

## Редкий случай семейного аденоматозного полипоза

Музаффарова Т.А., Мансорунов Д.Ж., Кипкеева Ф.М., Алимов А.А., Карпухин А.В.

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва, Российская Федерация.  
E-mail: BRCA1@mail.ru

При обследовании больных с множественными полипами толстой кишки был выявлен редкий случай семейного аденоматозного полипоза (САП). У пациента обнаружены инактивирующая мутация p.Thr496Tyrfs в гене *APC* и вариант I1307K в том же гене, аллельная частота которого составила 0,15% в нашей выборке САП. Этот вариант ассоциирован с предрасположенностью к развитию рака толстой кишки. Выявлен также полиморфизм в митохондриальной хромосоме D310, который связывают с повышенным риском развития рака толстой кишки. Клиническая картина характеризовалась ранней манифестацией и агрессивным течением, не наблюдавшимся у отца пробанда только с мутацией p.Thr496Tyrfs. Предположено, что более тяжелая форма болезни с проявлением дополнительной симптоматики является результатом суммарного действия всех генетических факторов, полученных пробандом от обоих родителей, а обнаруженные миссенс-вариант I1307K и полиморфизм D310 являются дополнительными факторами риска, которые необходимо учитывать при обследовании больных.

**Ключевые слова:** семейный аденоматозный полипоз, мутация, полиморфизм, ген *APC*.

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Источники финансирования: исследование выполнено в рамках темы №0517-2014-0017 ФАНО России.

### A rare case of familial adenomatous polyposis

Muzaffarova T.A., Mansorunov D.J., Kipkeeva F.M., Alimov A.A., Karpukhin A.V.

Research Center for Medical Genetics, Moscow, Russia. E-mail: BRCA1@mail.ru

A rare case of family adenomatous polyposis (FAP) was revealed during the screening of the patients with multiple colon polyps. The patient is a carrier of the inactivating mutation p.Thr496Tyrfs in the *APC* gene as well as polymorphic variant I1307K in the same gene associated with a predisposition to the development of colon cancer. The allelic frequency of the polymorphic variant observed in our sample of FAP amounted to 0.15%. The polymorphism in the mitochondrial chromosome D310, which is associated with an increased risk of colon cancer, was also revealed. The clinical pattern was characterized by early manifestation and aggressive course of the disease that was not observed in the father of proband who has only the mutation p.Thr496Tyrfs. It was assumed that the more severe form of the disease is the result of the general action of all genetic factors obtained by proband from both parents. Discovered polymorphisms I1307K and D310 are considered as an additional risk factor that must be taken into account during examination of patients.

**Key words:** familial adenomatous polyposis, mutation, polymorphism, gene *APC*.

Семейный аденоматозный полипоз (САП) — заболевание, характеризующееся развитием в ободочной и прямой кишке множества полипов, и почти в 100% случаев приводящее к раку. Частота встречаемости САП в популяциях варьирует от 1:7000 до 1:22000 чел. Выделяют аутосомно-доминантную и аутосомно-рецессивную формы [1]. В абсолютном большинстве диагностированных случаев больные являются носителями мутаций в гене *APC* (adenomatous polyposis coli), которые наследуются по аутосомно-доминантному типу [2]. Вероятность развития САП при наличии мутации близка к 100%. Биаллельные мутации в гене *APC* являются летальными для эмбриона. На внутриклеточном уровне развитие заболевания связывают с нарушением функционирования мультибелкового «деструктурирующего комплекса», состоящего из четырех белков: *APC* (adenomatous polyposis coli), Axin (цитоплазматический белок), GSK-3 (серин-треонин протеинкиназа 3) и SK1 (казеинкиназа 1). Одна из функций комплекса — поддержа-

ние оптимальной концентрации белка β-катенина через механизм убиквитин-зависимого протеолиза [3]. Дестабилизация комплекса приводит к нарушению агрегации клеток.

