

СУСПИЦЫН
Евгений Николаевич

**МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ,
АССОЦИИРОВАННЫХ С ПОВЫШЕННЫМ РИСКОМ ВОЗНИКНОВЕНИЯ
ОПУХОЛЕЙ**

3.1.6 – онкология, лучевая терапия
1.5.7 – генетика

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный консультант:

член-корреспондент Российской академии наук, доктор медицинских наук, профессор
Имянитов Евгений Наумович

Официальные оппоненты:

Кушлинский Николай Евгеньевич – доктор медицинских наук, академик РАН, профессор, лауреат Государственной премии, заведующий лабораторией клинической биохимии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Москва)

Орлов Сергей Викторович – доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, профессор, директор федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии» (Сочи)

Цуканов Алексей Сергеевич – доктор медицинских наук, руководитель отдела лабораторной генетики федерального государственного бюджетного образовательного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Москва)

Ведущее учреждение:

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации (Москва)

Защита диссертации состоится « ____ » _____ 2022 года в ____ часов на заседании диссертационного совета 21.1.033.01 при ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (197758, Санкт-Петербург, п. Песочный, ул. Ленинградская, д. 68). С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (197758, Санкт-Петербург, п. Песочный, ул. Ленинградская, д. 68) и на сайте <http://www/niiioncologii.ru>. Автореферат разослан « ____ » _____ 2022 года.

Учёный секретарь
диссертационного совета 21.1.033.01,
доктор медицинских наук

Филатова Лариса Валентиновна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Диагностика наследственных заболеваний представляет существенную медицинскую и общественную проблему. Большинство болезней генетической природы являются редкими (орфанными) состояниями, характеризующимися низкой встречаемостью, хроническим течением и наносящими существенный вред здоровью пациентов. Согласно современным представлениям, общее число нозологических форм орфанных заболеваний составляет не менее 6000–8000 [Forman et al., 2012]. Генетические болезни вносят существенный вклад в общую картину заболеваемости: считается, что в совокупности ими страдает около 6–8% населения планеты [Haendel et al., 2020]. В России число пациентов, страдающих наследственными патологиями, достигает 8–11 миллионов человек [Volgina and Sokolov, 2021].

Новообразования входят в спектр клинических проявлений многих орфанных заболеваний, нередко являясь единственной и главной проблемой. К наиболее частым опухолевым синдромам относят наследственный рак молочной железы и яичников, а также наследственный неполипозный рак толстой кишки (синдром Линча (СЛ)) [Yurgelun and Hampel, 2018]. Помимо «классических» наследственных опухолевых синдромов, в перечень орфанных заболеваний включено немало количество других нозологий, при которых для больных характерен очень высокий риск развития солидных или гематологических новообразований. Эта группа представляет особый интерес: поскольку обычно первоочередное внимание врачей обращено на другие симптомы (выраженная предрасположенность к инфекциям, отставание в физическом развитии, дизморфии и т.д.), необходимость онкологической настороженности в отношении таких больных далеко не всегда очевидна [Кузьменко, Щербина, 2017].

ДНК-диагностика играет ключевую роль в выявлении заболеваний, ассоциированных с наследственной предрасположенностью к опухолям. Многим болезням этой группы свойственна высокая локусная гетерогенность; в подобных случаях использование технологий высокопроизводительного секвенирования нового поколения имеет ряд преимуществ перед исследованием отдельных генов. Следует отметить, что спектр мутаций, ответственных за развитие болезней генетической природы, в том числе и опухолевых синдромов, может существенно отличаться в разных этнических группах, что неизбежно влияет на алгоритм диагностики. Таким образом, выявление региональных молекулярно-генетических особенностей наследственных опухолевых синдромов и смежных патологий крайне актуально с практической точки зрения.

Степень разработанности темы

Известно, что подавляющее большинство новообразований у человека возникает спорадически, по мере критического накопления мутаций в соматических клетках. В то же время не менее 5–10% опухолей развивается на фоне наличия у пациентов наследственных дефектов, передающихся из поколения в поколение в соответствии с законами Менделя. Наряду с изучением «молекулярного портрета» опухоли, в современной онкологии все чаще рекомендуется поиск наследственных мутаций, обуславливающих высокий риск развития новообразований. Появление методов высокопроизводительного секвенирования (таргетные панели, экзомное и геномное секвенирование) существенно упрощает задачу диагностики этой группы болезней. Однако рутинное применение подобных методов ограничивается высокой стоимостью, трудоемкостью и длительностью получения результатов.

