

*Медицински Университет-Плевен*  
*Факултет „Фармация”*  
*Катедра „Медицинска генетика”*

**д-р Зорница Богомилова Камбурова-Мартинова**

**Проучване върху носителството на генетични дефекти за  
предразположение при жени с рак на гърда и рак на яйчник от  
Българската популация и значението на установените генетични  
варианти за изграждане на подход за генетично консултиране при тези  
заболявания**

## ***А В Т О Р Е Ф Е Р А Т***

**на дисертационен труд за придобиване на образователна и научна степен  
„Доктор“**

Докторска програма: Медицинска генетика

Научен ръководител – проф. д-р Катя Стефанова Ковачева-Коцева, дм

Научно жури:

Доц. д-р Радослава Василева Въжарова, д.б.

Проф. д-р Иванка Исталианова Димова, д.м.н.

Проф. Алексей Славков Савов, д.б.н.

Проф. д-р Савелина Любенова Поповска, д.м.н.

Доц. д-р Мария Николаева Симеонова – Бояджиева, д.б.

Плевен 2025

*Настоящият труд е посветен на майка ми и сестра ми.*

Дисертационният труд е представен на 172 страници и съдържа 20 фигури и 28 таблици. Библиографията обхваща 465 литературни източника, от които 5 на кирилица и 460 на латиница.

Настоящите изследвания са финансирани изцяло по проект BG05M2OP001-1.002-0010-S01 "ЦЕНТЪР ЗА КОМПЕТЕНТНОСТ ПО ПЕРСОНАЛИЗИРАНА МЕДИЦИНА, 3D И ТЕЛЕМЕДИЦИНА, РОБОТИЗИРАНА И МИНИМАЛНО ИНВАЗИВНА ХИРУРГИЯ" към Оперативна програма „Наука и образование за интелигентен растеж“ и Европейския фонд за регионално развитие.

Авторът е докторант в редовна форма на обучение към катедра «Медицинска генетика», Факултет по Фармация, Медицински университет - Плевен

Дисертационният труд е обсъден и насочен за защита на разширен Катедрен съвет от Катедра „Медицинска генетика“, Медицински университет – Плевен, състоял се на 03.12.2024г.

Материалите по защитата са на разположение в Научен отдел на Факултет по Фармация, МУ-Плевен и на сайта на университета – [www.mu-pleven.bg](http://www.mu-pleven.bg).

Състав на научно жури:

Председател:

Доц. д-р Мария Николаева Симеонова – Бояджиева, д.б.

Членове:

Проф. д-р Савелина Любенова Поповска, д.м.н.

Доц. д-р Радослава Василева Въжарова, д.б.

Проф. д-р Иванка Исталианова Димова, д.м.н.

Проф. Алексей Славков Савов, д.б.н.

Резервни членове:

Доц. Д-р Пенчо Тончев Тончев, д.м.

Проф. д-р Людмила Бончева Ангелова, д.м.

Защитата ще се състои на 25.02.2025г. от 13.00 ч. в зала „Амброаз Паре“ на Телекомуникационен Ендоскопски Център, Медицински университет – Плевен.

## СЪДЪРЖАНИЕ

<b>ВЪВЕДЕНИЕ</b> .....	<b>8</b>
<b>I. ЦЕЛ</b> .....	<b>9</b>
<b>II. ЗАДАЧИ</b> .....	<b>9</b>
<b>III. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ</b> .....	<b>10</b>
1. Обща характеристика и основни групи пациенти.....	10
2. Основни методи.....	11
2.1. Анкетен .....	11
2.2. Генеалогичен.....	11
2.3. Молекулярно-генетичен (ДНК анализ).....	11
2.3.1. Изолитране на ДНК.....	11
2.3.2. Масивно паралелно секвениране (секвениране от следващо поколение - NGS).....	11
2.3.3. Анализ на получените данни от секвенирането.....	12
2.4. Генетично консултиране.....	13
2.5. Статистическа обработка на данните.....	13
<b>IV. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ</b> .....	<b>14</b>
1. Възрастови, репродуктивни, фамилни и клинични характеристики на проучваните жени с РГ и хистологични и молекулярни характеристики на туморите при тях.....	14
1.1. Възрастови характеристики .....	14
1.2. Репродуктивна история и ВМІ.....	15
1.3. Фамилна история .....	16
1.4. Клинични характеристики.....	18
1.5. Хистологични и молекулярни характеристики на туморите.....	18
2. Честота на носителство и профила (вид и молекулярна характеристика) на патогенни/вероятно патогенни (П/ВП) варианти в гените за предразположение към рак сред изследваната група жени с РГ.....	20
2.1. В общата група жени с РГ .....	20
2.1.1. Високо-пенетрантни гени .....	26
2.1.2. Умерено-пенетрантни гени.....	27
2.2. При жени, диагностицирани с РГ в различни възрастови групи.....	27
2.3. При жени с фамилен РГ.....	28
2.4. При жени с ТНРГ.....	29

3. Възрастови, репродуктивни, фамилни, хистологични и клинични характеристики на проучваните жени с РЯ.....	31
4. Честота на носителство и профил (вид и молекулна характеристика) на патогенни/вероятно патогенни (П/ВП) варианти в гените за предразположение към рак сред изследваната група жени с РЯ.....	33
4.1. Високо-пенетрантни гени.....	40
4.2. Умерено-пенетрантни гени.....	40
5. Изграждане на подход за генетично консултиране, в зависимост от носителския статус на П/ВП вариант в гените за предразположение при пациенти с РГ/РЯ.....	52
<b>ОБОБЩЕНИЕ НА НАСТОЯЩОТО ПРОУЧВАНЕ.....</b>	<b>57</b>
<b>V. ИЗВОДИ .....</b>	<b>58</b>
<b>VI. ПРИНОСИ.....</b>	<b>60</b>
<b>VII. ПУБЛИКАЦИИ И УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ПРОЯВИ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД.....</b>	<b>61</b>

## **ПРИЛОЖЕНИЯ**

## ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ НА КИРИЛИЦА

**АК** – аминокиселина  
**ВДСОК** – високодиференциран серозен овариален карцином  
**ВССОК** – високостепенен серозен овариален карцином  
**ДНК** – дезоксирибонуклеинова киселина  
**ЕРЯ** – епителен рак на яйчника  
**ЕОК** – ендометриоиден овариален карцином  
**ЕК** – ендометриален карцином  
**ИДК** – инвазивен дуктален карцином  
**ИХХ** – имунохистохимия  
**КРК** – колоректален карцином  
**МОК** – муцинозен овариален карцином  
**НДСОК** – нискодиференциран серозен овариален карцином  
**ННПКРК** – наследствен неполипозен колоректален карцином  
**НРГ** – наследствен рак на гърда  
**НРГЯ** – наследствен рак на гърда и яйчник  
**НРЯ** – наследствен рак на яйчника  
**НСПВС** – нестероидни противовъзпалителни средства  
**НССОК** – нискостепенен серозен овариален карцином  
**ОК** – овариален карцином  
**ОР** – относителен риск  
**ПВ** – патогенен вариант  
**П/ВП** – патогенен/вероятно патогенен  
**РГ** – рак на гърда  
**РДЧ** – рак на дебело черво  
**РПн** – рак на панкреаса  
**РП** – рак на простата  
**РРСО** – риск редуцираща салпинго-оофоректомия  
**РРМ** – риск редуцираща мастектомия  
**РЩЖ** – рак на щитовидна жлеза  
**РЯ** – рак на яйчника  
**СЕОК** – синхронен ендометриален и овариален карцином  
**СОК** – светлоклетъчен овариален карцином  
**СРГ** – спорадичен рак на гърдата  
**СРЯ** – спорадичен рак на яйчника  
**ТНРГ** – тройно-негативен рак на гърдата  
**УЗД** – ултразвукова диагностика  
**ФРГ** – фамилен рак на гърдата  
**ФРЯ** – фамилен рак на яйчника  
**ХЗТ** – хормонозаместителна терапия  
**ХР** – хомоложна рекомбинация  
**ЯМР** – ядрено-магнитен резонанс

## ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ НА ЛАТИНИЦА

**AML** – Остра миелогенна левкоза  
**APC** – Adenomatosis polyposis coli  
**AT** – Ataxia teleangectasia  
**BIC** – Breast cancer Information Core  
**BS** – Bloom syndrome  
**ClinVar** – База данни за клинично значими генетични варианти  
**ER** – рецептор за естроген  
**ESMO** – European Society for Medical Oncology  
**FA** – Fanconi anemia  
**FIGO** – Международна организация по гинекология и акушерство  
**GnomAD** – The Genome Aggregation Database  
**GWAS** – Genome Wide Association Study  
**HER2** – Human epidermal factor receptor 2  
**HRD** – дефицит на хомоложна рекомбинация  
**ISH** – ин-ситу хибридизация  
**LFL** – Синдром на Li Fraumeni – like  
**LFS** – Синдром на Li Fraumeni  
**LLS** – Lynch-like синдром  
**LOF** – loss of function  
**LOH** – loss of heterozygosity  
**LS** – Синдром на Lynch  
**MAPK** – митоген-активираща протеин киназа  
**MINAS** - Multilocus Inherited Neoplasia Allele Syndrome  
**MMR** – mismatch репарация на ДНК  
**MS** – микросателити  
**MSI** – микросателитна нестабилност  
**NCCN** – National Comprehensive Cancer Network  
**NER** – нуклеотид ексцизионно възстановяване  
**NGS** – секвениране от следващо поколение  
**NSGC** – National Society of Genetic counselor  
**NST** – non-special type  
**OR** – odds ratio  
**PCR** – Polimerase chain reaction  
**PGT** – Preimplantation genetic test  
**PR** – рецептор за прогестерон  
**PRS** – Полигенна оценка на риска  
**SNP** – Single nucleotide polymorphism  
**XP** – Xeroderma pigmentosum

## **ВЪВЕДЕНИЕ**

Наследствените форми на рака на гърдата и яйчниците съставляват малка част, около 15%, от всички случаи на тези заболявания, но индивидуалния и социален ефект, който имат, надхвърля многократно тази цифра. Разкриването на генетичната етиология на рака при конкретния пациент, дава възможност за персонализиране на лечението, с все по-широкото навлизане на таргетната терапия, и за определяне на рискове по отношение на други локализации с оглед тяхна ранна превенция. Това намалява страничните ефекти при лечението на пациента, а заедно с това и финансовия товар за обществото, от спестяването на ненужни, скъпоструващи лекарства при провеждане на лечение на първичната локализация, а така също и от ранното лечение на възможни други локализации. Разкриването при пациента на унаследен патогенен вариант, свързан с повишен риск за рак на гърда и яйчници, персонализира рисковете и за неговите родственици и увеличава положителния ефект от неговото откриване в геометрична прогресия. Тези родственици, при които се потвърждава фамилен вариант, ще могат да проведат активна и ефективна профилактика, а тези при които не се потвърждава такова носителство ще им бъде отнето безпокойството от евентуално развитие на болестта.

Разкриването на генетичната природа на наследствения рак на гърда и яйчници доскоро се ограничаваше до няколко високо-рискови гени. Днес, с навлизането на новите геномни технологии-масивно паралелно секвениране, спектърът на гени, участващи в наследственото предразположение непрекъснато расте, като поставя нови предизвикателства, както за фармацевтичните фирми за търсене на нови молекули за таргетна терапия, така и за генетичните консултанти, персонализиращи рисковете, съобразно диагнозата, фамилената анамнеза и особеностите при конкретния пациент.



## **I. ЦЕЛ**

**Да се проучи честотата и профила на патогенни варианти в гените за предразположение при жени с рак на гърда или рак на яйчник, от Българската популация и да се изгради подход за генетично консултиране при тези заболявания.**

## **II. ЗАДАЧИ**

1. Да се проучат, при жени с РГ, следните основни характеристики:
  - 1.1. Възраст на диагностициране.
  - 1.2. Репродуктивни и клинични особености.
  - 1.3. Наличие на фамилност за онкологични заболявания.
  - 1.4. Хистологични и молекулярни специфики на туморите.
2. Да се проучи честотата и профила (вид и молекулярна характеристика) на патогенните варианти в гените за предразположение към рак при жени с РГ:
  - 2.1. В общата група жени с РГ.
  - 2.2. В различните групи жени, разпределени според възрастта на поставяне на диагнозата.
  - 2.3. В групата жени с фамилен РГ.
  - 2.4. В групата жени с ТНРГ.
3. Да се проучат, при жени с РЯ, следните основни характеристики:
  - 3.1. Възраст на диагностициране.
  - 3.2. Репродуктивни и клинични характеристики.
  - 3.3. Наличие на фамилност за онкологични заболявания.
  - 3.4. Хистологични особености на туморите.
4. Да се проучи честотата и профила (вид и молекулярна характеристика) на патогенните варианти в гените за предразположение към рак при жени с РЯ.
5. Да се изгради подход за генетично консултиране при жени с РГ/РЯ в зависимост от носителския статус на патогенни варианти в гените за предразположение към рак.

### **III. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ**

#### **1. Обща характеристика и основни групи пациенти**

В настоящото проучване са включени жени с поставена диагноза рак на гърдата (РГ) или рак на яйчника (РЯ), като същите са набрани ретро- и проспективно за периода от 2011 до 2022 година. За изпълнение на различните задачи и постигане на набелязаната цел, проучихме различни групи пациентки.

По задачи 1 и 2 са проучени общо 203 пациентки с РГ (от различни семейства, без установено родство). От тях, 144 жени са набрани проспективно в периода от януари 2019 до декември 2022), като това са жени, посетили кабинета за Медико-генетична консултация към „УМБАЛ – Д-р Георги Странски“– гр. Плевен. Останалите 59 жени (29,1%) са набрани ретроспективно, от регистъра на Онкологичния център към „УМБАЛ – Д-р Георги Странски“– гр. Плевен (регистрирани жени за периода от януари 2009 г. до декември 2013 г. и от януари 2019 до декември 2020). На всички живи пациенти с диагноза РГ, набрани ретроспективно, бяха изпратени писма-покани, за участие в проучването. Всички жени, отзовали се на тази покана и приели да участват, бяха включени в него.

Пациентките с РГ бяха разделени в групи, в зависимост от възрастта на поставяне на диагнозата РГ, наличието на фамилна история и ИХХ статус на туморните клетки. Според възрастта на поставяне на диагнозата жените бяха разделени в шест възрастови групи – от 20-29г., от 30-39г., от 40-49г., от 50-59г., от 60-69г. и група на жени диагностицирани след 70 годишна възраст. За определяне на пациенти с фамилност изходихме от утвърдените (съгласно ESMO и NCCN) критерии за фамилност.

Според ИХХ статуса на туморните клетки дефинирахме четири групи, които съответстват на сурогатната класификация на молекулярните субтипове на РГ, а именно: Луминален А, Луминален В, HER2-обогатен и ТНРГ.

По задачи 3 и 4 са проучени общо 67 жени с РЯ (от различни семейства, без установено родство). От тях 18 жени (27%) са набрани ретроспективно, от регистъра на Онкологичния център към „УМБАЛ – Д-р Георги Странски“– гр. Плевен (регистрирани жени за периода от януари 2009 г. до декември 2013 г. и от януари 2019 до декември 2020), като те също са приели поканата (писмо-покана) да се включат в проучването доброволно. Останалите 49 жени са набрани проспективно в периода от януари 2019 до декември 2022, като всички тези жени са диагностицирани, оперирани и лекувани в клиниката по Онкогинекология към „УМБАЛ – Д-р Георги Странски“– гр. Плевен.

Всички жени, приели да участват в проучването, са подписали информирано съгласие одобрено от Етичната комисия към МУ-Плевен.

## **2. Основни методи използвани в настоящото проучване**

**2.1. Анкетен метод** – Бяха изготвени анкетни карти с информация за: паспортни данни, пол, възраст, здравословно състояние, професионални условия, история на репродукцията, история на бременността, менопауза и хормонозаместителна терапия, начин на живот, персонална медицинска история, персоналното лечение на рака на млечната жлеза, фамилна анамнеза за рак на млечна жлеза или други асоциирани с него онкологични заболявания. На всяка жени, приела да участват в проучването беше попълнена анкетна карта, по метода на интервю.

**2.2. Генеалогичен метод** – На всеки пациент, отговарящ на критериите за включване в проучването, е изградено родословно дърво, което съдържа информация, свързана с наличие на злокачествени заболявания и обхваща родствениците от три/четири поколения на пробанда. След изграждането на родословно дърво и проведения въз основа на него генеалогичен анализ се определят фамилните случаи на РГ или РЯ. Въз основа на генеалогичния анализ са дефинирани групите жени с РГ в зависимост от фамилната история.

**2.3. Молекулярно-генетичен метод (ДНК анализ)** – На всички подбрани, за генетично тестване пациенти, е взет биологичен материал – венозна кръв, около 5мл взета във вакутейнер с ЕДТА. Геномното изследване е проведено с методите на Масивно паралелно секвениране (Next Generation Sequencing - NGS).

### ***Основни етапи на генетичния анализ***

**2.3.1. Изолиране на ДНК** - Изолирането на геномна ДНК от венозна кръв беше извършено автоматизирано, с готов кит MagCore Genomic DNA Whole Blood kit (Ref: MGB400 02, RBC Bioscience), съгласно протокол за използване. Точността на метода за изолиране на ДНК се гарантира от Сертификат, представен от фирмата доставчик на китове за изолиране на ДНК. След изолиране ДНК се съхранява на -80° в ДНК банката на Центъра за компетентност – Леонардо да Винчи, към МУ-Плевен.

**2.3.2. Масивно паралелно секвениране (секвениране от следващо поколение -NGS)** – Генетичният анализ на геномната ДНК от всички пациенти, беше извършен с метода на масивно паралелно секвениране (NGS). Този метод дава възможност за едновременно секвениране (прочитане) на много гени на много пациенти. Използван е таргетен панел от гени, асоцииращи с рак Trusight Cancer (Illumina©) за подготовка на библиотеката. Подготовката на библиотеките от всички пациенти от проучването, се извърши съгласно протокол, предоставен от

фирмата производител. Таргетният панел за пан-наследствен рак съдържа олигопроби за 94 гена, асоцииращи с повишена предразположеност към рак. Изработените библиотеки бяха секвенирани на платформата Illumina NextSeq 550 с конфигурация 2x150 bp. Генетичният анализ извършен с този метод открива малки генетични преустройства – еднонуклеотидни замени и малки инсерции и делеции (indels) и не е информативен за големи геномни пренареждания.

**2.3.3. Анализ на получените данни от секвенирането** - Получените секвенирани фрагменти от пациентите бяха сравнени с човешки референтен геном hg19. Изходните файлове с данни (gVCF) бяха импортирани в BaseSpace Variant Interpreter (Illumina©). Бяха създадени персонализирани филтри за подобряване на анотацията на вариантите и интерпретация им, включително минимална дълбочина на четене от 20x на вариант и при изключване на варианти без клинично значение. За класификация на намерените варианти, беше използвана петстепенната класификация, на Американския колеж по медицинска генетика и Геномика (ACMG): патогенен (pathogenic - P), вероятно патогенен (likely pathogenic - LP), вариант неясно клинично значение (variant of uncertain significance - VUS), вероятно бенигнен (likely benign - LB) и бенигнен (benign - B). За целите на класифициране на намерените варианти бяха използвани утвърдени критерии за патогенност – подробно описани в Таблица 1.

Таблица 1. Критерии за патогенност на генетичните варианти.

Критерии за патогенност	Категория
<b>Много силен</b>	<b>PVS1</b> – вариант водещ до загуба на функция на белтъка (nonsense, frameshift, canonical±1 or 2 splice sites, initiation codon, делеция на екзон/екзони) <b>PS1</b> – аминокиселинна замяна, в място където преди това е докладван патогенен вариант
<b>Силен</b>	<b>PS2</b> – de novo вариант, доказан със сегрегационен анализ <b>PS3</b> – наличие на експериментални доказателства за патогенност на варианта <b>PS4</b> – честотата на вариант в засегнати индивиди е по-висока от честота в здрави контроли <b>PM1</b> – локализиран в гореща точка на патогенни варианти <b>PM2</b> – липсва в здрави контроли, или е с изключително ниска честота <b>PM3</b> – установен в <i>trans</i> с друг патогенен вариант (за рецесивни състояния) <b>PM4</b> – водещ до промяна на дължината на протеина (за in-frame мутации) или удължаващи протеина варианти
<b>Умерено-силен</b>	<b>PM5</b> – нова аминокиселинна замяна в място, където е докладван патогенен вариант <b>PM6</b> – предполагаем de novo вариант, без проведен сегрегационен анализ <b>PP1</b> – ко-сегрегация със заболяване, при много засегнати родственици от една фамилия <b>PP2</b> – missense вариант в ген с малко бенигнени missense варианти, в ген за който се знае, че missense варианти са патогенен механизъм
<b>Поддържащ</b>	<b>PP3</b> – много компютърно обработени доказателства за патогенност на варианта <b>PP4</b> – Клиничната картина на пациента е високо специфична за патогенен вариант в този ген <b>PP5</b> – Много доказателства в литературата за патогенност на варианта, но лабораторията не може да го докаже самостоятелно

Откритите автоматично варианти, бяха верифицирани в различни бази данни: ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>), dbSNP (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>) и Ensembl (<https://www.ensembl.org/index.html>).

**2.4. Генетично консултиране** – На всички изследвани жени, включени в проучването, беше проведена генетична консултация. На тези от тях, при които открихме патогенен (П)/вероятно патогенен (ВП) вариант, беше препоръчно изследване и на родствениците за намерения конкретен вариант, с оглед персонализиране на препоръките за профилактика при тях.

**2.5. Статистическа обработка на данните** – Статистическият анализ на получените данните е извършван, с помощта на следните методи:

- Честотен анализ на промени, включващ абсолютни честоти в проценти
- Графичен анализ
- Определяне на статистическа значима връзка между две променливи е извършено с помощта на  $\chi^2$  тест за асоциация (Chi-square test of association).
- Силата на зависимост между две променливи е оценявано с коефициентите *Phi* на *Pearson* (при кръстосани таблици  $2 \times 2$ ) и *V* на *Cramer* (при кръстосани таблици по големи от  $3 \times 3$ ). При таблици с размерност  $2 \times 3$  или  $3 \times 2$  са използвани или коефициента *Phi* на *Pearson* или *V* на *Cramer* (дават еднаква величина на силата на зависимост).

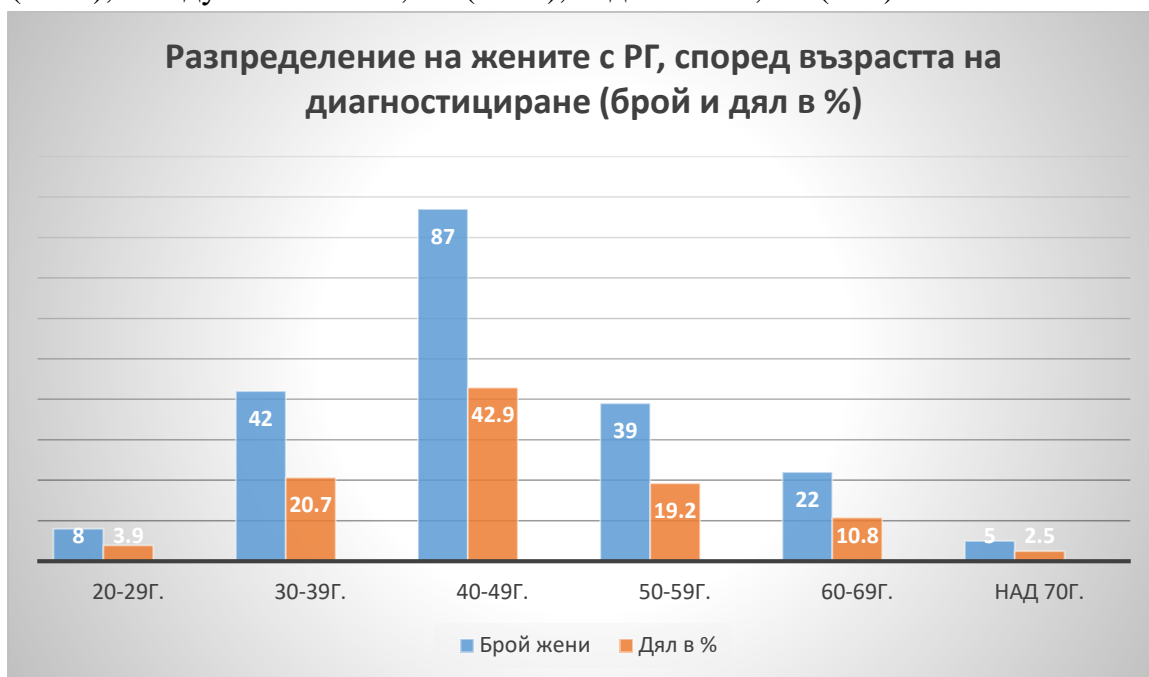
При статистическата обработка на данните за честота е изчислен интервала на доверителност (95% CI). Определена е стойност на *p* (*p-value*) за статистическа значимост на данните, като за сигнификантни са отчитани стойности на  $p < 0.05$ . Статистическата обработка е направена чрез използване на програмата SPSS for Windows, v.29.0.2.0

## IV. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

### 1. Възrastови, репродуктивни, фамилни и клинични характеристики на проучваните жени с РГ и хистологични и молекулярни характеристики особености на туморите при тях

#### 1.1. Възrastови характеристики

Проучваната група включва общо 203 жени с хистологично доказана диагноза РГ. Установената от нас средна възраст на поставяне на диагнозата РГ е 46,5г. (от 23г. до 79г.). Жените са разделени в шест възрастни групи: диагностицирани между 20-29г. включително; между 30-39г.; между 40-49г.; между 50-59г.; между 60-69г. и над 70г. Разпределението на проучваните жени е показано на Фигура 1 и е както следва: диагностицирани между 20-29г. – 3,9% (n=8), между 30-39г. – 20,7% (n=42), между 40-49г. – 42,9% (n=87), между 50-59г. – 19,2% (n=39), между 60-69г. – 10,8% (n=22), над 70 г. – 2,5% (n=5).



Фигура 1. Разпределение на проучваните жени по възраст на диагностициране на РГ (по брой, дял в %).

Настоящото проучване потвърждава, че жените с РГ диагностицирани между 40 и 49 години съставляват голяма част от пациентите с това заболяване, а при съществуващото в момента законодателство в България и възрастното ограничение те биват изпускани. От друга страна, преживяемостта при РГ показва силна зависимост от възрастта на която е диагностициран, като по-ниска преживяемост се отчита при пациенти под 50 годишна възраст. Най-ниска е

преживяемостта в групата на пациенти диагностицирани над 70 години, но при тях това се свързва с напредналата възраст и с наличната ко-морбидност.

Високият брой на засегнати жени във възрастовата група между 40-49г., както според Националния раков регистър на България, така и според получените резултати от настоящото проучване, и доказаната по-ниска преживяемост за тази възрастова група поражда необходимостта от преосмисляне на началната възраст за обхващане от скрининга за РГ в нашата популация и започването му от 40 годишна възраст, а не от 50 както е по настоящем.

## **1.2. Репродуктивната история и ВМІ**

### **Менархе, репродукция и менопауза**

Ранното менархе (преди 12 годишна възраст) и късната менопауза (след 55 години) е доказано, че увеличават риска за развитие на РГ. При нашето проучване, се установи средна възраст на менархе 13,3 години, като 1% (n=2) от изследваните жени, съобщиха за ранно менархе. Средна възраст на първото раждане при изследваните жени е 23,1г., като 16 от жените (7,9%) са нераждали, от тях 11 жени са в репродуктивна възраст и само 5 не са. Направената статистическа обработка, не доказва съществуването на корелация между възрастта на първата бременност/липса на бременност ( $\chi^2(16,203)=8.22, p=0.631$ ) и степента на диференциация на тумора, показател за по-агресивен ход на заболяването, както и такава между възрастта на диагностициране и степента на диференциация ( $\chi^2(10,203)=13.57, p=0.607$ ) .

