DOI: 10.18027/2224-5057-2018-8-3-5-12

Цитирование: Покатаев И. А., Попова А. С., Абрамов И. С., Емельянова М. А., Наседкина Т. В. и др. Герминальные мутации в генах гомологичной рекомбинации в популяции пациентов раком поджелудочной железы: опыт одного центра // Злокачественные опухоли 2018; 3:5-12

Герминальные мутации в генах гомологичной рекомбинации в популяции пациентов раком поджелудочной железы: опыт одного центра

И. А. Покатаев¹, А. С. Попова¹, И. С. Абрамов², М. А. Емельянова², Т. В. Наседкина², Л. Н. Любченко¹, И. С. Базин¹, Е. В. Артамонова¹, М. Ю. Федянин¹, С. Ф. Меньшикова¹, С. А. Тюляндин¹

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Блохина» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

² ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта» РАН, Москва, Россия

Резюме:

Цель исследования. Изучить частоту герминальных мутаций в генах гомологичной рекомбинации в популяции пациентов раком поджелудочной железы и оценить возможность предсказания риска носительства мутации в этих генах на основе сбора клинических и анамнестических данных.

Материалы и методы. В исследование включались пациенты с диагнозом рака поджелудочной железы, у которых осуществлялся забор крови для выявления клинически значимых герминальных мутаций генов BRCA1, BRCA2, CHEK2, BLM, NBS1 и PALB2. У каждого пациента проводился сбор клинических данных и данных семейного анамнеза.

Результаты исследования. В исследование включено 99 пациентов. Мутации в гене BRCA1 выявлены в 4 % случаев, в CHEK2 – в 2 %. В гене BRCA2 не выявлено ни одной мутации, как и в генах BLM, NBS1, PALB2. Локализация первичного очага, наличие отдаленных метастазов, стадия опухолевого процесса,отягощенный семейный анамнез по любому из злокачественных новообразований не коррелировали с риском носительства мутации BRCA1 ($p>0,05$). Соответствие пациента критериям отбора NCCN для диагностики мутаций в гене BRCA1 оказалось значимым маркером наличия герминальной мутации ($p=0,043$).

Выводы. Критерии отбора NCCN для генетического тестирования являются наилучшим предиктором наличия герминальной мутации BRCA1 у пациентов раком поджелудочной железы.

Ключевые слова: рак поджелудочной железы, герминальные мутации, гены гомологичной рекомбинации ДНК, BRCA1, BRCA2, полимеразная цепная реакция

Введение

Число пациентов в России с впервые диагностированным раком поджелудочной железы (РПЖ) в 2016 г. составило 14900, при этом летальность в течение года с момента установления диагноза достигла 68 % [1]. Особенности клинического течения данного заболевания, а также неэффективность скрининговых тестов приводят к тому, что РПЖ диагностируется на резектабельной стадии менее чем в 20 % случаев [2]. Результаты многочисленных исследований II/III фаз показали, что РПЖ характеризуется относительно низкой чувствительностью к системной терапии [3, 4]. В связи с вышеперечисленными причинами 5-летняя общая выживаемость пациентов составляет всего 8,2 % [5–7].

В последние годы все большее внимание уделяется поиску предиктивных маркеров в попытке персонализировать и тем самым улучшить эффективность терапии РПЖ. На основании полногеномного секвенирования 100 образцов РПЖ было выделено четыре молекулярных подтипа, одним из которых является так называемый «нестабильный» подтип, характеризующийся высокой частотой

той мутаций в генах гомологичной рекомбинации ДНК и, как предполагается, высокой чувствительностью опухоли к препаратам платины [8]. Наиболее частой причиной нарушения функции гомологичной рекомбинации является мутация генов BRCA1/2. Частота герминальных мутаций генов BRCA1/2 при формально спорадическом РПЖ составляет 4,6–6,2 % [9, 10]. Среди популяций высокого риска данный показатель может достигать 22 % [11, 12]. Было показано, что при РПЖ чаще встречаются мутации в гене BRCA2, чем в BRCA1 [13].

Ряд публикаций указывает на то, что наличие мутации в генах гомологичной рекомбинации обуславливает чувствительность карцином поджелудочной железы к некоторым цитотоксическим препаратам, не используемым в рутинной клинической практике при данном заболевании [14–16]. С учетом недостаточной изученности распространенности этих мутаций при РПЖ в России целью данного проспективного исследования стало выявление частоты герминальных мутаций в генах гомологичной рекомбинации среди российской популяции пациентов, а также выявление предсказывающих носительство мутаций факторов.

