immune Disord. Drug Targets.* – 2021. – Vol. 21, № 3. – P. 385–396.
342. Talwar V. *BRCA* mutations: Implications of genetic testing in ovarian cancer / Talwar V, Rauthan // *Indian J Cancer.* – 2022. – Vol.59. – P.56-67.

343. Tanha K. Investigation on factors associated with ovarian cancer: an umbrella review of systematic review and meta-analyses / K.Tanha, A. Mottaghi, M. Nojomi, et al. // *J. Ovarian Res.* – 2021. – Vol. 14, №1. – P. 153.
344. Tea M.K. Central European *BRCA2* mutation carriers: birth cohort status correlates with onset of breast cancer / M.K. Tea, R. Kroiss, D. Muhr, et al. // *Maturitas.* – 2014. – Vol.77. – P. 68-72.
345. Teixeira N. The association between cancer family history and ovarian cancer risk in *BRCA1/2* mutation carriers: can it be explained by the mutation position? / N. Teixeira, A. van der Hout, J.C. Oosterwijk, et al. // *Eur J Hum Genet.* – 2018. – Vol.26. – P.848-857.
346. Terry M.B. Epidemiology and risk factors for breast cancer: 21st century advances, gaps to address through interdisciplinary science / M.B. Terry, G.A. Colditz // *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* – 2023. – Vol. 13, № 9. – P. 317.
347. Testa U. Ovarian Cancers: Genetic Abnormalities, Tumor Heterogeneity and Progression, Clonal Evolution and Cancer Stem Cells / U. Testa, E. Petrucci, L.Pasquini, et al. // *Medicines (Basel).* – 2018. – Vol.5. – P.16.
348. Tewari D. Natural products targeting the PI3K-Akt-mTOR signaling pathway in cancer: A novel therapeutic strategy / D. Tewari, P. Patni, A. Bishayee, et al. // *Semin. Cancer Biol.* – 2022. – № 80. – P. 1–17.
349. Thompson E.R. Prevalence of *PALB2* mutations in Australian familial breast cancer cases and controls / E.R. Thompson, K.L. Goringe, S.M. Rowley, et al. // *Breast Cancer Res.* – 2015. – Vol.17. – P.111.
350. Todorova V. K. Modulation of p53 and c-myc in DMBA-Induced Mammary Tumors by Oral Glutamine / V. K. Todorova, Y. Kaufmann, S. Luo, V.S. Klimberg // *Nutrition and Cancer.* – 2006. – Vol.54. – P.263–273.
351. Tolcher, A.W. Rational Approaches for Combination Therapy Strategies Targeting the MAP Kinase Pathway in Solid Tumors / A.W. Tolcher, W. Peng, E. Calvo // *Mol. Cancer Ther.* – 2018. – Vol. 17, № 1. – P. 3–16.