В отношении «изолированных» наследственных опухолевых синдромов, манифестирующих преимущественно у взрослых, эффективным способом выявления мутаций является таргетное секвенирование, поскольку гены и связанные с ними фенотипы достаточно хорошо известны. В то же время существует ряд редких

заболеваний, проявляющихся в детском возрасте, для которых типична значительная предрасположенность к развитию опухолей [Кулева и соавт., 2012; Кулева и Имянитов, 2017]. Диагностика такого рода синдромов в онкологической практике более сложна, т.к. возникающие опухоли не всегда имеют специфические клинико-морфологические черты, а другие проявления заболевания (дизморфии, уязвимость к инфекциям, кожные пигментации и т.д.) часто остаются «за кадром». По-видимому, минимум 15–25% опухолей детского возраста возникает на фоне наследственных мутаций в генах, связанных с теми или иными генетическими синдромами [Burgjalsen et al., 2020; Sylvester et al., 2022]. Это свидетельствует о необходимости более внимательного подхода к диагностике наследственных заболеваний у детей с новообразованиями. При этом показательно, что генетический анализ выявляет широкий спектр синдромов – от хромосомных заболеваний и дефектов ДНК-репарации до факоматозов и первичных иммунодефицитов.

В отличие от многофакторных заболеваний, которые диагностируются в разных странах мира с сопоставимой частотой, встречаемость орфанных болезней подвержена значимым географическим и этническим вариациям. Описание генетического груза популяций, включая обнаружение частых патогенных вариантов, может иметь большую практическую ценность, упрощая выявление причин наследственных заболеваний. Следует заметить, что, если генетика населения стран Европы и Северной Америки хорошо изучена, особенности многих других народов мира нуждаются в более тщательном исследовании. В России ведется активная работа по выяснению спектра генетических повреждений у представителей различных народов страны [Ginter et al., 2012; Зинченко и соавт., 2007; Zinchenko et al., 2020, 2021; Васильева и соавт., 2020; Kozina et al., 2020], однако, эти исследования далеки от завершения. Некоторые этнические группы характеризуются выраженным «эффектом основателя», что позволяет проводить эффективный скрининг наследственных заболеваний с помощью нескольких недорогих ПЦР-тестов. Например, в Финляндии два повторяющихся варианта гена *MLH1* ответственны за развитие более половины случаев синдрома Линча [Holmberg et al., 1998; Nyström-Lahti et al., 1995; Salovaara et al., 2000]. В славянских популяциях также выявлен ряд founder-вариантов, ассоциированных с моногенными заболеваниями, включая наследственные опухолевые синдромы [Eisensmith et al., 1995; Ivanova-Smolenskaya et al., 1999; Sokolenko et al., 2007; Yanus et al., 2019].

Опубликовано несколько работ, посвященных анализу генов репарации неспаренных оснований ДНК у российских пациентов с подозрением на синдром Линча [Maliaka et al., 1996; Moliaka et al., 1997; Цуканов и соавт., 2015; 2017; Шельгин и соавт., 2021], самая крупная из которых насчитывает около 60 пациентов [Шельгин и соавт., 2021]. Результаты этих исследований свидетельствуют о возможном существовании патогенных вариантов, встречающихся в России с повышенной частотой. Следует заметить, что информация о крупных перестройках генов репарации неспаренных оснований ДНК практически отсутствует.

Синдром Пейтца-Егерса (СПЕ) является очень редкой разновидностью наследственного полипоза ЖКТ. Количество случаев в публикациях, посвящённых молекулярно-генетическим исследованиям СПЕ, обычно не превышает нескольких десятков [Bennett et al., 2021; Wu et al., 2020]. Результаты работ, посвященных молекулярно-генетическим особенностям российских больных, пока не позволяют сделать выводов о характерном для нашей популяции спектре патогенных вариантов [Шельгин и соавт., 2016; Цуканов и соавт., 2017; Янова и соавт., 2022].

