

Патогенный вариант гена *BRCA2* с.6341del у пациента с раком предстательной железы из Северной Осетии

М.Б. Болиева¹, О.И. Бровкина², Д.С. Ходырев², А.Г. Никитин², А.А. Епхийев¹, Л.М. Воронкова³, М.Г. Гордиев⁴

¹ГБУЗ «Республиканский онкологический диспансер» Минздрава Республики Северная Осетия — Алания; Россия, 362002 Владикавказ, ул. Зортова, 2;

²ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства»; Россия, 115682 Москва, Ореховый б-р, 28;

³БУЗ ВО «Воронежский областной клинический онкологический диспансер»; Россия, 394036 Воронеж, ул. Вайцеховского, 4;

⁴ГБУЗ «Диагностический центр (Центр лабораторных исследований) Департамента здравоохранения г. Москвы»; Россия, 115580 Москва, Ореховый б-р, 49, корп. 1

Контакты: Ольга Игоревна Бровкина brov.olia@gmail.com

Наследственная форма рака предстательной железы часто вызвана патогенными вариантами в генах, связанных с системой репарации повреждений ДНК. Выявление генетических aberrаций позволяет стратифицировать больных на группы для персонализации и повышения эффективности терапии. При таком подходе важно учитывать, что частота патогенных вариантов может значительно варьировать в разных этнических популяциях.

В статье представлен случай метастатического кастрационно-резистентного рака предстательной железы у носителя наследственного патогенного варианта в гене *BRCA2* с.6341del (p.Pro2114fs). Полученные результаты свидетельствуют о необходимости генетического тестирования с использованием современных методов, способных детектировать редкие варианты генов.

Ключевые слова: рак предстательной железы, *BRCA2*, секвенирование нового поколения, генетическое тестирование, наследственный патогенный вариант

Для цитирования: Болиева М.Б., Бровкина О.И., Ходырев Д.С. и др. Патогенный вариант гена *BRCA2* с.6341del у пациента с раком предстательной железы из Северной Осетии. Онкоурология 2023;19(3):94–99. DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9776-2023-19-3-94-99>

Pathogenic *BRCA2* c.6341del gene variant in a patient with prostatic cancer from the North Ossetia

M.B. Bolieva¹, O.I. Brovkina², D.S. Khodyrev², A.G. Nikitin², A.A. Epkhiev¹, L.M. Voronkova³, M.G. Gordiev⁴

¹Republican Oncological Dispensary, Ministry of Health of the Republic of North Ossetia — Alania; 2 Zortova St., Vladikavkaz 362002, Russia;

²Federal Research Clinical Center for Specialized Types of Health Care and Medical Technologies, Federal Medical and Biological Agency; 28 Orekhovyy Bul'var, Moscow 115682, Russia;

³Voronezh Regional Clinical Oncology Dispensary; 4 Vaytsekhovskogo St., Voronezh 394036, Russia;

⁴Diagnostic Center (Center for Laboratory Research), Moscow Healthcare Department; Build. 1, 49 Orekhovyy Bul'var, Moscow 115580, Russia

Contacts: Olga Igorevna Brovkina brov.olia@gmail.com

Hereditary form of prostate cancer is often caused by pathogenic variants in genes associated with the DNA repair system. Identification of genetic aberrations allows to stratify patients into groups for personalization and improvement of therapy effectiveness. With this approach, it is important to take into account that the frequency of pathogenic variants can vary significantly in different ethnic populations.

The article presents a case of metastatic castration-resistant prostate cancer in a carrier of hereditary pathogenic variant in the *BRCA2* gene c.6341del (p.Pro2114fs). The results support the need for genetic testing using up-to-date methods capable of detecting rare genetic variants.