### **ВМІ**

В настоящето проучване се установи, че 28,6% (56 жени) са с наднормено тегло ( $25 \leq \text{ВМІ} < 30$ ), а 14,8% (30 жени) са със затлъстяване ( $\text{ВМІ} \geq 30$ ). Доказано е, че високия ВМІ корелира с повишен риск за РГ, независимо дали са диагностицирани преди менопаузата или по време на менопауза. Това се потвърждава и от настоящето проучване, при което в различните възрастови групи (до 60 годишна възраст), почти няма разлика в дела на жените със затлъстяване ( $\text{ВМІ} \geq 30$ ). Забелязва се известна тенденция за увеличаване на дела, почти два пъти, на пациентките със затлъстяване във възрастовите групи след 60 годишна възраст (за жените от 60-69г. – 27,3% (n=6), за тези над 70г. – 25%(n=1). Потърси се корелация между двата фактора ВМІ и възраст на диагностициране и се доказа статистически значима силна позитивна връзка ( $\chi^2(10,203)=22.54, p=0.013, N=203, \text{Cramer's } V=0.24$ ), като се потвърдиха литературните данни, че жените диагностицирани след 50г. възраст се характеризират с по-висок ВМІ, т.е. че ВМІ е фактор участващ в етиологията на РГ при пациентки диагностицирани над 50 г.

Доказа се също така, че рецепторния статус на туморните клетки (по отношение на ER и PR) се влияе от BMI в групата на жените диагностицирани по време на менопауза. Делът на постменопаузалните жени с хормон-позитивен рецепторен статус на туморните клетки и наднормено тегло ( $BMI \geq 25$ ) е два пъти по-голям (64,7%,  $n=22$ ) сравнен с делът (31,3%,  $n=5$ ) на същия вид тумори при постменопаузални жени без наднормено тегло ( $BMI < 25$ ). В групата на пременопаузалните жени такава разлика не беше установена. В този аспект нашето проучване потвърждава резултатите от други проучвания за Европейската популация, според които съществува положителна връзка между затлъстяването и хормон-позитивните тумори на гърдата, при жени диагностицирани по време на менопауза.

### 1.3. Фамилна история

Според литературата, фамилна история се открива средно при около 15-20% от случаите на РГ, което доказва мултифакторната етиология на заболяването, резултат от взаимодействието на генетични и негенетични фактори, като риска при жената се увеличава с увеличаване на броя на засегнатите родственици (и по двете родителски линии). В настоящото проучване се извърши генеалогичен анализ на всички 203 жени, като анализът включваше родственици от най-малко три поколения. Установената от нас фамилност (родственик от първа степен с РГ) е **15,8%** ( $n=32$  жени), което корелира с литературните данни. При шест жени (3%) се откриха засегнати родственици едновременно от първа и втора степен, а само при една (0,5%) засегнати родственици с РГ едновременно от първа, втора и трета степен. Най-висок дял (73%,  $n=16$ ) на фамилните случаи на РГ (наличие на родственик от I, II или III степен с РГ), се установи в групата на жените диагностицирани между 60-69 години (Таблица 2) (Фигура 2).

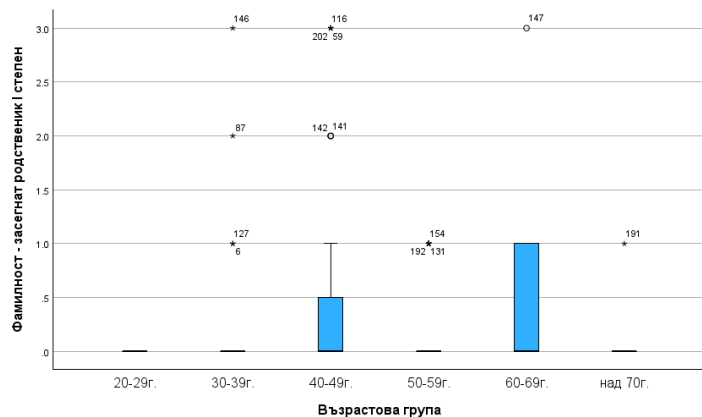
Вероятното обяснение на това, че се открива най-висок дял на фамилните случаи във възрастовата група 60-69г. е, че за голяма част от пациентките диагностицирани след 60г. причината да приемат поканата за участие в нашето проучване е именно наличието на фамилност за РГ и желанието на тези пациенти да бъде персонализиран както техния риск, така и риска на техните здрави родственици.

При 5,4% ( $n=11$ ) от изследваните жени генеалогичния анализ установи родственици с т.нар. асоциирани онкологични заболяване. Асоциирани с РГ онкологични заболявания, са тези, при които е намирана обща генетична етиология каквито са РЯ, рак на простата и панкреас. Като прибавим и този тип фамилност, сумарния дял на фамилните случаи (родственици от първа степен с РГ или други асоциирани онкологични заболявания) става **21,2%**.



Таблица 2. Фамилност и хисто-молекулярни характеристики на туморите при проучваните жени с РГ в различни възрастови групи.

Възраст на диагностициране на РГ	Брой /%	Фамилност за РГ (n/% от броя жени в съответната възрастова група)					Фамилност за др. онкозаболявания(n/% от броя жени в съответната възрастова група)			Сурогатен молекулярен субтип (n/% от броя жени в съответната възрастова група)				Степен на диференциация (n/% от броя жени в съответната възрастова група)		
		I с-н	II с-н	III с-н	Общо - I/II/III с-н	I+II с-н	I с-н	II с-н	III с-н	Luminal A	Luminal B	HER2+	TNBC	G1	G2	G3
< 29 години	8 (3.9%)	0	0	0	0	0	0	0	0	2 (25%)	5 (62,5%)	0	1	1(12,5%)	3(37,5%)	4 (50%)
30-39 години	42 (20.7%)	2 (4,8%)	9 (21,4%)	2 (4,8%)	13 (31%)	1 (2,4%)	4 (9,5%)	0	4 (9,5%)	22 (52,4%)	6 (14,3%)	2 (4,8%)	12 (28,6%)	3(7,1%)	21(50%)	18 (42,9%)
40-49 години	87 (42.9%)	15 (17,2%)	14 (16%)	4 (4,6%)	33 (37,8%)	4 (4,6%)	6 (6,9%)	13 (15%)	0	50 (57,5%)	21 (24,1%)	3 (3,4%)	13 (14,9%)	13(15%)	45(52%)	29 (33%)
50-59 години	39 (19.2%)	8 (20,5%)	4 (10,3%)	2 (5.1%)	13 (35,9%)	0	0	2 (5,1%)	1 (2,6%)	22 (56,4%)	7 (17,9%)	4 (10,3%)	6 (15,4%)	3(7,7%)	26(66,6%)	10 (25,7%)
60-69 години	22 (10.8%)	6 (27,3%)	6 (27,3%)	4 (18,2%)	16 (72,8%)	1 (4,5%)	1 (4,5%)	1 (4,5%)	0	13 (59,1%)	5 (22,7%)	1 (4,5%)	3 (13,6%)	2(9,1%)	15(68,2%)	5 (22,7%)
> 70 години	5 (2.5%)	1 (20%)	0	0	1(20%)	0	0	1 (20%)	0	1 (20%)	2 (40%)	0	2 (40%)	0	4(80%)	1 (20%)
Общо	203 (100%)	32 (15,8%)	33 (16,3%)	12 (5,9%)	76 (37,5%)	6 (3,0%)	11 (5,4%)	21 (10,3%)	1(0,5%)	110 (54,2%)	46 (22,7%)	10 (4,9%)	37 (18,2%)	22 (10,9%)	114 (56,2%)	67 (33%)



Фигура 2. Разпределение на фамилните случаи на РГ (като относителен дял), в различните възрастови групи

#### 1.4. Клинични характеристики

Нашето проучване потвърди литературните данни, като се установи по-често засягане на лява гърда с дял 53,7% (n=109) от изследваните жени, със средна възраст на поставяне на диагнозата 46г. (Таблица 3). Дясна локализация се установи в 42,9% (n=87) от жените, като при тях се откри и по-млада средна възраст на диагностициране (40,4г.). Билатерално засягане беше установено при 7 жени (3,4%).

Таблица 3. Разпределение на жените, според локализацията на РГ

Локализация	Брой	Дял (%)
Лява гърда	109	53.7
Дясна гърда	87	42.9
Билатерално засягане	7	3.4
Общо	203	100.0

#### 1.5. Хистологични и молекулярни особености на туморите

В изследвана от нас кохорта жени, в потвърждение на литературните данни, се намери най-висок дял на т.нар. не специален хистологичен тип (no special type, NST) - 81,3% (n=165) от жените (Таблица 4). Този тип се диагностицира по подразбиране, когато хистологията на тумора не попада в никоя от групите на специалните хистологични типа. Известно е, че около 25% от инвазивните карциноми на гърдата се представят със специфични хистологични характеристики и растеж и се диагностицират като специални типове (инвазивен лобуларен, тубуларен, муцинозен, невроендокринен и др.). В изследваната от нас кохорта жени, в около 20% се откриха тумори от специални хистологични типа: лобуларен (8,9%, n=18); дукто-лобуларен (5,9%, n=8); медуларен (2,4%, n=5); желатинозен (1,5%, n=3); метапластичен, себацеен, микропапиларен, лимфоепителиома-лайк – по 0,5% всеки тип (n=1) (Таблица 4).

Таблица 4. Разпределение на жените с РГ, в зависимост от хистологичния тип на тумора

Хистологичен тип	Брой жени	Дял (%)
Дуктален (NST)	165	81.3
Лобуларен	18	8.9
Дукто-лобуларен	8	3.9
Др. тип	12	5.9
Общо	203	100.0

Молекулярната класификация на инвазивния РГ е независима от хистологичната класификация и се базира на РНК – експресията при различните тумори. Днес се използва молекулярната класификация, в която се различават четири субтипа – Луминал А-лайк, Луминал В-лайк, HER2-обогатен и basal-like.

В клиничната практика се използва базираната на ИХХ маркери сурогатна класификация на молекулярните субтиповете на РГ. За определяне на молекулярните субтипове при проучваните пациентки се използва именно сурогатната ИХХ класификация (базирана на ER, PR, HER2 и KI67 рецепторен статус). В настоящото проучване се установи (Таблица 5): Луминален А-like в 54,2% (n=110); Луминален В-like в 22,7% (n=46); HER2-обогатен субтип в нисък дял, сравнен с литературните данни, в около 5% (n=10); Basal-like (TNBC, тройно-негативен) в 18,2% (n=37).

Намереният от нас нисък дял на HER2-обогатен субтип най-вероятно се дължи от една страна на това, че по литературни данни около 30% от HER2-обогатен РГ се класифицира погрешно като HER2 –негативен, базирано на ИХХ и/или на FISH. От друга страна при този субтип не се обсъждат наследствени форми, т.е пациентки с такъв субтип РГ, по-рядко биха попаднали при генетичен консултант. Следователно изследваната при нашето проучване група е селектирана (жени, при които се подозира наследствена форма на РГ). В групата на HER2-обогатен субтип се установи висок дял на G3 туморите - 60% (n=6), докато G1 се намери само при 1 пациентка (10%). Не могат да бъдат направени обаче дефинитивни изводи за тази група, поради малкия брой жени в нея.

От останалите три субтипа, най-висок дял на ниско-диференцирани тумори (G3), в почти половината от случаите, се установи при ТНРГ, докато най-голям дял на високо-диференцирани тумори (G1) се откри в групата на жени с Луминален А-субтип, което донякъде обеснява лошата прогноза при ТНРГ и добрата при Луминален А субтип.

Таблица 5. Разпределение на жените с РГ, според сурогатния молекулярен субтип

Сурогатен молекулярен субтип	Брой жени	Дял (в %)	Дял (в %) на G1 тумори от определения субтип	Дял (в %) на G3 тумори от определения субтип
Луминален А-like	110	54.2	12,6	25,5
Луминален В-like	46	22.7	11,0	34,8
HER2 обогатен	10	4.9	10,0	60,0
Тройно-негативен	37	18.2	3,0	48,6
<b>Общо</b>	<b>203</b>	<b>100.0</b>	<b>XXX</b>	<b>XXX</b>

Статистическата обработка не показва корелация между сурогатния молекулярен субтип и степента на диференциация ( $\chi^2(6,203)=10.86, p=0.093$ ), най-вероятно отново причина за това е, че степента на диференциация е част от общите биологични характеристики на туморите.

От направения анализ на получените резултати можем да обобщим, че най-честия субтип е Luminal A, с изключение на възрастовата група под 30 години, в която се установи, че най-честия хистологичен тип е Luminal B (в около 63%) (Таблица 2). Най-често туморите са

умерено или ниско диференцирани, като най-висок е делът на ниско-диференцираните тумори сред жените диагностицирани преди 30г. възраст и намалява постепенно при останалите възрастови групи, като е най-нисък при жените диагностицирани след 70 годишна възраст. Това е в съответствие с твърдението, че туморите при млади пациентки са ниско-диференцирани с по-агресивен ход на развитие на заболяването.

## **2. Честота на носителство и профил (вид и молекулна характеристика) на патогенните/вероятно патогенни (П/ВП) варианти в гените за предразположение към рак сред изследваната група жени с РГ**

### **2.1. В общата група жени с РГ**

Генетичните тестове за предразположение към рак, в частност предразположение към РГ, се утвърдиха като част от медицинската практика. Доскоро, генетичните тестове се провеждаха предимно на пациенти със силна фамилна история за РГ, млади пациенти или такива с ТНРГ. Освен, че пациентите трябваше да отговарят на специфични критерии за да бъдат тествани, генетичните тестове бяха ограничени до изследване на двата високо-пенетрантни гена *BRCA1* и *BRCA2*. Ограниченията на този подход за селекция доведе до това, че се тестваха ограничен брой пациенти за ограничен брой гени, икономически неизгодно за пациента. Едни от световно признатите стандарти за генетичните тестове за предразположение към РГ принадлежат на National Comprehensive Cancer Network (NCCN). Последните ъпдейти на стандарта включват и рака на панкреаса, като част от наследствената форма на рак с етиология *BRCA1/2*, включваща досега РГ и РЯ. Дори така разширени, всеки вид критерии би служил по-скоро като ограничение, отколкото като средство, тъй като голяма част от носителите биха били пропуснати, ако стриктно следваме тези критерии. На тази основа Американското дружество на хирурзите на гърда (ASBrS) препоръчват генетичен тест за предиспозиция към РГ на всички жени с РГ. В направеното от нас проучване бяха изследвани всички жени с РГ, без значение от възрастта, фамилната история, личната им медицинска история или ИХХ фенотип с панел от гени, включващ 94 гени за предиспозиция. Обобщение на клиничните данни и получените резултати от геномния анализ на всички 203 жени с РГ е подробно представено в Таблица 6.

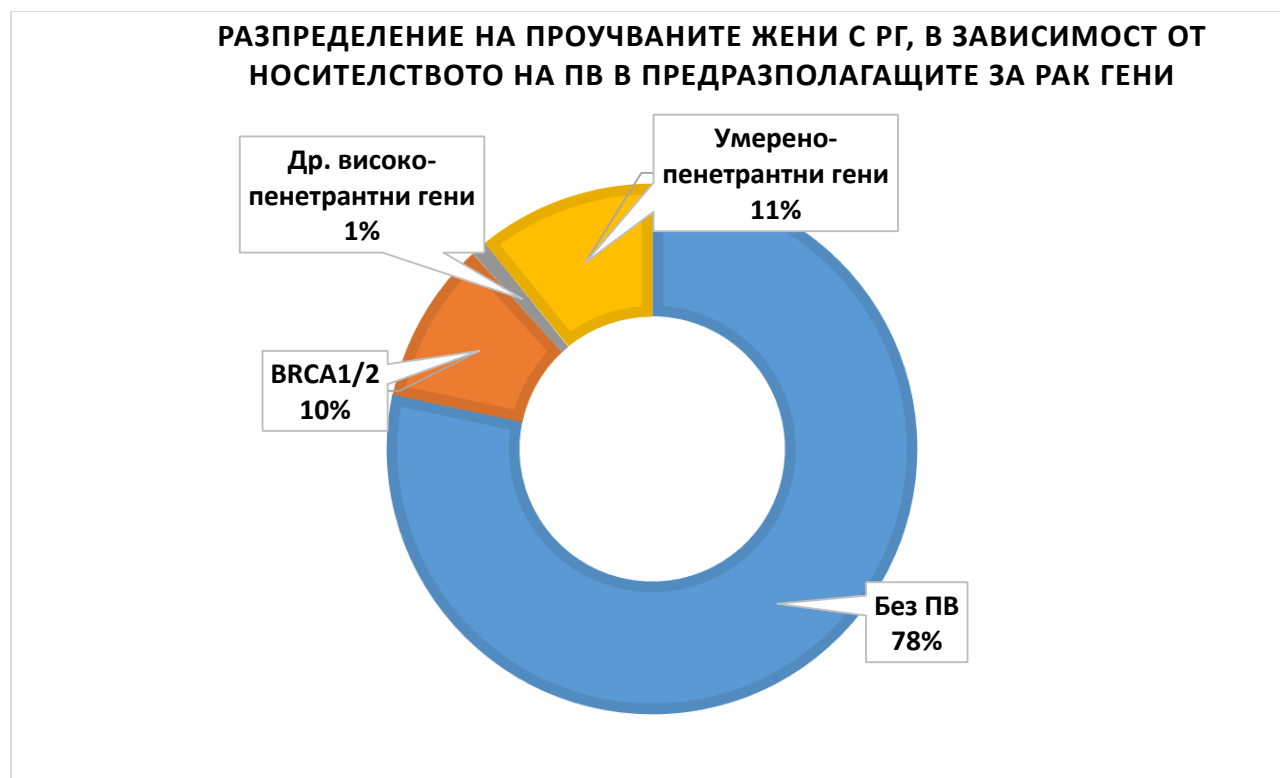
Таблица 6. Честота на носителство на П/ВП варианти в гените за предразположение към рак сред изследваните жени с РГ, според различни клинични, хистологични и фамилни характеристики.

Характеристики на изследваните жени с РГ	Всички пациенти №(%)	Пациенти с ПГ/ВП варианти в <i>BRCA1/2</i> n(%)	Пациенти с ПГ/ВП варианти в др. високо-пенетрантни гени n(%)	Пациенти с ПГ/ВП варианти в гени с умерена пенетрантност n(%)	Пациенти без ПГ/ВП варианти в гените за предразположение n(%)
<b>№ пациенти</b>	203 (100)	20 (9.9)	2 (1.0)	22 (10.8)	159 (78.3)
<b>Възраст на диагностициране (Д)</b>					
Средна възраст на Д (мин-макс)	46.5 (23-79г.)	38.2 (26-61г.)	40.5 (32-49г.)	49.3 (32-79г.)	47.2 (23-79г.)
<b>Хистологичен тип</b>					
Инвазивен дуктален	165 (81.3)	15 (75.0)	1 (50.0)	19 (86.4)	130(81.8)
Инвазивен лобуларен	18(8.9)	2 (10.0)	1 (50.0)	2 (9.1)	13(8.2)
Дукто-лобуларен	8 (3.9)	2 (10.0)	0	1 (4.5)	5(3.1)
Други специални инвазивни типове	12 (5.9)	1 (5.0)	0	0	11(6.9)
<b>Степен на диференциация на тумора</b>					
Високо-диференциран (G1)	20 (9.9)	0	0	2 (9.1)	18 (11.3)
Умерено диференциран (G2)	114 (56.2)	11 (55.0)	1 (50.0)	12 (54.5)	90 (56.6)
Ниско диференциран (G3)	69 (33.9)	9 (45.0)	1 (50.0)	8 (36.4)	51 (32.1)
<b>Молекулярен субтип (St Gallen)</b>					
Луминален А	110 (54.2)	5 (25.0)	1 (50.0)	13 (59.1)	91 (57.2)
Луминален В	46 (22.7)	2 (10.0)	1 (50.0)	4 (18.2)	39 (24.5)
HER2 - позитивен (нелуминален)	10 (4.9)	1 (5.0)	0	1 (4.5)	8 (5.0)
ТНРГ	37 (18.2)	12 (60.0)	0	4 (18.2)	21 (13.3)
<b>Друг РГ</b>					
Да	3 (1.54)	0	0	0	3 (1.9)
Не	200 (98.5)	20 (100)	2 (100)	22 (100)	155 (97.5)
Средна възраст на Д (мин-макс)	41.7 (40-44г.)	-	-	-	41.7 (40-44г.)
<b>РГ при родственик I степен</b>					
Да	32 (15.8)	2 (10.0)	1 (50.0)	4 (18.2)	25 (3.0)
Не	171 (84.2)	18 (90.0)	1 (50.0)	18 (81.8)	134 (84.2)
<b>РЯ при родственици I степен</b>					
Да	4 (2.0)	2 (10.0)	0	0	2 (1.3)
Не	199 (98.0)	18 (90.0)	2 (100)	22 (100)	157 (98.7)
<b>Други асоциирани карциноми при родственици I степен</b>					
Да	6 (3.0)	1 (5.0)	0	4 (21.7)	1 (0.6)
Не	197 (97.0)	19 (95.0)	2 (100.0)	18 (78.3)	158 (99.4)
<b>РГ при родственик II степен</b>					
Да	37 (18.2)	7 (5.0)	0	6 (26.1)	24 (15.1)
Не	166 (81.8)	13 (95.0)	2 (100)	16 (73.9)	135 (84.9)

Бяха открити П/ВП\* варианти, в предразполагащите за РГ гени, при 44 (21,6%) от всички 203 изследвани жени. При 22 (10,8%) от жените се намериха ПВ във високо-пенетрантни гени, което съставлява 50% от всички намерени жени с наследствена форма на РГ. При 20 от жените (9,9%) откритите П/ВП варианти са в гените *BRCA1/2*, като 13 (6,4%) от тях в *BRCA1* и 7 (3,4%) в *BRCA2* (Таблица 7 и Фигура 3). При една от жените, носителки на *BRCA2* мутация, се установи комбинирано носителство на ПВ и в други два гена за предразположение - умерено пенетрантни (Multi-locus Inherited Neoplasia Allele Syndrome (MINAS) – *BRCA2*, *CHEK2*, *ATM*). Две от жените (1%), са носителки на патогенни варианти в гена *PALB2*.

Таблица 7. Честота на носителство на П/ВП варианти в предразполагащите гени, според пенетрантността, сред общата група жени с РГ

Носителство на ПВ в предразполагащите гени	Честота	Дял (%)
няма	159	78.3
<i>BRCA1/2</i>	20	9.9
Други високо-пенетрантни гени	2	1.0
Умерено-пенетрантни гени	22	10.8
<b>Общо</b>	<b>203</b>	<b>100.0</b>



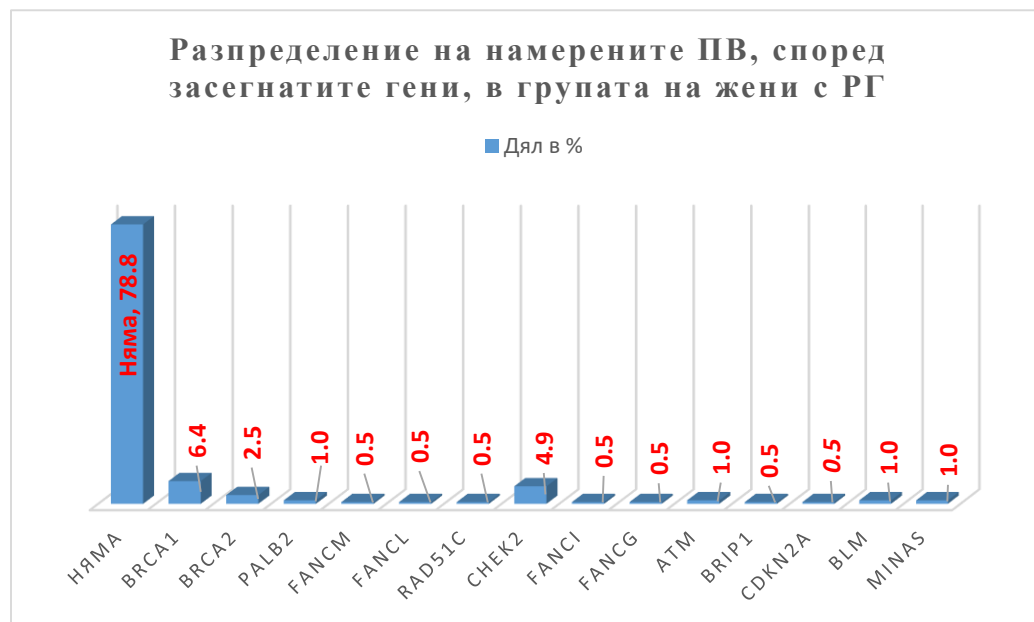
Фигура 3. Разпределение на проучваните жени с РГ, в зависимост от носителството на ПВ в предразполагащите за рак гени.

\*П/ВП варианти – за по-лесно описание на настоящото проучване ще използваме само съкращението ПВ, като ще имаме предвид и двата класа варианти – патогенни (П) и вероятно патогенни (ВП)

При останалите 22 жени (**10,8%** от всички изследвани жени и 50% от жените с НРГ), открихме П/ВП варианти в гени за предразположение с умерена пенетрантност (*ATM, BLM, CHEK2, BRIP1, CDKN2A, ERCC5, RAD51C, FANCM, FANCG, FANCI, FANCL*), като при една от тези жени беше установено комбинирано носителство на ПВ в два умерено-пенетрантни гени (MINAS - *CHEK2* и *ERCC5*). Подробна информация за откритите ПВ в предразполагащите за рак гени е представена в Таблица 8 и Фигура 4.

Таблица 8. Честота на носителство на ПВ в конкретни предразполагащи гени в общата група жени с РГ

Ген	Брой жени	Дял (в %)
Няма	160	78,8
<i>BRCA1</i>	13	6,4
<i>BRCA2</i>	5	2,5
<i>PALB2</i>	2	1,0
<i>FANCM</i>	1	0,5
<i>FANCL</i>	1	0,5
<i>RAD51C</i>	1	0,5
<i>CHEK2</i>	10	4,9
<i>FANCI</i>	1	0,5
<i>FANCG</i>	1	0,5
<i>ATM</i>	2	1,0
<i>BRIP1</i>	1	0,5
<i>CDKN2A</i>	1	0,5
<i>BLM</i>	2	1,0
<i>MINAS</i>	2	1,0
<b>Общо</b>	<b>203</b>	<b>100,0</b>



Фигура 4. Разпределение на гените, с намерени ПВ, в общата група изследвани жени с РГ

Потърси се корелация между различни клинични и хистологични характеристики при изследваните жени с РГ и носителството на ПВ в гените за predisposition.

Установи се статистически значима силна позитивна връзка между възрастта на менархе и носителството на ПВ ( $\chi^2(24,203)=35.07$ ,  $p=0.013$ ,  $N=203$ , *Cramer's V*=0.34), което в действителност потвърждава факта, че възрастта на менархе е генетично определено, и играе роля в патогенезата на развитието на РГ, поради участието на хормоналните фактори, в етиологията на този вид рак.