Изучению наследственных форм рака молочной железы (РМЖ) посвящено множество научных работ. 20–30% генетических дефектов в семьях с признаками наследственного РМЖ приходится на классические гены высокого риска РМЖ – *BRCA1* и *BRCA2* [Fackenthal and Olopade, 2007]; определенная доля случаев данного заболевания объясняется мутациями ряда других генов (*CHEK2*, *NBN*, *BARD1*, *PALB2*, *BRIP1*, *RAD50*,

RAD51C, *TP53*, *MRE11* и т.д.) [Vahteristo et al., 2002; Gorski et al., 2003; Rahman et al., 2007; Bartkova et al., 2008; Bogdanova et al., 2009; Fostira et al., 2020]. Однако даже в совокупности все известные на сегодня генетические детерминанты не могут объяснить и половины случаев РМЖ, имеющих признаки менделевского наследования [Olopade et al., 2008].

Несмотря на растущее внимание к проблеме туберозного склероза (ТС), число работ, содержащих систематические сведения о молекулярно-генетических характеристиках российских пациентов, по-прежнему невелико [Аношкин и др., 2018; Аношкин и др., 2020; Дорофеева и др., 2015]; кроме того, недостаточно внимания уделяется изучению взаимосвязи генотипа и фенотипа.

Отдельного внимания заслуживает тематика о повышении риска опухолей у пациентов с первичными иммунодефицитами (ПИД). Онкологические заболевания являются второй по значимости причиной смерти больных с ПИД, уступая только инфекциям [Mortaz et al., 2016]. В некоторых случаях онкологическое заболевание может стать одним из первых проявлений иммунодефицита. До 25% детей с первичными иммунодефицитами страдают злокачественными новообразованиями [Salavoura et al., 2008]. Кроме того, отмечается более ранний возраст манифестации опухолей, развивающихся на фоне ПИД [Jonkman-Berk et al., 2015; Mayor et al., 2018]. По данным отечественного регистра первичных иммунодефицитных состояний, злокачественные новообразования выявлены у 5,6% детей с ПИД; при этом, максимальная частота развития опухолей (48%) отмечалась у пациентов с дефектами репарации ДНК [Mukhina et al., 2018]. Своевременное установление диагноза ПИД позволяет уточнить объем профилактического наблюдения с целью раннего выявления новообразований, а также провести медико-генетическое консультирование семьи.

Цель исследования

Целью настоящего исследования является разработка молекулярно-генетических подходов к диагностике наследственных заболеваний, ассоциированных с высоким риском возникновения опухолей.

Задачи исследования

Для достижения поставленной цели сформулированы следующие задачи:

1. Проанализировать спектр молекулярно-генетических повреждений у российских пациентов с наследственным неполипозным раком толстой кишки (синдромом Линча).
2. Описать паттерн патогенных вариантов у российских пациентов с синдромом Пейтца-Егерса.
3. Выполнить исследование, направленное на поиск новых генетических детерминант наследственного рака молочной железы.
4. Проанализировать особенности опухолей молочной железы, возникающих у носительниц славянской мутации *BLM* p.Q548*.
5. Описать спектр молекулярно-генетических повреждений и особенности клинических проявлений заболевания у российских пациентов с туберозным склерозом.
6. Оценить возможности таргетного секвенирования в диагностике первичных иммунодефицитов (ПИД).
7. Проанализировать спектр патогенных вариантов гена *ATM* у российских пациентов с атаксией-телеангиэктазией.
8. Описать клинико-генетические особенности ПИД у российских пациентов.