Таблица 1. Мутации и полиморфизмы в генах гомологичной рекомбинации ДНК, выявляемые с помощью диагностического биочипа

Ген	Нуклеотидная замена	RS
BRCA1	185delAG	rs386833395
	T300G	rs28897672
	4153delA	rs80357711
	A4158G	rs28897689
	5382insC	rs397507247
	3819delGTAAA	rs80357609
	3875delGTCT	rs80357868
BRCA2	2073delA	rs80357522
	6174delT	rs80359550
	6997_6998insT	rs754611265
CHEK2	1100delC	rs555607708
	470T>C	rs17879961
	IVS2+1G>A	rs121908698
BLM	Q548X	rs200389141
NBS1	657del5	rs587776650
PALB2	172_175delTTGT	rs180177143

Материал и методы

Пациенты

В исследование включались пациенты, получавшие лечение или консультации в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина по поводу морфологически верифицированного РПЖ в период с декабря 2016 по март 2017 г. Пациентам выполнялся забор крови в вакутейнер с ЭДТА (4 мл). Проспективно собиралась информация об онкологических заболеваниях у родственников и о наличии первично-множественных злокачественных новообразований у самого больного. Также анализировались все релевантные клинические данные по пациенту и выявленному заболеванию.

Определение мутаций в генах гомологичной рекомбинации ДНК

Геномная ДНК была выделена из лейкоцитов периферической крови с помощью набора GeneJET Genomic DNA Purification Kit (Thermo Scientific). Образцы ДНК, полученные от 94 пациентов, были исследованы методом мультиплексной ПЦП с последующей аллель-специфичной гибридизацией продуктов амплификации на гидрогелевых биочипах [17, 18]. Данный диагностический биочип предназначен для выявления клинически значимых герминальных мутаций и полиморфизмов в генах BRCA1, BRCA2, CHEK2, BLM, NBS1 и PALB2, наиболее часто встречающихся в российской популяции (табл. 1).

Для пяти пациентов образцы ДНК были проанализированы с помощью наборов реагентов «ОНКОГЕНЕТИКА BRCA» и «ОНКОГЕНЕТИКА CHEK2» (ДНК-технология), которые предназначены для выявления аллельных вариантов генов BRCA1 (185delAG, 4153delA, 5382insC,

3819delGTAAA, 3875delGTCT, T300G, 2080delA), BRCA2 (6174delT) и CHEK2 (1100delC, IVS2+1G>A, 470T>C).

Статистический анализ

Описательная статистика номинальных и порядковых переменных предусматривала расчет доли и представлена в виде n (%). Описательная статистика количественных переменных включала расчет медианы, а также минимального и максимального значений переменной. Использование такого способа представления результатов продиктовано небольшим числом пациентов в группе и ненормальным характером распределения при анализе количественных переменных.

Влияние потенциальных предикторов на риск носительства герминальной мутации оценивалось методом логистической регрессии, в которой в качестве зависимой переменной было наличие мутации в генах BRCA и отдельно – в любых генах гомологичной рекомбинации. Результаты регрессионного анализа представлены в виде значений коэффициента регрессии B и значения p . Статистически значимыми считались результаты анализов при значении $p < 0,05$. Статистический анализ выполнен с использованием программ Microsoft Excel 2007 и IBM SPSS Statistics v. 17.0.

Результаты

В период с декабря 2016 по апрель 2017 г. в исследование включено 99 пациентов с морфологически верифицированным диагнозом РПЖ. Всем пациентам выполнен забор крови для генетического исследования. Клиническая характеристика пациентов представлена в табл. 2.

По результатам анализа мутации в генах гомологичной рекомбинации выявлены у 6 (6 %) больных: в гене BRCA1 (5382insC) – у 4 (4 %), в гене CHEK2 (470T>C) – у 2 (2 %) пациентов. В генах BRCA2, BLM, NBS1 и PALB2 мутации не выявлены.

Среди четырех пациентов с мутациями BRCA1 – один мужчина и три женщины. Возраст, в котором была диагностирована болезнь, варьировал от 28 до 52 лет. В трех случаях из четырех отмечен отягощенный наследственный анамнез по онкологическим заболеваниям. В одном наблюдении три родственника пациента имели злокачественные опухоли: РМЖ у матери, а также РМЖ и РПЖ у двух родственников второй степени родства. Только в одном случае имел место первично-множественный онкологический процесс: у пациентки выявлен метакронный рак обеих молочных желез, РЯ и РПЖ.