Известны миссенс-варианты гена *APC*, значение которых в настоящее время нуждается в дальнейшем исследовании. В частности, показана ассоциативная связь между полиморфным вариантом rs1801155 и развитием аденоматозного полипоза и карциномы прямой кишки у их носителей [4]. Полиморфизм получил название «мутация I1307K». Частота этого аллельного варианта в европейской популяции мала и составляет 0,1% [4]. Тем не менее, в популяции евреев ашкенази его частота значительно выше (4%). По этой причине миссенс-вариант I1307K был детально изучен в популяции евреев-ашкенази. Обнаружено, что в выборке больных колоректальным раком этот вариант встречается достоверно чаще, чем в целом в популяции (10,4% против 6%). Анализ соматических мутаций в гене *APC* в тканях аденома-

тозных полипов и карцином у носителей мутации I1307K выявил инактивирующие мутации именно в аллеле I1307K в непосредственной близости от этой замены, что явилось причиной заболевания. Риск развития болезни у носителей мутации I1307K составил 18–30%, что в 2 раза выше среднего значения для всей популяции евреев-ашкенази [5]. В то же время, вариант I1307K обнаружен и в гомозиготном состоянии, причем носители такого варианта не имели онкологической патологии [6].

Среди других генетических факторов, ассоциированных с повышенным риском развития рака прямой кишки, особое место занимают структурные изменения митохондриальной хромосомы, в частности, нуклеотидные замены и полиморфизмы, расположенные в ее контрольной области, которые затрагивают сайты связывания транскрипционного фактора A и ориджин репликации тяжелой цепи [7].

В настоящей работе рассмотрены результаты анализа редкого семейного случая аденоматозного полипоза: пробанд унаследовал инактивирующую мутацию в гене *APC* по отцовской линии и мутацию I1307K по материнской, а также ассоциированный с неблагоприятным для пациента прогнозом полиморфизм митохондриальной ДНК. Полученные данные позволяют расширить наши представления о причинах развития болезни.

### Материалы и методы

Материал для исследования, периферическая венозная кровь, стабилизированная ЭДТА, был получен от обследуемых лиц в рамках государственного задания по оказанию высокотехнологичной медицинской помощи больным с семейным аденоматозным полипозом. В каждом случае получено добровольное информированное согласие на обработку персональных данных.

Выделение суммарной геномной ДНК из крови проводили стандартным гуанидинтиоцианатным методом с использованием набора «Амплипрайм» компании ООО «НекстБио», согласно инструкции производителя.

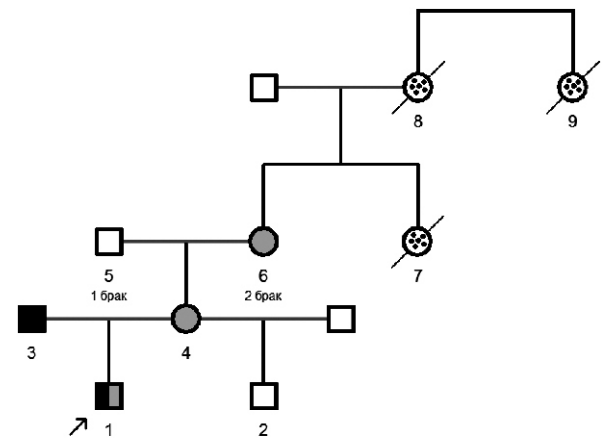
Анализ гена *APC* на наличие изменений первичной структуры проводили так, как это было описано ранее [8]. Кратко, 15 кодирующих экзонов гена *APC* амплифицировали с использованием экзон-специфичных праймеров. Продукты реакции денатурировали и анализировали методом конформационно-чувствительного электрофореза в полиакриламидном геле, окрашивание серебром. Изменение первичной структуры гена выявляли секвенированием по Сэнгеру [8].