Keywords: prostate cancer, *BRCA2*, next-generation sequencing, genetic testing, hereditary pathogenic variant

For citation: Bolieva M.B., Brovkina O.I., Khodyrev D.S. et al. Pathogenic *BRCA2* c.6341del gene variant in a patient with prostatic cancer from the North Ossetia. *Onkourologiya = Cancer Urology* 2023;19(3):94–9. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9776-2023-19-3-94-99>

Введение

Известно, что патогенные варианты генов *BRCA1/2* являются частой причиной развития наследственного рака молочной железы и яичников. Тем не менее аберрации в этих генах часто вызывают повышенный риск развития и других онкологических заболеваний, например колоректального рака и рака предстательной железы (РПЖ).

Продукты генов *BRCA1/2* — основные компоненты системы репарации дефектов ДНК, они поддерживают стабильность генома в ходе клеточного цикла, обеспечивая правильное митотическое деление клеток [1]. Генетический анализ случаев РПЖ показывает, что до 60 % пациентов имеют клинически значимые молекулярные изменения в генах системы репарации дефектов ДНК [2, 3].

Показано, что патогенные варианты в генах *BRCA1/2* являются отрицательными прогностическими маркерами выживаемости пациентов с РПЖ, получавших ингибиторы передачи сигналов андрогенных рецепторов в 1-й линии терапии [4]. Кроме прогностической ценности в недавних исследованиях доказана диагностическая роль аберраций генов *BRCA1/2*: большинство случаев метастатического кастрационно-резистентного РПЖ (мКРРПЖ) вызвано патогенными вариантами в этих генах [2–5]. При этом наиболее высокую распространенность имеют патогенные варианты гена *BRCA2* (5,3 %) [2].

Результаты таких широкомасштабных исследований, как PROREPAIR-B, PROfound, BRCA2MEN, показывают прогностическое значение патогенных вариантов в генах системы репарации дефектов ДНК при таргетной терапии больных мКРРПЖ [6, 7]. В исследованиях продемонстрировано, что тип варианта по-разному влияет на ответ на терапию, при этом носители патогенных вариантов гена *BRCA2* имеют наибольшую чувствительность к PARP-ингибиторам.

С учетом клинического значения таких прогностических и диагностических маркеров международные руководства рекомендуют выполнение генетического тестирования пациентов с мКРРПЖ [8, 9]. Кроме этого, при наличии в семейном анамнезе РПЖ и выявлении патогенных вариантов у пациента также необходимо проводить анализ на наличие наследственных патогенных вариантов у членов его семьи.

Клинический случай

У пациента X., 68 лет, в декабре 2019 г. при обследовании в Российском научном центре радиологии и хирургических технологий был выявлен повышенный уровень общего

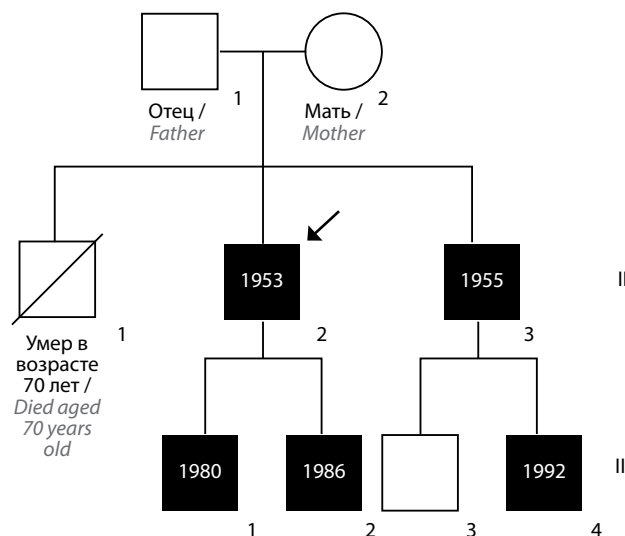


Рис. 1. Родословная пациента. Стрелкой указан пациент, черным цветом — больные метастатическим кастрационно-резистентным раком предстательной железы

Fig. 1. The patient's lineage. Arrow shows the patient, black marks patients with metastatic castration-resistant prostate cancer

простатического специфического антигена (ПСА) — 120 нг/мл. Больной предъявлял жалобы на частое мочеиспускание и слабость.