352. Tomar U. Liquid biopsy and its significance in tumour – detection in the field of pathology / U. Tomar, N. Grover, S. Tomar, et al. // *J. Oral Maxillofac. Pathol.* – 2023. – Vol. 27, № 1. – P. 195-200.
353. Torre L.A. Ovarian cancer statistics, 2018 / L.A. Torre, B. Trabert, C.E. DeSantis, et al. // *CA Cancer J. Clin.* – 2018. – Vol. 68, № 4. – P. 284–296.
354. Tsaousis G.N. Analysis of hereditary cancer syndromes by using a panel of genes: novel and multiple pathogenic mutations / G.N. Tsaousis, E. Papadopoulou, A. Apeossos, et al. // *BMC Cancer.* – 2019. – Vol.19. – P.535.
355. Tung N. Frequency of mutations in individuals with breast cancer referred for *BRCA1* and *BRCA2* testing using next-generation sequencing with a 25-gene panel / N. Tung, C. Battelli, B. Allen, et al. // *Cancer.* – 2015. – Vol.121. – P. 25-33.
356. Uglanitsa N. The contribution of founder mutations in *BRCA1* to breast cancer in Belarus / N. Uglanitsa, O. Oszurek, K. Uglanitsa, et al. // *Clin Genet.* – 2010. – Vol.78. – P.377-380.
357. Van der Merwe N.C. Prevalence of Clinically Relevant Germline *BRCA* Variants in a Large Unselected South African Breast and Ovarian Cancer Cohort: A Public Sector Experience / N.C. Van der Merwe, H.M. Combrink, K.S. Ntaita, J. Oosthuizen // *Front. Genet.* – 2022. – Vol.13. – P.83.
358. Van Os N.J.H. Genotype-phenotype correlations in ataxia telangiectasia patients with *ATM* c.3576G>A and c.8147T>C mutations / N.J.H. Van Os, L. Chessa, C.M.R. Weemae, et al. // *J Med Genet.* – 2019. – Vol.56. – P. 308-316.
359. Van Twest S. Mechanism of Ubiquitination and Deubiquitination in the Fanconi Anemia Pathway / S. Van Twest, J. Murphy Vincent, et al. // *Molecular Cell.* – 2017. – Vol.5. – P.247–259.
360. Vergote I. European experts' consensus: *BRCA* homologous recombination deficiency testing in first-line ovarian cancer / I. Vergote, A. González-Martín, I. Ray-Coquard, et al. // *Ann. Oncol.* – 2022. – Vol. 33, № 3. – P. 276–287.
361. Verze, P. The role of the prostate in male fertility, health and disease / P. Verze, T. Cai, S. Lorenzetti // *Nat. Rev. Urol.* – 2016. – Vol. 13, № 7. – P. 379–386.

362. Veyssière H. Circulating proteins as predictive and prognostic biomarkers in breast cancer / H. Veyssière, Y. Bidet, F. Penault-Llorca, et al. // *Clin. Proteomics*. – 2022. – Vol. 19, № 1. – P. 25.
363. Waks, A.G. Breast cancer treatment / A.G. Waks, E.P. Winer // *JAMA*. – 2019. – Vol. 321, № 3. – P. 288-300.
364. Wallander K. Massive parallel sequencing in individuals with multiple primary tumours reveals the benefit of re-analysis / K. Wallander, H. Thonberg, D. Nilsson, E. Tham // *Hered Cancer Clin Pract*. – 2021. – Vol.19. – P.46.
365. Walter K.R. Advanced glycation end products are elevated in estrogen receptor-positive breast cancer patients, alter response to therapy, and can be targeted by lifestyle intervention / K.R. Walter, M.E. Ford, M.J. Gregoski, et al. // *Breast Cancer Res Treat*. – 2019. – Vol.173. – P.559-571.
366. Wang G. Genetics and biology of prostate cancer / G. Wang, D. Zhao, D.J. Spring, et al. // *Genes Dev*. – 2018. – Vol. 32, № 17–18. – P. 1105–1140.
367. Wang R. Cell-free circulating tumor DNA analysis for breast cancer and its clinical utilization as a biomarker / R. Wang, X. Li, H. Zhang, et al. // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 8, № 43. – P. 75742–75755.
368. Wappenschmidt B. Analysis of 30 putative *BRCA1* splicing mutations in hereditary breast and ovarian cancer families identifies exonic splice site mutations that escape in silico prediction / B. Wappenschmidt, A.A. Becker, J. Hauke, et al. // *PLoS One*. – 2012. – Vol.12. – P.508-600.
369. Wasim, S. Complexities of Prostate Cancer / S. Wasim, S.Y. Lee, J. Kim // *Int. J. Mol. Sci*. – 2022. – Vol. 23, № 22. – P. 14257.
370. Watanabe T. Identification and clinical significance of somatic oncogenic mutations in epithelial ovarian cancer / Watanabe T, Nanamiya H, Endo Y // *J Ovarian Res*. – 2021. – Vol.14. – P.129.
371. Weber-Lassalle N. *BRIP1* loss-of-function mutations confer high risk for familial ovarian cancer, but not familial breast cancer / N. Weber-Lassalle, J. Hauke, J. Ramser, et al. // *Breast Cancer Res*. – 2018. – Vol.20. – P.7.

