

ОНКОГЕНЕТИКА BRCA

ОНКОГЕНЕТИКА BRCA

НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С РИСКОМ РАЗВИТИЯ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ, МЕТОДОМ ПЦР В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ («ОНКОГЕНЕТИКА BRCA»). РУ 2010/08415



Онкологические заболевания представляют собой важную медико-социальную проблему в связи с высокой заболеваемостью и смертностью.

Рак молочной железы занимает первое место среди онкологических заболеваний женщин и является второй по частоте причиной смертности от онкологических заболеваний в Российской Федерации. В мире ежегодно регистрируется более 1 миллиона случаев рака молочной железы (РМЖ), а в РФ – свыше 50 тысяч. Абсолютное число заболевших РМЖ с каждым годом увеличивается на 0,1-0,2 % [1]. Летальность на первом году с момента установления диагноза равна почти 13 %. Очевидно, что эффективность лечения рака выше на ранних стадиях заболевания, поэтому своевременная диагностика является актуальной задачей и помогает значительно снизить количество летальных исходов.

В большинстве случаев онкологические заболевания являются наследственными и связаны с носительством мутаций в определенных генах, полученных от одного из родителей. Генетическое тестирование позволяет идентифицировать предрасположенность к наследственным формам рака и направлять усилия на профилактику и раннюю диагностику онкологических заболеваний.

Известно, что 5–10 % случаев рака молочной железы и 10–17 % рака яичников (РЯ) являются наследственными и их развитие может быть связано с мутациями в генах *BRCA1* и *BRCA2*. По данным многочисленных исследований, ими обусловлены **20–50 % наследственных форм РМЖ**,

90–95 % случаев наследственного РЯ у женщин, а также до 40 % случаев рака грудных желез у мужчин.

В интактном состоянии оба гена являются классическими опухолевыми супрессорами, кодируемые ими белки играют основную роль в репарации двухцепочечных разрывов ДНК путем гомологичной рекомбинации. Белковый продукт гена *BRCA1* репрессирует транскрипционную функцию гена рецептора эстрогенов, сдерживая, таким образом, избыточную пролиферацию клеток молочной железы, в частности при половом созревании и беременности. Потеря функциональной активности вследствие врожденных или приобретенных мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* приводит к нарушению регуляции клеточного цикла, процессов дифференцировки и апоптоза и, как следствие, к нарастанию хромосомной нестабильности, приводящей к развитию рака (рис. 1). При этом гены *BRCA1* и *BRCA2* не являются строго специфичными для РМЖ и РЯ. В частности, патологический генотип *BRCA2* повышает риск возникновения рака предстательной железы, толстой кишки, поджелудочной железы, эндометрия и меланомы, а также рака грудных желез у мужчин.