Во всех случаях опухоль выявлена в головке поджелудочной железы. Распространенность заболевания на момент постановки диагноза оценивалась как резектабель-

Таблица 2. Клиническая характеристика пациентов в исследовании

Параметр	Значение (n=99)
Пол, n (%)	
мужчины	43 (43,4 %)
женщины	56 (56,6 %)
Возраст на момент выявления рака среднее (минимум – максимум)	58 (31–79)
Локализация первичной опухоли, n (%)	
головка	61 (61,6 %)
тело или хвост	38 (38,4 %)
Стадия, n (%)	
I–II	27 (27,3 %)
III	24 (24,2 %)
IV	47 (47,5 %)
не уточнена	1 (1,0 %)
Локализация отдаленных метастазов, n (%)	
печень	39 (39,4 %)
легкие	5 (5,1 %)
брюшина	5 (5,1 %)
яичники	1 (1,0 %)
забрюшинные лимфоузлы	3 (3,0 %)
надключичные лимфоузлы	1 (1,0 %)
Наличиеотягощенного семейного анамнеза	
да	38 (38,4 %)
нет	61 (61,6 %)
Наличие первично-множественного онкологического процесса у пациента	17 (17,2 %)
рак молочной железы (РМЖ)	8 (8,1 %)
рак яичников (РЯ)	1 (1,0 %)
рак эндометрия	2 (2,0 %)
рак предстательной железы (РПРЖ)	1 (1,0 %)
рак толстой кишки	2 (2,0 %)
рак щитовидной железы	1 (1,0 %)
несколько первичных опухолей	2 (2,0 %)
Количество родственников 1–3 линии родства с диагнозом РМЖ, РЯ, РПЖ, РПРЖ	
0	78 (78,8 %)
1	18 (18,2 %)
2	2 (2,0 %)
3	1 (1,0 %)
Проводимое лечение	
паллиативная химиотерапия	71 (71,7 %)
неoadъювантная химиотерапия	8 (8,1 %)
адъювантная химиотерапия	15 (15,2 %)
хирургическое лечение	22 (22,2 %)
симптоматическая терапия	0 (0 %)
нет данных	6 (6,1 %)

ная (II стадия) в двух случаях, как местнораспространенная в одном случае (III стадия) и как метастатический процесс (IV стадия) также в одном случае.

В соответствии с распространенностью процесса пациентам проводилось различное лечение. Пациентка с отдаленными метастазами получала только паллиативную химиотерапию (режим FOLFIRINOX со стабилизацией). Пациенты с резектабельными опухолями были прооперированы на первом этапе. В связи с прогрессированием опухолевого процесса в последующем одному из них проводилась системная химиотерапия (комбинация цисплатина и гемцитабина со стабилизацией). Пациентка с местнораспространенным РПЖ получила индукционную химиотерапию по схеме GEMOX (гемцитабин и оксалиплатин), эффективность которой позволила выполнить в последующем гастропанкреатодуоденальную резекцию.

В целом отсутствие унифицированного показателя и единого режима химиотерапии у пациентов с мутациями BRCA1/2 не позволяет провести описательный анализ ее эффективности.

При медиане длительности наблюдения 23 мес. зарегистрирован один летальный исход: пациентка с метастатическим процессом умерла от прогрессирования заболевания через 20 мес. от даты установки диагноза. Продолжительность жизни пациентов с мутациями на момент анализа составляла от 20 до 27,7+ мес.

Мутации CHEK2 выявлены у двух мужчин. Только у одного из них наследственный анамнез был отягощен родственником первой линии родства, страдавшим раком почки. У пациента 59 лет при обследовании выявлен метастатический рак тела поджелудочной железы. Эффект назначенной химиотерапии проследить не удалось. У пациента 57 лет с погранично резектабельным раком головки поджелудочной железы проведенная химиотерапия по схеме FOLFIRINOX позволила добиться частичной регрессии, после которой выполнена радикальная операция.

С целью оценки возможных прогностических маркеров, указывающих на повышенный риск носительства мутации в генах гомологичной рекомбинации (CHEK2 и BRCA1) и отдельно в гене BRCA1, нами проведена серия однофакторных логистических регрессионных анализов (табл. 3).

Объединение мутаций BRCA1 и CHEK2 в одну зависимую переменную при проведении регрессионных анализов продемонстрировало, что ни один из изучаемых факторов не имел даже тенденции к статистически значимому влиянию на риск носительства этих мутаций.

При отдельном анализе только статуса BRCA1 в качестве зависимой переменной получены следующие результаты: локализация первичного очага в головке или теле железы, стадия T, наличие отдаленных метастазов, стадия опухолевого процесса не коррелировали с риском носительства мутации BRCA1.

Анализ, основанный на построении ROC-кривой, выявил связь молодого возраста и вероятности носительства мутации BRCA1 (площадь под кривой AUC 0,830, 95 % ДИ 0,679–0,980, $p=0,053$). Наилучшим пороговым значением оказался возраст 50 лет. Трое из четырех пациентов с мутациями BRCA1 были моложе 50 лет. Регрессионный анализ показал, что при данном пороговом уровне влияние возраста на риск носительства мутации BRCA1 имеет тенденцию к статистической значимости ($p=0,060$).