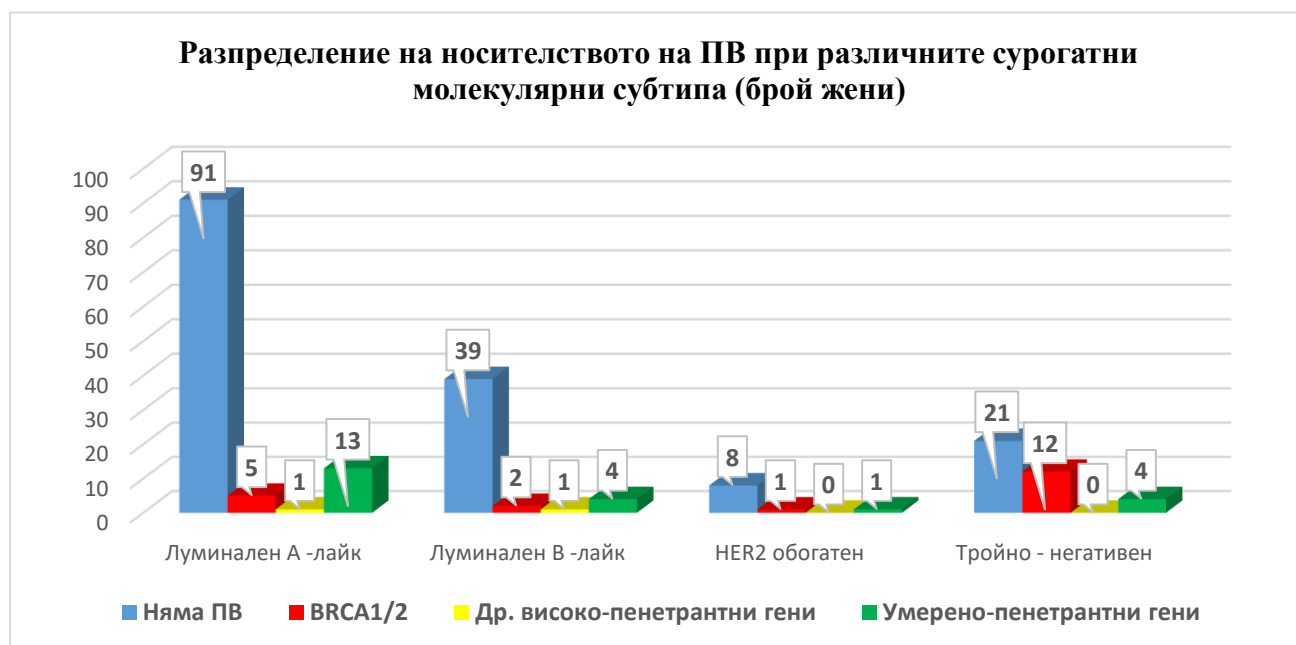
Потърси се корелация между хистологичен тип и носителството на ПВ, но не беше намерена такава ( $\chi^2(9,203)=8.28$ ,  $p=0.506$ ), както не се намери връзка и между хистологичния вариант, степента на диференциация и носителството на ПВ в предразполагащите гени ( $\chi^2(6,203)=3.64$ ,  $p=0.730$ ). Обяснението най-вероятно е, че за развитието на тумора, със съответни хистологични характеристики и степен на диференциация, от значение са и други генетични и негенетични фактори, както и различните нива на регулация на генната активност. По тази причина носителство на определен генетичен вариант не е дифинитивно за хистологичния тип на тумора. Установи се, обаче много силна позитивна връзка ( $\chi^2(3,203)=21.56$ ,  $p<0,001$ ,  $N=203$ , *Cramer's V*=0.326) между хормоналния рецепторен статус на тумора и носителството на ПВ, като ER-позитивните тумори асоциират с ПВ в умерено пенетрантните гени, докато при жени с ER-негативните тумори, по-често откриваме герминативна мутация във високо-пенетрантните гени и генетичния скрининг, ограничен само за тях има своето място. При ER-позитивните тумори, по-ефективен е подхода за генетичен скрининг използващ методите на NGS, поради по-често установяване на носителство на ПВ в умерено-пенетрантните гени. Методика, като NGS, която позволява едновременно изследване на голям брой гени за predisposition, дава възможност за по-ефективна генетична диагноза, прогноза и персонализиране на лечението, особено при по-честите случаи на ER-позитивни тумори.

В контраст с липсата на корелация между хистологичния тип и носителството на ПВ в предразполагащи гени се намери умерено позитивна връзка между сурогатния молекулярен тип на тумора и носителския статус ( $\chi^2(9,203)=27.85$ ,  $p=0,001$ ,  $N=203$ , *Cramer's V*=0.214). На таблица 9 и фигура 5 е представено разпределението на носителството на ПВ в гените, според тяхната пенетрантност, сред жените с различен молекулярен субтип на тумора.



Таблица 9. Разпределение на носителството на ПВ в умерено-пенетрантните гени при различните сурогатни молекулярни субтипа РГ

		Брой жени с носителство на генетичен дефект в умерено-пенетрантни гени (дял в %)	Общ брой изследвани жени със съответния хистологичен тип
Сурогатен молекулярен субтип	Луминален А-лайк	13 (11,8%)	110
	Луминален В-лайк	4 (8,7%)	46
	HER2 обогатен	1 (10%)	10
	Тройно-негативен	4 (10,8%)	37
Общо		22 (10,8%)	203



Фигура 5. Разпределение на носителството на ПВ в гените за predisposition, според пенетрантността им, сред жените с различен сурогатен молекулярен субтип на тумора. Стойностите показани на фигурата отразяват действителен брой жени.

Намерената от нас статистически значима силна връзка между молекулярния субтип и носителството на ПВ в предразполагащите гени потвърждава, че не случайно в днешно време водещо за диагностичния и терапевтичен план при пациенти с РГ е не хистологичния тип, а молекулярния субтип на тумора. Носителството на ПВ в гените за предразположение дефинират и специфични молекулни процеси в клетките на млечната жлеза, които могат да я извадят от нормалните процеси на растеж и пролиферация и да я тласнат към малигнена трансформация. Затова е от изключителна важност изучаване на молекулните механизми на клетъчна трансформация, в частност

предразположението на соматичните клетки към такава трансформация (носителството на герминативни мутации в гените за предиспозиция), за да се проучат по-добре процесите на туморогенеза и да могат да се модифицират (лекуват) по-ефективно.

### 2.1.1. Високо-пенетрантни гени

В настоящото проучване намерената честота на *BRCA* мутациите (9,9%) е два пъти по-ниска от тази намерена при предишно проучване правено за Българската популация (19,5%). Това разминаване се дължи вероятно на факта, че предишното проучване сред български пациенти е правено сред селектирана група жени с РГ съгласно препоръките на Breast Cancer Linkage Consortium (BCLC) и NCCN за провеждане на генетичен тест за предразположение към рак. Въпреки това на пръв поглед противоречие, честота на ПВ варианти, която се откри при нашето проучване е съизмерима с честота, публикувана за неселектирана група пациенти с РГ сред Сръбската популация. При това проучванчестотат на ПВ в *BRCA1* е 7,6%, за сравнение при нашето проучване е 6,4%. Откритите патогенни варианти в *BRCA2* в нашето проучване са 3,4%, а за Сръбската популация е изчислена на 4,8%. Друго проучване правено в Израел, показва почти същата, като намерената от нас, обща честота за двата *BRCA* гена (9,3%). Установените от нас ПВ в *BRCA1* са с различна молекулна характеристика – нонсенс ( nonsense - безсмислени, създаващи стоп-сигнал), миссенс (missense - с промяна на смисъла), фреймшифт (frameshift - с промяна на рамката на четене), инфрейм (inframe - без промяна на рамката на четене) и сплайс мутации (splice site - засягащи сплайс местата). Най-честия вариант е **c.5266dup** (Gln1756ProfsTer74), открит при 6 жени (3% от всички изследвани жени). Следващият по честота вариант е **c.5062\_5064del** (Val1688del), открит при 3 жени. В по една жена (0,5%) сме открили вариантите: **c.181T>G** (Cys61Gly); **c.2019del** (Glu673AspfsTer28); **c.5333-1G>A**. Намерената от нас най-честа мутация в *BRCA1* - c.5266dupC в екзон 20 е втората по честота мутация в общата база данни на Breast Cancer Information Core (BIC), и най-честата в Централна и Източна Европа.

В групата жени с РГ бяха намерение ПВ и в друг високо-пенетрантен ген *PALB2*. Откритите от нас *PALB2* варианти (**c.172\_175delTTGT** и **c.509\_510del**) са известни ПВ с характеристиката на фреймшифт мутация, като и двата водят до създаване на преждевременен стоп сигнал в синтеза на белтъчната верига.

Подробна информация за всички жени с намерени ПВ във високо-пенетрантни гени за предиспозиция към РГ с клиничните, фамилни, хистологични и молекулярни характеристики са подробно описани в Приложение 1.

### 2.1.2. Умерено-пенетрантни гени

При настоящото проучване бяха открити 25 ПВ в 11 умерено-пенетрантни гени при 22 жени с РГ, от общо 44-те жени с НРГ (всички носителки на ПВ в предразполагащите гени). Това показва, че 50% от наследствените форми на РГ в настоящото проучване се дължат на генетичен вариант в умерено-пенетрантните гени за предиспозиция към рак. Подробно описание на жените с РГ и намерени ПВ в умерено-пенетрантните гени, техните клинични, фамилни, хистологични и молекулярни характеристики е представено в Приложение 2.

### 2.2. При жени, диагностицирани с РГ в различни възрастови групи

Анализът на данните ни за честотата на носителство и вида на ПВ в гените за предразположение към РГ, сред жените диагностицирани в различни възрастови групи показва, че при тези от тях диагностицирани преди 40г. възраст най-често се откриват, в около две-трети от случаите мутации в *BRCA1/2* (в 13 от общо 19 жени в тази възрастова група с ПВ). Във възрастовата група между 40 и 50 години, е почти равен дялът на намерените ПВ във високо-пенетрантните гени (57%, n=8 от общо 14 жени с ПВ) и в умерено-пенетрантните гени (43%, n=6). При жените диагностицирани след 50 г., по-често се откриват ПВ в умерено-пенетрантните гени (в 80% от случаите на намерени ПВ, n=9 от 11 жени с ПВ).

Подробното разпределение на намереното в настоящото проучване носителство на ПВ в гените за предразположение, по възрастови групи, е подробно показано в таблица 10.

Таблица 10. Разпределение на пациентите, от различни възрастови групи, според носителството на ПВ в гените за предразположение към РГ

Възраст на диагностициране на РГ	брой (n)/%	Пациенти с ПГ/ВП варианти в <i>BRCA1/2</i> №(%)	Пациенти с ПГ/ВП варианти в др. високо-пенетрантни гени №(%)	Пациенти с ПГ/ВП варианти в гени с умерена пенетрантност №(%)	Пациенти без ПГ/ВП варианти в гените за предразположение №(%)
< 29 години	8 (3.9%)	4 (50%)	0	0	4 (50%)
30-39 години	42 (20.7%)	9 (21.4%)	1 (2.4%)	5 (12%)	27 (64.2%)
40-49 години	87 (42.4%)	5 (5.7%)	1 (1.1%)	8 (9.2%)	73 (83.9%)
50-59 години	39 (19.3%)	1(2.6%)	0	3 (7.7%)	35 (89.7%)
60-69 години	22 (10.9%)	1 (4.5%)	0	5 (22.7%)	16 (72.7%)
> 70 години	5 (2.6%)	0	0	1 (20%)	4 (80%)
Общо	203 (100%)	20 (9.9%)	2 (1%)	22 (10.8%)	159 (78.3%)

Потърси се връзка между възрастта на диагностициране при изследваните пациентки и пенетрантността на засегнатия ген и установихме, че е налице статистически значима силна връзка между двата показателя ( $\chi^2(15,203)=32.79$ ,  $p=0,005$ ,  $N=203$ ,  $Phi=0.402$ ).

### 2.3. При жени с фамилен РГ

В нашето проучване, се установи ФРГ в **15,8%** (n=32) (засегнат родственик от I степен с РГ, независимо от възрастта на диагноза), като установената честота на носителство на ПВ в предразполагащите за РГ гени е **21,9%** (n=7). Разпределението на ПВ във високо и умерено пенетрантните гени е почти поравно – 9,4% (n=3) са носителки на мутация във високопенетрантните гени: *BRCA1* - с.5266dup (n=1), *BRCA2* (n=1)- с.3975\_3978dup, *PALB2* (n=1) - с.172\_175del, и 12,5% (n=4) са намерените ПВ в умерено-пенетрантните гени: *FANCG*(n=1) - с.1760+2T>A; *CHEK2* (n=2) - с.444+1G>A и с.470T>C; *BLM* (n=1)- с.1642C>T.

Беше изчислена честота на ФРГ, взимайки предвид, не само родственици от I степен с РГ, но и тези с РЯ, и се установи дял от 17,7% (n=36). Открита беше по-висока честота на носителство на ПВ - 25% (n=9), сравнена с честота, намерена в случаите когато се взима предвид фамиленост само за РГ (21,9%). Намерените ПВ отново са равномерно разпределени между високо и умерено пенетрантните гени, съответно - 14,3% (n=5) и 12,9% (n=4).

Мутационният спектър, който се установи в двете групи жени – едната с фамиленост само за РГ, другата с фамиленост както за РГ така и за РЯ, се различава по отношение честотата на носителството на ПВ в гените *BRCA1/2*. По-висок дял на носителство на ПВ в *BRCA* гените се намери, когато при анализа на фамилната анамнеза се взимат предвид и родствениците с РЯ (44,4%, n=4 от всички случаи на ФРГ и ПВ в предразполагащите гени), сравнено с дела на носителство сред жените с фамиленост само за РГ (28,6%, n=2).

Фамилните случаи, при които се установи общо родственици с РГ (n=32) и родственици с РЯ и др. асоциирани карциноми (РП, Рпан) (n=11), съставляват общо **21,2%** (n=43) (Таблица 2). Изчисленият дял на НРГ в тази група е **32,6%** (n=14), като отново ПВ бяха разпределени равномерно между високо и умерено пенетрантните гени, съответно в 14,3% (n=6) и 19,0% (n=8).

От направения анализ в трите групи с фамиленост (I степен родственик): 1) само за РГ; 2) за РГ и РЯ; 3) за РГ, РЯ и други асоциирани карциноми се оказа, че най-висока откриваемост на наследствени форми на РГ има, когато при генеалогичния анализ се взимат предвид родствениците не само с РГ и РЯ, но и с други асоциирани карциноми. Така, установеният от нас дял на носителство на ПВ в третата група изследвани жени

(32,6%, n=14) е с около една трета по-висока, в сравнение с този - в групата на жени с родственик само с РГ (21,9%, n=7).

След направената от нас статистическа обработка на резултатите и потърсената зависимост между наличието на фамиленост и носителството на ПВ в гените за предразположение за РГ, се откри силна позитивна при родственик от I степен (РГ/РЯ или др. асоциирани карциноми) и носителството на ПВ в предразполагащите гени ( $\chi^2(9,203)=31.06, p<0,001, N=203, Phi=0.391$ ).

Потърси се такава връзка и при наличие на фамиленост със засегнат родственик от II или III степен, но не открихме такава (съответно  $\chi^2(9,203)=14.01, p=0,12$  и  $\chi^2(9,203)=10.02, p=0,35$ ).

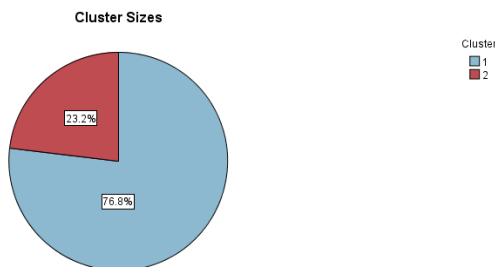
## 2.4. При жени с ТНРГ

Установената от нас обща честота на носителство на ПВ, в гените за предразположение, сред общата група жени с ТНРГ е **43,2%** (n=16/37), като носителството на ПВ в *BRCA1/2* се открива в около една/трета от жените с ТНРГ (32,4%, n=12/37), а дялът на ПВ в умерено-пенетрантните гени е 10,8% (n=4/37). Установеният от нас дял на носителство на ПВ показва, че почти половината от случаите с ТНРГ са наследствени форми, като две-трети от тези наследствени форми се дължат на носителство на ПВ в *BRCA1/2* гена (n=12/37, 75% от всички открити ПВ при ТНРГ).

### Обобщение на собствените резултати от проучването сред жени с РГ

Направена беше обобщена статистическа обработка на всички клинични, фамилни, хистологични и генетични резултати за всички жени с РГ от изследваната от нас кохорта.

Обособиха се два клъстера: първия е съставен от 156 жени (76,8% от всички проучвани жени) и втория от 47 жени (23,2%) (Фигура 6). За дефинирането на двата клъстера бяха



Size of Smallest Cluster	47 (23.2%)
Size of Largest Cluster	156 (76.8%)
Ratio of Sizes: Largest Cluster to Smallest Cluster	3.32

използвани общо 17 критерия (включващи всички клинични, хистологични, фамилни и генетични характеристики, които бяха разгледани в настоящата глава).

Фигура 6. Клъстери сред изследваната група жени с РГ

В обобщение можем да заключим, че проучваната от нас група жени може да се раздели формално на две групи. Първата група е три пъти по-голяма и има следните характеристики: туморите са предимно ER (+) (в 99,4% от случаите), умерено-диференцирани (59,6%), най-често сурогатен молекулярен субтип Луминален А-лайк (в 70,5%), с предимно носителство на герминативни ПВ в умерено-пенетрантните гени (най-често *CHEK2*). Втората група жени се отличава с предимно ER (-) (100%) тумори, ниско-диференцирани (в 51,1%), най-често с тройно-негативен фенотип (в 78,7%) и най-често намираните ПВ са във високо-пенетрантните предразполагащи гени (най-често *BRCA1*).

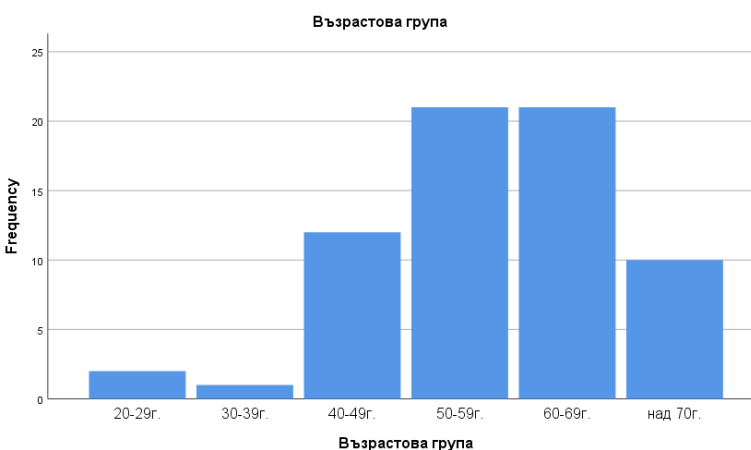
### 3. Възrastови, репродуктивни, фамилни, хистологични и клинични характеристики на проучваните жени с РЯ

#### Възrastови характеристики

Всички изследвани жени с РЯ разпределихме в шест възрастни групи, според възрастта на поставяне на диагнозата (подобно на жените с РГ), както следва: между 20-29г.; между 30-39г.; 40-49г.; 50-59г.; 60-69г. и над 70г. Подробното разпределение на жените в тези възрастни групи е показано на Таблица 11 и Фигура 7.

Таблица 11. Разпределение на жени с РЯ, в зависимост от възрастта на диагностициране

Възрастна група	Брой жени	Дял /в %/
20-29г.	2	3.0
30-39г.	1	1.5
40-49г.	12	17.9
50-59г.	21	31.3
60-69г.	21	31.3
над 70г.	10	14.9
Общо	67	100.0



Фигура 7. Дялово разпределение на жени с РЯ по възрастни групи

Установи се, че най-много жени са диагностицирани във възрастните групи между 50-59г. и 60-69г., като двете групи заедно съставляват почти две трети (62,6 %, n=42) от изследваната от нас кохорта. Жените диагностицирани под 40 годишна възраст са само 3 (4,5%)(Таблица 11).

#### ВМІ и възраст на менархе

Установи се, че около две - трети (66,7%, n=44) от жените с РЯ са с ВМІ  $\geq 25$ , което подкрепя ролята на наднорменото тегло като рисков фактор за развитие на това заболяване. За да потвърдим този извод се направи статистическа обработка на данните и се потърси корелация между възрастта на диагностициране на РЯ и ВМІ. Откри се много силна, статистически значима, позитивна връзка между двата показателя ( $\chi^2(561,67)=654.09, p=0,004, N=67, Cramer's V=0.758$ ).

Намерената от нас средна възраст на менархе в изследваната група жени е 13,7г. (от 11г. до 16г.), и се потърси връзка между възрастта на менархе и възрастта на диагностициране на РЯ. Не се достигна статистическа сигнификантност ( $p=0.52$ ), вероятно поради малкия брой жени в изследваната кохорта жени с РЯ.

## Фамилност

В проучваната група от 67 жени с РЯ само в 11,9% (n=8) от тези случаи се установи фамилност за РГ/РЯ. Според други популационни проучвания, честотата на ФРЯ е по-висока, достигаща до около 20%. Причината, за намерената от нас по-ниска честота на фамилните случаи, вероятно е свързана с факта, че РЯ се открива най-често в късен стадий на болестта, когато има и други огнища и понякога е трудно да се идентифицира първичната локализация. Поради това, част от фамилните случаи остават неидентифицирани или погрешно се отнасят към друга локализация.

## Хистологични характеристики на туморите

Резултатите от направеното проучване потвърди литературните данни, че ВССОК е най-често диагностицирания хистологичен тип РЯ, като се откри в 67,2% (n=45) от изследваните жени. Установената средната възраст на диагностициране на РЯ при тези жени е 62,6г. Данните за разпределението на различните хистологични типове РЯ, сред изследваната кохорта, е представено в таблица 12.

Таблица 12. Разпределение на хистологичните типа РЯ, сред изследваната група жени с това заболяване

Хистологичен тип	Брой жени	Дял в %
ВССОК	45	67.2
НССОК	5	7.5
Ендометриоиден	9	13.4
Серозен+ендометриоиден	2	3.0
Муцинозен	4	6.0
Светлоклетъчен	2	3.0
<b>Общо</b>	<b>67</b>	<b>100.0</b>

Намерената от нас честота на НССОК – 7,5% (n=5) (таблица 12) е малко по-висока от честотата докладвана в литературата - около 5%. Това разминаване най-вероятно се дължи на факта, че проучваната от нас кохорта с РЯ е относително малка и се получава нереално завишаване на дела пациенти с НССОК. Ендометриоидните тумори са представени в проучваната от нас кохорта с дял от 13,4% (n=9) (Таблица 12), което е в съответствие с литературните данни (10-20%). При две от изследваните жени (3,0%) се откри наличие едновременно на ендометриоидна и серозна компонента в тумора. Муцинозен овариален карцином (МОК) се откри с дял от 6% (n=4) (Таблица 12), което е сравнимо с докладваните данни в литературата. Светлоклетъчният овариален карцином (СОК) е представен в около 5% от всички пациенти с РЯ в



Съединените щати. Най-често са засегнати жени от азиатски произход (~11% от всички пациенти с РЯ), а по-рядко се среща при афроамериканки (~3%) или жените от кавказката популация (~5%). Намерената честота на СОК сред изследваните от нас жени е едва 3% (n=2), (Таблица 12) което е в съответствие с данните за европейската популация.

#### **4. Честота на носителство и профил (вид и молекулна характеристика) на П/ВП варианти в гените за предразположение към рак сред изследваната група жени с РЯ**

Откри се, в изследваната кохорта, носителство на герминативни ПВ в предразполагащите за РЯ гени при 18 жени (26,9%, от общо 67 жени с РЯ) (Фигура 8), което съвпада с литературните данни за дела на наследствения РЯ (НРЯ).



Фигура 8. Разпределение на жените с РЯ, според носителството на ПВ в гените за предразположение към рак.

Въздействието на герминативните мутации върху риска за развитие на рак е променливо и зависи от пенетрантността на гена. В зависимост от величината на риска, който създава носителството на ПВ в предразполагащите за РЯ гени, разделяме гените за предиспозиция на високо-пенетрантни (риск > 5-20 пъти за РЯ), гени с умерена пенетрантност (риск 1,5-5 пъти) и ниско-пенетрантни генни локуси, които самостоятелно не водят до клинично значимо повишаване на риска.

Генетичните фактори, носещи най-висок риск за развитие на РЯ, *BRCA1/2*, са причина за автозомно-доминантния раков синдром - Наследственият рак на гърда и яйчник (НРГЯ). Патогенни герминативни варианти в *BRCA1* и *BRCA2*, носят

кумулятивен риск за развитие на РЯ съответно 39–63% и 17–27%, както и повишен риск за РПн и РП. Намерената от нас честота на този наследствен раков синдром, в групата проучвани жени с РЯ е 9% (n=6) от всички случаи с РЯ и една/трета (33,3%) от случаите с НРЯ, което съставлява малко по-нисък дял от посочения в литературата, като ПВ бяха намерените само в *BRCA1* гена. При 5 от жените това беше единствения намерен ПВ, докато при шестата жена намерихме комбинирано носителство с ПВ в друг предразполагащ ген (*MINAS*). Намерената при нашето проучване средна възраст на диагноза при *BRCA1* носителки на мутация е 51,7г. (41г.-66г.), което е почти с 10 години по-малко от средната възраст на диагноза при пациентите без патогенни варианти в предразполагащите гени (59,5г.). Това, потвърждава литературните данни за ранно начало на РЯ при *BRCA1* позитивните жени. Фамилни случаи сред носителите на *BRCA* мутация се установи в 66,7% (n=4) от случаите. Най-честият хистологичен тип РЯ при *BRCA1* носителите на ПВ е ВССОК, поради участието на тези гени в механизма за репарация на ДНК, наречен хомоложна рекомбинация (ХР), който е основен патогенетичен фактор в карциногенеза при този хистологичен вариант. Нашето проучване потвърди литературните данни, като намерихме ВССОК в 83,3% от всички носителки на *BRCA1* мутация (n=5). При шестата пациентка също е намерен този хистологичен тип, но с огнища от ендометриоиден карцином, като при тази жена беше установено носителство на допълнителен генетичен фактор (ПВ в *CHEK2* гена). Обратният анализ на тези резултати показва, че от всички жени, с доказан ВССОК (n=45), в около 11,1% (n=5) се открива носителство на *BRCA1* мутация, което съвпада с резултатите от други предишни проучвания сред неселектирани групи жени с РЯ.

Гените *BRIP1*, *RAD51C* и *RAD51D* също участват в процесите на ХР, като се считат за умерено-пенетрантни по отношение риска за РЯ. Кумулативният риск, който носят е съответно около 5,2–9% за *RAD51C* и 10–12% за *RAD51D* мутации. За носителки на *BRIP1* мутации, изчисленият по литературни данни кумулативен риск за РЯ е 5,8%. Други гени, участващи в ХР, като *PALB2*, *ATM*, *NBN* и *CHEK2*, също могат да бъдат въввлечени в карциногенезата на яйчниците, като носят умерен риск за развитие на РЯ и се причисляват към гените с умерена пенетрантност, по тази причина все по-често се включват в мултигенни ракови панели.

Съществуват други наследствени ракови синдроми, които също са свързани с риск за развитие на РЯ. Такъв е Синдромът на Lynch (LS). Канцерогенезата при LS причинява следните характеристики на туморите - микросателитна нестабилност (MSI) (тествана чрез PCR), загуба на MMR протеини (чрез ИХХ) и голям брой соматични мутации, всички изброени по-горе заедно се обединяват с термина дефицитна MMR. Широкото въвеждане на "универсалния скрининг" за LS (всички случаи с КРК и всички случаи на ЕК, диагностицирани преди 60-годишна възраст, да се тестват за дефицит на MMR) доведе до нарастващ брой предполагаеми случаи на LS – MMR -

дефицитни тумори без герминативна мутация в MMR гените. Тези случаи се преписват на така наречения Lynch-like syndrome (LLS). Етиологията на LLS все още не е изяснена, но се подозират три възможни механизма: а) герминативна мутация в други гени, участващи в MMR, които също могат да причинят дефицит на MMR в туморна тъкан, б) герминативна мутация в MMR гени, които не могат да бъдат идентифицирани поради ограничения на проведения ДНК тест, в) молекулярен процес в туморните клетки, причиняващ същия дефицит. Следователно пациентите с LLS са хетерогенна група, която включва спорадични случаи с двуалелен MMR дефицит и наследствени случаи, свързани с патогенни герминативни варианти в други гени, участващи в репарацията на ДНК. Носителите на наследствен дефицит на MMR и техните родственици носители са изложени на висок риск от втори първичен карцином и трябва да бъдат насочени за профилактика. Обратно, индивидите със соматични мутации в MMR гените и техните родственици не са изложени на повишен риск. Генетичната основа на наследствения LLS все още не е напълно разучена. С появата на секвенирането от следващото поколение (NGS) и способността да се тестват едновременно много гени, предразполагащи към рак, е вече доказано, че много гени се свързват с наследствени случаи на LLS - *MUTYH*, гени, участващи в регулирането на клетъчната активност (*EXO1*, *POLD1*, *RCF1* и *RPA1*), *BUB1* и *BUB3*, *SETD2*, *WRN*, *BARD1*, както и други гени, които нарушават геномната цялост.

При направеното от нас проучване се намери еднакъв дял на пациенти с РЯ и LS, 3% (n=2, един случай с ПБ в *MSH2* и един случай с ПБ в *PMS2* гена) и РЯ и LLS, също 3% (n=2, и двата случая са с намерени ПБ в *WRN* гена). Резултатите от настоящото проучване, показват че LS и LLS, заемат голяма част, общо около 22% от наследствените форми на РЯ.

В обобщение можем да кажем, че около половината от случаите на НРЯ (43,3%, съответно 33,3% за НРГЯ и 11% общо за LS и LLS) се дължат на автозомно-доминантни ракови синдрома – Наследствен рак на гърда и яйчник и Синдром на Lynch. В допълнение около 11% от НРЯ се дължи на все още проучвания LLS.