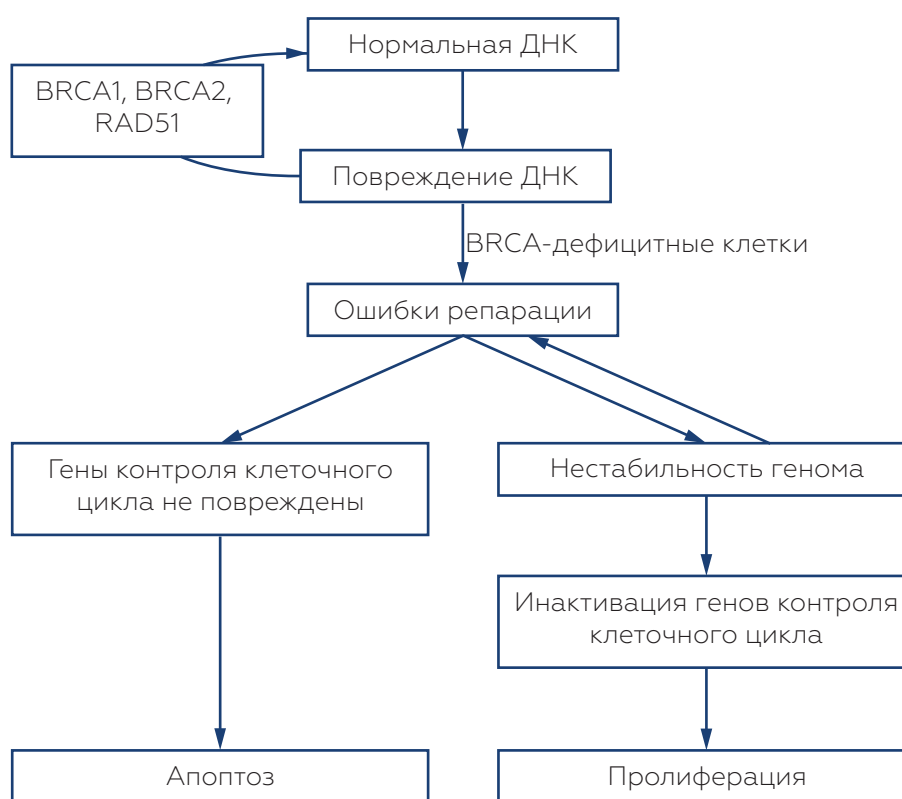


Рис. 1. Схематическое изображение функционирования генов *BRCA1* и *BRCA2* и нарушений при потере их функциональной активности [3]

Критериями для постановки диагноза наследственного РМЖ и РЯ являются: наличие в семье двух и более родственников I и II линии родства, больных РМЖ и/или РЯ, ранний (до 45 лет) возраст манифестации заболевания, двустороннее поражение, первично-множественные опухоли у пациентки или ее родственников [2].

Мутации в генах *BRCA1* и *BRCA2* являются доминантными с высокой степенью пенетрантности, что значительно повышает вероятность развития наследственного РМЖ и РЯ у их носителей (табл. 1).

Таблица 1. Риски развития РМЖ и РЯ у носителей мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2*

Показатели	Риск РМЖ	Риск РЯ
Есть мутация в гене <i>BRCA1</i> , суммарный риск	57–65 %	39–40 %
Есть мутация в гене <i>BRCA1</i> + отягощенный анамнез	87 %	44 %
Есть мутация в гене <i>BRCA2</i> , суммарный риск	45–49 %	11–18 %
Есть мутация в гене <i>BRCA2</i> + отягощенный анамнез	84 %	27 %

Суммарные риски для носителей мутаций в гене *BRCA1* к возрасту 70 лет составляют 57–65 % в отношении развития РМЖ и 39–40 % – РЯ. Риск развития РМЖ для носителей мутаций в гене *BRCA2* составляет 45–49 %, тогда как риск развития РЯ не превышает 11–18 %. При отягощенном семейном анамнезе риски возрастают: для носителей мутаций в гене *BRCA1* до 87 % в отношении развития РМЖ и до 44 % в отношении развития РЯ. Для носителей мутаций в гене *BRCA2* – до 84 % и 27 % соответственно [4].

Гистологически большинство *BRCA1*-ассоциированных опухолей представлены инвазивным раком неспецифического типа (до 87 %), около 5–15 % классифицируются как медуллярный рак. Для них характерна высокая степень злокачественности, часто наблюдается выраженная лимфоцитарная инфильтрация. Большинство, примерно 68,5–80,0 % *BRCA1*-ассоциированных РМЖ, являются трижды негативными (РЭ-, РП-, HER2/neu-), при этом в группах больных с трижды негативными опухолями частота мутаций в гене *BRCA1* составляет до 16 %. При этом трижды негативные опухоли с базальным фенотипом (экспрессия эпителиальных цитокератинов 5 и 6) чаще встречаются у носителей мутаций в гене *BRCA1*.