Научная новизна исследования

- На большой группе больных охарактеризован спектр молекулярно-генетических повреждений в генах репарации неспаренных оснований ДНК, приводящих к развитию наследственного неполипозного рака толстой кишки (синдрома Линча). В отличие от наследственного рака молочной железы и яичников, для российских пациентов с синдромом Линча «эффект основателя» выражен лишь в незначительной степени. Впервые описана частота крупных перестроек генов *MLH1* и *MSH2*.
- Описан спектр молекулярно-генетических повреждений у российских пациентов с редкой разновидностью полипоза ЖКТ – синдромом Пейтца-Егерса. Установлена существенная частота крупных делеций гена *STK11*, что диктует необходимость включения метода MLPA в алгоритм ДНК-диагностики этого заболевания.
- Обнаружена новая «славянская» founder-мутация *BLM* с.1642C>T (p.Q548*), встречающаяся в российской популяции с существенной частотой и многократно повышающая риск развития рака молочной железы. Продемонстрировано, что опухоли молочной железы, возникающие у носительниц дефекта *BLM*, развиваются по механизму гаплонедостаточности.
- Охарактеризован спектр патогенных вариантов, приводящих к развитию туберозного склероза. Установлено, что российские пациенты с туберозным склерозом обладают рядом особенностей: в частности, наблюдается абсолютное преобладание спорадических форм заболевания над семейными, а также отмечается высокая частота крупных перестроек гена *TSC2*. Пациенты, у которых не было выявлено мутаций *TSC1* и *TSC2*, представляют собой особую группу в отношении клинических признаков заболевания.
- Впервые проведено крупное систематическое исследование, посвященное поиску генетических факторов предрасположенности к рекуррентным инфекциям у российских пациентов; выявлен широкий спектр дефектов различных звеньев иммунной системы. Продемонстрированы возможности таргетного мультигенного секвенирования в диагностике первичных иммунодефицитов: установлено, что применение данного подхода позволяет выявить причину заболевания у 18% детей с явными клиническими признаками иммунной недостаточности и в 21% случаев, соответствующих критериям Jeffrey Modell Foundation (JMF).
- Проведено систематическое исследование молекулярно-генетических особенностей российских пациентов с атаксией-телеангиэктазией. Биаллельные мутации гена *ATM* обнаружены у всех 17 пациентов с клиническим диагнозом этого заболевания. При этом 17 из 30 патогенных аллелей (57%) у больных славянского происхождения были представлены тремя вариантами (с.5932G>T, с.450_453delTTCT, с.1564_1565delGA), что свидетельствует о существовании в России выраженного «эффекта основателя» в отношении атаксии-телеангиэктазии.
- У российских больных с синдромом Блума описаны нетипичные клинические особенности (отсутствие характерной лицевой эритемы, вызванной инсоляцией), которые, по-видимому, являются причиной неэффективной диагностики этого заболевания у нас в стране.
- В рамках диссертационной работы получен патент на изобретение № RU2755538C1 от 17.09.2021 «Способ синтеза наборов олигонуклеотидов для ампликонного таргетного секвенирования», предлагающий новый экономичный способ целевого обогащения последовательностей ДНК с целью их дальнейшего анализа посредством высокопроизводительного секвенирования.

Теоретическая и практическая значимость работы

- Проведено исследование частоты и спектра мутаций, приводящих к развитию ряда наследственных опухолевых синдромов (синдром Линча, синдром Пейтца-Егерса, наследственный рак молочной железы) у российских пациентов.

- Обнаружение повторяющихся founder-вариантов позволит упростить и удешевить процесс ДНК-диагностики наследственного рака молочной железы, синдрома Блума и атаксии-телеангиэктазии у нас в стране.
- Установлено, что пациенты с подозрением на туберозный склероз, у которых не было выявлено мутаций *TSC1* и *TSC2*, представляют собой особую группу в отношении клинических проявлений заболевания.
- Разработаны критерии отбора пациентов с рекуррентными инфекциями для генетического исследования, позволяющие повысить эффективность выявления патогенных мутаций в генах системы иммунитета.
- Создана и апробирована таргетная мультигенная панель, направленная на ДНК-диагностику большинства известных на данный момент нозологических форм первичных иммунодефицитов.
- Описано существование нетипичной клинической картины синдрома Блума (отсутствие характерной лицевой эритемы). Это наблюдение свидетельствует о целесообразности поиска мутаций в гене *BLM* у пациентов с сочетанием низкорослости и инфекционных проявлений.

Методология и методы исследования

Настоящее исследование основано на проспективном и ретроспективном изучении молекулярно-генетических и клинических характеристик пациентов с рядом редких заболеваний из группы наследственных опухолевых синдромов (синдром Линча, синдром Пейтца-Егерса), факоматозов (туберозный склероз), дефектов ДНК-репарации (синдром Блума, атаксия-телеангиэктазия), первичных иммунодефицитных состояний.