Также соответствие семейного анамнеза критериям NCCN (наличие РМЖ в возрасте до 50 лет или РЯ у хотя бы одного родственника 1–3 степени родства либо двух или более родственников, страдавших РМЖ, РПЖ либо РПРЖ [19]), предназначенным для отбора пациентов с РПЖ для тестирования на мутации BRCA1/2, статистически значимо ассоциировано с риском герминальной мутации BRCA1 ($p=0,043$). Наличие отягощенного анамнеза в отношении любого злокачественного новообразования не является

Таблица 3. Однофакторные логистические регрессии, направленные на оценку предиктивных факторов в отношении риска носительства мутаций в генах гомологичной рекомбинации

Анализируемый параметр	Мутации BRCA1 и CHEK2		Мутации BRCA1	
	Значение В	Значение р	Значение В	Значение р
Стадия Т				
1–2	–	0,733	–0,990	0,715
3	–0,268	0,832	–1,073	0,495
4	–1,073	0,460	–	0,460
Наличие отдаленных метастазов (M1)	0,452	0,630	–0,739	0,552
Стадия болезни				
I	–	0,615	–	0,472
II	–1,705	0,261	–19,817	0,998
III	–1,558	0,305	–1,558	0,305
IV	–1,658	0,213	–2,375	0,115
Локализация первичной опухоли				
головка	–	0,426	–	–
тело или хвост	–0,908	–	–18,9	0,998
Возраст (количественная переменная)	–0,067	0,118	–0,101	0,078
Возраст моложе 50 лет	–1,246	0,194	2,372	0,060
Отягощенный семейный анамнез	0,399	0,748	17,252	0,998
Количество родственников с диагнозом РМЖ, РЯ, РПЖ, РПрЖ				
0	–	0,999	–	0,918
1	0,172	0,881	0,891	0,478
2	–18,258	1,000	–17,539	1,000
3	–18,258	1,000	–17,539	1,000
Соответствие семейного анамнеза критериям NCCN	1,424	0,138	2,547	0,043
Наличие первично-множественных опухолей	0,693	0,562	1,819	0,209

предиктором носительства мутации BRCA1 ($p=0,998$). Аналогичные результаты получены для такого потенциального прогностического фактора, как количество родственников с диагнозом РМЖ, РЯ, РПЖ, РПрЖ ($p=0,918$).

Обсуждение

По данным литературы, частота герминальных мутаций BRCA1/2 при РПЖ варьирует от 2 до 8% [20, 21]. Несмотря на низкую встречаемость этих мутаций, интерес к их определению в последние годы существенно вырос, что связано с их предиктивной значимостью в отношении эффективности терапии ингибиторами PARP, производными платины и митомицином С [14–16, 22]. Однако низкая частота носительства мутаций BRCA1/2 при РПЖ заставляет искать способы обогащения тестируемой популяции за счет отбора по каким-либо предсказывающим факторам. Для отбора пациентов с диагнозом РПЖ для генетического тестирования клиницисты чаще всего используют критерии NCCN, согласно которым показаниями к тестированию пациента являются: наличие близкого родственника 1–3 степени родства, страдавшего РМЖ в возрасте до 50 лет или РЯ в любом возрасте, или наличие двух родственников, страдавших РМЖ, РЯ, РПЖ

или РПрЖ при условии суммы баллов по Глиссону не менее 7. Кроме того, все евреи Ашкенази с диагнозом РПЖ должны тестироваться на наличие мутаций BRCA1/2 [19].

Данная работа содержала две задачи: 1) оценить частоту выявления мутаций BRCA1/2 и других генов, кодирующих белки гомологичной рекомбинации ДНК у больных РПЖ в Российской популяции; 2) оценить возможность предсказания риска носительства мутации в этих генах на основе сбора клинических и анамнестических данных.

Согласно полученным данным, частота мутаций BRCA1 составила 4%, что согласуется с частотой мутаций в опубликованных работах, выполненных на Западе, где авторы проводили секвенирование [20]. Результаты данной работы также соответствуют результатам исследования, выполненного на российской популяции под руководством Е. Н. Имянитова [23]. В данном исследовании у 184 пациентов с РПЖ анализировалась только одна нуклеотидная замена в гене BRCA1 (5382insC),

которая была выявлена у двух пациентов (1,3%). Кроме того, у 22 больных анализировалось наличие мутации BRCA26174delT, а в 8 случаях было выполнено секвенирование полной кодирующей последовательности данного гена. Это позволило в одном случае выявить патогенную мутацию BRCA2 (5197_5198delTC).

Если частота выявленных в нашей работе мутаций согласуется с данными других авторов, то их структура существенно отличается. В данном исследовании все четыре мутации выявлены в гене BRCA1 (во всех случаях 5382insC) и ни одной – в гене BRCA2. Однако данные западной литературы указывают, что более половины мутаций BRCA1/2 при РПЖ приходится на ген BRCA2 [9, 14].