Убрана пациента в ноябре 2017 г. был диагностирован мКРРПЖ. Впоследствии, в 2021 г., у обоих сыновей пациента и у сына брата пациента также был выявлен мКРРПЖ (рис. 1).

При пальцевом ректальном обследовании у пациента было обнаружено выраженное увеличение предстательной железы. При ультразвуковом исследовании были выявлены очаги экстрапростатического распространения с вовлечением семенных пузырьков, мочевого пузыря, устья правого и левого мочеточников (рис. 2).

Данные трансректальной игольчатой биопсии под ультразвуковым контролем (от 05.12.2019) подтвердили наличие аденокарциномы с суммой баллов по шкале Глисона 9 (4 + 5). Результаты иммуногистохимического исследования показали положительное окрашивание на Ki-67 и ПСА. При остеосцинтиграфии метастазы в костях не обнаружены.

Пациенту установлен диагноз мКРРПЖ стадии T4N1M0 по классификации Всемирной организации здравоохранения.

Больному была назначена антиандрогенная терапия гозерелином в дозе 3,6 мг 1 раз в 28 дней. На фоне терапии уровень ПСА снизился до 35,16 нг/мл.



Рис. 2. Ультразвуковое исследование (декабрь, 2019 г.)

Fig. 2. Ultrasound exam (December 2019)

По результатам компьютерной томографии (рис. 3) и магнитно-резонансной томографии (рис. 4) органов малого таза (от 13.08.2020) была отмечена инвазия опухоли в пищевод. Анализ на ПСА показал положительную динамику (41,7 нг/мл).

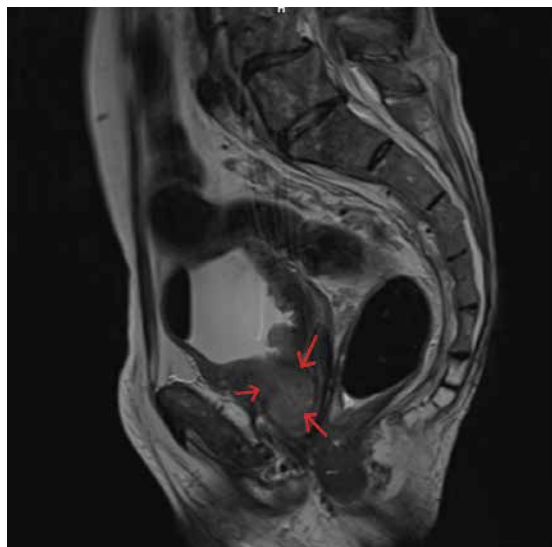


Рис. 3. Компьютерная томограмма (август, 2020 г.)

Fig. 3. Computed tomogram (August 2020)

С учетом повышения уровня ПСА была рекомендована смена линии терапии. Больному назначена химиотерапия доцетакселом в дозе 75 мг/м² внутривенно. После 3 курсов лечения уровень ПСА составил 11 нг/мл.

У пациента 18.01.2021 было зарегистрировано прогрессирование заболевания в виде увеличения уровня ПСА до 59 нг/мл. Врач-онколог назначил пациенту и его родственникам генетический анализ, включающий панель генов, ассоциированных с наследственными онкологическими заболеваниями.



Рис. 4. Магнитно-резонансная томограмма (август, 2020 г.)

Fig. 4. Magnetic resonance imaging (August 2020)

Генетический анализ. Из образцов цельной крови выделяли 100 нг геномной ДНК с помощью набора DNA Blood Mini QIAcube Kit (Qiagen, Нидерланды).