РМЖ при беременности

По статистике, РМЖ встречается в 1 случае на 3000 беременностей. Около 3 % всех случаев рака диагностируются во время беременности. Частота РМЖ, развившегося на фоне беременности и лактации, достоверно выше среди пациенток с наследственной предрасположенностью; в 17,5 % случаев РМЖ, диагностированного на фоне второй и последующих беременностей и в процессе грудного вскармливания, обнаружены герминальные мутации в гене *BRCA1*. Однако ранняя диагностика опухоли молочных желез при лактации и у беременных женщин затруднена, так как у них отмечается физиологическое изменение в ткани молочных желез в виде их нагрубания и увеличения в размере. Все это приводит к затруднению выявления маленьких опухолей и, соответственно, к задержке ранней диагностики рака. Поэтому у беременных женщин опухоль молочных желез выявляется часто на поздней стадии [5, 6].

Таким образом, при планировании беременности необходимо тщательное и всестороннее изучение анамнеза. В случае, если пациентка входит в группу риска, целесообразно проведение исследования на мутации в генах *BRCA1/2*, а также комплексное маммологическое обследование еще до наступления беременности.

Особенности терапии *BRCA*-ассоциированных опухолей

Было показано, что *BRCA1*-ассоциированный РМЖ в отличие от спорадического характеризуется лучшей отвечаемостью на терапию вплоть до полной ремиссии. Установлено, что выживаемость больных наследственным раком органов женской репродуктивной системы значительно выше, чем в общей группе больных, независимо от стадии и проводимого лечения: 5-летняя выживаемость больных наследственным РМЖ составляет $58,9 \pm 6,3$ %, в то время как при спорадическом раке – $39,7 \pm 4,6$ %. Значение генетического тестирования определяется также тем, что *BRCA*-статус потенциально может быть использован в качестве предиктивного маркера при проведении химиотерапевтического лечения. Наличие дефектов системы репарации предполагает высокую

эффективность ДНК-повреждающих агентов, таких как ионизирующая радиация и лекарственные препараты. Показана высокая эффективность неоадьювантной терапии антрациклинами и таксанами у носителей мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2*. Клетки с нарушенными механизмами гомологичной рекомбинации отличаются высокой чувствительностью к производным платины. В ряде исследований показано, что у больных *BRCA1*-ассоциированным РМЖ эффективна неоадьювантная терапия «Цисплатином», выраженная реакция на препарат независимо связана с трижды негативным фенотипом и с наличием мутации в гене *BRCA1* [7].

Полагают, что современной альтернативой стандартным лечебным подходам является таргетная терапия. Показано, что *BRCA1/2*-дефицитные опухолевые клетки селективно гибнут при использовании PARP-ингибиторов (PARP (*poly(ADP-ribose) polymerase*) – ферменты, катализирующие поли-АДФ-рибозилирование; участвуют в репарации ДНК). Наследственные формы РМЖ и РЯ уже в ближайшем будущем будут являться объектами для проведения более современной таргетной противоопухолевой терапии. Показано, что *BRCA1/2*-дефицитные опухолевые клетки селективно гибнут при использовании PARP-ингибиторов, в частности «Олапариба» и «Велипариба», находящихся на заключительных стадиях клинических испытаний [8].

Показаны четкие популяционные и географические различия в спектре и частоте герминальных мутаций. Во многих популяциях наблюдается так называемый эффект основателя – преобладание нескольких мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* [9].

В результате проведения популяционных исследований среди больных раком молочной железы компанией «ДНК-Технология» совместно с РОИЦ им. Н. Н. Блохина РАМН был создан диагностический набор «ОнкоГенетика *BRCA*», включающий панель из восьми наиболее часто встречающихся именно в российской популяции мутаций в генах *BRCA1/2* (табл. 2).