Основными методами исследования являлись секвенирование по Сэнгеру, множественная лигазозависимая амплификация зондов (MLPA), а также разновидности высокопроизводительного секвенирования нового поколения (NGS): таргетное и полноэкзомное секвенирование.

Полученные в ходе исследования данные подвергались статистическому анализу, а обобщённые результаты сопоставлялись с результатами, представленными в научной литературе.

Положения, выносимые на защиту

1. Исследование пациентов с клиническими признаками наследственного неполипозного рака толстой кишки (синдрома Линча) и наличием феномена микросателлитной нестабильности в опухолевой ткани позволяет выявить наследственные дефекты в генах репарации неспаренных оснований ДНК в 72% случаев.
2. Таргетное высокопроизводительное секвенирование в комбинации с MLPA является наиболее эффективным способом выявления мутаций в генах mismatch-репарации.
3. Наличие повторяющихся патогенных вариантов *STK11* нехарактерно для российских пациентов с синдромом Пейтца-Егерса.
4. Носительство славянской мутации *BLM* p.Q548* многократно повышает риск развития рака молочной железы. Карциномы молочной железы, развивающиеся у носительниц мутации *BLM*, отличаются сохранностью гетерозиготности в отношении данного гена.
5. У российских пациентов с туберозным склерозом наблюдается ряд особенностей в отношении клинических признаков и спектра мутаций *TSC1* и *TSC2*.
6. Таргетное высокопроизводительное секвенирование позволяет установить диагноз первичного иммунодефицита у 22% пациентов с подозрением на наличие этого состояния.
7. Для российских больных характерно наличие рекуррентных патогенных вариантов, ассоциированных с развитием атаксии-телеангиэктазии и синдрома Блума.

Степень достоверности и апробация результатов

Результаты диссертационного исследования достоверны и обоснованы, что обеспечивается достаточным числом исследованных пациентов, использованием современных методов молекулярно-генетического тестирования, применением адекватных подходов к статистическому анализу полученных данных. Основу работы составляют результаты исследования 5500 пациентов и 2184 здоровых доноров.

Материалы диссертации представлены на онкологическом форуме «Белые ночи» (Санкт-Петербург, 2015, 2016, 2020), IV международной научно-практической конференции «Постгеномные методы анализа в биологии, лабораторной и клинической медицине» (Казань, 2014), V Съезде биохимиков России (Сочи, 2016), XVI Всероссийском научном форуме с международным участием им. академика В.И. Иоффе «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге 2017», конгрессе с международным участием "Здоровые дети – будущее страны", 2017 (Санкт-Петербург), V международной конференции «Постгеном 2018: поисках моделей персонализированной медицины» (Казань, 2018), международных конференциях Европейского общества генетиков человека (ESHG) 2011 (Амстердам, Нидерланды), 2013 (Париж, Франция), 2014 (Милан, Италия), 2016 (Барселона, Испания), 2017 (Копенгаген, Дания), 2019 (Гётеборг, Швеция), 2020 и 2021 (online), 10th Biannual Meeting of the International Society of Systemic Auto-Inflammatory Diseases (ISSAID), 2019, (Генуя, Италия), 19th Biennial Meeting of European Society for Immunodeficiency (ESID), 2020 (online).

Основные диссертационные разработки применяются при диагностике больных в Федеральном государственном бюджетном учреждении "Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Результаты исследования используются при проведении лекций и практических занятий со слушателями, клиническими ординаторами, аспирантами ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, а также на кафедре общей и молекулярной медицинской генетики ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России. Подготовлено методическое пособие по редким заболеваниям, предназначенное для врачей и учащихся медицинских ВУЗов.

Материалы диссертации отражены в 52 опубликованных работах, в том числе в 48 статьях в журналах из Перечня ВАК РФ. 22 работы опубликованы в изданиях, принадлежащих к квартилю Q1. Кроме того, опубликовано 82 тезиса отечественных и международных конференций. Получен 1 патент Российской Федерации на изобретение.

Внедрение результатов

Результаты исследования и разработанные диагностические методики внедрены в практическую деятельность лаборатории молекулярной онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (акт внедрения от 27.07.2022). Материалы диссертации используются в учебном процессе кафедры общей и молекулярной медицинской генетики ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России.