Останалите случаи на НРЯ (45,7%,) са резултат от ПБ в други предразполагащи за РЯ гени: високо-пенетрантни - *RAD51D*, умерено-пенетрантни - *TP53*, *FANCE*, *FANCM*, *FANCL*, *FANCG*, *ERCC3*, *ATM*, *NBN*, *WRN*, *CHEK2*. Подробно разпределение на жените с РЯ и носителство на ПБ, според пенетрантността и конкретния предразполагащ ген е представено, съответно в Таблица 13 и Таблица 14.

Таблица 13. Разпределение на жените с РЯ и носителството на ПВ, според пенетрантността на предразполагащия ген.

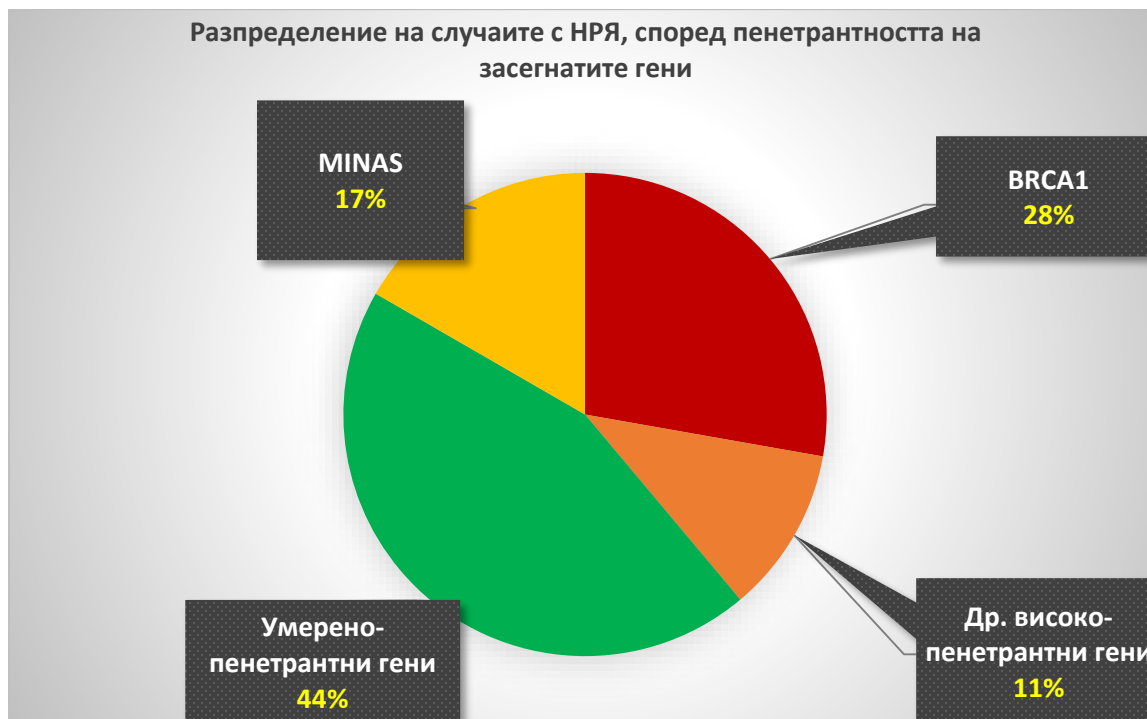
Носителство на генетичен дефект, в зависимост от пенетрантността	Брой жени	Дял (в %)
няма	49	73.1
<i>BRCA1/2</i>	5	7.5
Други високо-пенетрантни гени	2	3.0
Умерено-пенетрантни	8	11.9
MINAS	3	4.5
<b>Общо</b>	<b>67</b>	<b>100.0</b>

Таблица 14. Разпределение на жените с РЯ и носителството на ПВ, според конкретния предразполагащ ген.

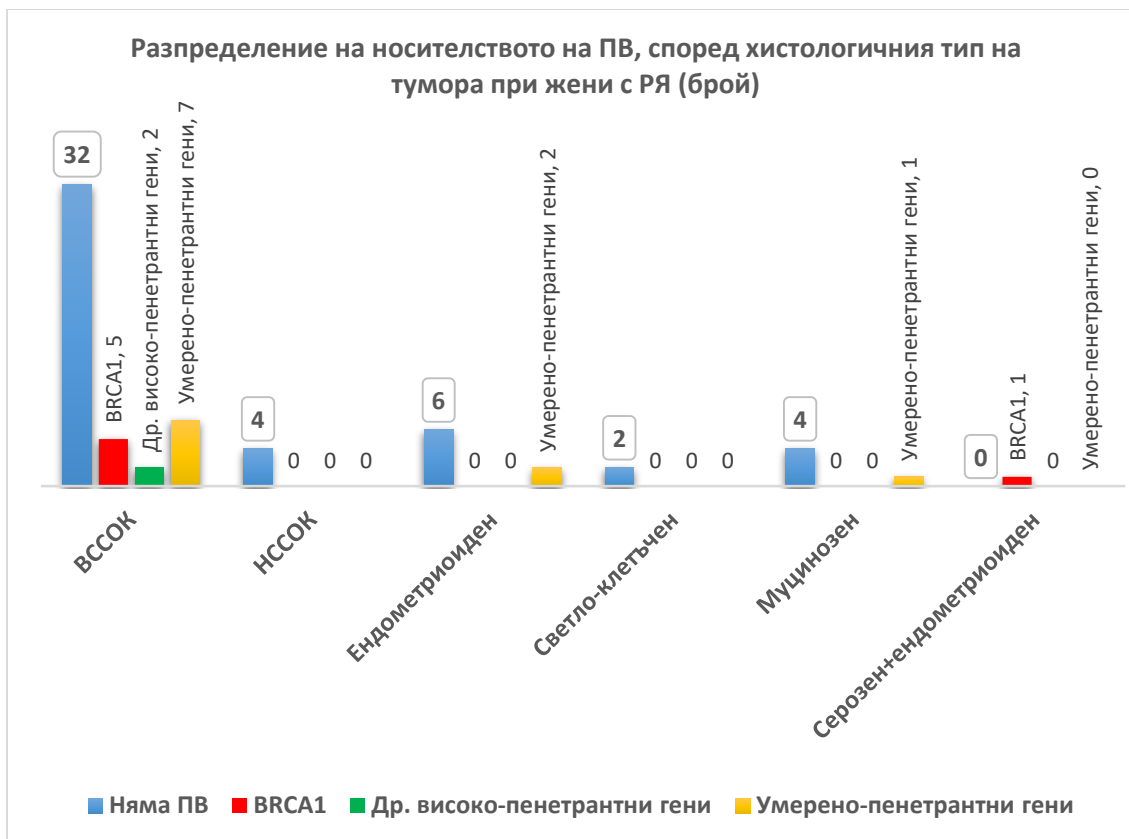
Ген	Брой жени носителки на генетичен дефект	Дял (в %)
няма	49	73.1
<i>ATM</i>	1	1.5
<i>BRCA1</i>	5	7.5
<i>CHEK2</i>	1	1.5
<i>FANCL</i>	1	1.5
<i>FANCM</i>	1	1.5
MINAS	3	4.5
<i>MSH2</i>	1	1.5
<i>NBN</i>	1	1.5
<i>PMS2</i>	1	1.5
<i>RAD51D</i>	1	1.5
<i>WRN</i>	2	3.0
<b>Общо</b>	<b>67</b>	<b>100.0</b>

Намерената от нас, средната възраст на жените с носителство на ПВ в предразполагащите гени е 53,5г., което е с 6 години по-малко от средната възраст на диагностициране на жени без ПВ (59,5г.). Намерена беше силна позитивна зависимост, със статистическа значимост, между възрастта на диагностициране и носителството на ПВ в гените за предиспозиция към РЯ ( $\chi^2(132,67)=161.097$ ,  $p=0,043$ ,  $N=67$ ,  $Cramer's V=0.775$ ), което потвърждава литературните данни, че носителство на дефекти в гените за предразположение към РЯ, асоциират с по-млада възраст на диагностициране на това заболяване.

По отношение на разпределението на ПВ, според пенетрантността им, резултатите от настоящото проучване показва, че почти поравно са разпределени случаите на НРЯ, дължащ се само на герминативни ПВ във високо-пенетрантните гени 38,9% (n=7, ПВ в *BRCA1*, *RAD51D*, *MSH2*) и само на ПВ в умерено-пенетрантните гени 44,4% (n=8, ПВ в *ATM*, *CHEK2*, *FANCL*, *FANCM*, *NBN*, *PMS2*, *WRN*). Установено беше, че делът на MINAS при НРЯ е 16,7% (n=3). Разпределението на случаите с РЯ, според пенетрантността на намерените ПВ е представено на Фигура 9.



Фигура 9. Разпределение на случаите с НРЯ, според пенетрантността на засегнатите гени.



Фигура 10. Разпределение на носителството на генетични дефекти, с различна пенетрантност, при различните хистологични типа РЯ (брой жени)

По отношение на връзката между намерените ПВ и хистологичния тип на тумора, прави впечатление, при направеното от нас проучване, (виж Фигура 10), че сред случаите на ВССОК почти еднаква роля имат *BRCA* гените и умерено-пенетрантните гени, докато при ендометриоидния хистологичен тип играят роля предимно умерено-пенетрантните гени и високо-пенетрантните, различни от *BRCA*.

Потърси се зависимост между специфичния ген, в които сме намерили ПВ и хистологията на тумора, но не намерихме такава ( $p=0.084$ ). За разлика от това се намери статистически значима силна позитивна връзка между пенетрантността на гена и хистологията на тумора ( $\chi^2(20,67)=52.12, p<0,001, N=67, Phi=0.882$ ), като ПВ във високо-пенетрантните гени корелират в по-голяма степен със серозен хистологичен тип.

Интересен е факта, че при всички случаи на смесен серозен и ендометриоиден тумор се установи комбинирано носителство на ПВ в повече от един предразполагащ за рак ген (MINAS), което най-вероятно се обяснява с наличието на повече от един патогенетичен път довел до развитието на РЯ при тези пациенти. Случаите с MINAS ще бъдат подробно разгледани в Приложение 5 на настоящия труд.

При това проучване бяха намерени и няколко случая на синхронен ендометриален и овариален карцином (СЕОК) (двата първични рака се диагностицират в рамките на 6 месеца). СЕОК заема около 5% от раковите заболявания на ендометриума и 10-20% от раковите заболявания на яйчниците. СЕОК представлява 50-70% от всички синхронни гинекологични ракови заболявания при жените. Характерната хистология на СЕОК е ендометриоден аденокарцином както на ендометриума, така и на яйчника, като този хистологичен вариант е описан в около 70% от случаите на синхронни тумори с тези две локализации. Установено е, че СЕОК е по-честа находка при пациенти с LS и LLS, в сравнение с жени без тези синдроми. При направеното от нас проучване са открити общо четири жени с LS и LLS, като при три от тях (75%) диагнозата беше СЕОК, което потвърждава литературните данни, че наличието на СЕОК е една от клиничните характеристики на наследствените гинекологични ракови синдроми (LS, LLS) и е от важно значение за генетичното консултиране както при такива пациенти, така и при техните родственици в риск.

#### 4.1. Високо-пенетрантни гени

В настоящото проучване намерената от нас честота на носителство на герминативни мутации във високо-пенетрантните гени сред жени с РЯ е **12%** (n=8 от общо 18 случая на НРЯ). Този дял е сравнително по-нисък от съобщаваната честота от 15-20% за други популации, като по-ниския дял, в нашето проучване, се оказва основно за сметка на по-ниската честота на *BRCA1/2* мутациите (част от жените, носителки на *BRCA* мутации са предварително обхванати от фармацевтични фирми, във връзка с таргетната терапия с *PARB* – инхибиторите и не са имали мотив да проведат генетично изследване при нас). Установената от нас средна възраст на диагностициране, на жените носителки на ПВ във високо-пенетрантните гени - 52,4 г., е с около 8 години по-малка от жените, които не са носители на ПВ в гените за предиспозиция. Намерени са ПВ в три високо-пенетрантни гени – *BRCA1*, *RAD51D* и *MSH2*.

Подробно описание на клиничните, хистологичните и фамилените характеристики при жени с РЯ и носителство на ПВ във високо-пенетрантните гени е представено в Приложение 3.

#### 4.2. Умерено-пенетрантни гени

При настоящото проучване са открити 13 ПВ в 11 умерено-пенетрантни гени при 11 жени с РЯ, от общо 18-те жени, при които е установена наследствена форма на РЯ (носителки на ПВ в предразполагащите гени). Това показва, че почти две-трети (62%, n=11) от наследствените форми на РЯ в настоящото проучване се дължат на генетичен вариант в умерено-пенетрантните гени за предиспозиция към рак. Намерената от нас честота на носителство на герминативни мутации в умерено пенетрантните гени сред жени с РЯ е 14,9% (n=10 случая), като това съставлява повече от половината (55,6%) от жените носителки на ПВ в предразполагащите гени (общо 18 случая). При една от носителките на умерено-пенетрантен ПВ (n=1/11) се откри комбинирано носителство с ПВ в *BRCA1* гена. Установената средна възраст на диагностициране на жените носителки на ПВ в умерено-пенетрантните гени е 54,4 г. (34г.-72г.), което е с около 5 години по-малко от жените, които не са носителки (59,5г.). Намерените ПВ са в гените *TP53*, *FANCF*, *FANCM*, *FANCL*, *FANCG*, *ERCC3*, *ATM*, *WRN*, *NBN*, *PMS2*, *CHEK2*.

Подробно описание на клиничните, хистологичните и фамилените характеристики при жени с РЯ и носителство на ПВ във високо-пенетрантните предразполагащите за рак гени е представено в Приложение 4.



## **Обобщение на собствените резултати от проучването сред жени с РЯ**

Направена беше статистическа обработка на цялата група изследвани жени с РЯ и всички проучени характеристики. Обособиха се, макар и не много категорично, два клъстера. Те се различават по няколко основни характеристики. Първата група жени е по-голямата и е съставена от 35 жени (58,2% от всички 67 жени с РЯ, включени в проучването), а втората от 28 жени (41,8%). По-многобройната група включва жени, най-често диагностицирани във възрастовата група между 50-59г., като намерената средна възраст на диагностициране за тази група е 61,23г. При нито една от жените от тази група не беше установена фамилност, както и носителство на ПВ в предразполагащите за РЯ гени. Втората група включва жени, най-често диагностицирани във възрастовата група 40-49г., със средна възраст на диагностициране 10 години по-малка от тази на жените от първия клъстер – 52,39г. Основните характеристики, които различават този клъстер от предишния е наличието на фамилност (всички жени с фамилност за РГ/РЯ принадлежат към тази група), както и наличието на наследствена предразположеност (всички жени носителки на герминативни ПВ в гените за предиспозиция принадлежат към този клъстер). Дефинирането на тези два клъстера при проучваните жени с РЯ, показва, че РЯ се диагностицира с по-висока честота сред жени в зряла възраст (след 60г.), но диагностициран преди 50г. възраст е по-вероятно да е фамилен и/или наследствен.

## Обобщение и обсъждане на резултатите получени в общата проучвана група жени с РГ/РЯ

В изложението до тук разгледахме спектъра на гени и молекулната характеристика на намерените генетични дефекти, отделно в групата жени с РГ и тези с РЯ. Целта на това разделяне, беше да подпомогне персонализирането на подхода за генетично консултиране при пациентите с тези заболявания, като се взима предвид индивидуалната клинична и фамилна история, както и хистологична и имунохистохимична характеристика на туморите. Генетичната етиология обаче на наследствените форми на РГ и РЯ е обща. Напоследък се приема наследствените форми на двете заболявания да се обединяват с името Наследствен рак на гърда и яйчниците (НРГЯ). С навлизането на новите геномни технологии, спектъра от гени за предразположение към РГ и РЯ непрекъснато се увеличава. Резултатите от настоящото проучване относно генетичната етиология на наследствените форми на РГ и РЯ потвърди, че и при двете заболявания са засегнати едни и същи гени. Бяха обединени двете групи жени с РГ и РЯ и се проучи честота и молекулната характеристика на генетичните варианти в гените за предразположение в общата проучвана кохорта. Честота на молекулните характеристики на всеки един от намерените ПВ в общата група на жени с РГ/РЯ е представена подробно в Таблица 15.

Таблица 15. Честота и молекулни характеристики на намерените ПВ в гените за предразположение сред всички изследвани жени с РГ/РЯ.

Ген	Генетичен синдром с които се асоциира	Тип на унаследяване	Фенотип при пациента от настоящото проучване	Транскрипт	HGVS номенклатура на варианта	Място на варианта	Протеин – номенклатура на варианта	Тип на варианта	Клинична значимост (АСМГ)	Брой носители	Дял в % в общата група жени с РГ/РЯ
<i>BRCA1</i>	НРГЯ /FA	АД/АР	РГ/РЯ	NM_007294.4	c.5266dup	Exon : 19/23	Gln1756ProfsTer74	Frameshift Indels	Патогенен	8	3.0
<i>BRCA1</i>	НРГЯ /FA	АД/АР	РГ/РЯ	NM_007294.4	c.181T>G	Exon : 4/23	Cys61Gly	Missense	Патогенен	2	0.7
<i>BRCA1</i>	НРГЯ /FA	АД/АР	РГ	NM_007294.4	c.5062_5064del	Exon : 16/23	Val1688del	Inframe deletion	Патогенен	3	1.1
<i>BRCA1</i>	НРГЯ /FA	АД/АР	РГ/РЯ	NM_007294.4	c.5333-1G>A	Exon :		Splice acceptor	Патогенен	2	0.7
<i>BRCA1</i>	НРГЯ /FA	АД/АР	РГ	NM_007294.4	c.2019del	Exon : 10/23	Glu673AspfsTer28	Frameshift Indels	Патогенен	2	0.7
<i>BRCA1</i>	НРГЯ /FA	АД/АР	РЯ	NM_007294.4	c.3700_3704del	Exon : 10/23	p.(Val1234GlnfsTer8)	Frameshift Indels	Патогенен	1	0.4

<b>BRCA1</b>	НРГЯ /FA	АД/АР	<b>РЯ (MINAS)</b>	NM_007294.4	c.5497G>A	Exon : 23/23	p.(Val1833Met)	Missense	Патогенен	1	0.4
<b>BRCA2</b>	НРГЯ /FA	АД/АР	<b>РГ</b>	NM_000059.4	c.9097dup	Exon : 23/27	Thr3033AsnfsTer11	Frameshift Indels	Патогенен	1	0.4
<b>BRCA2</b>	НРГЯ /FA	АД/АР	<b>РГ (MINAS)</b>	NM_000059.4	c.5851_5854del	Exon : 11/27	Ser1951TrpfsTer11	Frameshift Indels	Патогенен	1	0.4
<b>BRCA2</b>	НРГЯ /FA	АД/АР	<b>РГ</b>	NM_000059.4	c.9682del	Exon : 27/27	Ser3228ValfsTer21	Frameshift Indels	Патогенен	1	0.4
<b>BRCA2</b>	НРГЯ /FA	АД/АР	<b>РГ</b>	NM_000059.4	c.6955A>T	Exon : 13/27	Arg2319Ter	Stop gained	Патогенен	1	0.4
<b>BRCA2</b>	НРГЯ /FA	АД/АР	<b>РГ</b>	NM_000059.4	c.3975_3978dup	Exon : 11/27	Ala1327CysfsTer4	Frameshift Indels	Патогенен	1	0.4
<b>BRCA2</b>	НРГЯ /FA	АД/АР	<b>РГ</b>	NM_000059.4	c.7975A>G	Exon : 17/27	Arg2659Gly	Missense	Патогенен	1	0.4
<b>BRCA2</b>	НРГЯ /FA	АД/АР	<b>РГ</b>	NM_000059.4	c.658_659del	Exon : 8/27	Val220IlefsTer4	Frameshift Indels	Патогенен	1	0.4
<b>PALB2</b>	НРГЯ /FA	АД/АР	<b>РГ</b>	NM_024675.4	c.509_510del	Exon : 4/13	Arg170IlefsTer14	Frameshift Indels	Патогенен	1	0.4
<b>PALB2</b>	НРГЯ /FA	АД/АР	<b>РГ</b>	NM_024675.4	c.172_175del	Exon : 3/13	p.(Gln60ArgfsTer7)	Frameshift Indels	Патогенен	1	0.4
<b>FANCM</b>	FA	АР	<b>РГ</b>	NM_020937.4	c.1139_1140del	Exon : 6/23	p.(Arg380IlefsTer14)	Frameshift Indels	Вероятно патогенен (Недокладван)	1	0.4
<b>FANCM</b>	FA	АР	<b>РЯ</b>	NM_020937.4	c.1972C>T	Exon : 11/23	p.(Arg658Ter)	Stop gained	Вероятно патогенен	1	0.4
<b>FANCL</b>	FA	АР	<b>РГ/РЯ</b>	NM_001114636.1	c.1111_1114dup	Exon : 14/14	p.(Thr372AsnfsTer13)	Frameshift Indels	Вероятно патогенен	2	0.7
<b>FANCG</b>	FA	АР	<b>РГ</b>	NM_004629.2	c.1760+2T>A	Exon :		Splice donor	Вероятно патогенен (Недокладван)	1	0.4
<b>FANCG</b>	FA	АР	<b>РЯ (MINAS)</b>	NM_004629.2	c.1538G>A	Exon : 12/14	p.(Arg513Gln)	Missense	Вероятно патогенен	1	0.4
<b>FANCI</b>	FA	АР	<b>РГ</b>	NM_001113378.2	c.3645C>G	Exon : 34/38	p.(Tyr1215Ter)	Stop gained	Вероятно патогенен	1	0.4
<b>FANCE</b>	FA	АР	<b>РЯ (MINAS)</b>	NM_021922.3	c.1239dup	Exon : 7/10	p.(Pro414SerfsTer54)	Frameshift Indels	Вероятно патогенен	1	0.4
<b>BRIP1 (FANCI)</b>	НРГЯ /FA	АД/АР	<b>РГ</b>	NM_032043.3	c.3201C>A	Exon : 20/20	p.(Cys1067Ter)	Stop gained	Вероятно патогенен (Недокладван)	1	0.4
<b>RAD51D</b>			<b>РЯ</b>	NM_002878.4	c.803G>A	Exon : 9/10	p.(Trp268Ter)	Stop gained	Патогенен	1	0.4
<b>RAD51C</b>	FA	АР	<b>РГ</b>	NM_058216.3	c.931del	Exon : 7/9	p.(Ile311TyrfsTer3)	Frameshift Indels	Вероятно патогенен (Недокладван)	1	0.4

<i>TP53</i>	LFS	АД	<b>РЯ (MINAS)</b>	NM_00054 6.6	c.1148_1149del	Exon : 11/11	p.(Leu383HisfsTer8)	Frameshift Indels	Вероятно патогенен ( <b>Недокладван</b> )	1	0.4
<i>MSH2</i>	LS	АД	<b>РЯ</b>	NM_00025 1.3	c.1386+1G>A	Exon :		Splice donor	Патогенен	1	0.4
<i>WRN</i>	LLS/Werner syndrome	?/AP	<b>РЯ</b>	NM_00055 3.6	c.4109del	Exon : 34/35	p.(Asn1370ThrfTer23)	Frameshift Indels	Вероятно патогенен	1	0.4
<i>WRN</i>	LLS/Werner syndrome	?/AP	<b>РЯ</b>	NM_00055 3.6	c.1105C>T	Exon : 9/35	p.(Arg369Ter)	Stop gained	Вероятно патогенен	1	0.4
<i>PMS2</i>	LS	АД	<b>РЯ</b>	NM_00053 5.7	c.163+1G>T	Exon :		Splice donor	Патогенен	1	0.4
<i>ERCC5</i>	XP	AP	<b>РГ (MINAS)</b>	NM_00012 3.4	c.495del	Exon : 5/15	p.(Trp165CysfsTer5)	Frameshift Indels	Вероятно патогенен ( <b>Недокладван</b> )	1	0.4
<i>ERCC3</i>	XP	AP	<b>РЯ (MINAS)</b>	NM_00012 2.2	c.325C>T	Exon : 3/15	p.(Arg109Ter)	Stop gained	Патогенен	1	0.4
<i>ATM</i>	AT	AP	<b>РГ</b>	NM_00005 1.4	c.1564_1565del	Exon : 10/63	p.(Glu522IlefsTer43)	Frameshift Indels	Патогенен	1	0.4
<i>ATM</i>	AT	AP	<b>РГ</b>	NM_00005 1.4	c.7475T>G	Exon : 50/63	p.(Leu2492Arg)	Missense	Вероятно патогенен	1	0.4
<i>ATM</i>	AT	AP	<b>РГ (MINAS)</b>	NM_00005 1.4	c.2131_2132dup	Exon : 14/63	p.(Asn711LysfsTer25)	Frameshift Indels	Вероятно патогенен	1	0.4
<i>ATM</i>	AT	AP	<b>РЯ</b>	NM_00005 1.4	c.8147T>C	Exon : 55/63	p.(Val2716Ala)	Missense	Патогенен	1	0.4
<i>NBN</i>	NBS	AP	<b>РЯ</b>	NM_00248 5.5	c.2140C>T	Exon : 14/16	p.(Arg714Ter)	Stop gained	Патогенен	1	0.4
<i>BLM</i>	BS	AP	<b>РГ</b>	NM_00005 7.4	c.1642C>T	Exon : 7/22	p.(Gln548Ter)	Stop gained	Патогенен	2	0.7
<i>CDKN2A</i>	Рак синдром с меланом	АД	<b>РГ</b>	NM_00007 7.5	c.71G>C	Exon : 1/3	p.(Arg24Pro)	Missense	Патогенен	1	0.4
<i>CHEK2</i>		?	<b>РГ/РГ (MINAS)</b>	NM_00719 4.4	c.470T>C	Exon : 4/15	p.(Ile157Thr)	Missense	Патогенен	8	3.0
<i>CHEK2</i>		?	<b>РГ/РЯ (MINAS)</b>	NM_00719 4.4	c.444+1G>A	Exon :		Splice donor	Патогенен	2	0.7
<i>CHEK2</i>		?	<b>РГ (MINAS)</b>	NM_00719 4.4	c.917G>C	Exon : 9/15	p.(Gly306Ala)	Missense	Вероятно патогенен	1	0.4
<i>CHEK2</i>		?	<b>РГ</b>	NM_00719 4.4	c.433C>T	Exon : 3/15	p.(Arg145Trp)	Missense	Вероятно патогенен	1	0.4
<i>CHEK2</i>		?	<b>РЯ</b>	NM_00719 4.4	c.1427C>T	Exon : 13/15	p.(Thr476Met)	Missense	Вероятно патогенен	1	0.4

В общата група от 270 жени (203 с РГ и 67 с РЯ) намерихме носителство на ПВ в гените за предразположение в 23% (n=62) от жените, което съвпада с намерения дял на наследствени форми при вече разгледаните по отделно групи на жени с РГ (21,6%, n=44) и РЯ (26,9%, n=18). Бяха намерени общо 45 ПВ в 22 гена за предразположение (Таблица 15) (Фигура 11). Открити са 6 варианта, недокладвани досега в световните геномни бази данни, в гените *FANCM*, *FANCG*, *BRIPI (FANCJ)*, *RAD51C*, *TP53* и *ERCC5*, което прави дял от **13,3%** на нови варианти, два пъти повече от съобщените нови варианти при проведен подобен анализ за други популации. Високият процент (13,3%) на открити нови варианти при нашето проучване е доказателство за генетичната хетерогенност на Българската популация по отношение етиологията на НРГЯ.



Фигура 11. Разпределение на жените с РГ/РЯ в общата проучвана кохорта, според носителството на ПВ в предразполагащите за рак гени.

При направеното от нас проучване, се изчисли честотата на ПВ в отделните гени за предразположение към НРГЯ, както в общата проучвана група жени с РГ/РЯ (n=270) така и в групата на жени с намерено носителство на ПВ (с НРГЯ) (n=62). Сравнени бяха намерените честоти в двете групи жени с литературните данни, за да се направи опит за определяне на спектър от засегнати гени при жени с РГ/РЯ за Българската популация (Таблица 16).