Золотым стандартом определения мутаций BRCA1/2 является секвенирование по Сэнгеру [24]. Зачастую в рутинной лабораторной диагностике целесообразно заменить секвенирование по Сэнгеру на более простые и дешевые диагностические тест-системы, основанные на методе ПЦР. Наиболее изученными нозологиями с точки зрения анализа частоты мутаций BRCA1/2 и их спектра являются рак молочной железы и рак яичников. Поэтому диагностические тест-системы для анализа генов BRCA1/2 предназначены для выявления мутаций, наиболее распространенных при данных нозологиях. Поскольку структура мутаций BRCA1/2 при РПЖ в России не определена,

в настоящей работе были использованы диагностические панели, предназначенные для выявления наиболее частых клинически значимых замен в интересующих нас генах, но ориентированные, прежде всего, на рак молочной железы и яичников.

Поскольку в гене BRCA2 с помощью диагностических тест-систем мы не смогли выявить мутации, пациентам в дальнейшем рекомендуется провести секвенирование кодирующих участков данного гена. Стоит также отметить, что точная структура мутаций BRCA2 в российской популяции не известна не только для РПЖ, но и у онкологических пациентов в целом. Единственной работой, посвященной этому вопросу, является исследование AVATAR, выполненное на пациентках РЯ. В исследование было включено 498 пациенток РЯ, для которых выполнили высокопроизводительное секвенирование ДНК нормальных и опухолевых клеток. Суммарно выявлено 23 мутации BRCA2, что составляет 16,5% в структуре всех герминальных мутаций BRCA1/2 [25]. Однако среди мутаций не было ни одной 6174delT или 6997_6998insT, которые включаются в диагностические панели. Поскольку существующие диагностические BRCA1/2-тесты не адаптированы для выявления мутаций у пациентов РПЖ, эти данные еще раз указывают на то, что для анализа частоты и спектра мутаций в генах гомологичной рекомбинации целесообразно использовать высокопроизводительное секвенирование и на основе полученных результатов модифицировать существующие диагностические тест-системы.

Мы провели регрессионный анализ, чтобы определить потенциальные предикторы повышенного риска носительства мутаций в генах белков гомологичной рекомбинации ДНК. Включив в качестве положительного результата теста в регрессионном анализе все выявленные мутации (BRCA1 и CHEK2), мы не получили ни одного фактора, статистически значимо влияющего на риск носительства этих мутаций, в том числе наличие отягощенного семейного анамнеза. Возможная причина этому – отсутствие убедительных данных, что мутации CHEK2 являются

инициирующими событиями в канцерогенезе данного заболевания [26, 27].

Мы также провели регрессионный анализ, включив в качестве положительного результата теста только мутации BRCA1. Регрессионный анализ продемонстрировал, что единственным предиктором носительства герминальной мутации BRCA1 является соответствие критериям NCCN в отношении отягощенного семейного анамнеза. Анализ семейного анамнеза по другим критериям, например без учета таких важных факторов, как гистология опухолей у родственников, возраст развития РМЖ у родственников, степень родства и др., не способен предсказать риск носительства герминальной мутации BRCA1.

Возраст пациента моложе 50 лет обладает определенной корреляцией с риском носительства мутации BRCA1, однако данный фактор не достиг статистической значимости ($p=0,060$), в связи с чем следует с осторожностью относиться к этому предиктору. Данные литературы указывают, что средний возраст диагностирования РПЖ у пациентов с герминальной мутацией BRCA1/2 превышает 60 лет и соответствует по этому показателю спорадическому раку [9, 12]. Вероятно, фактор возраста коррелирует с риском носительства мутации BRCA1 в связи с тем, что во всех случаях это была мутация 5382insC. Три из четырех пациентов с этой мутацией оказались моложе 50 лет.

Таким образом, проведенное исследование показало, что критерии отбора NCCN для генетического тестирования являются наилучшим предиктором наличия герминальной мутации BRCA1 у пациентов с РПЖ. Поскольку структура мутаций при РПЖ в российской популяции недостаточно хорошо изучена, в рутинной клинической практике пациентам с РПЖ следует рекомендовать тестирование на наличие мутации BRCA1/2 методом секвенирования.

Работа выполнена в рамках экспериментального государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации при координации ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Минздрава России.