Таблица 2. Частота встречаемости мутаций в генах *BRCA1/2* в российской популяции мутаций

Ген	Мутация	Генотип ¹	Оценка риска	Частота встречаемости мутантного аллеля среди всех мутаций генов <i>BRCA1/2</i>	
				при РМЖ	при РЯ
<i>BRCA1</i>	185delAG	N/N N/Del	популяционный риск высокий риск	1,6 %	3,2 %
	4153delA	N/N N/Ins	популяционный риск высокий риск	68,8 %	55,6 %
	5382insC	N/N N/Del	популяционный риск высокий риск	12,5 %	11,1 %
	3819delGTAAA	N/N N/Del	популяционный риск высокий риск	3,1 %	1,6 %
	3875delGTCT	N/N N/Del	популяционный риск высокий риск	1,6 %	–
	300T>G (Cys61Gly)	N/N (T/T) N/G (T/G)	популяционный риск высокий риск	6,3 %	12,7 %
	2080delA	N/N N/Del	популяционный риск высокий риск	3,1 %	11,1 %
<i>BRCA2</i>	6174delT	N/N N/Del	популяционный риск высокий риск	3,1 %	4,8 %

¹ Символом «N» традиционно обозначается нормальный генотип.

Суммарная частота встречаемости мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* в неотобранной выборке больных РМЖ (1091 чел.) составила 5,9 %.

Указанная панель позволяет выявить около 80 % случаев наследственного РМЖ и 60-65 % случаев РЯ, опосредованных мутациями в генах *BRCA1* и *BRCA2*. При отрицательном результате скринингового теста у пациентов с отягощенным онкологическим анамнезом рассматривается вопрос об установлении полной нуклеотидной последовательности кодирующих фрагментов генов *BRCA1/2* методом прямого секвенирования, что является золотым стандартом в области молекулярно-генетической диагностики.

Медико-генетическое консультирование на сегодняшний момент является обязательной составляющей онкологической помощи. При клинико-генетическом обследовании ставится и подтверждается генетический диагноз, оцениваются риски, изучается и определяется этиология и патогенез наследственного РМЖ и/или РЯ, разрабатываются индивидуальные рекомендации по диагностике, лечению и профилактике. Следует отметить, что само по себе выявление генетической мутации в генах *BRCA1* и *BRCA2* лишь прогнозирует высокую степень риска развития рака молочной железы и яичников, но не позволяет точно оценить степень этого риска, предугадать возраст возникновения заболевания, а также его вид (рак молочной железы или яичников).

При обнаружении мутаций необходимо обращение к врачу-генетику, онкологу-маммологу или в специализированные онкологические центры, где будет определен индивидуальный план диспансеризации и профилактического лечения, форма которого будет зависеть от возраста пациентки и клинической ситуации.

С ноября 2012 года согласно приказу Министерства здравоохранения РФ № 572 «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология» первичный осмотр, а также динамическое наблюдение молочных желез пациенток в отсутствие явных признаков злокачественных новообразований входит в обязанности врачей акушеров-гинекологов.

Основные критерии для включения пациентов в группы риска с целью проведения генетических исследований на мутации в генах *BRCA1/2*:

- ❖ онкологически отягощенный семейный анамнез (два и более случая РМЖ/РЯ в семье у родственников I и II линии родства);
- ❖ РМЖ в молодом возрасте (до 45 лет);
- ❖ двусторонний (синхронный, метакронный) РМЖ;
- ❖ первично-множественные злокачественные новообразования, в т.ч. сочетание РМЖ и РЯ;
- ❖ рак яичников, фаллопиевых труб, метастатические поражения брюшины в любом возрасте;
- ❖ рак молочной железы у мужчин в личном и семейном анамнезе;
- ❖ морфологические особенности РМЖ: трижды негативные опухоли (ER-, PR-, HER2/neu-) и медуллярный РМЖ.