Таблица 16. Разпределение на намерените ПВ, по гени, в общата проучвана група жени с РГ/РЯ

Ген	Генетичен синдром с които се асоциира	Тип на унаследяване	Брой ПВ в общата проучвана група жени с РГ/РЯ	Брой носители в общата проучвана група жени с РГ/РЯ	Дял в % сред всички проучвани жени (общо 270 жени)	Дял в % сред неселектирани жени с РГ/РЯ по литературни	Дял в % сред всички жени с ПВГД (общо 100 жени)	Дял в % сред жени с НРГЯ по литературни
<i>BRCA1 (FANCS)</i>	НРГЯ/FA	АД/АР	7	19	<b>7.0</b>	5-15%	<b>30.6</b>	4.6-54%
<i>BRCA2 (FANCD1)</i>	НРГЯ/FA	АД/АР	7	7	<b>2.6</b>		<b>11.3</b>	
<i>PALB2 (FANCN)</i>	НРГЯ/FA	АД/АР	2	2	<b>0.7</b>	1-3%	<b>3.2</b>	~10%
<i>FANCM</i>	FA	АР	2	2	<b>0.7</b>	1-2%	<b>3.2</b>	2.2-3.2%
<i>FANCL</i>	FA	АР	1	2	<b>0.7</b>	<1%	<b>3.2</b>	<1%
<i>FANCG</i>	FA	АР	2	2	<b>0.7</b>	<1%	<b>3.2</b>	<1%
<i>FANCI</i>	FA	АР	1	1	<b>0.4</b>	<1%	<b>1.6</b>	<1%
<i>FANCE</i>	FA	АР	1	1	<b>0.4</b>	<1%	<b>1.6</b>	<1%
<i>BRIP1 (FANCJ)</i>	FA	АР	1	1	<b>0.4</b>	1-2%	<b>1.6</b>	1-2%
<i>RAD51D</i>			1	1	<b>0.4</b>	~1-2%	<b>1.6</b>	~1-2%
<i>RAD51C</i>	FA	АР	1	1	<b>0.4</b>	~1-2%	<b>1.6</b>	~1-2%
<i>TP53</i>	LFS	АД	1	1	<b>0.4</b>	<1%	<b>1.6</b>	20-25%
<i>MSH2</i>	LS	АД	1	1	<b>0.4</b>	~1-2%	<b>1.6</b>	~1-2%
<i>WRN</i>	LLS/Werner syndrome	?/АР	2	2	<b>0.7</b>	<1%	<b>3.2</b>	<1%
<i>PMS2</i>	LS	АД	1	1	<b>0.4</b>	~1-2%	<b>1.6</b>	~1-2%
<i>ERCC5</i>	XP	АР	1	1	<b>0.4</b>	<1%	<b>1.6</b>	<1%
<i>ERCC3</i>	XP	АР	1	1	<b>0.4</b>	<1%	<b>1.6</b>	<1%
<i>ATM</i>	АТ	АР	4	4	<b>1.5</b>	1-5%	<b>6.5</b>	1-5%
<i>NBN</i>	NBS	АР	1	1	<b>0.4</b>	<1%	<b>1.6</b>	<1%
<i>BLM</i>	BS	АР	1	2	<b>0.7</b>	<1%	<b>3.2</b>	<1%
<i>CDKN2A</i>	Раков синдром с меланом	АД	1	1	<b>0.4</b>	<1%	<b>1.6</b>	<1%
<i>CHEK2</i>			5	13	<b>4.8</b>	1-5%	<b>21.0</b>	5-10%

Гените, с намерени ПВ, от настоящото проучване, разделихме в няколко групи, в зависимост от функцията на кодираните от тях белтъци.

## Гени, участващи в ДНК репарацията на двойноверижните разкъсвания

### *BRCA1/2*

*BRCA1/2* гените са най-честата причина за НРГЯ, като засяга всички раси и етнически групи. Намерената от нас честота на носителство на ПВ във *BRCA1* и *BRCA2* в общата група с РГ/РЯ е 9,6% (n=26 от 270 жени), като на герминативни мутации в *BRCA1* се дължат 7% (n=19/270) от случаите с РГ/РЯ, а на ПВ в *BRCA2* - 2,6% (n=7/270) от тях. При нашето проучване в общата кохорта изследвани жени около 10% от случаите се дължат на *BRCA* ПВ, а останалите 13% са за ПВ в други предразполагащи гени. Намерената честота на носителство на ПВ в *BRCA* гените, напълно съвпада с известните литературни данни, както и с данни от публикувано наскоро голямо проучване сред близо 4600 пациенти с РГ/РЯ.

Намерените от нас ПВ в *BRCA* гените съставляват голяма част от всички ПВ намерени в настоящото проучване (38,8%, n=26/67 за двата гена и поотделно съответно 28,4% за *BRCA1* и 10,4% за *BRCA2*). Тази открита висока честота, показва, че голямата част от НРГЯ и при български жени се дължи на ПВ във *BRCA1/2* гени.

Намерената, най-честа мутация в *BRCA1* е с.5266dupC в екзон 20, като тя е втората по честота мутация в общата база данни на Breast Cancer Information Core (BIC), и най-честата в Централна и Източна Европа. Тя е откривана сред високорискови семейства с РГ/РЯ в Полша с честота 34%, в Русия - 14%, Унгария - 14%, Словения - 13 %, в популацията на евреите Ешкенази -10%, Гърция - 8%, Германия - 4%, Италия - 3%. На практика, тя липсва в Испания и Португалия и се среща с ниска честота в Холандия, Белгия и скандинавските страни. Намерената от нас честота на тази мутация е 3% в общата група изследвани жени и 13% в групата на жените с НРГЯ. В Русия, Беларус, Полша, Латвия, Чехия, Гърция и Литва тази мутация представлява съответно 94%, 73%, 60%, 55%, 37–52%, 46% , 34% от всички намерени *BRCA1* мутации. Резултатите от нашето проучване показват, че за Българската популация тази мутация съставлява 42,1% от всички намерени ПВ в *BRCA1*.

Пет от ПВ в *BRCA1* гена бяха открити в повече от един носител (с.5266dup; с.181T>G; с.5333-1G>A; с.5062\_5064del; с.2019del), като първите три са намерени при жени с РГ и жени с РЯ, докато други два (с.3700\_3704del; с.5497G>A) са открити само по веднъж и то при пациенти само с РЯ (Таблица 15). Най-висока честота в *BRCA1* имат ПВ с.5266dup (3% от общата кохорта жени с РГ/РЯ, 13% от групата жени с НРГЯ) и с.5062\_5064del (0,7% от общата кохорта жени с РГ/РЯ, 4,8% от жените с НРГЯ).

В *BRCA2* са намерени общо 7 ПВ в 7 носители, без наличие на повтарящи се ПВ. Това отчасти е свързано с по-ниската честота на засягане на *BRCA2* в сравнение с *BRCA1*, поради по-ниската пенетрантност на *BRCA2*. Герминативни ПВ в *BRCA1* се

асоциират с 57-65% и 39-44% доживотен риск, съответно за РГ и РЯ. В допълнение ПВ в *BRCA1* асоциират и с повишен риск за КП и КПн. Рисковете които носят герминативни ПВ в *BRCA2* са по-ниски (сравнено с *BRCA1*) - 45-55% и 11-18% доживотен риск съответно за РГ и РЯ.

### Други Fanconi anemia гени

*BRCA1* и *BRCA2* гените (формално *FANCS* и *FANCD1*, съответно) също принадлежат към групата на гените на FA, въпреки че участието им в това заболяване е предмет на дебати, тъй като биалелно състояние на *BRCA* мутации има летален ефект по време на ембрионалния период. Всички протеини кодирани от FA гените изпълняват тумор-супресорна роля, създавайки комплекс, който се активира при двойноверижна увреда на ДНК и участва в репарацията по механизма на ХР. В литературата съществуват многобройни данни, че моноалелно носителство на ПВ в много от FA гени асоциира с НРГЯ, но тези за които съществуват многобройни доказателства за това са *PALB2* и *BRIP1*. При настоящото проучване са намерени ПВ в следните гени от групата на FA (без *BRCA1/2*) - *PALB2*, *FANCM*, *FANCL*, *FANCG*, *FANCI*, *FANCE*, *BRIP1 (FANCI)*, *RAD51C*. Откритото от нас носителство на ПВ в гени от FA (без *BRCA1/2*) в общата група жени с РГ/РЯ е 4,4% (n=12 от 270 жени), което съставлява 17,9% (n=12/62) от всички случаи на НРГЯ.

Намерената честота на носителство на ПВ *PALB2* в общата кохорта изследвани жени с РГ/РЯ е 0,7% (n=2/270), и е причина за 3,2% (n=2/62) от всички случаи на НРГЯ, като сравнена с литературните данни (около 10 % от случаите на НРГЯ) е значително по-ниска.

Моноалелните ПВ в *PALB2* водят до повишен риск за РГ и за двата пола, което наскоро беше изчислено на 53% доживотен риск за жените и 1% за мъжете. Установено е, че носители на герминативни ПВ в *PALB2* имат и леко повишен риск за РЯ – 5% и за РП – 2-3%. При настоящото проучване и двете жени носителки на ПВ в *PALB2* са с РГ.

Намерената от нас честота на друг ген от групата на гени на FA, *BRIP1*, съвпада с литературните данни, както в общата група проучвани жени с РГ/РЯ, така и в групата на жените с НРГЯ (Таблица 16). От останалите FA гени, които по литературни данни са редки генетични дефекти, при *FANCM*, *FANCL* и *FANCG*, намерихме относително по-висока честота ( 0,7%, всеки).

### *ATM*

Намерената честота на носителство на ПВ в *ATM* гена е 1,5% (n=4) от всички изследвани жени и 6,5% от жените с НРГЯ, което съответства на данните в литературата (Таблица 16). И четирите открити варианта са различни, което още веднъж доказва генетичната хетерогенност на Българската популация. Докато участието на ПВ в *ATM* гена в туморогенезата при РГ и РПн е доказано, то ролята му



по отношение на РЯ е все още в процес на проучване. При три от четирите жени носителки на ПВ в *ATM* диагнозата е РГ, което е в съответствие с литературните данни.

### ***RAD51* paralogs – *RAD51C*, *RAD51D***

Скорошни проучвания показват, че носителството на герминативни мутации в *RAD51C* носи по-висок среден кумулативен риск за РЯ - 6,94 (между 20%-40%), сравнено с риска за РГ - 1,93. При някои проучвания се установява, че честотата на ПВ в *RAD51C* е между 0,4–2,9% при случаи на наследствен РГ/РЯ, докато други проучвания не откриват ПВ в *RAD51C* при НРГ/НРЯ. Това противоречие се дължи вероятно на различията в използваната методика за генетичен анализ при различните проучвания, като болшинството от тях не използват методите на секвениране от следващо поколение. Намерената от нас честота на ПВ в *RAD51C* в общата група жени с РГ/РЯ на е 0,4% (n=1), а в групата на жените с НРГЯ делът на тези ПВ е изчислен на 1,6%. Намереният ПВ в *RAD51C* е при жена с по-рядко срещаната локализация за такъв ПВ, а именно – РГ, което от една страна показва предимствата на използваната от нас методика за ДНК анализ, а от друга страна потвърждава генетичната хетерогенност на Българската популация. Въпреки това намерената честота е ниска, което при използваната технология за генетичен анализ, показва, че ПВ в *RAD51C* са редки за нашата популация. Откритият ПВ в *RAD51D* (с. 803G>A, Trp268Ter) е от типа нонсенс и води до създаване на скъсен и нефункционален белтъчен продукт (PVS1) и е известен патогенен вариант в базата ClinVar. Вариантът беше открит от нас при жена, диагностицирана с ВССОК на 60-годишна възраст, без фамилност за РГ/РЯ. Хистологията на тумора при тази пациентка съответства на патогенетичния механизъм за развитие на карциноми при носители на герминативна мутация в *RAD51D*.

### ***NBN***

При направеното, проучване се откри една жена с РЯ, носителка на ПВ в *NBN*, което прави честота на носителство за цялата проучвана група жени едва 0,4% (n=1), което потвърждава данните, че генетични дефекти в този ген са редки за наследствените форми на РГ и РЯ.

### ***CHEK2***

При настоящото проучване, ПВ в *CHEK2* гена са втори по честота сред жените от общата група с дял от 21% (n=13/62). Намерени са пет различни по молекулна характеристика варианти, като един от тях - p.(Ile157Thr) се среща при 8 жени (с честота в общата група изследвани жени - 3% и дял 12,9% от случаите на НРГЯ). Този вариант се намира в относително висока честота в различни Европейски популации и носи риск умерен към нисък за развитие на НРГЯ. При нашето проучване този вариант

е откриван само в случаи на жени с РГ, като една от пациентките е с комбинирано носителство на ПВ и в други предразполагащи гени (MINAS).

### **Гени, участващи в ДНК репарацията на едноверижни нуклеотидни сдвоявания (NER) – *ERCC3, ERCC5***

Намерената честота на носителство на ПВ в гените, участващи в механизмите за репарация чрез изрязване на погрешно сдвоени нуклеотиди е ниска – по 0,4% (n=1) за *ERCC3* и *ERCC5*, в цялата проучвана група жени с РГ/РЯ и по 1,6% в групата на жени с НРГЯ. Кое то донякъде може да бъде обяснено с по-ниската им пенетрантност, т.е носителството им е свързано с по-ниски рискове за развитие на НРГЯ.

### **Гени, участващи в ДНК репарацията на еднуклеотидни замени (MMR) – *MSH2, PMS2***

Lynch syndrome (LS) е автозомно-доминантен раков синдром с висок риск за развитие на ендометриален и КРК. Пациенти с ПВ в гените на LS (*MLH1, MSH2, MSH6, PMS2*) имат риск за развитие и на други тумори, какъвто е РЯ, като доживотния риск е изчислен на 4-12%. Докато хистологията на туморите при РЯ, резултат от герминативни *BRCA* мутации е серозен овариален, то при LS е ендометриоиден. Дали LS асоциира с РГ все още не е изяснено. В настоящото проучване бяха намерени ПВ в гените участващи в репарацията на еднуклеотидни грешки – 0,8% (n=2), само при пациенти с РЯ, като и при двете хистологията е ендометриоиден карцином. Ролята на гените, кодиращи белтъци участващи в еднуклеотидните поправки в етиологията на НРГЯ е предимно по отношение развитието на РЯ и по-малко за развитие на РГ, като резултатите от нашето проучване потвърждават това.

### ***Други гени***

#### ***BLM, WRN, TP53***

Установената честота на носителство на ПВ в *BLM* гена е 0,7% (n=2), като и двете жени са диагностицирани с РГ. Вариантът и при двете жени (от различни фамилии) е един и същ. Този вариант е известен с ефект на основателя за Европейската популация, което най-вероятно важи и в частност за Българската популация. ПВ в *WRN* бяха също намерени в две пациентки, като честотата на носителство в общата проучвана група жени е 0,7% (n=2). Двете жени са с РЯ, ендометриален хистологичен вид, което е характерно за т.нар. Lynch-like syndrome (подробно описано в предната глава).

Намерената, честота на ПВ в *TP53* е едва 1,6% в групата жени с НРГЯ, при очакван дял от около 20% по литературни данни. Това противоречие може да бъде обяснено с това, че при Български жени с НРГЯ, *TP53* е много рядко засегнат.

В заключение можем да кажем, че най-голям дял (в 83,6% от случаите) в етиологията на НРГЯ имат гените, участващи в процесите на репарация на двойноверижни разкъсвания и по-специално ХР. Най-висока е честота на ПВ в *BRCA1/2*, като те са етиологичен фактор в около 39% от случаите на НРГЯ. Установихме по-ниска честота на герминативни мутации в *PALB2* и *TP53*, което показва, че в спектъра на НРГЯ при Български пациенти, за разлика от другите популации, тези два гена имат по-малка роля. Останалите засегнати гени (с изключение на *BRCA1/2*) бяха намерени, при настоящото проучване, с относително по-висока честота сред жените с НРГЯ, въпреки че за част от тях липсват достоверни литературни данни за честотата поради това, че са изключително редки. Тази относително по-висока честота, от части може да бъде обяснена с използваната от нас технология за ДНК анализ, която дава по-пълно и по-всеохватно проучване на генетичната етиология на НРГЯ, а от друга страна с генетичната хетерогенност на нашата популация. В допълнение, при нашето проучване бяха намерени 6 нови ПВ, недокладвани досега в световните бази данни на генетичните варианти, което заедно с големия брой на намерени ПВ с различни молекулни характеристики, подкрепя извода, че Българската популация е генетично хетерогенна.

## **5. Изграждане на подход за генетично консултиране, в зависимост от носителския статус на П/ВП вариант в гените за предразположение при пациенти с РГ/РЯ**

### **5.1. Генетично консултиране при онкологични заболявания**

Необходимостта от генетично консултиране при онкологични пациенти в последните години рязко нарасна с въвеждането на новите технологии за секвениране, тъй като нараства обема от информация, който трябва да бъде оценен и анализиран и да бъде имплементиран/приложен в диагностиката и лечението на тези пациенти, както и в превенцията при тях и техните родственици.

Традиционният подход за идентифициране на пациенти с генетично предразположение включва оценка на риска и генетичен тест за предиспозиция, със задължителна генетична консултация преди и след резултата от генетичния анализ.

#### **Първична генетична консултация**

**Първичната** (преди генетичния тест) генетична консултация включва получаване от генетичния консултант и анализ на информацията, относно персоналната медицинска история на пациента, репродуктивната история, начина на живот, фамилната анамнеза, подписване на информирано съгласие и вземане на биологичен материал.

##### **Определяне на риск**

##### **Модели за оценка на риска**

Съществуват модели за оценка на риска за РГ и РЯ, които на базата на емпирични данни и софтуерна обработка определят вероятен риск при конкретния индивид (на Gail, на Claus и др.).

##### **Генетичен тест**

Изборът на подходящ генетичен тест, който ще даде най-точна представа за генетичната етиология на РГ/РЯ при конкретния пациент е също част от първичната генетична консултация.

##### **Вторична генетична консултация**

**Вторичната** (след генетичния тест) генетична консултация включва интерпретация на получените от генетичния тест резултати, обсъждане на възможностите за терапия и профилактика, както и рисковете по отношения на пациента за рецидив или засягане на друга локализация и профилактиката както при него, така и при неговите родственици в риск.

## **5.2. Подход за генетично консултиране при носителство на ПВ в гени с висока пенетрантност**

Генетичното консултиране по отношение на поведението при пациенти, при които са открити герминативни П/ВП варианти във високо пенетрантните предразполагащи гени се основава на общоприетите препоръки (NCCN, ESMO).

## **5.3. Подход за генетично консултиране при носителство на ПВ в гени с умерена пенетрантност**

Мултигенните панели включват **гени с умерена пенетрантност**. За много от тези гени има ограничени данни за величината на риска за рак и към момента няма унифицирани и ясни насоки за медицинското поведение при тези пациенти и при техните родственици. Подходът за генетичното консултиране в тези случаи се определя от различни фактори.

### **5.3.1. В зависимост от *открития ген***

Намерените от нас наследствени форми на рак, в цялата кохорта изследвани жени с РГ и РЯ (n=270), са 23,7% (n=64). Около половината - 48,4% (n=31) от ПВ, засягат гени, причиняващи автозомно-доминантни ракови синдроми. Около една трета от всички открити патогенни варианти 29,7% (n=19 от общо 64 жени носителки на ПВ) са в гени, които в хомозиготно състояние (биалелна мутация) причинява автозомно-рецесивно моногенно заболяване (Анемия на Fanconi, Xeroderma pigmentosum, Ataxia teleangectasia, синдрома на Nijmegen, синдром на Bloom и др.), докато в хетерозиготно състояние водят до предразположение на носителя към развитие на определен вид рак. Намирането на ПВ в гени за рецесивни заболявания, води до необходимостта в рамките на генетичното консултиране да се обсъдят и репродуктивните възможности, с цел предотвратяване на раждането на дете с автозомно-рецесивен синдром. Препоръките на генетичната консултация са сведени до провеждането на генетичен тест на партньора и при намирането на носителство на ПВ в същия ген провеждане на пренатална диагностика по време на следваща бременност.

### **5.3.2. В зависимост от *открития ПВ в гена***

Някои П/ВП варианти в гена могат да създават по-висок или по-нисък риск от други П/ВП варианти в същия ген.

Установените втори по честота ПВ в общата кохорта изследвани жени, след тези в *BRCA1* гена, са вариантите в *CHEK2* гена.

Като цяло, LOF вариантите в *CHEK2* се характеризират с патогенен ефект. За разлика от тях, миссенс вариантите имат различни ефекти (от патогенен до бенигнен) и техният ефект зависи от това дали е засегнат критичен протеинов домейн. Няколко миссенс варианта - p.I157T, p.S428F и p.T476M, са свързани с по-нисък риск от РГ, в

сравнение с вариантите със загуба на функция. Проучвания доказват ролята на *CHEK2* за развитието на рака на щитовидната жлеза. Предполага се, че по отношение на фамилната анамнеза има асоциация между РЦЖ и РГ; предишна анамнеза за рак на щитовидната жлеза е рисков фактор за рак на гърдата и обратно (относителни рискове в диапазона 1,7–12,4), като за варианта p.I157T, изчисленият относителен риск е около 2,8 пъти.

При направеното от нас проучване сред жените с РГ, най-често откривания ПВ в *CHEK2* беше миссенс варианта c.470T>C (p.I157T). При две от жените обаче първичната генетична консултация установи карцином на щитовидната жлези. При едната от пациентките се откри фамилност - родственик от първа степен (майка), диагностицирана на 59г. с РЦЖ, а втората пациентка е била диагностицирана самата тя с папиларен РЦЖ, 2 години преди да е диагностицирана с РГ. При двете жени генетичния анализ открива ПВ носещ сравнително по-нисък риск за РГ и щитовидната жлеза, но вземайки предвид персоналната медицинска история, в единия случай и фамилната история в другия, генетичната консултация приема, че рисковете в тези две семейства по отношение на двата вида карциноми са емпирично по-високи и че родствениците на тези жени трябва да предприемат по-активни профилактични мерки по отношение както на РГ така и на РЦЖ.

#### **5.4. Подход за генетично консултиране при негативен (неопределен) резултат от генетичен тест**

Негативният (неопределен) резултат от генетичния тест не винаги означава липса на ПВ в гените за предразположение. Резултатите от генетични тестове се считат за неопределени, когато не е възможно да бъдат точно интерпретирани, относно клиничното им значение за риска. Неопределените резултати могат да бъдат от два типа – касае се за потенциално фалшиво-отрицателен резултат или намерените варианти са с неясно клинично значение (VUS). Потенциално фалшиво-отрицателен резултат, представлява такъв резултат от генетичен тест, който е оценен като отрицателен или поради ограниченията на използвания генетичен метод за изследване (например наличието на големи геномни пренареждания, които не могат да се откриват с методите на секвенирането) или поради недостатъчност на базата данни към момента на извършване на анализа – т.е. касае се вероятно за засегане на ген, който все още не е известен на генетичната общност. Друга неопределеност на резултата от генетичния тест възниква, когато е открит генетичен вариант с неясно клинично значение (VUS). При тези случаи, лабораторията не може да интерпретира намерения генетичен вариант, като патогенен или непатогенен (бенигнен), а оттук и не може да прецизира клиничното му значение относно риска за рак. В някои случаи е необходимо време, за да се натрупа в базите данни допълнителна информация относно конкретния вариант, въз основа на която допълнително вариантът да се рекласифицира или като бенигнен,

или като патогенен. Дотогава обаче, резултатът от генетичния тест се представя на пациента, като негативен.

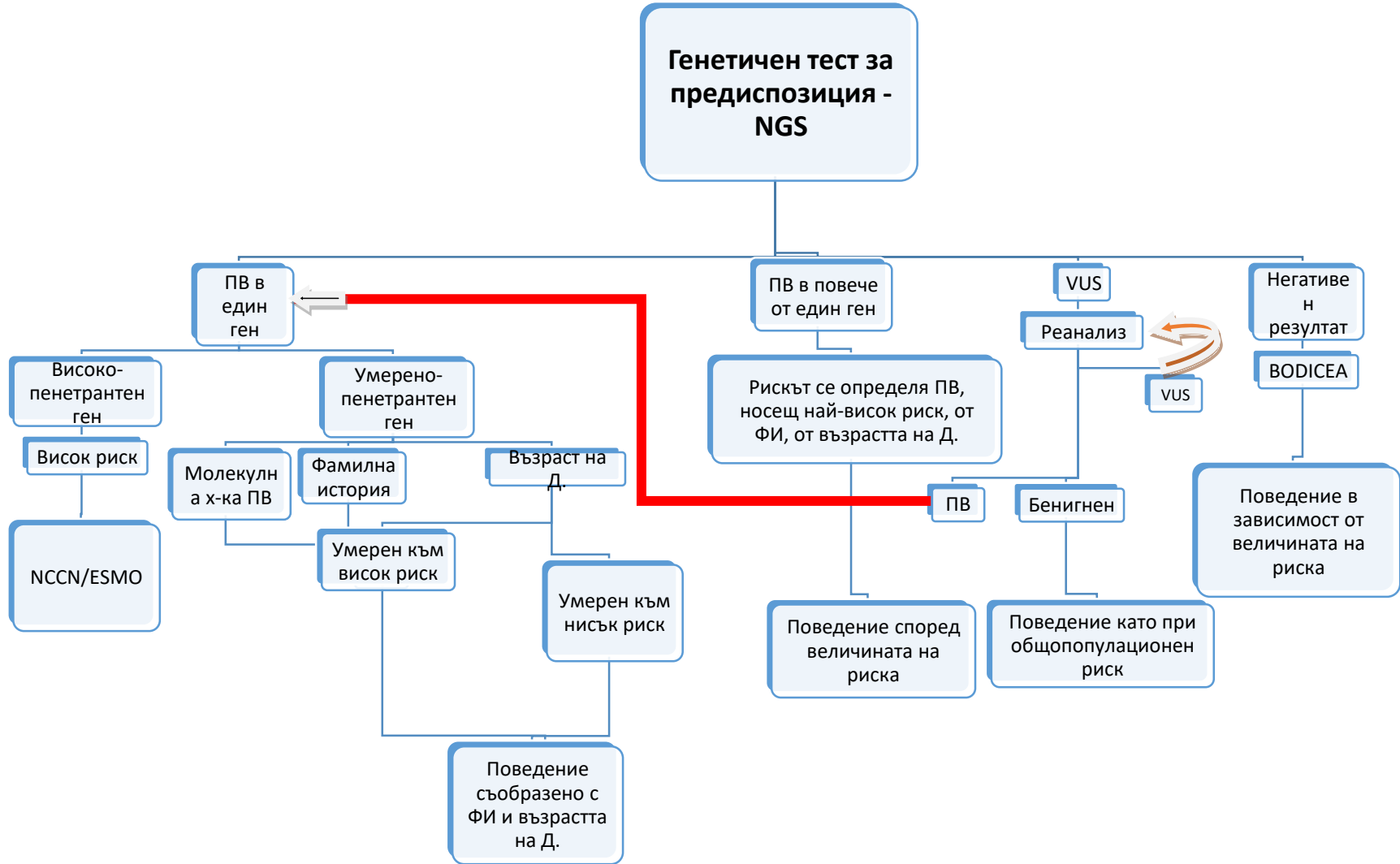
При получаване на отрицателен резултат от генетичния тест за предразположение, генетичния консултант може да използва софтуерно базирани модели за определяне на емпирични рискове, въз основа на персоналната медицинска, репродуктивна и фамилна история.

### **5.5. Подход за генетично консултиране при носителство на ПВ варианти в повече от един ген за предразположение към РГ/РЯ – Синдром на наследствена мултилокусна неоплазия (Multilocus Inherited Neoplasia Allele Syndrome (MINAS))**

Напредъкът на геномната технология създаде възможност пациентите да бъдат тествани едновременно за носителство на ПВ в много гени за предразположение. За първи път през 2016г. Whitworth предлага термина Синдром на наследствена мултилокусна неоплазия (Multilocus Inherited Neoplasia Allele Syndrome (MINAS)) за пациенти, носещи ПВ в повече от един ген за предразположение. При направеното от нас проучване, от всички изследвани жени с РГ и РЯ са намерени случаи на MINAS в 1,9% (5/270), като при 40% (2/5) от тях се установи комбинирано носителство с ПВ в BRCA гените. Следващият по честота на засягане беше CHEK2 гена, установен от нас в други 40% (2/5) от MINAS случаите, което напълно съвпада с данните от обобщеното проучване на McGuigan. Подробното описание на установените от нас случаи с MINAS е представено в Приложение 5.