372. Wilbur M. Cancer Implications for Patients with Endometriosis / M. Wilbur, I.-M. Shih, J. Segars, et al. // *Semin. Reprod. Med.* – 2017. – Vol. 35, № 1. – P. 110–116.
373. Willems A.J. Loss of heterozygosity at the *BRCA2* locus detected by multiplex ligation-dependent probe amplification is common in prostate cancers from men with a germline *BRCA2* mutation / A.J. Willems, S.J. Dawson, H. Samaratunga, et al. // *Clin Cancer Res.* – 2008. – Vol. 14. – P.2953-2961.
374. Wirtz P. Physical Activity, Exercise and Breast Cancer - What Is the Evidence for Rehabilitation, Aftercare, and Survival A Review / P. Wirtz, F.T. Baumann // *Breast Care.* – 2018. – Vol. 13, № 2. – P. 93–101.
375. Wolfson M. Potential of polygenic risk scores for improving population estimates of women's breast cancer genetic risks / M. Wolfson, S. Gribble, N. Pashayan, et al. // *Genet Med.* - 2021. – Vol.11. – P.2114-2121.
376. Worldwide burden, risk factors, and temporal trends of ovarian cancer: a global study / J. Huang, W.C. Chan, C. H. Ngai, et al. // *Cancers.* – 2022. – Vol. 14, № 9. – P. 2230.
377. Wu J. Tumor circulome in the liquid biopsies for cancer diagnosis and prognosis / J. Wu, S. Hu, L. Zhang, et al. // *Theranostics.* – 2020. – Vol. 10, № 10. – P. 4544–4556.
378. Yadav S. Contralateral Breast Cancer Risk Among Carriers of Germline Pathogenic Variants in *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, and *PALB2* / S. Yadav, N.J. Boddicker, J. Na, et al. // *J Clin Oncol.* – 2023. – Vol.41. – P.1703-1713.
379. Yan C. PVT1-derived miR-1207-5p promotes breast cancer cell growth by targeting STAT6 / C. Yan, Y. Chen, W. Kong, et al. // *Cancer Sci.* – 2017. – Vol. 108, № 5. – P. 868–876.
380. Yan S. Progress and prospects in research and clinical practice of hormone receptor-positive, HER-2-negative breast cancer with *BRCA1/2* mutations / S. Yan, M. Imam // *Discov Oncol.* – 2023. – Vol.14. – P.110.

381. Yang X. Ovarian and breast cancer risks associated with pathogenic variants in *RAD51C* and *RAD51D* / X. Yang, H. Song, G. Leslie, et al. // *J. Natl Cancer Inst.* – 2020. – Vol. 112, № 12. – P. 1242–1250.
382. Yang W.L. The role of biomarkers in the management of epithelial ovarian cancer / W.L. Yang, Z. Lu, R.C. Bast // *Expert Rev. Mol. Diagn.* – 2017. – Vol. 17, № 6. – P. 577–591.
383. Yanus GA. Northern origin of the *BRCA2* c.5286 T > G founder allele / Yanus GA, Sokolenko AP, Imyanitov EN // *Breast Cancer Res Treat.* – 2024. – Vol.204. – P.191.
384. You Y. Ovarian clear cell cancer associated with Trousseau syndrome: A case report and literature review / Y. You, X. Chen, Y. Jiang, et al. // *Medicine.* – 2022. – Vol. 101, № 47. – P.32106.
385. Youn, H.J. A review of the epidemiology of breast cancer in Asia: focus on risk factors / H.J. Youn, W. Han // *Asian Pac. J. Cancer Prev.* – 2020. – Vol. 21, № 4. – P. 867–880.
386. Yu, L. Attacking the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway for targeted therapeutic treatment in human cancer / L. Yu, J. Wei, P. Liu // *Semin. Cancer Biol.* – 2022. – № 85. – P. 69–94.
387. Zamwar U.M. Aetiology, Epidemiology, Histopathology, Classification, Detailed Evaluation, and Treatment of Ovarian Cancer / U.M. Zamwar, A.P. Anjankar // *Cureus.* – 2022. – Vol. 14, № 10. – P.30561.
388. Zannini G. Implementation of *BRCA* mutations testing in formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) samples of different cancer types / G. Zannini, G. Facchini, M. D. Sio, et al. // *Pathology-Research and Practice.* – 2023. – T. 243. – P. 154.
389. Zhang J.Q. Association of Moderate-Risk Breast Cancer Genes with Contralateral Prophylactic Mastectomy and Bilateral Disease / A. Crown, K.A. Amoroso, M.L. Pilewskie, M.E. Robson, M.L. Gemignani, et al. // *Ann Surg Oncol.* – 2023. – Vol.30. – P.6990-6999.