Технология анализа генетических полиморфизмов (single nucleotide polymorphisms – SNPs)

В случае возникновения замены в нуклеотидной последовательности ДНК возможно обнаружение трех вариантов генотипа: гомозиготы с исходной последовательностью нуклеотидов, гетерозиготы и гомозиготы с заменой в последовательности нуклеотидов.

Технология **ПЦР с анализом кривых плавления** дает возможность идентифицировать фрагменты ДНК путем детекции изменений в уровне флуоресценции комплекса фрагмент-проба (меченный флуорофором олигонуклеотидный зонд) на этапе его денатурации и последующего построения графика кривой плавления.

Технология включает следующие этапы:

- ❖ амплификация искомой последовательности ДНК;
- ❖ гибридизация ампликонов с олигонуклеотидами (пробами), мечеными флуорофорами;
- ❖ образование комплементарных и частично комплементарных дуплексов;
- ❖ плавление (денатурация) дуплексов;
- ❖ детекция флуоресценции с последующим построением и анализом кривых плавления.

Для определения нуклеотидной последовательности, образовавшейся в процессе амплификации, используют метод *примыкающих проб* (*kissing probes* или *резонансный перенос энергии*).

В его основе лежит использование двух типов олигонуклеотидов (*проб*), гибридизующихся на матрицу при низкой температуре в непосредственной близости друг от друга. Один из олигонуклеотидов метят флуоресцентным донором, другой – акцептором (гасителем). Идентификация нуклеотидной последовательности образца осуществляется в процессе *плавления дуплексов* (результат гибридизации фрагментов ДНК и олигонуклеотидных зондов), которое происходит при последовательном увеличении температуры реакционной смеси.

Преимуществом данного подхода является *использование специфических флуорофоров*, снижающих риск детектирования неспецифических продуктов амплификации, как при использовании интеркалирующих красителей.

Компания «ДНК-Технология» предлагает уникальную технологию выявления и идентификации SNP методом ПЦР с анализом кривых плавления.

Преимуществами данной технологии являются:

- ❖ **Использование Taq-полимеразы, блокированной специфическими антителами**, на этапе амплификации искомого участка ДНК с праймерами, общими для обоих вариантов последовательности:
 - реализация «горячего старта» без применения парафина;
 - предотвращение неспецифического отжига праймеров;
 - повышение чувствительности комплектов реагентов.
- ❖ Для повышения надежности типирования компания «ДНК-Технология» использует **модификацию метода примыкающих проб**:
 - сиквенс-специфичные типизирующие олигонуклеотиды;
 - одновременная гибридизация с двумя альтернативными типизирующими зондами, мечеными различными флуорофорами, что позволяет определять оба варианта искомой последовательности в одной пробирке в отличие от систем с интеркалирующими красителями, где для определения одного SNP необходимо использовать две пробирки для разделения аллельных вариантов.
- ❖ **Автоматическое генотипирование и интерпретация результатов в режиме реального времени** с использованием специализированного программного обеспечения.
- ❖ **Возможность визуальной интерпретации результатов** за счет определения разницы температуры плавления не менее 4–5 °С для аллельных вариантов одного гена.

На основании этих исследований компания «ДНК-Технология» разработала набор реагентов для определения генетических полиморфизмов, ассоциированных с риском развития рака молочной железы, методом ПЦР в режиме реального времени («ОнкоГенетика BRCA»).

Технические характеристики и состав набора реагентов:

Количество тестов в наборе	48 тестов
Формат реагентов	Не раскапанный по пробиркам
Тaq-АТ-полимераза	1 пробирка (192 мкл)
Масло минеральное	1 флакон (7,68 мл)
ПЦР-буфер	1 флакон (3,84 мл)
Определяемые полиморфизмы	1 пробирка BRCA1: 185delAG – 960 мкл 1 пробирка BRCA1: 4153delA – 960 мкл 1 пробирка BRCA1: 5382insC – 960 мкл 1 пробирка BRCA1: 3819delGTAAA – 960 мкл 1 пробирка BRCA1: 3875delGTCT – 960 мкл 1 пробирка BRCA1: 300T>G – 960 мкл 1 пробирка BRCA1: 2080delA – 960 мкл 1 пробирка BRCA2: 6174delT – 960 мкл
К+1 (гомозиготный по нормальному аллелю)	1 пробирка (по 270 мкл)
К+2 (гетерозиготный)	1 пробирка (по 270 мкл)
Материал для анализа	Цельная кровь
Срок годности	6 месяцев
Температура хранения	+2... +8 °С -20 °С (для Таq-АТ-полимеразы)