#### **Обобщение**

Генетичното консултиране при пациенти с наследствени форми на рак на гърда или яйчник е критично важно както по отношение избора на стратегия за лечение при пациента, така и за ефективността на профилактиката на други локализации на рака. Подхода, който ще избере генетичния консултант зависи от пенетрантността на засегнатия ген, от молекулната характеристика на патогенния вариант, както и от евентуалното комбинирано носителство с други ПВ. Критично важно за пациента е генетичния консултант да събере цялата клинична, хистологична, фамилна и генетична информация за да персонализира рисковете по отношение на други органи, както и да изгради най-подходящия диагностичен и профилактичен план. Подход за генетично консултиране е схематично представен на Фигура 12.



Фигура 12. Подход за генетично консултиране при пациенти с РГ/РЯ



## ОБОБЩЕНИЕ НА НАСТОЯЩОТО ПРОУЧВАНЕ

Ракът на гърдата е най-честото раково заболяване сред жени, докато ракът на яйчниците е едно от най-злокачествените - с агресивно протичане и ниска преживяемост, което определя медико-социалното значение на тези две злокачествени заболявания. Етиологията им е комплексна и включва участие на генетични и средови фактори, в сложни взаимодействия помежду им. Унаследените герминативни мутации в гени за предразположение към рак са в основата на наследствените форми при тези две заболявания.

Установената от нас честота на наследствени форми на рак на гърдата и рак на яйчниците е съответно 22% и 27%, почти два пъти по-високи от публикуваните в литературата данни от други проучвания. Това се дължи най-вероятно на използваната в настоящото проучване нова геномна технология, която позволява едновременно секвениране на голям брой гени, асоцииращи с наследствен рак.

При наследствените форми на РГ или РЯ се установи широк генетичен спектър, както по отношение на засегнатите гени, така и по отношение на намерените в тях ПВ, (съответно 47 ПВ в 14 гена и 21 ПВ в 14 гена). Намерени бяха нови ПВ, недокладвани досега в световните геномни бази данни: 5 (11% от всички открити) при РГ, и 1 (5% от всички открити) - при РЯ. Настоящото проучване показва, че въведения за някои популации, генетичен скрининг за предразположение към РГ/РЯ, включващ най-чести генетични дефекти в ограничен брой гени (предимно *BRCA1/2*), няма да е ефективен при хетерогенна (от генетична гледна точка) популация, каквато е Българската.

При наследствените форми на РГ/РЯ, се установи, при направеното проучване, почти еднакво участие на високо- и умерено-пенетрантните гени в етиологията на рака. При младите жени (диагностицирани <40г. възраст) основна роля за наследствената предразположеност към РГ/РЯ играят високо-пенетрантните гени, докато при жените диагностицирани след 40 г. възраст - умерено-пенетрантните гени. Потвърждава се, че най-често засегнати са *BRCA1/2* и *CHEK2* гена.

Въз основа на резултатите от настоящото проучване, беше изграден комплексен подход за генетично консултиране при наследствени форми на РГ/РЯ. Критично важна е ролята на генетичния консултант при НРГ/НРЯ с намерен ПВ в умерено-пенетрантните гени. При тези случаи, анализът на цялата обобщена информация (фамилната анамнеза, засегнат ген, намерен ПВ) позволява персонализиране на риска при пациента или негов родственик и изграждане на най-подходяща стратегията за ефективно лечение на основното заболяване и профилактика.

Резултатите от настоящото проучване, насочват към необходимостта от прилагане в клиничната практика на мултидисциплинарен подход, спрямо пациенти с наследствен рак на гърда или яйчници и техни родственици, който да обединява знанията и практическите умения на лекари от различни специалности, в името на подобряване диагнозата, лечението и ресурсите за превенция при тези злокачествени заболявания.

## V. ИЗВОДИ

1. По отношение на основните характеристики при жени с РГ:
  - 1.1. Възрастовата група, която е засегната най-често (43% от случаите) е тази между 40-49г.
  - 1.2. По-честата локализация (54% от случаите) е лява гърда.
  - 1.3. Фамилност се установява в 16% от всички случаи на РГ.
  - 1.4. Потвърждава се, че най-честият хистологичен тип е NST (81% от случаите), а най-честият сурогатен субтип (54%) е Луминален А. Дялът на ТНРГ е по-висок (18%) от този докладван по литературни данни.
2. По отношение на честотата и профила на ПВ в гените за предразположение към рак, при жени с РГ:
  - 2.1. Честотата на носителство на ПВ в гени за предразположение към РГ в общата група жени е 22%. Намерената по-висока честота на носителство, от тази по литературни данни, се дължи на използваната нова NGS технология, което доказва нейните предимствата пред традиционните генетични методи за анализ използвани досега при РГ. В равна степен са засегнати високо- и умерено пенетрантните гени, съответно 11% (6% в *BRCA1*, 4% в *BRCA2* и 1% в *PALB2*) и 11% (най-често засегнат е *CHEK2* - 5% от случаите).
  - 2.2. Най-висока е честотата на носителство на ПВ (38%) сред пациентките, ранодиагностицирани до 39г. Потвърдихме литературните данни, че в същата възрастова група, най-често са засегнати *BRCA1/2* гените (в 68,4% от случаите с ПВ), докато в групата жени след 40г. най-често се откриват ПВ в умерено-пенетрантни гени (72% от всички намерени ПВ в тази група).
  - 2.3. В групата на жените с фамилен РГ - 22% от тях са носителки на ПВ, като в сходна степен са засегнати високо- и умерено- пенетрантните гени, съответно - 43% и 57%. Честотата на открито носителство на ПВ в *BRCA* гените се повишава и достига до 44%, ако при анализа на фамилната анамнеза се взимат предвид и родствениците с РЯ. Това потвърждава сходната генетична етиология (участие на *BRCA1/2* гените) при двете заболявания (РГ и РЯ), и налага генеалогичният анализ при тях задължително да отчита фамилност и за двете състояния.
  - 2.4. Сред жените с ТНРГ носителството на ПВ е 43,2%, като около 2/3 от тях са в *BRCA1* гена.
3. По отношение на основните характеристики при жените с РЯ:
  - 3.1. Потвърди се, че най-засегната възрастовата група е между 50-69г., като намерената от нас средна възраст на диагностициране е 57,54г.

- 3.2. Потвърди се, че наднорменото тегло участва в етиология на РЯ, като 2/3 от проучени жени (67%) са с  $BMI \geq 25$ .
- 3.3. Фамилният РЯ има дял около 12% от всички случаи.
- 3.4. Потвърждава се, че най-честия хистологичен тип е ВССОК (67% от случаите).
4. Честотата на носителство на ПВ в гени за предразположение в общата група жени с РЯ е 27%, като носителството на варианти в BRCA1/2 е 9%, в други високо-пенетрантни гени - 3%, а в умерено-пенетрантните е 15%.
5. В общата кохорта проучвани жени с РГ и РЯ се откриха, 45 ПВ (в 22 гена), като 6 от тях (13,3%, в гените *FANCM*, *FANCG*, *BRIP1 (FANCI)*, *RAD51C*, *TP53* и *ERCC5*), са докладвани досега в световните геномни бази данни. Това демонстрира голяма хетерогенност на генетичните дефекти за тези заболявания в Българската популация.
6. Синдром на наследствена мултилокусна неоплазия (MINAS) се установява в 2% от всички изследвани жени с РГ и РЯ, като в 40% от тези случаи единият от вариантите е в BRCA гените.
7. Особеностите в генетичния профил на Българската популация, потвърждава необходимостта от прилагане на по-всеобхватен генетичен скрининг, с използване на новите геномни NGS технологии, което би повишило откриваемостта на индивиди с предразположение/риск за развитие на тези онкологични заболявания, с оглед по-ефективна превенция, ранна диагноза и лечение.
8. За разлика от жените с наследствени форми на РГ/РЯ, дължащи се на ПВ във високо-пенетрантните гени, при които генетичното консултиране се придържа основно към общоприетите препоръки, при жените с носителство на ПВ в умерено-пенетрантните гени ролята на генетичния консултант е критично важна, с оглед персонализиране на риска и изграждане на най-подходяща стратегията за лечение на основното заболяване и профилактика на други възможни локализации.
9. Генетичното консултиране при РГ и РЯ е основен подход за откриване на наследствени форми на тези заболявания. Обобщаването и анализа на информацията от наличните клинични и фамилни данни, заедно с резултата от генетичните тестове, позволява на генетичния консултант да направи по-точна оценка на риска при конкретния пациент и негови родственици, като даде насоки за по-ефективна ранна диагноза, лечение и профилактика.

## **VI. ПРИНОСИ**

### **Приноси с научен и оригинален характер**

1. За първи път, в нашата страна е проведено комплексно изследване на генетични дефекти в широк спектър от 94 гени за предразположение при жени с рак на гърда или рак на яйчник от Българската популация, чрез използване на методите за секвениране от следващо поколение.
2. Допълват се данните за Българската популация, относно честота на носителство и профил на патогенни варианти в гените за предразположение към РГ и РЯ.
3. Открити са нови патогенни варианти, които не са описвани досега за Българската популация, както и такива, които никога не са описвани в световни бази данни.
4. Добавят се нови научни данни, относно ролята на ПВ в умерено пенетрантни гени за етиологията на ракови заболявания с други локализации, установени при родственици на жени с ФРГ и ФРЯ.
5. Добавят се нови научни данни, относно ролята на генетичните фактори (мутации в гени за предразположение) при РГ и РЯ, като се потвърждава сходната им генетична етиология.

### **Приноси с приложен характер**

1. Изграден е комплексен подход за генетично консултиране при пациенти с наследствен РГ/РЯ и техни рискови родственици, с оглед ранна диагноза, по-ефективно лечение и профилактика на тези заболявания.
2. Установява се, че при хетерогенна популация каквато е Българската, секвенирането от следващо поколение (с едномоментен пълен анализ на определен набор гени) би бил най-подходящият и ефективен метод за приложение в рамките на генетичния скрининг за РГ и РЯ.
3. Проучването обосновава необходимостта от провеждане на задълбочен генеалогичен анализ при случаите на РГ или РЯ, като се отчита фамилността и за двете състояния.
4. Потвърждават се отговорностите и ролята на генетичния консултант, като интегрална част от мултидисциплинарния екип, ангажиран с пациенти с РГ или РЯ в етапите: интерпретация на фамилните данни и подбор на подходящ генетичен тест за изследване; анализ на откритите варианти и на базата на носителския статус на ПВ определяне насоките за лечение; откриване на родственици с риск.

## VII. ПУБЛИКАЦИИ И УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ПРОЯВИ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

### Публикации

- **Zornica B. Kamburova**, Katia S. Kovacheva, Savelina L. Popovska, Maria N. Simeonova, Genealogy of families with breast cancer – a tool to identify women at risk – J Biomed Clin Res, **2012**: Vol 5, 2; 139-147 p.;
- Kovacheva K., **Z. Kamburova**, S. Popovska, I. Ivanov, M. Simeonova, P. Angelova. Study of the carrier state for five BRCA1/BRCA2 deleterious mutations in Bulgarian women with breast cancer. J Biomed Clin Res, **2013**, vol 6, 2:
- Kovacheva K, **Kamburova Z**, Popovska S, Dimitrov D, Ivanov I, Simeonova M, Deliyski T. Prevalence of five BRCA1/2 mutations in Bulgarian breast cancer patients. Journal of Biomedical and Clinical Research. **2018**;11(2):123-127. /ISSN 1313-9053/
- **Kamburova, Z.B.**, Dimitrova, P.D., Dimitrova, D.S., Kovacheva, K.S., Popovska, S.L., Nikolova, S.E. Lynch-like syndrome with germline WRN mutation in Bulgarian patient with synchronous endometrial and ovarian cancer. Hered Cancer Clin Pract 21, 13 (**2023**). <https://doi.org/10.1186/s13053-023-00257-1>

### Участия в научни форуми в чужбина

- **Z. Kamburova**, K. Kovacheva, S. Popovska, I. Ivanov, M. Simeonova, R. Dodova, D. Dacheva, P. Angelova, V. Mitev, A. Mitkova, R. Kaneva. Preliminary study of BRCA1/BRCA2 mutations in Bulgarian women with breast cancer. The European Human Genetics Conference 2014, J12.022, published in European journal of human genetics, **2014**, Vol. 22, Suppl-1,
- Dodova R., D. Dacheva, M. Taushanova, S. Valev, **Z. Kamburova**, K. Kovacheva, C. Timcheva, S. Christova, A. Mitkova, R. Kaneva. BRCA1/2 mutation screening in Bulgarian patients with triple negative breast - P019, The European Breast cancer Conference 2014, Published abstracts - European journal of cancer, Vol 50, Suppl 2, **2014**

### Участия в научни форуми в България

- Kovacheva K., **Kamburova Z.**, Popovska S., Ivanov I., Simeonova M. Susceptability gene mutations in Brest Cancer. 10th International Medical Scientific conference for Student and Yong Doctors, 17-20 October **2012**, Pleven, Bulgaria.
- Kovacheva K., **Kamburova Z.**, Petrova I., Dimitrov D., Popovska S., Ivanov I., Simeonova M., Deliyski T., Dimitrova N., Gatsev O., Petrov C., Hadyieva E., Sabev I., Iordanov S. Clinical Cases of Familial Brest Cancer in Bulgarien Patients.10th International Medical Scientific conference for Student and Yong Doctors, 17-20 October **2012**, Pleven, Bulgaria
- Kovacheva K., **Z. Kamburova**, M. Simeonova, S. Popovska, I. Ivanov, D. Dimitrov, I. Petrova, , T. Deliyski3, P. Angelova. Genetic screening for BRCA1/2 point mutations and large genomic rearrangements in Bulgarian women with breast cancer. Юбилейна научна конференция – 40 години Медицински университет Плевен, 30 окт-1 ноем, **2014г.** Плевен

**ПРИЛОЖЕНИЕ 1** - Клинични, фамилни, хистологични и молекулярни характеристики на всички случаи с РГ, при които са намерени ПВ във високо-пенетрантни гени за предиспозиция към рак<sup>1</sup> (\* - нов недокладван в световните бази данни генетичен вариант).

---

<sup>1</sup> означенията м./б. за фамилност, показват по коя родителска линия са засегнатите родственици

ID	ВМІ	Възраст на менархе	Възраст на 1ва брем.	Фамилност 1сн	Фамилност 2сн	Фамилност 3сн	Възраст на Д. на РГ	Локализация	Хистологичен резултат	Степен на диференциация	Молекулярен сурогатен субтип	Ген	Транскрипт	Вариант	Тип на варианта	Класификация на варианта
1-94	22.5	14	19				44	Дясна гърда	NST	G2	ТНРГ	<i>BRCA1</i>	NM_007294.4	<b>c.2019del</b> p.(Glu673AspfsTer28) Exon: 10/23	Frameshift indels	Патогенен (PVS1, PS3)
2-9	25	14	29	РДЧ б	РГ-60 б		30	Лява гърда	NST	G3	ТНРГ	<i>BRCA1</i>	NM_007294.4	<b>c.2019del</b> p.(Glu673AspfsTer28) Exon: 10/23	Frameshift indels	Патогенен (PVS1, PS3)
1-86	23.2	14	32		РГ-38		35	Лява гърда	дукто-лобуларен	G2	ТНРГ	<i>BRCA1</i>	NM_007294.4	<b>c.5062_5064del</b> p.(Val1688del) Exon: 16/23	Inframe deletion	Патогенен (PVS1, PS3)
1-95	20.8	13	20				47	Лява гърда	дукто-лобуларен	G2	ТНРГ	<i>BRCA1</i>	NM_007294.4	<b>c.5062_5064del</b> p.(Val1688del) Exon: 16/23	Inframe deletion	Патогенен (PVS1, PS3)
6-13	20.4	14	39	РС-78 б	РГ-67 б	РЯ-54 м	52	Дясна гърда	NST	G2	Луминален А	<i>BRCA1</i>	NM_007294.4	<b>c.5062_5064del</b> p.(Val1688del) Exon: 16/23	Inframe deletion	Патогенен (PVS1, PS3)
D5	20.1	12	23		РС-49 б		31	Лява гърда	NST	G3	TNBC	<i>BRCA1</i>	NM_007294.4	<b>c.5266dup</b> p.(Gln1756ProfsTer74) Exon: 19/23	Frameshift indels	Патогенен (PVS1, PS3)
1-11	18.7	13	28	РГ-64+РЯ-52; РГ-33	РГ-38		45	Лява гърда	NST	G3	ТНРГ	<i>BRCA1</i>	NM_007294.4	<b>c.5266dup</b> p.(Gln1756ProfsTer74) Exon: 19/23	Frameshift indels	Патогенен (PVS1, PS3)
1-58	22.5	14	19	РДЧ-52			39	Лява гърда	NST	G2	ТНРГ	<i>BRCA1</i>	NM_007294.4	<b>c.5266dup</b> p.(Gln1756ProfsTer74) Exon: 19/23	Frameshift indels	Патогенен (PVS1, PS3)

ID	ВМІ	Възраст на менархе	Възраст на 1ва брем.	Фамилност 1сн	Фамилност 2сн	Фамилност 3сн	Възраст на Д. на РГ	Локализация	Хистологичен резултат	Степен на диференциация	Молекулярен сурогатен субтип	Ген	Транскрипт	Вариант	Тип на варианта	Класификация на варианта
6-90	25.9	15	22	РЯ-56 м			43	Лява гърда	медуларен карцином с изразена лимфо плазма. клетъчна инфилтрация	G2	HER2 - обогатен	<i>BRCA1</i>	NM_007294.4	<b>c.5266dup</b> p.(Gln1756ProfsTer74) Exon: 19/23	Frameshift indels	Патогенен (PVS1, PS3)
2-2	20.4	12	24	РПан-59 б			41	Дясна гърда	NST	G3	ТНРГ	<i>BRCA1</i>	NM_007294.4	<b>c.5266dup</b> p.(Gln1756ProfsTer74) Exon: 19/23	Frameshift indels	Патогенен (PVS1, PS3)
1-87	22.7	14	27		PM-65		34	Лява гърда	инвазивен лобуларен карцином	G3	ТНРГ	<i>BRCA1</i>	NM_007294.4	<b>c.5266dup</b> p.(Gln1756ProfsTer74) Exon: 19/23	Frameshift indels	Патогенен (PVS1, PS3)
5-10	18.7	15	22				38	Лява гърда	NST	G3	ТНРГ	<i>BRCA1</i>	NM_007294.4	<b>c.5333-1G&gt;AExon:</b>	Splice acceptor	Патогенен (PVS1, PS3)
1-21	19.8	13	26		РГ при мъж-60		29	Дясна гърда	NST	G3	ТНРГ	<i>BRCA1</i>	NM_007294.4	<b>c.181T&gt;G</b> p.(Cys61Gly) Exon: 4/23	Missense	Патогенен (PS3, PS4, PM2)
6-48	29	13	19	РГ-38 м		РГ-40 м	61	Дясна гърда	NST	G2	ТНРГ	<i>BRCA2</i>	NM_000059.4	<b>c.3975_3978dup</b> p.(Ala1327CysfsTer4) Exon: 11/27	Frameshift Indels	Патогенен (PVS1, PS3)
7-16	27.3	14	27	PC-66 б			38	Дясна гърда	NST	G3	Луминален А	<i>BRCA2</i>	NM_000059.4	<b>c.658_659del</b> p.(Val220IlefsTer4) Exon: 8/27	Frameshift Indels	Патогенен (PVS1, PS3)



ID	ВМІ	Възраст на менархе	Възраст на 1ва брем.	Фамилност 1сн	Фамилност 2сн	Фамилност 3сн	Възраст на Д. на РГ	Локализация	Хистологичен резултат	Степен на диференциация	Молекулярен сурогатен субтип	Ген	Транскрипт	Вариант	Тип на варианта	Класификация на варианта
3-13	20.8	14	26	РЯ-51 м	РГ-50 м; РГ-47 м		37	Лява гърда	NST	G2	Луминален А	<b>BRCA2</b>	NM_000059.4	<b>c.6955A&gt;T</b> p.(Arg2319Ter) Exon: 13/27	Stop gained	Патогенен (PVS1, PS3)
7-13	30.1	12	28		РДЧ-65 м		38	Дясна гърда	NST	G2	Луминален А	<b>BRCA2</b>	NM_000059.4	<b>c.7975A&gt;G</b> p.(Arg2659Gly) Exon: 17/27	Missense	Патогенен (PS1, PS3, PS4)
1-18	27.9	12	25		РГ-35		29	Дясна гърда	лобуларен карцином	G2	Луминален А	<b>BRCA2</b>	NM_000059.4	<b>c.9097dup</b> p.(Thr3033AsnfsTer11) Exon: 23/27	Frameshift indels	Патогенен (PVS1, PS3)
3-7	20.6	12	Не раждала				27	Дясна гърда	NST	G2	Луминален В	<b>BRCA2</b>	NM_000059.4	<b>c.9682del</b> p.(Ser3228ValfsTer21) Exon: 27/27	Frameshift Indels	Патогенен (PVS1, PS3)
2-18	19.5	14	Не раждала				26	Дясна гърда	NST	G3	Луминален В	<b>BRCA2/ CHEK2/ ATM</b>	NM_000059.4/ NM_007194.4/ NM_000051.4	<b>c.5851_5854del</b> p.(Ser1951TrpfsTer11) Exon: 11/27// <b>c.470T&gt;C</b> p.(Ile157Thr) Exon: 4/15// <b>c.2131_2132dup</b> p.(Asn711LysfsTer25) Exon: 14/63	Frameshift Indels/ Missense/ Frameshift Indels	Патогенен (PVS1, PS3)/Вероятно патогенен (PS1, PP1, PP3)/Вероятно патогенен (PVS1, PM2)
6-54	28	14	18	РГ-70 м	Рпн-72г. б		49	Лява гърда	лобуларен карцином	G3	Луминален А	<b>PALB2</b>	NM_024675.4	<b>c.172_175del</b> p.(Gln60ArgfsTer7) Exon: 3/13	Frameshift Indels	Патогенен (PVS1, PS3)
2-13	19.8	10	26				32	Лява гърда	NST	G2	Луминален В	<b>PALB2</b>	NM_024675.4	<b>c.509_510del</b> p.(Arg170IlefsTer14) Exon: 4/13	Frameshift Indels	Патогенен (PVS1, PS3)

**ПРИЛОЖЕНИЕ 2** - Клинични, фамилни, хистологични и молекулярни характеристики на всички случаи с РГ, при които са намерени ПВ в умерено-пенетрантите гени за предиспозиция към рак<sup>2</sup> (\* - нов недокладван в световните бази данни генетичен вариант).

---

<sup>2</sup> означенията м./б. за фамилност, показват по коя родителска линия са засегнатите родственици

D	ВМІ	Възраст на менархе	Възраст на 1ва брем.	Фамилност 1сн	Фамилност 2сн	Фамилност 3сн	Възраст на Д. на РГ	Локализация	Хистологичен резултат	Степен на диференциация	Молекулярен сурогатен субтип	Ген	Транскрипт	Вариант	Тип на варианта	Класификация на варианта
6-80	27	12	20	РПн -49 б	РП -78 б; РС-м		36	Дясна гърда	NST	G2	Луминален А	<i>ATM</i>	NM_000051.4	<b>c.1564_1565del</b> p.(Glu522IlefsTer43) Exon: 10/63	Frameshift Indels	Патогенен (PVS1, PS4, PM2, PM3)
6-23	22.3	12	нераждала	РП-63 б	сарком на Юинг-55 б;РБД-50 б		42	Лява гърда	NST, папиларен карцином	G2	Луминален А	<i>ATM</i>	NM_000051.4	<b>c.7475T&gt;G</b> p.(Leu2492Arg) Exon: 50/63	Missense	Вероятно патогенен (PS3,PM1,PM2, PP3,PP4)
6-89	28.4	14	26	РГ-80 м; меланом-50 б	РГ-70 м; РГ-72 б; РДЧ-70 б;РС-50 б	РГ-70 б	69	Дясна гърда	NST	G3	Луминален В	<i>BLM</i>	NM_000057.4	<b>c.1642C&gt;T</b> p.(Gln548Ter) Exon: 7/22	Stop gained	Патогенен (PVS1, PM2, PM3)
7-23	21.3	14	18				47	Дясна гърда	NST	G3	ТНРГ	<i>BLM</i>	NM_000057.4	<b>c.1642C&gt;T</b> p.(Gln548Ter) Exon: 7/22	Stop gained	Патогенен (PVS1, PM2, PM3)
6-81	44.1	11	нераждала	РП+Р ДЧ б; РМ+Р ДЧ м	РГ-60 м		62	Лява гърда	NST	G3	Луминален А	<i>BRIP1*</i>	NM_032043.3	<b>c.3201C&gt;A</b> p.(Cys1067Ter) Exon: 20/20	Stop gained	Вероятно патогенен (PVS1, PM2)*
6-85	33.1	12	19	Ртънк и черва -68 б	РДЧ-72 б		38	Лява гърда	NST	G1	ТНРГ	<i>CDKN2A</i>	NM_000077.5	<b>c.71G&gt;C</b> p.(Arg24Pro) Exon: 1/3	Missense	Патогенен (PS1, PS3)

ID	ВМІ	Възраст на менархе	Възраст на 1ва брем.	Фамилност 1сн	Фамилност 2сн	Фамилност 3сн	Възраст на Д. на РГ	Локализация	Хистологичен резултат	Степен на диференциация	Молекулярен сурогатен субтип	Ген	Транскрипт	Вариант	Тип на варианта	Класификация на варианта
2-16	27.5	12	28				62	Лява гърда	NST	G2	Луминален В	<i>CHEK2</i>	NM_007194.4	c.433C>T p.(Arg145Trp) Exon: 3/15	Missense	Вероятно патогенен (PS4, PS3)
3-16	26	12	20	РЧД-69 б			53	Лява гърда	NST	G2	Луминален А	<i>CHEK2</i>	NM_007194.4	c.444+1G>A	Splice donor	Патогенен (PVS1, PS3)
6-86	32.1	15	18	РГ-37 д		РС-70 б	65	Лява гърда	NST	G2	Луминален А	<i>CHEK2</i>	NM_007194.4	c.444+1G>A	Splice donor	Патогенен (PVS1, PS3)
1-46	20.5	11	18		РГ-70		44	Дясна гърда	лобуларен	G2	Луминален А	<i>CHEK2</i>	NM_007194.4	c.470T>C p.(Ile157Thr) Exon: 4/15	Missense	Вероятно патогенен (PS1, PP1, PP3)
6-88	28.9	14	22	РГ-35 с			51	Дясна гърда	NST	G3	Луминален А	<i>CHEK2</i>	NM_007194.4	c.470T>C p.(Ile157Thr) Exon: 4/15	Missense	Вероятно патогенен (PS1, PP1, PP3)
7-14	22.9	14	23				32	Дясна гърда	NST	G2	Луминален А	<i>CHEK2</i>	NM_007194.4	c.470T>C p.(Ile157Thr) Exon: 4/15	Missense	Вероятно патогенен (PS1, PP1, PP3)
8-14	31.6	16	21		РГ-60 м	РГ-75 м	62	Дясна гърда	NST	G1	HER2 - обогатен	<i>CHEK2</i>	NM_007194.4	c.470T>C p.(Ile157Thr) Exon: 4/15	Missense	Вероятно патогенен (PS1, PP1, PP3)
D3	21.9	14	30	РЦЖ -59 м	РГ-40 м		37	Лява гърда	NST	G3	Луминален А	<i>CHEK2</i>	NM_007194.4	c.470T>C p.(Ile157Thr) Exon: 4/15	Missense	Вероятно патогенен (PS1, PP1, PP3)
D4	23.8	11	29	РП+Р С б	РГ-70 б; РГ-63 б		49	Дясна гърда	лобуларен	G2	Луминален А	<i>CHEK2</i>	NM_007194.4	c.470T>C p.(Ile157Thr) Exon: 4/15	Missense	Вероятно патогенен (PS1, PP1, PP3)

ID	ВМ	Възраст на менархе	Възраст на 1ва брем.	Фамилност 1сн	Фамилност 2сн	Фамилност 3сн	Възраст на Д. на РГ	Локализация	Хистологичен резултат	Степен на диференциация	Молекулярен сурогатен субтип	Ген	Транскрипт	Вариант	Тип на варианта	Класификация на варианта
1-60	23.1	14	20	РДЧ-72			79	Лява гърда	NST	G2	Луминален В	<i>CHEK2</i>	NM_007194.4	<b>c.470T&gt;C</b> p.(Ile157Thr) Exon: 4/15	Missense	Вероятно патогенен (PS1, PS3)
6-42	25.1	14	27	РБД-62 б			44	Дясна гърда	NST	G1	Луминален А	<i>ERCC5*/CHEK2</i>	NM_000123.4 /NM_007194.4	<b>c.495del</b> p.(Trp165CysfsTer5) Exon: 5/15/ <b>c.917G&gt;C</b> p.(Gly306Ala) Exon: 9/15	Frameshift Indels/Missense	Вероятно патогенен (PVS1, PM2)*/Вероятно патогенен (PS4,PS3,PM2)
6-2	22.8	14	23	билатерален РГ-37 м			47	Лява гърда	дукто-лобуларен	G2	Луминален А	<i>FANCG*</i>	NM_004629.2	<b>c.1760+2T&gt;A</b>	Splice donor	Вероятно патогенен (PVS1, PM2, PM5)*
6-1	27.9	15	17				46	Лява гърда	NST	G3	Луминален В	<i>FANCI</i>	NM_001113378.2	<b>c.3645C&gt;G</b> p.(Tyr1215Ter) Exon: 34/38	Stop gained	Вероятно патогенен (PVS1, PM2)
1-20	20.3	14	21		РП-80 м; РП-55 б		45	Лява гърда	NST	G3	ТНРГ	<i>FANCL</i>	NM_001114636.1	<b>c.1111_1114dup</b> p.(Thr372AsnfsTer13) Exon: 14/14	Frameshift Indels	Вероятно патогенен (PVS1, PM2, PM3)
1-2	17.1	12	24			РДЧ-82	38	Дясна гърда	NST	G2	ТНРГ	<i>FANCM*</i>	NM_020937.3	<b>c.1139_1140del</b> p.(Arg380IlefsTer14) Exon: 6/23	Frameshift indels	Вероятно патогенен (PVS1, PM2)*
1-34	29.1	12	23				55	Лява гърда	NST	G2	Луминален А	<i>RAD51C*</i>	NM_058216.3	<b>c.931del</b> p.(Ile311TyfsTer3) Exon: 7/9	Frameshift Indels	Вероятно патогенен (PVS1, PM2)*

**ПРИЛОЖЕНИЕ 3** - Клинични, фамилни, хистологични и молекулярни характеристики на всички случаи с РЯ, при които са намерени ПВ във високо-пенетрантни гени за предиспозиция към рак<sup>3</sup> (\* - нов недокладван в световните бази данни генетичен вариант).