390. Zhang S. Both fallopian tube and ovarian surface epithelium are cells-of-origin for high-grade serous ovarian carcinoma / S. Zhang, I. Dolgalev, T. Zhang, et al. // *Nat. Commun.* – 2019. – Vol. 10, № 1. – P. 5367.
391. Zhang S. Frequencies of *BRCA1* and *BRCA2* mutations among 1,342 unselected patients with invasive ovarian cancer / S. Zhang, R. Royer, S. Li, et al. // *Gynecol Oncol.* – 2011. – Vol.121. – P.353-357.
392. Zhang Z. Computational analysis of missense mutations causing Snyder-Robinson syndrome / Zhang Z, Teng S, Wang L // *Hum Mutat.* – 2010. – Vol.31. – P.1043-1049.
393. Zheng Y. Inherited Breast Cancer in Nigerian Women / Y. Zheng, T. Walsh, S. Gulsuner, et al. // *J Clin Oncol.* – 2018. – Vol.36. – P.2820-2825.
394. Zhou G.-Q. Evaluation of the national comprehensive cancer network and European society for medical oncology nasopharyngeal carcinoma surveillance guidelines / G.-Q. Zhou, J.-W. Lv, L. Tang, et al. // *Front. Oncol.* – 2020. – № 10. – P. 119.
395. Zhou L. Ovarian endometrioid carcinoma and clear cell carcinoma: A 21-year retrospective study / L. Zhou, L. Yao, L. Dai, et al. // *J. Ovarian Res.* – 2021. – Vol. 14, № 1. – P. 63.
396. Zhou, Y. The role of estrogen receptor beta in breast cancer / Y. Zhou, X. Liu // *Biomark. Res.* – 2020. – Vol. 8, № 1. – P. 39.
397. Zhu Q. Whole-exome sequencing of ovarian cancer families uncovers putative predisposition genes / Q. Zhu, J. Zhang, Y. Chen, et al. // *Int. J. Cancer.* – 2020. – Vol. 146, № 8. – P. 2147–2155.
398. Zhuang J. Perspectives on the role of histone modification in breast cancer progression and the advanced technological tools to study epigenetic determinants of metastasis / J. Zhuang, Q. Huo, F. Yang, et al. // *Front. Genet.* – 2020. – № 11. – P. 603552.
399. Zhunussova G. Mutation Spectrum of Cancer-Associated Genes in Patients With Early Onset of Colorectal Cancer / G. Zhunussova, G. Afonin, S. Abdikerim, et al. // *Front Oncol.* – 2019. – Vol.9. – P.673.

400. Zucchetti B.M. Pregnancy and lactation: risk or protective factors for breast cancer? / B.M. Zucchetti, F. A. Peccatori, G. Codacci-Pisanelli // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2020. – Vol. 1252. – P. 195-197.
401. Zwimpfer T.A. Low Grade serous ovarian cancer – A rare disease with increasing therapeutic options / T.A. Zwimpfer, O. Tal, F. Geissler, et al. // *Cancer Treat. Rev.* – 2023. – № 112. – P. 102497.