Обогащение мишеней, секвенирование и анализ проводили, как описано ранее [10, 11], с небольшими изменениями. Для подготовки библиотеки и ферментативной фрагментации ДНК использовали набор KAPA HyperPlus (Roche, Швейцария), ДНК фрагментировали до размера 150–200 пар нуклеотидов (п.н.). Концентрацию ДНК в библиотеке измеряли на Qubit (Thermo Fisher Scientific, США) по инструкции производителя, наличие димеров праймеров оценивали с помощью набора Agilent High Sensitivity DNA Kit (Agilent, США), оптимальная длина



Рис. 5. Изображение патогенного варианта *BRCA2* с.6339delC (p.Pro2114fs) в геномном браузере IGV
Fig. 5. Pathogenic *BRCA2* с.6339delC (p.Pro2114fs) variant in IGV genomic browser

фрагмента с адаптером 290–330 п.н. Далее библиотеки объединяли и гибридизовали с набором SeqCap EZ Choice (Roche, Швейцария) в соответствии с рекомендациями производителя. Гибридизацию проводили при температуре +47 °C в течение 16 ч. Для обогащения использовали набор SeqCap Capture, а амплификацию выполняли с применением набора KAPA HiFi HS MasterMix (Roche, Швейцария). Секвенирование осуществляли на платформе MiSeq (Illumina, США).

Поиск нуклеотидных вариантов проводили с помощью GATK HaplotypeCaller, Strelka2 и FreeBayes. Консенсусный файл VCF обрабатывали в программе SnpSift (глубина чтения более 10) и аннотировали с помощью SnpEff (анализ всех транскриптов), ANNOVAR и Alamut Batch.

У пробанда был выявлен патогенный вариант гена *BRCA2* с.6341del (p.Pro2114fs) (по номенклатуре HGVS) (рис. 5). Этот вариант расположен в экзоне 11 и вызывает сдвиг рамки считывания с потерей функции в положении Pro2114 белка *BRCA2*. Глубина прочтения составила 42, аллельный баланс — 0,48.

Результаты секвенирования нового поколения (NGS) для пробанда были подтверждены секвенированием по Сэнгеру. Хроматограмма представлена на рис. 6.

NGS-анализ генома сыновей пробанда, брата пробанда и сына брата также выявил у них носительство варианта с.6341del в гене *BRCA2*.

Для анализа патогенности варианта с.6341del мы использовали прогнозирование *in silico*, чтобы определить его влияние на структуру белка с помощью программы для аннотаций с высокой пропускной способностью Alamut Batch (Interactive Biosoftware) [12]. Согласно программе Alamut Batch, вариант с.6341del имел высокую вероятность (0,997) сдвига кодона в положении Pro2114.

Терапия прогрессирования. В августе 2021 г. врачебным консилиумом было принято решение о назначении