Личное участие автора в получении результатов

Все основные этапы диссертационного исследования, включая создание регистра пациентов, обработку данных историй болезни и результатов высокопроизводительного секвенирования, а также обобщение полученных результатов, выполнены автором лично. Пациенты, имеющие фенотипические особенности, лично осмотрены автором на консультациях в качестве врача-генетика. Непосредственно автором сформулированы цель, задачи и рабочие гипотезы, научно обоснованы выводы и практические рекомендации.

Самостоятельно выполнены анализ отечественной и зарубежной литературы по теме работы, лабораторные исследования, а также статистическая обработка полученных результатов. Молекулярно-генетический анализ (таргетное и экзомное секвенирование нового поколения) выполнен совместно с коллективом научной лаборатории молекулярной онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационная работа соответствует паспорту специальностей 3.1.6. - Онкология, лучевая терапия, 1.5.7. – Генетика (медицинские науки).

Структура и объём диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы и приложения. Текст изложен на 277 страницах, иллюстрирован 24 таблицами и 9 рисунками. Список литературы включает 483 источника, в том числе 60 опубликованных отечественными и 423 – зарубежными авторами.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Общий план исследования отражен на Рис. 1.

Набор пациентов

Исследование включает образцы крови и/или опухолевой ткани 5500 пациентов и образцы крови 2184 здоровых доноров.

В исследование вошли пациенты с неполипозным раком толстой кишки или раком эндометрия ($n = 2889$), проходившие лечение или консультирование в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова в период 2013–2022 гг., возраст которых на момент диагноза составил 60 и менее лет.

Набор больных с подозрением на синдром Пейтца-Егерса проводился среди пациентов, получавших консультацию или лечение в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова в период 2016–2022 гг. В качестве критериев отбора использовалось сочетание двух или более гамартомных полипов ЖКТ и характерных меланоцитарных пигментаций на коже или слизистых. В исследование вошли 10 неродственных пациентов (4 мужского, 6 женского пола). Средний возраст на момент обследования составил 24 года (11–36 лет).

Пациентки с раком молочной железы ($n = 1498$; средний возраст на момент постановки диагноза 51 г.; возрастной диапазон 24–81 г.) проходили лечение в НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова (Санкт-Петербург). 879 случаев (средний возраст 54 года; 25–81 г.) относились к последовательно собранным в течение апреля 2001 г.–февраля 2002 г., марта 2003 г.–января 2004 г., июня 2006 г.–мая 2007 г. и марта 2008 г.–мая 2008 г. У 437 пациенток (49,7%) наблюдался как минимум один из клинических признаков предрасположенности к РМЖ (семейный анамнез, билатеральность поражения, возраст манифестации ≤ 50 лет). Образцы еще 451 пациентки (средний возраст 45,3 г.; 24–78 лет) были направлены в 2008–2010 гг. на генетическое тестирование ввиду наличия клинических признаков наследственного РМЖ, либо из-за личных опасений пациентки; 386 (85,6%) этих женщин имели вышеупомянутые признаки высокого риска РМЖ. Остальные 168 случаев (средний возраст: 51,2 г.; 26–80 лет) были собраны случайным образом; 101 (60,1%) из этих женщин имели отягощенный семейный анамнез, двустороннее поражение молочных желез или раннее начало РМЖ.