Информация об авторах:

Илья А. Покатаев, к. м. н, научный сотрудник отделения клинической фармакологии и химиотерапии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия, e-mail: pokia@mail.ru

Анна С. Попова, аспирант отделения клинической фармакологии и химиотерапии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия, e-mail: annpopova93@gmail.com

Иван С. Абрамов, м. н. с. лаборатории биологических микрочипов ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» РАН, Москва, Россия, e-mail: abriv@bk.ru

Марина А. Емельянова, к. б. н., м. н. с. лаборатории биологических микрочипов ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» РАН, Москва, Россия

Татьяна В. Наседкина, д. б. н., проф., в. н. с. лаборатории биологических микрочипов ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» РАН, Москва, Россия, e-mail: nased@biochip.ru

Людмила Н. Любченко, д. м. н., зав. лабораторией клинической онкогенетики ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия, e-mail: clingen@mail.ru

Игорь С. Базин, д. м. н., с. н. с. отделения клинической фармакологии и химиотерапии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия, e-mail: igorbazin@gmail.com

Елена В. Артамонова, д. м. н., в. н. с. отделения амбулаторной химиотерапии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

Михаил Ю. Федянин, к. м. н., с. н. с. отделения клинической фармакологии и химиотерапии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия, e-mail: fedianinmu@mail.ru

София Ф. Меньшикова, ординатор отделения клинической фармакологии и химиотерапии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия, e-mail: sophie.menshikova@gmail.com

Сергей А. Тюлядин, д. м. н., проф., зав. отделением клинической фармакологии и химиотерапии ФГБУ «Российский Онкологический Научный Центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия, e-mail: stjulandin@gmail.com

DOI: 10.18027/2224-5057-2018-8-3-5-12

For citation: Pokataev I. A., Popova A. S., Abramov I. S., Emelyanova M. A., Nasedkina T. V. et al. Germinal mutations in homologous recombination genes in a population of patients with pancreatic cancer: a single centre experience. *Malignant Tumours* 2018; 3:5–12 (In Russ.)

Germinal mutations in homologous recombination genes in a population of patients with pancreatic cancer: a single centre experience

I. A. Pokataev¹, A. S. Popova¹, I. S. Abramov², M. A. Emelyanova², T. V. Nasedkina², L. N. Lyubchenko¹, I. S. Bazin¹, E. V. Artamonova¹, M. Yu. Fedyanin¹, S. Ph. Menshikova¹, S. A. Tjulandin¹

¹ N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow, Russia

² Engelhardt Institute of Molecular Biology RAS, Moscow, Russia

Abstract:

Objective. To estimate the frequency of germline mutations in homologous recombination genes in a population of patients with pancreatic cancer and to assess the possibility to predict the risk of mutation carriage based on the clinical and anamnestic data.

Materials and methods. The study included patients diagnosed with pancreatic cancer, blood samples of which were taken to detect clinically significant germline mutations in the BRCA1, BRCA2, CHEK2, BLM, NBS1, and PALB2 genes. Clinical data and family history data were collected for each patient.

Results. The study included 99 patients. Mutations in BRCA1 gene were detected in 4 % of cases, in CHEK2 gene – in 2 %. No mutations were detected in the BRCA2, as in BLM, NBS1, and PALB2 genes. Localization of primary tumor, presence of distant metastases, stage of disease, family history of malignant neoplasms did not correlate with the risk of BRCA1 mutation ($p > 0.05$). The patient's eligibility for NCCN criteria for BRCA1 gene mutation diagnosis proved to be a significant marker of germline mutation presence ($p = 0.043$).

Conclusions. NCCN criteria for genetic testing are the best predictor of BRCA1 germline mutation in patients with pancreatic cancer.

Keywords: pancreatic cancer, germline mutations, homologous recombination genes, BRCA1, BRCA2, polymerase chain reaction

Information about the authors:

Илья А. Pokataev, MD, PhD Med, Department of Clinical Pharmacology and Chemotherapy, N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow, Russia, e-mail: pokia@mail.ru

Anna S. Popova, PhD-student, Department of Clinical Pharmacology and Chemotherapy, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow, Russia, e-mail: annpopova93@gmail.com

Ivan S. Abramov, Junior Researcher, Laboratory of Biological Microchips, Engelhardt Institute of Molecular Biology of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, e-mail: abriv@bk.ru

Marina A. Emelyanova, PhD Biol, Junior Researcher, Laboratory of Biological Microchips, Engelhardt Institute of Molecular Biology RAS, Moscow, Russia,

Tatyana V. Nasedkina, DSc Biol, Professor, Leading Researcher, Laboratory of Biological Microchips, Engelhardt Institute of Molecular Biology RAS, Moscow, Russia, e-mail: nased@biochip.ru

Lyudmila N. Lyubchenko, DSc Med, Head of the Laboratory of Clinical Oncogenetics, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow, Russia, e-mail: clingen@mail.ru

Igor S. Bazin, MD, DSc Med, Senior Researcher, Department of Clinical Pharmacology and Chemotherapy, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow, Russia, e-mail: igorbazin@gmail.com

Elena V. Artamonova, MD, DSc Med, Leading Researcher, Department of Outpatient Chemotherapy, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow, Russia

Mikhail Yu. Fedyanin, MD, DSc Med, Senior Researcher, Department of Clinical Pharmacology and Chemotherapy, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow, Russia, e-mail: fedianinmu@mail.ru