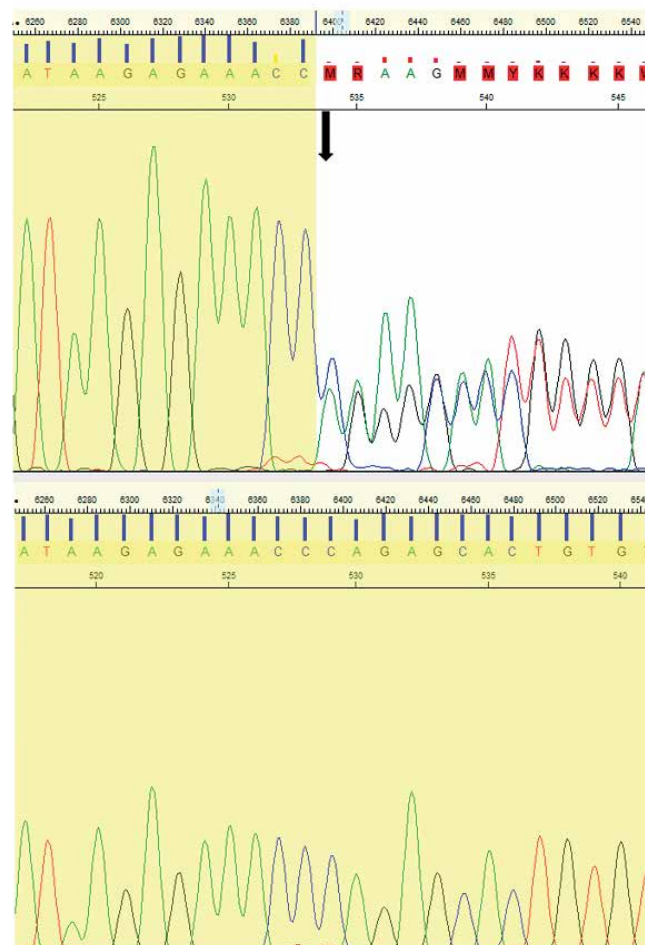


Рис. 6. Секвенирование по Сэнгеру патогенного варианта *BRCA2* с.6339delC (p.Pro2114fs)
Fig. 6. Sanger sequencing of the pathogenic *BRCA2* с.6339delC (p.Pro2114fs) variant

пациенту таргетной терапии олапарибом (600 мг/сут). На момент введения препарата при контрольной магнитно-резонансной томографии у пациента была выявлена инвазия опухоли в семенные пузырьки, нижнюю и боковую стенки мочевого пузыря, правый и левый мочеточники с распространением на перивезикальную, параректальную и пресакральную клетчатку. Отмечено метастатическое поражение забрюшинных лимфатических узлов. Диффузные метастатические поражения локализовались в поясничных позвонках, крестце, костях таза и видимых отделах бедренной кости. Уровень ПСА составил 1000 нг/мл.

По данным на декабрь 2021 г., таргетная терапия продолжается. Уровень ПСА снизился до 130 нг/мл. Пациент терапию переносит удовлетворительно, отмечает улучшение самочувствия.

Обсуждение

Метастатический кастрационно-резистентный РПЖ — заболевание с неблагоприятным прогнозом. Среди больных мКРППЖ особую группу составляют пациенты с наследственными злокачественными новообразованиями, ассоциированными с патогенными вариантами *BRCA1/2*. В ряде исследований показано, что такие варианты повышают риск поражения лимфатических узлов, образования отдаленных метастазов и, кроме того, связаны со снижением выживаемости при мКРППЖ [3, 13]. Выявление aberrаций в структуре генов гомологичной репарации ДНК позволяет персонализировать подход к профилактике и лечению РПЖ. Последние разработки в области молекулярной диагностики должны регулярно внедряться в клиниках для отбора пациентов, чувствительных к таргетной терапии. Доказанная роль патогенных вариантов *BRCA1/2* подчеркивает важность генетического консультирования пациентов с мКРППЖ.

На уровне комплементарной ДНК вариант c.6341del (p.Pro2114fs) в гене *BRCA2* в 2016 г. был описан в базе данных ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>) — ClinVar: NM_000059.4(BRCA2):c.6341del (p.Pro2114fs). Кроме этого, вариант представлен как патогенный также в базе данных Varsome (<https://varsome.com/>). Однако следует отметить, что в настоящее время опубликована только одна работа по исследованию данного варианта, поэтому дальнейшее изучение особенностей развития патологии у носителей этого варианта представляет несомненный интерес.

Вариант классифицируется по доказательной базе для интерпретации герминальных мутаций (ENIGMA) как патогенный (класс 5) на основании следующих критериев: вариант приводит к сдвигу рамки считывания, вследствие чего нарушается экспрессия RAD51-связывающего домена (по базе данных UNIPROT <https://www.uniprot.org/>).