Технология:

- ПЦР-плавление;
- использование других технологических платформ не допускается.

Реагенты для выделения ДНК:

- ПРОБА-РАПИД-ГЕНЕТИКА;
- ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА.

Минимальное количество ДНК для анализа:

1,0 нг на амплификационную пробирку.

Дополнительные реагенты:

реагенты для контроля качества ДНК (КВМ) – для детектирующего амплификатора ДТ-322.

Для проведения анализа необходимы следующие расходные материалы и оборудование:

- микропробирки (или микропробирки в стрипах) объемом 0,2 мл для ПЦР-анализа, адаптированные для работы с термоциклером в режиме реального времени;
- штатив и насадка на микроцентрифугу (вортекс) для стрипованного пластика.

Преимущества использования набора реагентов для определения генетических полиморфизмов, ассоциированных с риском развития рака молочной железы, методом ПЦР в режиме реального времени:

- технологичность (стандартные методики ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени);
- высокая скорость (для определения генотипа пациента требуется не более суток);
- автоматическая выдача результатов (для приборов серии ДТ);
- низкая стоимость анализа;
- высокая чувствительность (технология позволяет достоверно отличать аллельные состояния гена друг от друга);
- одновременная детекция – в одной пробирке определяются два аллельных варианта гена;
- внутренний контроль (ВК) позволяет оценить количество ДНК в амплификационной пробирке и исключить ошибки генотипирования;
- наличие положительных контрольных образцов в составе комплекта позволяет лаборатории проводить дополнительный контроль качества исследования.

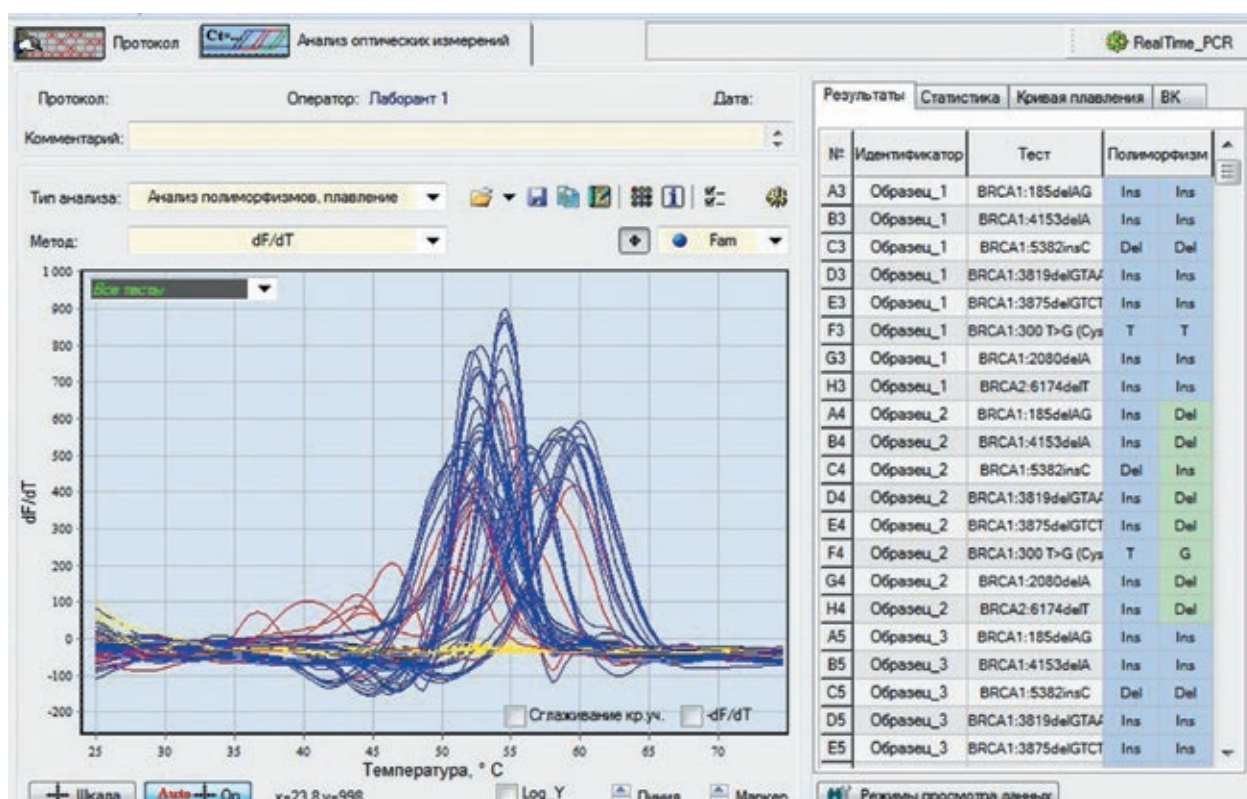
Оборудование, необходимое для проведения анализа