Определение первичной структуры переменных районов митохондриальной хромосомы проводили общепринятым образом. Суммарную фракцию ДНК использовали в качестве матрицы. С использованием праймеров F15971 (5'-ТТААСТССАССАТТАГСАСС-3'), R16410 (5'-GAGGATGGTGGTCAAGGGAC-3') получали ДНК-фрагменты первого переменного региона

(HVI), а с использованием F15 (5'-CACCCСТАТТААССАСТСАСС-3'), R448 (5'-TGAGATТАGТАGТАТGGGAG-3') — ДНК-фрагменты второго переменного региона (HVII). Первичную структуру фрагментов определяли методом Сэнгера с использованием набора Big Dye™ Terminator v. 3.1 Cycle Sequencing и ДНК-анализатора ABI Prism 3130x1 (Applied Biosystems, США). Анализ секвенированных последовательностей проводили с использованием программного обеспечения ChromasPro и интернет ресурсов NCBI BLAST и Ensembl genome browser 91. В качестве образца сравнения использовали общепринятую последовательность NC\_012920.1 [9].

### Результаты и обсуждение

При обследовании больных с множественными полипами толстой кишки был обнаружен пациент, носитель полиморфизма rs1801155. Полиморфизм является аминокислотной заменой I1307K, ассоциированной с предрасположенностью к развитию рака толстой кишки. Среди 285 пациентов, проходивших исследование в МГНЦ, этот миссенс-вариант встретился единожды (0,3%). Проведенный расширенный семейный анализ показал, что основная причина болезни связана с другой известной мутацией в том же гене, rs1131691137, унаследованной пробандом от отца (рисунок).



- -Носитель мутации 1485delT
- -Носитель полиморфизма I1307K
- ⊗ -Отягощенность онкологическими заболеваниями, генотип неизвестен

Родословная семьи больного:

1 — пробанд: САП ТК, мутация *APC* 1485delT, полиморфизм I1307K; 2 — сводный брат пробанда; 3 — отец пробанда: мутация *APC* 1485delT, рак прямой кишки в 40 лет; 4 — мать пробанда: полиморфизм I1307K; 5 — дед по линии матери; 6 — бабка по линии матери: полиморфизм I1307K; 7 — сестра бабки: злокачественное образование головного мозга неизвестной этиологии в 48 лет; 8 — мать бабки: аденоматозный полипоз, рак прямой кишки в 66 лет; 9 — сестра матери бабки: злокачественное образование в полости малого таза неизвестной этиологии в 74 года.

Результаты анализа вариабельных участков митохондриальной хромосомы

Образец ДНК	Нуклеотидные замены/полиморфизмы							
	73	150	152	263	D310	16190	16271	16356
NC_012920.1	A	C	T	A	(C)7	T	C	C
ДНК отца	A	C	T	G	(C)7	T	C	C
ДНК пробанда	A	C	T	G	(C)8	T	C	T
ДНК матери	A	C	T	G	(C)8	T	C	T
ДНК бабушки	A	C	T	G	(C)8	T	C	T
ДНК деда	G	T	C	G	(C)7	C	T	C

Мутация приводит к сдвигу рамки считывания р.Thr496Tyrfs. Отличительной особенностью данного случая явилось то, что болезнь у пробанда характеризуется ранней манифестацией и агрессивным течением: множественные полипы выявлены в возрасте 15 лет, через год произведено их удаление вследствие быстрого увеличения количества. Заболевание сопровождалось задержкой роста с раннего возраста, хроническим гастродуоденитом, хроническим колитом, также выявлена аномалия развития желчного пузыря. Родители в кровнородственном браке не состояли, возраст матери на момент рождения ребенка — 24 года, отца — 25.

У отца пробанда продолжительное время заболевание протекало без выраженной симптоматики, он был признан годным к прохождению армейской службы, первые полипы были выявлены после восемнадцати лет. Рак прямой кишки диагностирован в 41 год на поздних стадиях течения болезни. Произведены резекция прямой кишки с расширенной лимфаденэктомией, резекция левого мочеточника, тотальная колэктомия, преевентивная илеостомия. Как показали результаты гистологического исследования, у больного аденокарцинома с обширными очагами некроза, инвазией всех слоев стенки кишки, прилежащей жировой клетчатки. Диагноз: рак прямой кишки, St III, T4N1M0. Анализ ДНК родственников по линии матери показал, что аминокислотная замена I1307K получена пробандом от матери (рисунок), со слов которой известно, что ее родословная отягощена онкологическими заболеваниями. В частности, у ее бабушки в возрасте 53 лет были обнаружены полипы в прямой кишке, а в 66 лет диагностирован рак. Столь позднее проявление болезни является типичным для носителей мутации I1307K, как и тот факт, что у части носителей болезнь может не проявиться [5]. У матери и бабушки пробанда манифестации заболевания на момент исследования не выявлено.