Согласно руководству Американского колледжа медицинской генетики и геномики (ACMG), найденный вариант также характеризуется как патогенный (по базе данных Genome Aggregation Database (gnomAD, <https://gnomad.broadinstitute.org/>)), этот вариант не встречается среди здорового населения в целом. Функциональное исследование также свидетельствует о том, что сдвиг рамки считывания, вызванный делецией c.6341del, приводит к преждевременному терминирующему кодону, в результате чего образуется aberrантный белок BRCA2 (p.Pro2114fs). Наконец, анализ сегрегации среди пораженных и здоровых членов семьи больного свидетельствует о cosegregации варианта с фенотипом заболевания (мКРППЖ) и добавляет дополнительные доказательства в поддержку классификации варианта NM_000059.4(BRCA2):c.6341del (p.Pro2114fs) как патогенного в соответствии с руководством ACMG.

Необходимо отметить, что спектр и частота вариантов *BRCA1/2* различаются между популяциями [14, 15]. Еще в середине 1990-х годов было установлено, что для относительно небольших, географически изолированных народностей характерен ярко выраженный эффект основателя — повышение частоты определенных патогенных вариантов за счет сокращения генетического разнообразия [16].

Северная Осетия — это горный регион с высокой географической изоляцией эндемичного населения. Для осетин характерны положительная ассортентность и значительная эндогамия, вследствие чего мог возникнуть описанный в данном клиническом случае патогенный вариант.

Заключение

Патогенные варианты в генах *BRCA1/2* при мКРППЖ имеют важное значение для выбора стратегии лечения, особенно в случае назначения PARP-ингибиторов. Применение PARP-ингибиторов улучшает показатели безрецидивной и общей выживаемости таких пациентов. Важно отметить, что не все носители патогенных вариантов в генах *BRCA1/2* с мКРППЖ одинаково реагируют на PARP-ингибиторы. Такие факторы, как тип патогенного варианта, гетерогенность опухоли и другие молекулярно-генетические aberrации, могут определять выбор терапии. Таким образом, всестороннее генетическое профилирование и стратификация пациентов имеют решающее значение для выявления лиц, которые с наибольшей вероятностью получат пользу от лечения PARP-ингибиторами.

Мы показали, что генетическое тестирование новыми молекулярными методами с широким спектром определяемых вариантов особенно актуально для пациентов изолированных этнических групп.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Yoshida K., Miki Y. Role of *BRCA1* and *BRCA2* as regulators of DNA repair, transcription, and cell cycle in response to DNA damage. *Cancer Sci* 2004;95(11):866–71. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2004.tb02195.x
2. Pritchard C.C., Mateo J., Walsh M.F. et al. Inherited DNA-repair gene mutations in men with metastatic prostate cancer. *N Engl J Med* 2016;375(5):443–53. DOI: 10.1056/NEJMoa1603144
3. Lozano R., Castro E., Aragón I.M. et al. Genetic aberrations in DNA repair pathways: a cornerstone of precision oncology in prostate cancer. *Br J Cancer* 2021;124:552–63. DOI: 10.1038/s41416-020-01114-x
4. Giri V.N., Knudsen K.E., Kelly W.K. et al. Implementation of germline testing for prostate cancer: Philadelphia Prostate Cancer Consensus Conference 2019. *J Clin Oncol* 2020;38(24):2798–811. DOI: 10.1200/JCO.20.00046
5. Teyssonneau D., Margot H., Cabart M. et al. Prostate cancer and PARP inhibitors: progress and challenges. *J Hematol Oncol* 2021;14(1):51. DOI: 10.1186/s13045-021-01061-x
6. Castro E., Romero-Laorden N., Del Pozo A. et al. PROREPAIR-B: a prospective cohort study of the impact of germline DNA repair mutations on the outcomes of patients with metastatic castration-resistant prostate cancer. *J Clin Oncol* 2019;37(6):490–503. DOI: 10.1200/JCO.18.00358. PMID: 30625039
7. De Bono J., Mateo J., Fizazi K. et al. Olaparib for metastatic castration-resistant prostate cancer. *N Engl J Med* 2020;382(22):2091–102. DOI: 10.1056/NEJMoa1911440
8. Scott R.J., Mehta A., Macedo G.S. et al. Genetic testing for homologous recombination repair (HRR) in metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC): challenges and solutions. *Oncotarget* 2021;12(16):1600–14. DOI: 10.18632/oncotarget.28015
9. Shore N., Ionescu-Ittu R., Yang L. et al. Real-world genetic testing patterns in metastatic castration-resistant prostate cancer. *Future Oncol* 2021;17(22):2907–21. DOI: 10.2217/fon-2021-0153
10. Brovkina O.I., Shigapova L., Chudakova D.A. et al. 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. *Front Oncol* 2018;8:421. DOI: 10.3389/fonc.2018.00421
11. Nikitin A.G., Chudakova D.A., Enikeev R.F. et al. Lynch syndrome germline mutations in breast cancer: next generation sequencing case-control study of 1,263 participants. *Front Oncol* 2020;10:666. DOI: 10.3389/fonc.2020.00666
12. Jian X., Boerwinkle E., Liu X. *In silico* prediction of splice-altering single nucleotide variants in the human genome. *Nucleic Acids Res* 2014;42(22):13534–44. DOI: 10.1093/nar/gku1206
13. Annala M., Struss W.J., Warner E.W. et al. Treatment outcomes and tumor loss of heterozygosity in germline DNA repair-deficient prostate cancer. *Eur Urol* 2017;72(1):34–42. DOI: 10.1016/j.eururo.2017.02.023
14. Yadav S., Ladkany R., Yadav D. et al. Impact of *BRCA* mutation status on survival of women with triple-negative breast cancer. *Clin Breast Cancer* 2018;18(5):e1229–35. DOI: 10.1016/j.clbc.2017.12.014
15. Levy-Lahad E., Friedman E. Cancer risks among *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers. *Br J Cancer* 2007;96(1):11–5. DOI: 10.1038/sj.bjc.6603535
16. Ferla R., Calò V., Cascio S. et al. Founder mutations in *BRCA1* and *BRCA2* genes. *Ann Oncol* 2007;18(Suppl 6):vi93–8. DOI: 10.1093/annonc/mdm234