Набор реагентов предназначен для использования в лабораториях, оснащенных **детектирующими амплификаторами для ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени (приборы серии ДТ производства ООО «НПО ДНК-Технология»):** ДТлайт, ДТпрайм и ДТ-96 (для ДТ-322 функция контроля количества ДНК в каждой пробирке не поддерживается) (рис. 2).



Рис. 2. Приборы производства компании «ДНК-Технология»

Приборы **серии ДТ** оснащены специально разработанным русскоязычным программным обеспечением, поддерживающим **автоматическую** обработку данных и выдачу результатов исследования в удобной для интерпретации форме. Уникальные технические характеристики приборов позволяют сократить время амплификации до 1 часа 20 минут, а общее время проведения анализа до 2 часов 30 минут. Это значительно экономит время исследования и обеспечивает высокую пропускную способность лаборатории.



Кроме того, программа позволяет выдавать результаты в **удобной и наглядной форме** для анализа полученных данных врачами-клиницистами.

№	Наименование исследования	Генотип	Характеристика
1	BRCA1:185delAG (ген, ассоциированный с раком молочной железы 1)	Ins/Ins	Норма
2	BRCA1:4153delA (ген, ассоциированный с раком молочной железы 1)	Ins/Ins	Норма
3	BRCA1:5382insC (ген, ассоциированный с раком молочной железы 1)	Del/Del	Норма
4	BRCA1:3819delGTAAA (ген, ассоциированный с раком молочной железы 1)	Ins/Del	требуется внимания
5	BRCA1:3875delGTCT (ген, ассоциированный с раком молочной железы 1)	Ins/Ins	Норма
6	BRCA1:300 T>G (Cys61Gly) (ген, ассоциированный с раком молочной железы 1)	T/T	Норма
7	BRCA1:2080delA (ген, ассоциированный с раком молочной железы 1)	Ins/Ins	Норма
8	BRCA2:6174delT (ген, ассоциированный с раком молочной железы 2)	Ins/Ins	Норма

Заключение:

Обнаружена делеция 3819delGTAAA в гене BRCA1 в гетерозиготном состоянии.

Мутаций в гене BRCA1 (185delAG, 4153delA, 5382insC, 3875delGTCT, 300 T>G (Cys61Gly), 2080delA, BRCA2(6174delT)) не обнаружено.