---

<sup>3</sup> означенията м./б. за фамилност, показват по коя родителска линия са засегнатите родственици

ID	ВМІ	Възраст менархе	Възраст 1ва брем.	Диагноза	Възраст на Д.	Хистологичен резултат	Степен на диференциация	Фамилност	Ген	Транскрипт	Вариант	Тип на варианта	Класификация на варианта
1-63	30	15	20	Ca ovarii	59	серозен	G3		<i>BRCA1</i>	NM_007294.4	<b>c.181T&gt;G</b> p.(Cys61Gly) Exon: 4/23	Missense	Патогенен (PS3, PS4,PM2)
1-73	34	14	19	Ca ovarii	47	серозен	G3	РЯ	<i>BRCA1</i>	NM_007294.4	<b>c.3700_3704del</b> p.(Val1234GlnfsTer8) Exon: 10/23	Frameshift Indels	Патогенен (PVS1, PS3, PM2)
1-7	20	16	21	Ca ovarii	46	серозен	G3	РК, РБ, РГ, РЯ	<i>BRCA1</i>	NM_007294.4	<b>c.5266dup</b> p.(Gln1756ProfsTer74)Ex on: 19/23	Frameshift Indels	Патогенен (PVS1, PS3, PM2)
1-55	24	14	28	Ca ovarii	51	серозен	G3	РЯ	<i>BRCA1</i>	NM_007294.4	<b>c.5266dup</b> p.(Gln1756ProfsTer74)Ex on: 19/23	Frameshift Indels	Патогенен (PVS1, PS3, PM2)
3-23	30	16	25	Ca ovarii	41	серозен	G3	РГ	<i>BRCA1</i>	NM_007294.4	<b>c.5533dup</b> p.(Tyr1845LeufsTer35)Ex on: 23/23	Frameshift Indels	Патогенен (PVS1, PS3, PM2)
1-67	29	15	20	Ca ovarii	66	серозен+ендо метроиден	G3		<i>BRCA1/ CHEK2</i>	NM_007294.4/ NM_007194.4	<b>c.5497G&gt;A</b> p.(Val1833Met) Exon:23/23// <b>c.444+1G&gt;A</b> Exon:	Missense/ Splice donor	Патогенен (PS3, PS4,PM2)/Патогенен (PVS1, PS3)
1-5	28	11	20	Ca ovarii/Ca endometrii (CEOК)	49	ендометроиден на яйчник и матка	G2		<i>MSH2</i>	NM_000251.3	<b>c.1386+1G&gt;A</b> Exon:	Splice donor	Патогенен (PVS1, PS3, PM2)
5-14	24	14	25	Ca tubae	60	серозен	G3		<i>RAD51D</i>	NM_002878.4	<b>c.803G&gt;A</b> p.(Trp268Ter) Exon: 9/10	Stop gained	Патогенен (PVS1, PS3, PM2)

**ПРИЛОЖЕНИЕ 4** - Клинични, фамилни, хистологични и молекулярни характеристики на всички случаи с РЯ, при които са намерени ПВ в умерено-пенетрантни гени за предиспозиция към рак<sup>4</sup> (\* - нов недокладван в световните бази данни генетичен вариант).

---

<sup>4</sup> означенията м./б. за фамилност, показват по коя родителска линия са засегнатите родственици



ID	ВМЦ	Възраст менархе	Възраст I ва брем.	Диагноза	Възраст на Д.	Хистологичен резултат	Степен на диференциация	Фамилен тип	Ген	Транскриптит	Вариант	Тип на варианта	Класификация на варианта
1-78	22	14	19	Ca ovarii	61	серозен	G2	РЧД, РП, РБД	<i>ATM</i>	NM_000051.4	<b>c.8147T&gt;C</b> p.(Val2716Ala) Exon: 55/63	Missense	Патогенен (PS3, PS4, PM2)
5-11	23	13	24	Ca ovarii	60	серозен	G3		<i>CHEK2</i>	NM_007194.4	<b>c.1427C&gt;T</b> p.(Thr476Met) Exon: 13/15	Missense	Вероятно патогенен (PS3, PM2)
1-71	28	11	34	Ca ovarii	34	серозен+ендометриоиден	G3	рак на ларинкс, РП	<i>FANCG/ERCC3</i>	NM_004629.1/NM_000122.2	<b>c.1538G&gt;A</b> p.(Arg513Gln)Exon: 12/14 // <b>c.325C&gt;T</b> p.(Arg109Ter)Exon: 3/15	Missense/Stop gain	Вероятно патогенен (PS4, PM3)/ Патогенен (PVS1, PM2)
5-3	24	15	20	Ca tubae	45	серозен	G3		<i>FANCL</i>	NM_001114636.1	<b>c.1048_1051del</b> p.Gln350fs Exon: 14/14	Stop gained	Вероятно патогенен (PVS1, PM2)
5-13	28	13	23	Ca ovarii	60	серозен	G2		<i>FANCM</i>	NM_020937.7	<b>c.1972C&gt;T</b> p.(Arg658Ter) Exon: 11/23	Stop gained	Вероятно патогенен (PVS1, PM2)
5-4	28	16	22	Ca ovarii	45	двустранен серозен карцином	G3		<i>NBN</i>	NM_002485.5	<b>c.2140C&gt;T</b> p.(Arg714Ter) Exon: 14/16	Stop gained	Патогенен (PVS1, PS3, PM2)
6-67	26	14	28	Ca ovarii/Ca endometrii (СЕОК)	52	серозен	G3		<i>PMS2</i>	NM_000535.7	<b>c.163+1G&gt;T</b> Exon:	Splice donor	Патогенен (PVS1, PM2, PM3)
1-47	26	12	22	Ca ovarii	72	серозен	G3	РГ	<i>TP53*/FANCE</i>	NM_000546.6/NM_021922.3	<b>c.1148_1149del*</b> p.(Leu383HisfsTer8) Exon 11/11// <b>c.1239dup</b> p.(Pro414SerfsTer54) Exon: 7/10	Frameshift Indels /Frameshift Indels	Вероятно патогенен (PS4, PM3)/Патогенен (PVS1, PM2)
5-20	26	12	21	Ca ovarii	52	ендометриоиден	G2		<i>WRN</i>	NM_000553.6	<b>c.1105C&gt;T</b> p.(Arg369Ter)Exon: 9/35	Stop gained	Патогенен (PVS1, PM2, PM3)
3-22	30	15	Не раждала	Ca ovarii/Ca endometrii (СЕОК)	52	ендометриоиден	G2		<i>WRN</i>	NM_000553.6	<b>c.4109del</b> p.(Asn1370ThrfsTer23) Exon: 34/35	Frameshift Indels	Патогенен (PVS1, PS3, PM2)

# ПРИЛОЖЕНИЕ 5 - КЛИНИЧНИ СЛУЧАИ С MINAS

## Клиничен случай 1-47

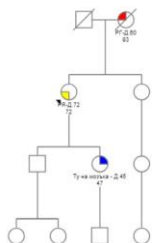
### Анамнестични данни:

Касае се за жена, диагностицирана на 72 годишна възраст със серозен овариален карцином инвазивен дуктален карцином. От репродуктивната анамнезата: менархе на 12 г., пет бременности (първата на 22г, последната на 38г.), две живородени деца, кърмени по 1 месец. Поводът за хоспитализацията е било рязкото редуциране на телесното тегло с около 20 кг за 2 месеца. Образните изследвания (УЗИ, ЯМР) показват туморно засягане на двата яйчника, ангажиране на парааорталните и параилачните лимфни възли и засягане на перитонеума. Изследване на асцитната течност показва серозен овариален карцином, G3. Пациентката отказва лечение.

### Генеалогичен анализ:

Обхванати са 10 кръвни родственика от 4 поколения по двете родителски линии. Установи се родственик от I степен (майка) диагностициран с РГ и друг родственик от I степен (дъщеря) с Ту на мозъка (доброкачествен).

РГ на гаджата    Ту на мозъка (доброкачествен)    РГ на мъжа

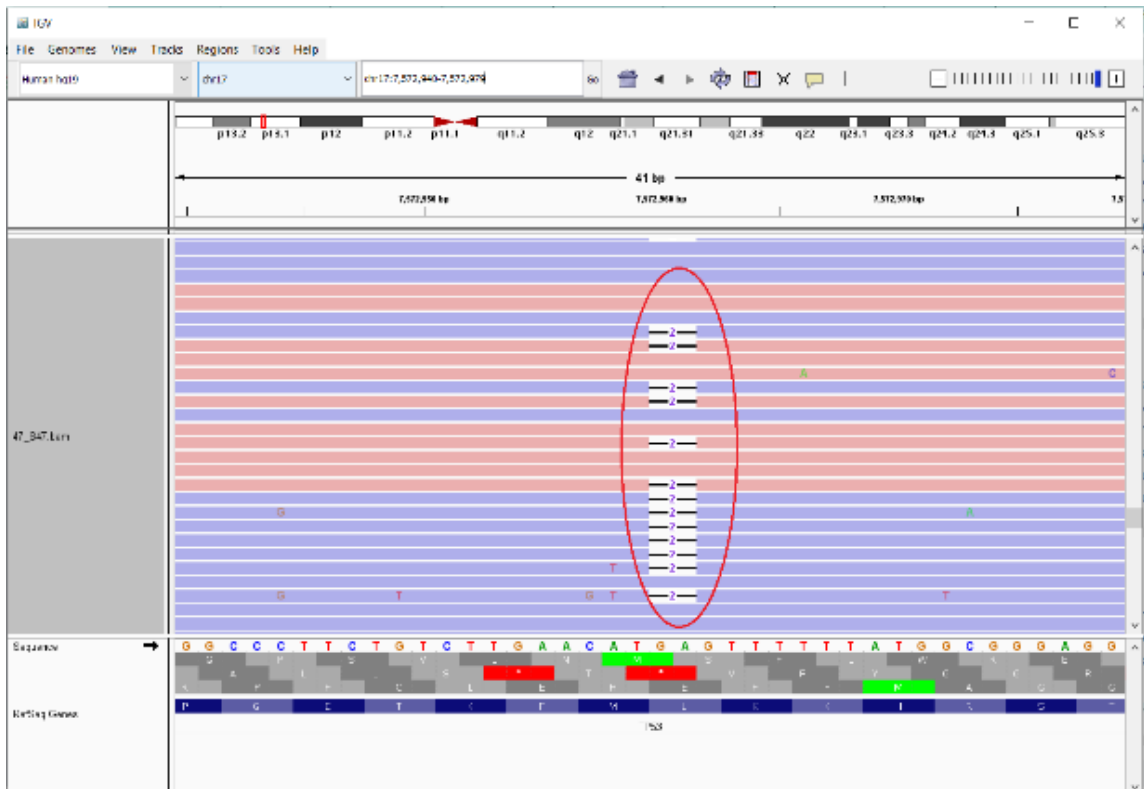
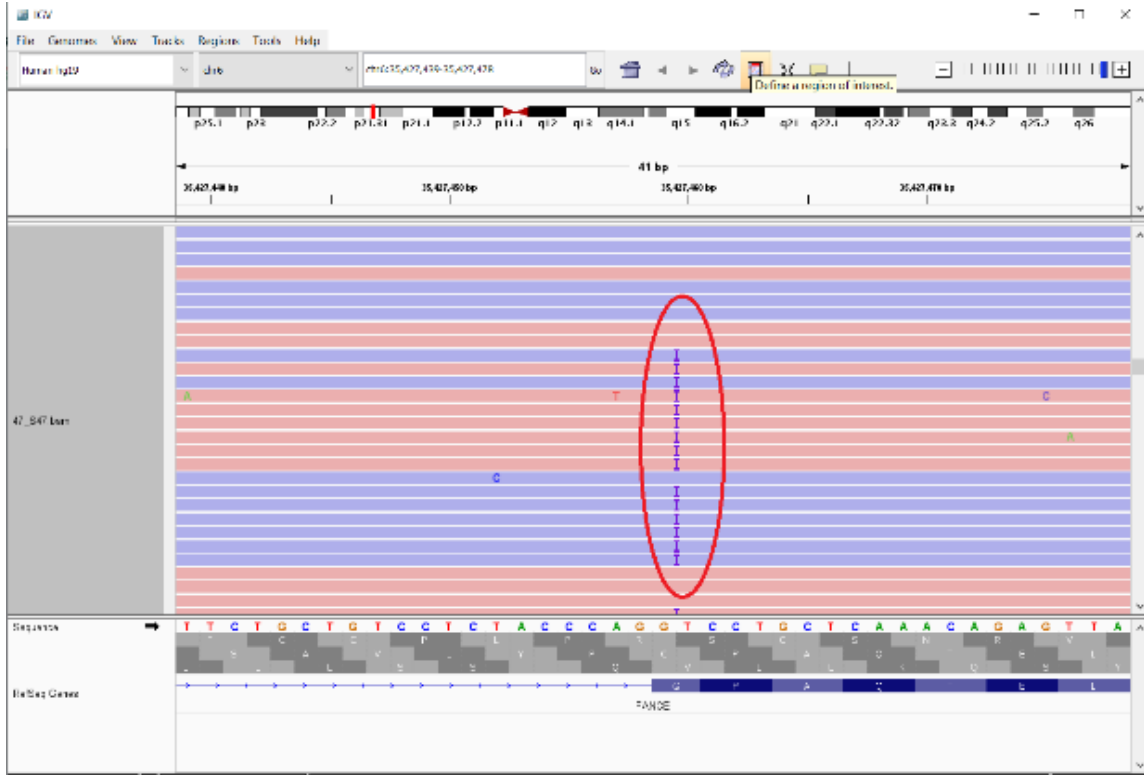


### Генетичен анализ:

Проведен е със секвениране от следващо поколение. Открити са патогенни варианти в:

1. **TP53 - c.1148\_1149del p.(Leu383HisfsTer8)**
2. **FANCE - c.1239dup p.(Pro414SerfsTer54)**

VARIANT	GENE	CONSEQUENCE	ASSOCIATIONS -	POPULATION FREQ	ZYGOSITY & METRICS	INTERPRETATION
<b>INDEL</b> chr6:35427459 UCSC rs1561792535 REF: - ALT: T View in IGV Variant Details	FANCE pLI: 1.53e-6	<b>Frameshift Indels</b> Splice region NM_021922.2 c.1239dup p.(Pro414SerfsTer54) Exon: 7/10 ***	Prediction: Likely Path	0.000009 (GnomAD NFE)	Heterozygous Filters: PASS GQX: 60 Quality Score: 3070 Variant Read Freq...: 0.5000 Alt Allele Depth: 458 Total Read Depth: 967	Case Interpretation CASE INTERPRETATION
<b>INDEL</b> chr17:7572960 UCSC REF: GA ALT: - View in IGV Variant Details	TP53 pLI: 0.532	<b>Frameshift Indels</b> NM_000546.5 c.1148_1149del p.(Leu383HisfsTer8) Exon: 11/11 ***	Prediction: Likely Path		Heterozygous Filters: PASS GQX: 60 Quality Score: 3070 Variant Read Freq...: 0.3339 Alt Allele Depth: 189 Total Read Depth: 580	Case Interpretation CASE INTERPRETATION



### **Интерпретация на откритите варианти:**

В **TP53** – Откритият от нас вариант c.1148\_1149del p.(Leu383HisfsTer8) е нов и не описван досега в литературата. Представлява делеция на 2 нуклеотида – GA и води до промяна на рамката на четене (frameshift вариант). Вариантът липсва в популяционните база данни на здрави индивиди и не е описван досега в литературата при пациенти с РГ/РЯ. Класифициран е като вероятно патогенен.

В **FANCE** – Откритият от нас вариант c.1239dup p.(Pro414SerfsTer54) създава преждевременен транслационен стоп сигнал (p.Pro414Serfs\*54) в гена FANCE. Очаква се да доведе до липсващ или нарушен протеинов продукт. Известно е, че вариантите със загуба на функция при FANCE са патогенни (PMID: 11001585, 17924555). Този вариант присъства в популяционните бази данни (gnomAD 0,0009%). Вариантът е описван в литературата при пациенти с РГ/РЯ (PMID: 27913932). Класифициран е като патогенен.

### **Препоръки на генетичната консултация:**

Препоръките на генетичната консултация, поради носителство на ПВ в два предразполагащи гена, е съобразена преди всичко с ПВ носещ по-висок риск (в случая това е TP53). Съобразявайки се с молекулните характеристики на открития вариант в TP53 (намира се в последния екзон) и фамилната и персоналната медицинска история (РЯ и РГ са диагностицирани в по-зряла възраст), препоръките са следните:

- ✓ **За изследваната пациентката**
- ❖ Препоръчват се следните профилактични мерки (базирани на NCCN и фамилната история на пациентката):
  - ❖ Клинични прегледи на млечните жлези на всеки 6-12 месеца
  - ❖ Всяка година мамографски прегледи или ЯМР на млечните жлези
- ✓ **За родствениците** на изследваната пациентка (дъщеря и сестра) - с оглед прецизиране на риска при тях е необходимо изследване за носителство, на намерения при пациентката, вариант и последваща генетична консултация.

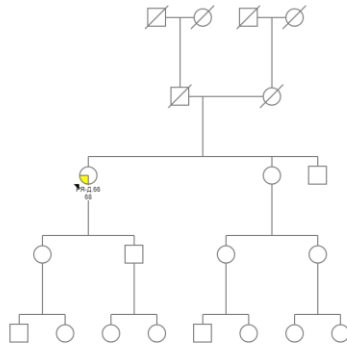
## **Клиничен случай 1-67**

### **Анамнестични данни:**

Касае се за жена, диагностицирана на 66 годишна възраст с карцином на яйчника. От репродуктивната анамнеза: менархе на 15 г., две бременности (на 20г. и 24г.), две живородени деца, кърмени по около 1 година. Установена туморна формация в малкия таз при рутинен гинекологичен преглед. Извършена тотална хистеректомия и оментектомия. От хистологията - ниско-диференциран аденокарцином, отчасти серозен папиларен, отчасти ендометриоиден

### **Генеалогичен анализ:**

Обхванати са 21 кръвни родственика от 5 поколения по двете родителски линии. Не се установи фамиленост за онкологични заболявания.

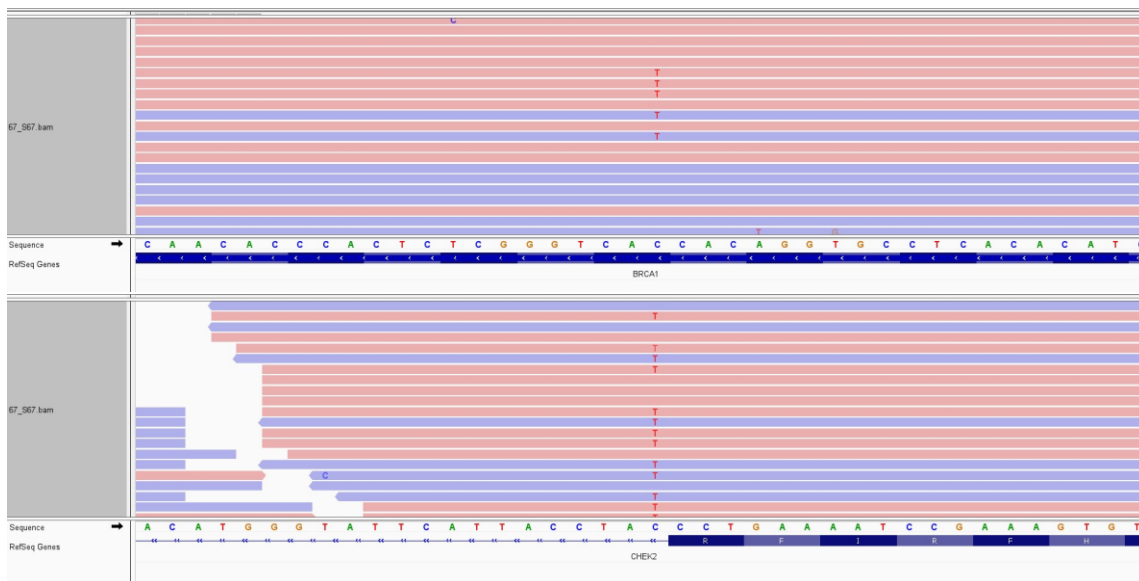


**Генетичен анализ:**

Проведен е със секвениране от следващо поколение.

1. **BRCA1** - c.5497G>A p.(Val1833Met)
2. **CHEK2** - c.444+1G>A

<p><b>SNV</b> chr17:41197790 UCSC</p> <p>rs80357268 REF: C ALT: T</p> <p>View in IGV</p> <p><a href="#">Variant Details</a></p>	<p><b>BRCA1</b> pLi: 9.22e-29</p>	<p>Missense NM_007294.3 c.5497G&gt;A p.(Val1833Met) Exon: 23/23</p> <p>In Silico Predictions S P</p>	<p>Prediction: <b>Pathogenic</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Cases</th> <th>MyKB</th> <th>BSKN</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Pathogenic</td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input checked="" type="checkbox"/> 5</td> </tr> <tr> <td>Likely Path</td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input checked="" type="checkbox"/> 3</td> </tr> <tr> <td>VUS</td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Likely Benign</td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Benign</td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> </tbody> </table>		Cases	MyKB	BSKN	Pathogenic	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> 5	Likely Path	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> 3	VUS	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Likely Benign	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Benign	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<p>0.000009 (GnomAD NFE)</p>	<p>Heterozygous</p> <p>Filters: PASS</p> <p>GQX: 35</p> <p>Quality Score: 434</p> <p>Variant Read Freq...: 0.3712</p> <p>Alt Allele Depth: 111</p> <p>Total Read Depth: 299</p>	<p><a href="#">CASE INTERPRETATION</a></p>
	Cases	MyKB	BSKN																											
Pathogenic	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> 5																											
Likely Path	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> 3																											
VUS	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																											
Likely Benign	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																											
Benign	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																											
<p><b>SNV</b> chr22:29121230 UCSC</p> <p>rs121908698 REF: C ALT: T</p> <p>View in IGV</p> <p><a href="#">Variant Details</a></p>	<p><b>CHEK2</b> pLi: 1.21e-24</p>	<p>Splice donor NM_007194.3 c.444+1G&gt;A Exon: ***</p>	<p>Prediction: <b>Pathogenic</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Cases</th> <th>MyKB</th> <th>BSKN</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Pathogenic</td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input checked="" type="checkbox"/> 19</td> </tr> <tr> <td>Likely Path</td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input checked="" type="checkbox"/> 1</td> </tr> <tr> <td>VUS</td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Likely Benign</td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Benign</td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> </tbody> </table>		Cases	MyKB	BSKN	Pathogenic	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> 19	Likely Path	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> 1	VUS	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Likely Benign	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Benign	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<p>0.000517 (GnomAD FIN)</p>	<p>Heterozygous</p> <p>Filters: PASS</p> <p>GQX: 35</p> <p>Quality Score: 512</p> <p>Variant Read Freq...: 0.4340</p> <p>Alt Allele Depth: 102</p> <p>Total Read Depth: 235</p>	<p><a href="#">CASE INTERPRETATION</a></p>
	Cases	MyKB	BSKN																											
Pathogenic	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> 19																											
Likely Path	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/> 1																											
VUS	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																											
Likely Benign	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																											
Benign	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																											



### **Интерпретация на откритите варианти:**

1. **BRCA1** - Вариантът p.V1833M (известен също като c.5497G>A), разположен в кодиращия екзон 22 на гена BRCA1, е резултат от заместване на G в A в нуклеотидна позиция 5497. Валинът в кодон 1833 е заменен от метионин, аминокиселина с много сходни свойства. Този вариант е открит в сравнително по-висока честота в кохорти от гръцки пациенти с РГ и/или РЯ (Stavropoulou AV, PLoS ONE 2013; 8(3):e58182; Apeiros A et al. Cancer Genet 2018 01;220:1-12; Papantzelopoulou M et al. Cancer Genet. 2019 Sep;237:90-96). Работата на Rowling et al., както експериментално, така и функционално, показва дестабилизирането на домейна BRCT2 в резултат на този вариант, което води до загуба на функция (Rowling PJ, J. Biol. Chem. 2010 Jun; 285(26):20080 -7). Функционалните анализи показват намалена активност в сравнение с дивия тип (Carvalho M, Mutat. Res. 2009 Jan; 660(1-2):1-11, Woods et al, npj Genomic Medicine 1, номер на артикул: 16001 (2016) doi :10.1038/npjgenmed.2016.1; Findlay GM и др. Nature 2018 10;562(7726):217-222).

2. **СНЕК2** – Този вариант нарушава донорно сплайсинг място в интрон 3 на гена СНЕК2. РНК анализът показва, че разрушаването на това място предизвиква променен сплайсинг и може да доведе до липсващ или нарушен протеинов продукт. Този вариант присъства в популационните бази данни на населението (rs121908698, gnomAD 0,05%) и има по-висока честота от очакваната за патогенен вариант. Разрушаване на това сплайсинг място е описано при индивид(и) с повишен риск (OR=2,3-3,5) за фамилен рак на гърдата или повишен риск (OR=2,5) за рак на простатата (PMID: 15492928, 19030985, 24713400; 21876083 12533788). Проучванията показват, че прекъсването на това място на води до активиране на криптично място на сплайсинг, като създава преждевременен терминиращ кодон (PMID: 12533788; Invitae). Очаква се получената иРНК да претърпи разпадане. Поради тези причини този вариант е класифициран като патогенен

**Препоръките на генетичната консултация**, поради носителство на ПВ в два предразполагащи гена, е съобразена преди всичко с ПВ носещ по-висок риск (в случая това е BRCA1). Съобразявайки се с допълнителното носителство на ПВ в СНЕК2 и липсата на фамилен история, препоръките са следните:

#### ✓ За пациентката

Препоръчват се следните профилактични мерки (съгласно NCCN guidelines):

- Клинични прегледи на млечните жлези на всеки 6-12 месеца
- Всяка година мамографски прегледи или ЯМР на млечните жлеза (за жени между 30-75 г.)
- Риск-редуцираща мастектомия (отстраняване) на гърдите
- Ехографски прегледи на коремни органи веднъж годишно

✓ За родствениците на изследваната пациентка - с оглед прецизиране на риска при тях е необходимо изследване за носителство, на намерения при пациентката, вариант и последваща генетична консултация.