Sophiya Ph. Menshikova, medical resident, Department of Clinical Pharmacology and Chemotherapy, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow, Russia, e-mail: sophie.menshikova@gmail.com

Sergey A. Tjulandin, MD, DSc Med, Professor, Head of the Department of Clinical Pharmacology and Chemotherapy, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow, Russia, e-mail: stjulandin@gmail.com

Литература • References

1. Состояние онкологической помощи населению России в 2016 году / По ред. Каприна А. Д., Старинского В. В., Петровой Г. В. М.: МНИОИ им. П. А. Герцена филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2017. 236 с. [Sostoyanie onkologicheskoi pomoshchi naseleniyu Rossii v 2016 godu (The state of oncological care for the population of Russia in 2016). Kaprin A. D., Starinskiy V. V., Petrova G. V. (eds.) Moscow: MNI OI im. P. A. Gertsena – filial FGBU NMITS radiologii Minzdrava Rossii, 2017. 236 p. (In Russ.)].
2. Stathis A., Moore M. J. Advanced pancreatic carcinoma: current treatment and future challenges. *Nature Reviews Clinical Oncology*. 2010. Vol. 7. No. 3. P. 163–172.
3. Conroy T., Desseigne F., Ychou M., Bouche O., Guimbaud R., Becouarn Y. et al. FOLFIRINOX versus gemcitabine for metastatic pancreatic cancer. *New England J. Medicine*. 2011. Vol. 364. No. 19. P. 1817–1825.
4. Von Hoff D. D., Ervin T., Arena F. P., Chiorean E. G., Infante J., Moore M. et al. Increased survival in pancreatic cancer with nab-paclitaxel plus gemcitabine. *New England J. Medicine*. 2013. Vol. 369. No. 18. P. 1691–1703.
5. Siegel R. L., Miller K. D., Jemal A. Cancer statistics, 2017. *CA: A Cancer J. Clinicians*. Vol. 67. P. 7–30.
6. Kleeff J., Korc M., Apte M., La Vecchia C., Johnson C. D., Biankin A. V. et al. Pancreatic cancer. *Nature Reviews Disease Primers*. 2016. Vol. 2. P. 16022.
7. Noone A. M., Cronin K. A., Altekruse S. F., Howlader N., Lewis D. R., Petkov V. I., Penberthy L. Cancer incidence and survival trends by subtype using data from the Surveillance Epidemiology and End Results Program, 1992–2013. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*. 2017. Vol. 26. P. 632–641.
8. Waddell N., Pajic M., Patch A. M., Chang D. K., Kassahn K. S., Bailey P. et al. Whole genomes redefine the mutational landscape of pancreatic cancer. *Nature*. 2015. Vol. 518. No. 7540. P. 495–501.
9. Holter S., Borgida A., Dodd A., Grant R., Semotiuk K., Hedley D. Germline BRCA mutations in a large clinic-based cohort of patients with pancreatic adenocarcinoma. *J. Clinical Oncology*. 2015. Vol. 33. No. 28. P. 3124–3129.
10. Luo G., Lu Y., Jin K., Cheng H., Guo M., Liu Z. et al. Pancreatic cancer: BRCA mutation and personalized treatment. *Expert Review of Anticancer Therapy*. 2015. Vol. 15. No. 10. P. 1223–1231.
11. Becker A. E., Hernandez Y. G., Frucht H., Lucas A. L. Pancreatic ductal adenocarcinoma: risk factors, screening, and early detection. *World J. Gastroenterology: WJG*. 2014. Vol. 20. No. 32. P. 11182–11198.