Анализ вариабельных районов митохондриальной хромосомы (D-петля) ближайших родственников пробанда подтвердил существующие родственные связи в семье (таблица) и выявил у пробанда известный митохондриальный полиморфизм D310 (C)8, который ассоциирован с неблагоприятным для пациентов прогнозом (таблица).

Показано, что увеличение числа остатков цитозина между 302 и 310 нуклеотидами в митохондриальной ДНК из опухолевой ткани коррелирует с тяжестью заболевания. Полагают, что структурные изменения этого участка влияют на особенности репликации митохондриальной хромосомы, что способствует прогрессированию заболевания вследствие изменения количества митохондрий в клетке [7, 10].

У сводного брата больного (пробанда) по матери в возрасте 10 лет на момент проведения генетического обследования, нервно-психическое и физическое развитие соответствовало возрастной норме. Каких-либо патологических отклонений не обнаружено. Он не является носителем нуклеотидной замены I1307K.

Таким образом, рассмотренный нами случай САП позволяет считать, что более тяжелая форма течения болезни с проявлением дополнительной симптоматики является результатом суммарного действия всех генетических факторов, полученных пробандом от обоих родителей, а обнаруженные миссенс-вариант I1307K и полиморфизм D310 являются дополнительными факторами риска, которые необходимо учитывать при обследовании больных.

### Список литературы

1. Home page: National Library of Medicine (US). Genetics Home Reference [Internet]. Familial adenomatous polyposis. Available from: <https://ghr.nlm.nih.gov/condition/familial-adenomatous-polyposis>
2. Talseth-Palmer BA. The genetic basis of colonic adenomatous polyposis syndromes. *Hered Cancer Clin Pract.* 2017 Mar 16;15:5. doi: 10.1186/s13053-017-0065-x
3. Li VS, Ng SS, Boersema PJ, et al. Wnt signaling through inhibition of  $\beta$ -catenin degradation in an intact Axin1 complex. *Cell.* 2012;149:1245-56. doi: 10.1016/j.cell.2012.05.002
4. Lek M, Karczewski KJ, Minikel EV, et al. Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. *Nature.* 2016;536(7616):285-291. doi: 10.1038/nature19057
5. Laken SJ, Petersen GM, Gruber SB, et al. Familial colorectal cancer in Ashkenazim due to a hypermutable tract in APC. *Nat Genet.* 1997 Sep;17(1):79-83. doi: 10.1038/ng0997-79
6. Woodage T, King SM, Wacholder S, et al.: The APC I1307K allele and cancer risk in a community-base study of Ashkenazi Jews. *Nat Genet.* 1998 Sep;20(1):62-65. doi: 10.1038/1722

7. Errichiello E, Venesio T. Mitochondrial DNA variants in colorectal carcinogenesis: Drivers or passengers? *J Cancer Res Clin Oncol* 2017; 143: 1905-1914. doi: 10.1007/s00432-017-2418-2

8. Музаффарова ТА, Поспехова НИ, Карпухин АВ. Наследственная предрасположенность к семейному аденоматозному полипозу. *Медицинская генетика* 2005;4(7):308-316.

9. Andrews RM, Kubacka I, Chinnery PF, et al.: Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. *Nat Genet.* 1999;23(2):147. doi: 10.1038/13779

10. Guo Z, Zhao S, Fan H, et al. Identification of sequence polymorphisms in the D-Loop region of mitochondrial DNA as a risk factor for colon cancer. *Mitochondrial DNA Part A: DNA Mapping, Sequencing, and Analysis* 2016 Nov;27(6):4244-4245. doi: 10.3109/19401736.2014.1003920.