## **Клиничен случай 1-71**

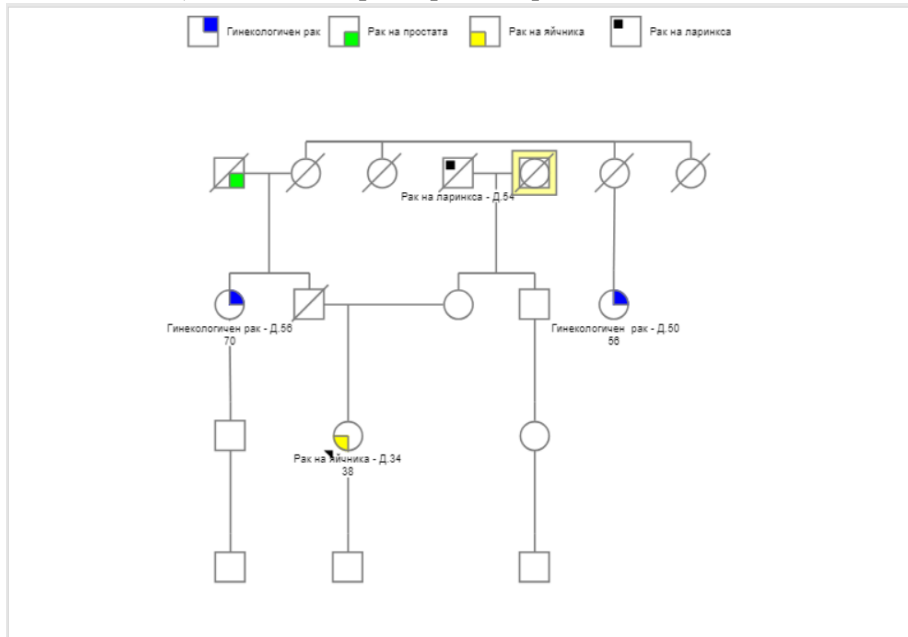
### **Анамнестични данни:**

Касае се за жена, диагностицирана на 34 годишна възраст с овариален карцином. От репродуктивната анамнезата: менархе на 11 г., една бременност (на 34г), едно живородено дете, кърмено 2 години и 2 месеца. На 34 години оперирана от ендометриоидна киста, която

хистологията разкрива, че се касае за добре диференциран ендометриоиден и на места серозен овариален карцином. Поради руптура на кистата по време на операцията, пациентката е лекувана с 4 курса монохимиотерапия с Карбоплатина

### Генеалогичен анализ:

Обхванати са 18 кръвни родственика от 4 поколения по двете родителски линии. Установи се родственик от II степен (сестра на бащата) диагностициран с гинекологичен рак, без да се знае точната локализация, на 56 годишна възраст, още един родственик II степен (дядо по бащина линия) диагностициран с рак на простатата.

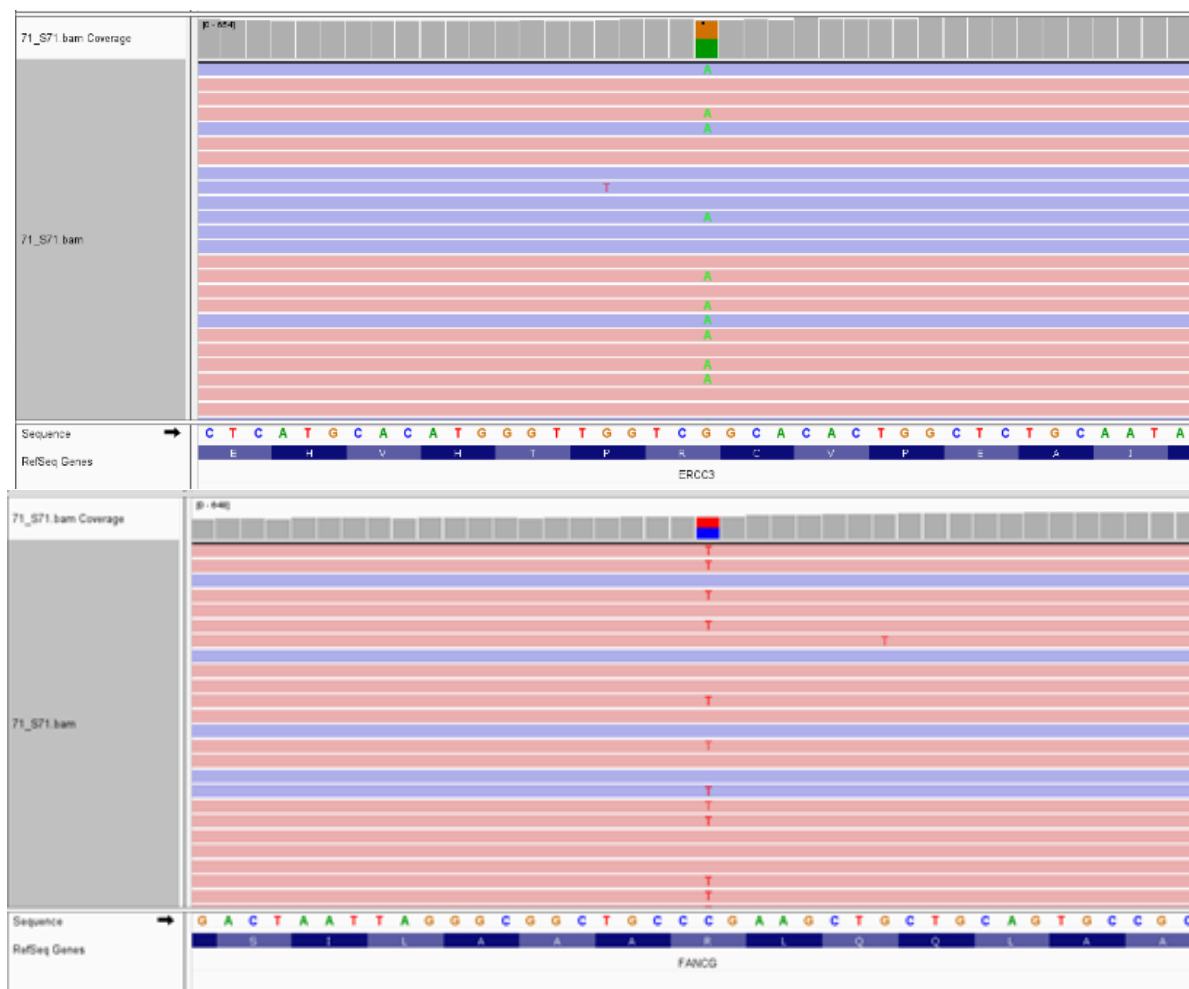


### Генетичен анализ:

Проведен е със секвениране от следващо поколение.

1. **ERCC3** - c.325C>T p.(Arg109Ter)
2. **FANCG** - c.1538G>Ap.(Arg513Gln)

VARIANT	GENE	CONSEQUENCE	ASSOCIATIONS	POPULATION FREQ	ZYGOSITY & METRICS	INTERPRETATION
SNV chr2:128050332 UCSC rs34295337 REF: G ALT: A View in IGV Variant Details	ERCC3 pL: 3.43e-11	Stop gained NM_000122.1 c.325C>T p.(Arg109Ter) Exon: 3/15 In Silico Predictions S P	Prediction: Pathogenic Cases MyKB BSKM Pathogenic <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/> Likely Path <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/> VUS <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Likely Benign <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Benign <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	0.009161 (GnomAD AS-J)	Heterozygous Filters PASS GQX 35 Quality Score 1639 Variant Read Freq... 0.5125 Alt Allele Depth 286 Total Read Depth 558	CASE INTERPRETATION
SNV chr9:35075022 UCSC rs17885240 REF: C ALT: T View in IGV COSM6660475 Variant Details	FANCG pL: 2.49e-14	Missense NM_004629.1 c.1538G>A p.(Arg513Gln) Exon: 12/14 In Silico Predictions S P	Prediction: Pathogenic Cases MyKB BSKM Pathogenic <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/> Likely Path <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> VUS <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/> Likely Benign <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/> Benign <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	0.025599 (GnomAD FIN)	Heterozygous Filters PASS GQX 35 Quality Score 764 Variant Read Freq... 0.4773 Alt Allele Depth 147 Total Read Depth 308	CASE INTERPRETATION



### Интерпретация на откритите варианти:

1. **ERCC3** – Откритият вариант създава преждевременен транслационен стоп сигнал (p.Arg109\*) в ERCC3 гена. Очаква се да доведе до липсващ или нарушен протеинов продукт. Известно е, че вариантите със загуба на функция в ERCC3 са патогенни (PMID: 16947863). Този вариант присъства в популационните бази данни (rs34295337, gnomAD 0,0002%). Този преждевременен транслационен стоп сигнал е описван при пациенти с рак на гърдата, рак на кожата и/или UV-чувствителен синдром (PMID: 26023681, 27004399, 27655433). Поради тези причини този вариант е класифициран като патогенен. (по-малко). Биалелна мутация в този ген води до развитие на автозомно рецесивния синдром - Ксеродерма пигментозум.
2. **FANCG** – Генът FANCG е един от гените причиняващи Анемията на Фанкони и участва в процесите на хомолжна рекомбинация. Според базата данни ClinVar (1) този вариант е с конфликтна интерпретация, но в проучване правено сред деца с Остра Миелоидна левкоза (ОМЛ) (2), този вариант е класифициран като патогенен и е доказана функционално и експериментално патогенността по отношение на ОМЛ. По отношение на други онкологични заболявания, правените проучвания не достигат статистическа достоверност, защото този вариант е рядък (докладвана популационна честота в ClinVar - 0.00300 (T)). Откритият вариант представлява аминокиселина



замяна в умерено консервативен участък на белтъка, кодиран от FANCG. При изследваната от нас пациентка се касае за едновременно носителство на този вариант със сигурен патогенен вариант (p.Arg109\*) в ERCC3 гена. Резултатите от проучване правено за носителство на ПВ в ERCC3, сред жени с РГ и/или РЯ показва средна възраст на диагностициране при жени само с РЯ е 65 години (3). При изследвата от нас пациентка диагнозата е поставена в много млада възраст на 34 години, а в допълнение генеалогичния анализ откри засегнати родственици с гинекологични карцином, от което следва да предположим, че в полигенния комплекс за предразположение към РЯ при конкретната пациентка се изиграли роля и други генетични фактори. По тези причини, приехме, че вариантът в FANCG гена е ниско пенетрантен алел, участващ в полигенния комплекс при овариалния карцином при конкретната пациентка и го класифицирахме, като вероятно патогенен.

### **Препоръки на генетичната консултация:**

Препоръките на генетичната консултация, поради носителство на ПВ в два предразполагащи гена, е съобразена преди всичко с ПВ носещ по-висок риск (в случая това е ERCC3):

✓ **За изследваната пациентката**

❖ Препоръчват се следните профилактични мерки (базирани на NCCN и фамилната история на пациентката):

- Клинични прегледи на млечните жлези на всеки 6-12 месеца
- Всяка година мамографски прегледи или ЯМР на млечните жлези
- Всяка година дерматологични клинични прегледи на цялото тяло

❖ Препоръчват се следните профилактични мерки по отношение на носителство на патогенен вариант за автозомно-рецесивно заболяване (в случая при пациентката са две):

Като носител на мутация за автозомно-рецесивното заболяване - Анемия на Фанкони и Ксеродерма пигментозум, пациентката има риск да предаде намерените генетични варианти в тези два гена на своите деца. С оглед прецизиране на риска за децата е необходимо изследване и на партньора на пациентката по отношение носителство на патогенни варианти в същите гени.

✓ **За родствениците** на изследваната пациентка (майка и син) - с оглед прецизиране на риска при тях е необходимо изследване за носителство на, намерените при пациентката, варианти и последваща генетична консултация.

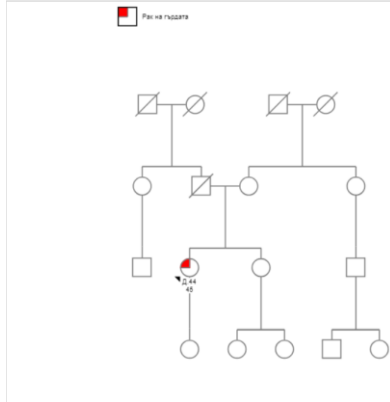
## **Клиничен случай 6-42**

### **Анамнестични данни:**

Касае се за жена, диагностицирана на 44 годишна възраст с инвазивен дуктален карцином. От репродуктивната анамнезата: менархе на 14 г., четири бременности, едно живородено дете, не е кърмено. На 44 годишна възраст опипала бучка в дясна млечна жлеза. Извършена радикална мастектомия на дясна гърда с лимфна дисекция. От хистологичния резултат- инвазивен дуктален карцином и изследвани 12 лимфни възли – в 2 от тях се установяват дифузни метастази. Имунохистохимично изследване (ИХХ): ER(+), PR(+), HER2(-). По решение на онкологичната комисия е провела неoadювантна и адювантна химиотерапия и следоперативно радиолечение.

### Генеалогичен анализ:

Обхванати са 17 кръвни родственика от 4 поколения по двете родителски линии. Не се откриха родственици с онкологични заболявания.



### Генетичен анализ:

Проведен е със секвениране от следващо поколение. Открити са патогенни варианти в

1. ERCC5 - c.495del p.(Trp165CysfsTer5)
2. CHEK2 - c.917G>C p.(Gly306Ala)



## Интерпретация на откритите варианти:

**ERCC5** – Откритият вариант с.495del p.(Trp165CysfsTer5) е нов и не е докладван досега в базата данни (ClinVar). Представлява делеция на един нуклеотид в екзон 5, което води до изместване на рамката четене и създаване на преждевременен стоп сигнал. Създаването на преждевременен стоп в синтеза на белтъка е добре познат патогенен механизъм за Xeroderma pigmentosum, complementation group G. Този вариант не е откриван и описван досега, както при пациенти, така и при здрави индивиди. По тези причини вариантът е класифициран като вероятно патогенен.

**СНЕК2** – Вариантът с.917G>C p.(Gly306Ala) съществува в популационните база данни с изключително ниска честота (GnomAD - 0.00015), свидетелство за патогенността му. В литературата варианта е съобщаван при пациенти с РГ (PMIDs: 26681312 (2015), 27751358 (2016), 28486781 (2017), 28580595 (2018), 30128536 (2018), 30303537 (2019), 32068069 (2020), 32658311 (2021)), РЯ (PMID: 30322717 (2018)), меланом (PMID: 33050356 (2020)), и колоректален карцином (PMID: 31118792 (2019)). Функционални проучвания потвърждават патогенността на варианта (PMID: 31050813 (2019))

## Препоръки на генетичната консултация:

Препоръките на генетичната консултация, поради носителство на ПВ в два предразполагащи гена, е съобразена преди всичко с ПВ носещ по-висок риск (в случая това е ERCC5):

✓ **За изследваната пациентката**

❖ Препоръчват се следните профилактични мерки:

- Клинични прегледи на рява млечна жлези на всеки 6-12 месеца
- Всяка година мамографски прегледи или ЯМР на лява млечна жлеза

❖ Препоръчват се следните профилактични мерки по отношение на носителство на патогенен вариант за автозомно-рецесивно заболяване (в случая при пациентката Ксеродерма пигментозум):

Като носител на мутация за автозомно-рецесивното заболяване, пациентката има риск да предаде намереният генетичен вариант на своите деца. С оглед прецизиране на риска за децата е необходимо изследване и на партньора на пациентката по отношение носителство на патогенни варианти в същите гени.

✓ **За родствениците** на изследваната пациентка (майка, сестра и дъщеря) - с оглед прецизиране на риска при тях е необходимо изследване за носителство на, намерените при пациентката, варианти и последваща генетична консултация.

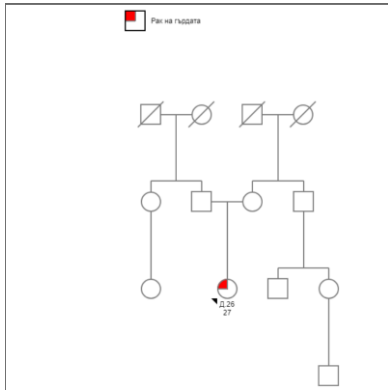
## Клиничен случай 2-18

### Анамнестични данни:

Пациентката е диагностицирана с инвазивен дуктален карцином на млечна жлеза на 27 годишна възраст. От имунохистохимичното изследване на туморната тъкан неуточнен HER2 статус, препоръчано повтаряне на изследването след оперативното лечение.

### Генеалогичен анализ:

Обхванати са 13 кръвни родственика от 4 поколения по двете родителски линии. Не беше установена фамилност за онкологични заболявания

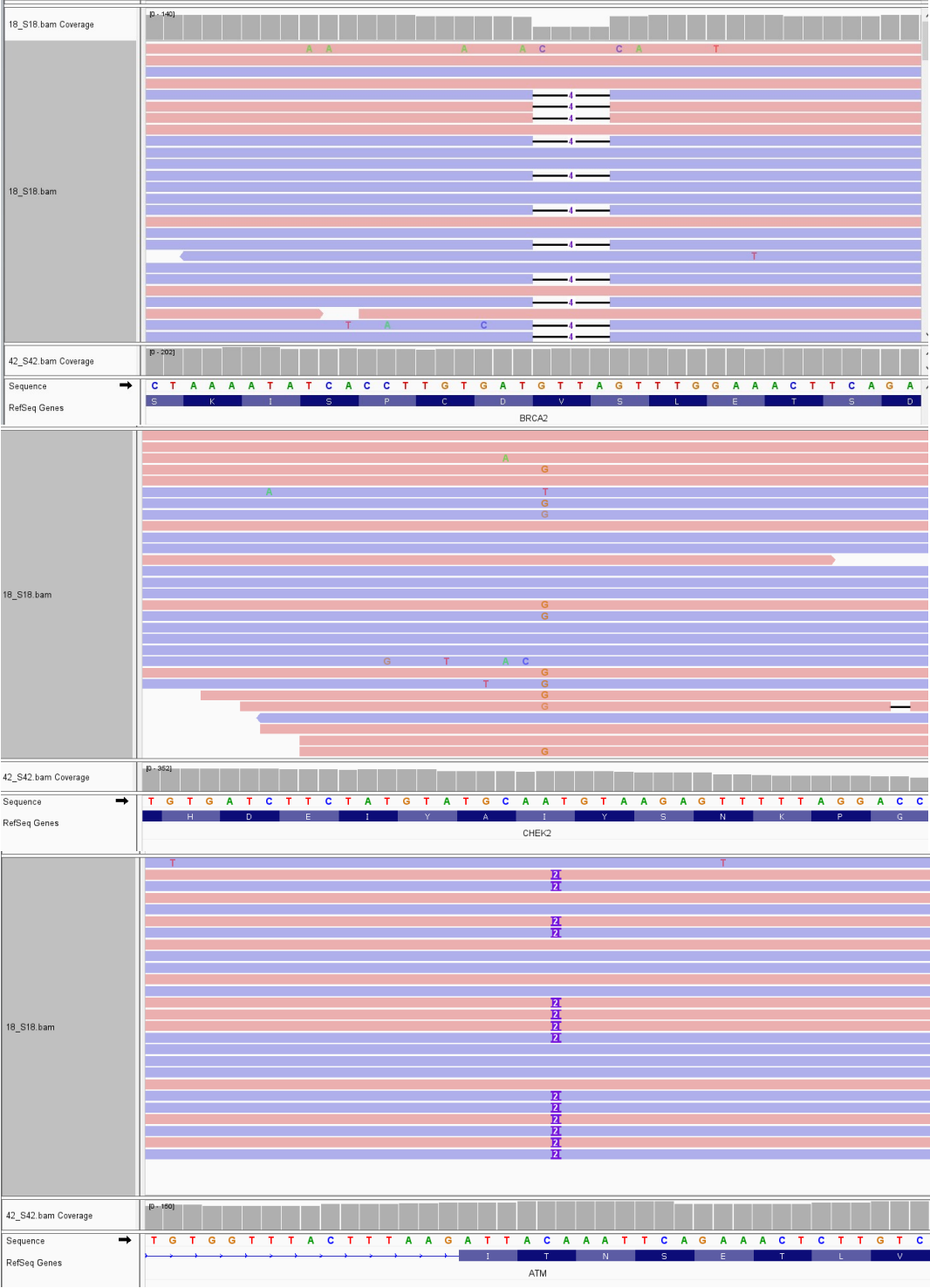


**Генетичен анализ:**

Проведен е със секвениране от следващо поколение. Открити са **патогенните варианти:**

1. **BRCA2 - c.5851\_5854delAGTT**
2. **CHEK2 - c.470T>C**
3. **ATM - c.2131\_2132dupAA**

<b>INDEL</b> chr13:32914340 UCSC rs80359543 REF: GTTA ALT: - View in IGV <a href="#">Variant Details</a>	<b>BRCA2</b> pLI: 2.36e-25	<b>Frameshift Indels</b> NM_000059.3 c.5851_5854del p.(Ser1951TrpfsTer11) Exon: 11/27 100%	<b>Prediction: Pathogenic</b> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Cases</th> <th>MyKB</th> <th>BSKN</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input checked="" type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> </tbody> </table>	Cases	MyKB	BSKN	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Heterozygous Filters LowGQXH... GQX 1851 Quality Score 1851 Variant Read Freq... 0.4479 Alt Allele Depth 43 Total Read Depth 100 <a href="#">CASE INTERPRETATION</a>
Cases	MyKB	BSKN																							
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>																							
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																							
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																							
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																							
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																							
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																							
<b>SNV</b> chr22:29121087 UCSC rs17879961 REF: A ALT: G View in IGV COSM369990 COSM5829185 <a href="#">Variant Details</a>	<b>CHEK2</b> pLI: 1.21e-24	<b>Missense</b> NM_007194.3 c.470T>C p.(Ile157Thr) Exon: 4/15 <b>In Silico Predictions</b> 5 100%	<b>Prediction: Pathogenic</b> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Cases</th> <th>MyKB</th> <th>BSKN</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input checked="" type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input checked="" type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input checked="" type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> </tbody> </table>	Cases	MyKB	BSKN	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	0.024962 (gnomAD FIN) Heterozygous Filters PASS GQX 35 Quality Score 247 Variant Read Freq... 0.4103 Alt Allele Depth 48 Total Read Depth 117 <a href="#">CASE INTERPRETATION</a>
Cases	MyKB	BSKN																							
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>																							
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>																							
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>																							
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																							
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																							
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																							
<b>chr3:10088407</b> AGTA >>	<b>FANCD2</b> pLI: 1.1e-30	<b>Splice donor</b> c.1278+3_1278+6del	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Cases</th> <th>MyKB</th> <th>BSKN</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input checked="" type="checkbox"/></td> </tr> </tbody> </table>	Cases	MyKB	BSKN	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.455052 (TOPMed ALL) Heterozygous Filters PASS <a href="#">CASE INTERPRETATION</a>															
Cases	MyKB	BSKN																							
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>																							
<b>INDEL</b> chr11:108126946 UCSC	<b>ATM</b>	<b>Frameshift Indels</b> NM_000051.3 c.2131_2132dup	<b>Prediction: Likely Path</b>	0.000009 (gnomAD NFE) Heterozygous Filters LowGQXH... <a href="#">CASE INTERPRETATION</a>																					



## Интерпретация на откритите варианти:

**BRCA2** Откритият при пациентката вариант с.5851\_5854delAGTT е патогенен, локализиран в кодиращия екзон 10 на BRCA2 гена, представлява делеция на 4 нуклеотида от позиция 5851 до 5854. Вариантът води до промяна на рамката на четене при транслация и довежда до създаване на преждевременен стоп кодон (p.S1951Wfs\*11). Описван е в литературата при много фамилии с рак на гърдата и /или яйчниците в различни популации. (Vaidyanathan K et al. J. Biosci. 2009 Sep;34:415-22; Papi L et al. Breast Cancer Res. Treat. 2009 Oct;117:497-504; Kwong A et al. Breast Cancer Res. Treat. 2009 Oct;117:683-6; Juwle A et al. Med. Oncol. 2012 Dec;29:3272-81; Dodova RI et al. BMC Cancer. 2015 Jul;15:523; Susswein LR et al. Genet. Med. 2016 Aug;18:823-32; Labidi-Galy SI et al. Clin. Cancer Res. 2018 Jan;24(2):326-333; Jakimovska M et al. Breast Cancer Res. Treat. 2018 Apr;168(3):745-753).

**СНЕК2** – Откритият при пациентката вариант представлява замяна на изолевцин с треонин на 157 място в по-липептидната верига на СНЕК2 (p.Ile157Thr). Изолевцинът се намира в умерено консервативен участък и има сравнително малка физико-химична разлика с треонина. Открит е в популационните база данни (rs17879961) с честота 2,6%. В голямо проучване, включващо няколко хиляди случаи и контроли, се доказва слабо увеличен (до 1,5 пъти) риск за развитие на рак на гърдата (ниска пенетрантност) (PMID: 22799331, 23713947). Експериментални проучвания показват, че този месенс вариант променя свързането на СНЕК2 белтъка към Cdc25A, BRCA1 и p53 in vitro и може би проявява доминантно негативен ефект на ниво клетка, независимо че не променя протеин-киназната активност на СНЕК2. (PMID: 11298456, 11571648, 15239132, 12049740, 22419737).

**АТМ** - Откритият при пациентката вариант с.2131\_2132dupAA p.(Asn711LysfsTer25) е вероятно патогенен, локализиран в кодиращия екзон 14 на АТМ гена и води до създаване на преждевременен стоп сигнал, като по този начин вероятно пречи на синтеза на нормален белтъчен продукт. Вариантът е рядък и има честота установена само за Европейската популация 0.000009. Не съществува в ClinVar базата данни, и не е описван досега в литературата.

## Препоръки на генетичната консултация:

Не е установено как носителството на три патогенни варианта в три различни рискови за рак на гърдата гени се отразява върху крайния риск за неговото развитие, поради малкия брой описани в литературата подобни случаи. По тази причина генетичната консултация приема, че в случая на пациентка Мария Котуклиева, препоръките трябва да бъдат съобразени с патогенния вариант носещ най-висок риск за развитие на рак на гърдата- **с.5851\_5854delAGTT** в **BRCA2** [Sukumar J, Kassem M, Agnese D, Pilarski R, Ramaswamy B, Sweet K, Sardesai S. Concurrent germline BRCA1, BRCA2, and CHEK2 pathogenic variants in hereditary breast cancer: a case series. Breast Cancer Res Treat. 2021 Apr;186(2):569-575. doi: 10.1007/s10549-021-06095-w. Epub 2021 Jan 28. PMID: 33507482; PMCID: PMC7990865].

## Препоръки на генетичната консултация:

### ✓ За изследваната пациентката

Препоръчват се следните профилактични мерки (съгласно NCCN guidelines):

- Клинични прегледи на другата млечна жлеза на всеки 6-12 месеца
- Всяка година мамографски прегледи или ЯМР на другата млечна жлеза (за жени между 30-75 г.)
- Риск-редуцираща радикална мастектомия (отстраняване) на засегнатата гърда

- Риск-редуцираща мастектомия (отстраняване) на другата гърда
  - Риск-редуцираща оофоректомия (отстраняване на яйчниците) между 35-40 г. възраст, след завършване на репродукцията при пациентката.
  - За пациенти, отказващи риск-редуциращата оофоректомия, се препоръчва транвагинална ехография, в комбинация с изследване на СА-125
  - Във връзка с носителство на патогенен вариант в АТМ гена, пациентката има риск 25 % за деца с автозомно-рецесивното заболяване атаксия-телеангектазия (в случай че и партньора ѝ също е носител на патогенен вариант в АТМ гена). Препоръчва се преди репродукция партньора на пациентката да бъде изследван за носителство на патогенни варианти в АТМ гена.
- ✓ За родствениците на изследваната пациентка - с оглед прецизиране на риска при тях е необходимо изследване за носителство, на намерения при пациентката, вариант и последваща генетична консултация.