12. Lucas A. L., Shakya R., Lipsyc M. D., Mitchel E. B., Kumar S., Hwang C. High prevalence of BRCA1 and BRCA2 germline mutations with loss of heterozygosity in a series of resected pancreatic adenocarcinoma and other neoplastic lesions. *Clinical Cancer Research*. 2013. Vol. 19. No. 13. P. 3396–3403.
13. Murphy K. M., Brune K. A., Griffin C., Sollenberger J. E., Petersen G. M., Bansal R. Evaluation of candidate genes MAP2K4, MADH4, ACVR1B, and BRCA2 in familial pancreatic cancer: deleterious BRCA2 mutations in 17 %. *Cancer Research*. 2002. Vol. 62. No. 13. P. 3789–3793.
14. Lowery M. A., Kelsen D. P., Stadler Z. K., Kenneth H. Y., Janjigian Y. Y., Ludwig E. An emerging entity: pancreatic adenocarcinoma associated with a known BRCA mutation: clinical descriptors, treatment implications, and future directions. *The Oncologist*. 2011. Vol. 16. No. 10. P. 1397–1402.
15. Blair A. B., Groot V. P., Gemenetis G., Wei J., Cameron J. L., Weiss M. J. BRCA1/BRCA2 Germline Mutation Carriers and Sporadic Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *J. American College of Surgeons*. 2018. Vol. 226. No. 4. P. 630–637.
16. Golan T., Kanji Z. S., Epelbaum R., Devaud N., Dagan E., Holter S. Overall survival and clinical characteristics of pancreatic cancer in BRCA mutation carriers. *British J. Cancer*. 2014. Vol. 111. No. 6. P. 1132–1138.
17. Наседкина Т.В., Громыко О.Е., Емельянова М.А., Игнатова Е.О., Казубская Т.П., Портной С.М., Заседателев А.С., Любченко Л.Н. Определение герминальных мутаций в генах BRCA1, BRCA2 и CHEK2 с использованием биочипов у больных раком молочной железы. Молекулярная биология. 2014. Т. 48. № 2. С. 243–250. [Nasedkina T.V., Gromyko O.E., Emel'yanova M.A., Ignatova E.O., Kazubskaya T.P., Portnoi S.M., Zasedatelev A.S., Lyubchenko L.N. Opredelenie germinal'nykh mutatsii v genakh BRCA1, BRCA2 i CHEK2 s ispol'zovaniem biochipov u bol'nykh rakom molochnoi zhelezy (Determination of germinal mutations in the BRCA1, BRCA2 and CHEK2 genes using biochips in patients with breast cancer). *Molekulyarnaya biologiya*. 2014. Vol. 48. No. 2. P. 243–250 (In Russ.)].
18. Prokofyeva D., Bogdanova N., Bermisheva M., Zinnatullina G., Hillemanns P., Khusnutdinova E. et al. Rare occurrence of PALB2 mutations in ovarian cancer patients from the Volga-Ural region. *Clinical Genetics*. 2012. Vol. 82. No. 1. P. 100–101.
19. Daly M. B., Pilarski R., Berry M., Buys S. S., Farmer M., Friedman S. et al. NCCN Guidelines Insights: genetic/familial high-risk assessment: breast and ovarian, version 1.2018. *J. National Comprehensive Cancer Network*. 2018.
20. Shindo K., Yu J., Suenaga M., Fesharakizadeh S., Cho C., Macgregor-Das A. et al. Deleterious germline mutations in patients with apparently sporadic pancreatic adenocarcinoma. *J. Clinical Oncology*. 2017. Vol. 35. No. 30. P. 3382–3390.
21. Lowery M. A., Wong W., Jordan E. J., Lee J. W., Kemel Y., Vijai J. et al. Prospective Evaluation of Germline Alterations in Patients With Exocrine Pancreatic Neoplasms. *JNCI: J. National Cancer Institute*. 2018. Vol. 110. No. 10.
22. Kaufman B., Shapira-Frommer R., Schmutzler R. K., Audeh M. W., Friedlander M., Balmana J. et al. Olaparib monotherapy in patients with advanced cancer and a germline BRCA1/2 mutation. *J. Clinical Oncology*. 2014. Vol. 33. No. 3. P. 244–250.
23. Кашинцев А.А., Янус Г.А., Коханенко Н.Ю., Моисеенко В.М., Ханевич М.Д., Роман Л.Д. и др. Встречаемость мутаций в генах BRCA1 и BRCA2 у больных раком поджелудочной железы. Сибирский онкологический журнал. 2013. Т. 5. № 59. [Kashintsev A. A., Yanus G. A., Kokhanenko N. Yu., Moiseenko V. M., Khanevich M. D., Roman L. D. et al. Vstrechaemost' mutatsii v genakh BRCA1 i BRCA2 u bol'nykh rakom podzheludochnoi zhelezy (The occurrence of mutations in the BRCA1 and BRCA2 genes in patients with pancreatic cancer). *Sibirskii onkologicheskii zhurnal*. 2013. Vol. 5. No. 59 (In Russ.)].
24. Wallace A. J. New challenges for BRCA testing: a view from the diagnostic laboratory. *European J. Human Genetics*. 2016. Vol. 24. No. S1. P. S10.
25. Tyulyandina A., Gorbunova V., Khokhlova S., Kolomiets L., Filipenko M., Imyanitov E. et al. Profile of BRCA1/BRCA2 mutations in Russian ovarian cancer population detected by NGS and MLPA analysis: Interim results of OVATAR study. *AACR 2018 Proceedings*. Abstracts 1–3027. No. 1241.
26. Bartsch D. K., Krysewski K., Sina-Frey M., Fendrich V., Rieder H., Langer P. Low frequency of CHEK2 mutations in familial pancreatic cancer. *Familial Cancer*. 2006. Vol. 5. No. 4. P. 305–308.
27. Dudley B., Karloski E., Monzon F. A., Singhi A. D., Lincoln S. E., Bahary N., Brand R. E. Germline mutation prevalence in individuals with pancreatic cancer and a history of previous malignancy. *Cancer*. 2018. Vol. 124. No. 8. P. 1691–1700.