Вклад авторов

М.Б. Болиева: сбор клинических данных, написание текста статьи;
О.И. Бровкина: генетический анализ, написание и редактирование текста статьи;
Д.С. Ходырев: проведение генетической части исследования;
А.Г. Никитин: обработка данных;
А.А. Епхийев, Л.М. Воронкова: гистологический анализ, консультация по стратегии терапевтического ведения пациента;
М.Г. Гордиев: разработка концепции и дизайна статьи.

Authors' contributions

M.B. Bolieva: collection of clinical data, article writing;
O.I. Brovkina: genetic analysis, article writing and editing;
D.S. Khodyrev: genetic part of the study;
A.G. Nikitin: data processing;
A.A. Epkhiev, L.M. Voronkova: histological analysis, consultation on the strategy of therapeutic management of the patient;
M.G. Gordiev: development of the study concept and design.

ORCID авторов / ORCID of authors

О.И. Бровкина / O.I. Brovkina: <https://orcid.org/0000-0002-0946-7331>
Д.С. Ходырев / D.S. Khodyrev: <https://orcid.org/0000-0001-6518-8305>
А.Г. Никитин / A.G. Nikitin: <https://orcid.org/0000-0001-9762-3383>
М.Г. Гордиев / M.G. Gordiev: <https://orcid.org/0000-0002-3848-865X>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 21-75-00041 (<https://rscf.ru/project/21-75-00041/>).
Funding. The work was performed with support from the Russian Science Foundation grant No. 21-75-00041 (<https://rscf.ru/project/21-75-00041/>).

Соблюдение прав пациентов. Пациент подписал информированное согласие на публикацию своих данных.

Compliance with patient rights. The patient gave written informed consent to the publication of his data.

Статья поступила: 10.04.2022. Принята к публикации: 12.09.2023.

Article submitted: 10.04.2022. Accepted for publication: 12.09.2023.