Необходимо обратиться к врачу маммологу-онкологу или в специализированные онкологические центры для выбора индивидуальной схемы наблюдения и лечения.

NB! При обнаружении мутаций необходимо обратиться к врачу онкологу-маммологу или в специализированные онкологические центры, где будет назначено профилактическое лечение, форма которого зависит от возраста пациента и клинической ситуации.

Порядок дальнейшего наблюдения носителей мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2*, в том числе здоровых (регламентировано национальными руководствами в странах Западной Европы [10] и США [11]):

- самообследование молочных желез – 1 раз в месяц с 18 лет;
- консультации гинеколога и маммолога – 1 раз в 6-12 месяцев с 18 лет;
- маммография в сочетании с МРТ молочных желез – 1 раз в год с 25 лет (или иного возраста с учетом семейного анамнеза);
- трансвагинальное УЗИ органов малого таза – 1 раз в 6 месяцев с 30 лет (или иного возраста с учетом семейного анамнеза);
- определение уровня ассоциированного с РЯ сывороточного антигена СА-125.

Дополнительные исследования:

- ультразвуковая компьютерная томография (УЗКТ) молочных желез – 1 раз в год с 25 лет;
- определение уровня антигена СА-15-3 (маркера рака молочной железы) – 1 раз в 6 месяцев с 25 лет.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ferlay J. et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012 // *Int J Cancer*. – 2015. – Vol. 136. – № 5. – P. 359-386.
2. Любченко Л. Н., Батенева Е. И. Медико-генетическое консультирование и ДНК-диагностика при наследственной предрасположенности к раку молочной железы и раку яичников. – М.: ФГБНУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина, 2014.
3. Prat J., Ribé A., Gallardo A. Hereditary ovarian cancer // *Hum Pathol*. – 2005. – Vol. 36. – № 8. – P. 861-870.
4. Easton D. F. et al. Genetic linkage analysis in familial breast and ovarian cancer: results from 214 families. The Breast Cancer Linkage Consortium // *Am J Hum Genet*. – 1993. – Vol. 52. – № 4. – P. 678-701.
5. Любченко Л. Н. Наследственный рак молочной железы и/или яичников: ДНК-диагностика, индивидуальный прогноз, лечение и профилактика: дисс. ... д-ра мед. наук. – М., 2009.
6. Dogan A. L. Biology and Genetics of Breast Cancer // *Breast Disease*. – Springer International Publishing, 2016. – С. 145-160.
7. Gelmon K. et al. Targeting triple-negative breast cancer: optimising therapeutic outcomes // *Ann Oncol*. – 2012. – Vol. 23. – № 9. – P. 2223-2234.
8. Oza A. M. et al. Olaparib combined with chemotherapy for recurrent platinum-sensitive ovarian cancer: a randomised phase 2 trial // *Lancet Oncol*. – 2015. – Vol. 16. – № 1. – P. 87-89.
9. Батенева Е. И., Кадочникова В. В. и др. Обоснование состава диагностической панели для генетического тестирования больных раком молочной железы и/или раком яичников: спектр частых мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* в российской популяции // *Медицинская генетика*. – 2013. – Т. 12. – № 7. – С. 26-31.
10. Balmana J. et al. BRCA in breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines // *Ann Oncol*. – 2011. – Suppl 6: v. 31-4.
11. Maradiegue A., Edwards Q. T. An overview of ethnicity and assessment of family history in primary care settings // *J Am Acad Nurse Pract*. – 2006. – Vol. 18. – № 10. – P. 447-456.



Контакты офиса:

ООО «ДНК-Технология» Адрес: Москва, Варшавское шоссе, д. 125 Ж, корп. 6
Тел./факс: (495) 980-45-55 www.dna-technology.ru, mail@dna-technology.ru

Телефон горячей линии:

8 800 200-75-15 (звонок по России бесплатный)