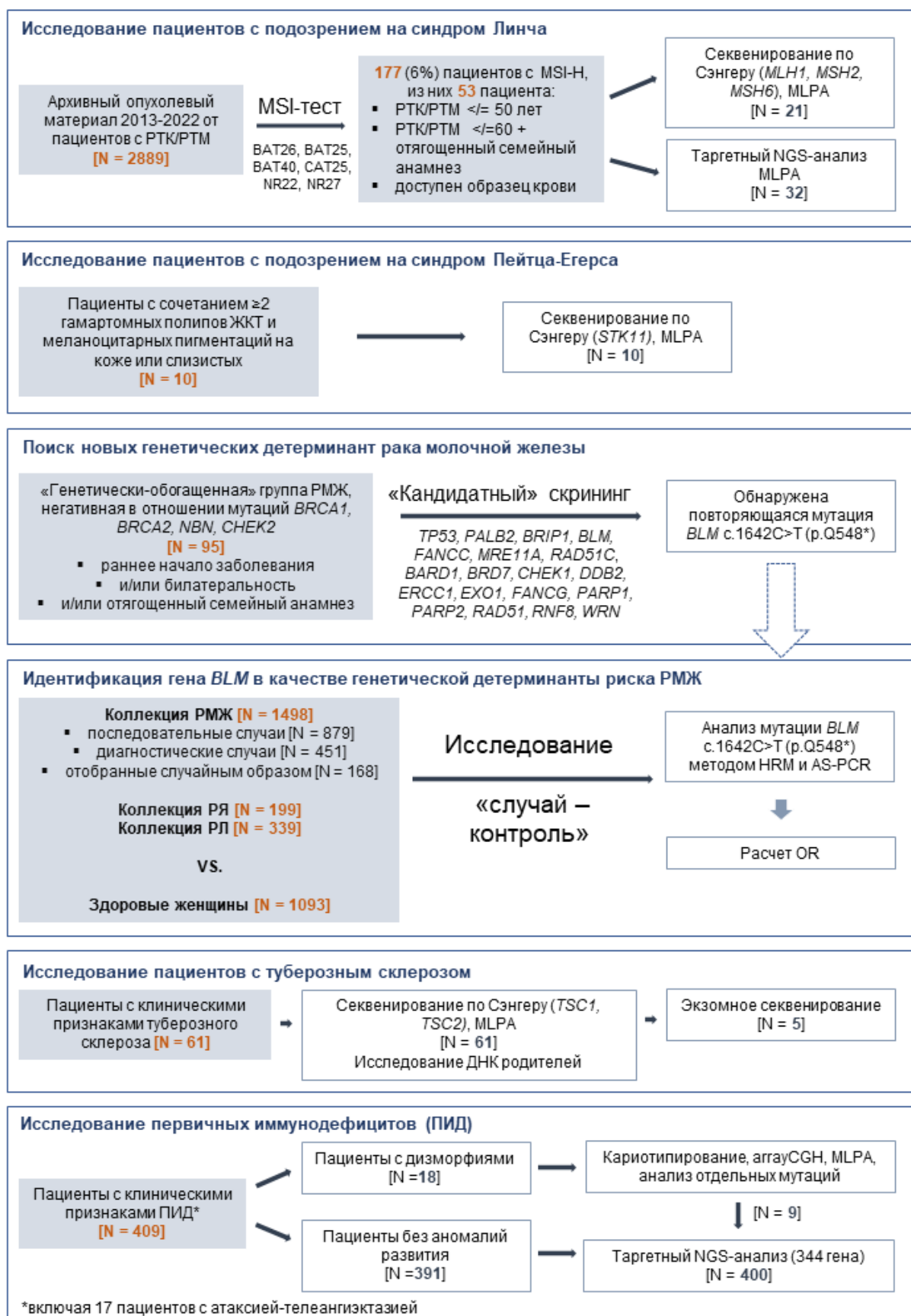


Рисунок 1. Общий план исследования

95 образцов РМЖ составили «генетически обогащенную» (high-risk) группу. В неё были включены пациентки (средний возраст 42 г.; 24–77 лет), имеющие явные клинические признаки генетической предрасположенности к РМЖ, однако негативные в отношении мутаций гена *BRCA1*, а также частых мутаций *CHEK2*, *NBS1/NBN* и *BRCA2*. Из этих женщин 43 (45%) имели один клинический признак наследственного РМЖ (раннее начало: $n = 29$; билатеральность поражения: $n = 14$). В 48 случаях (51%) была выявлена комбинация из двух клинических маркеров предрасположенности (раннее начало и пораженный родственник(и) первой степени родства: $n = 32$; билатеральность и пораженный родственник(и) первой степени: $n = 2$; билатеральность и раннее начало: $n = 14$); у четырех женщин (4%) наблюдалось сочетание всех трех признаков предрасположенности к РМЖ.

Кроме того, в исследовании приняли участие 199 пациенток с диагнозом «рак яичников» (средний возраст 53,4 г.; 18–82 г.) и 339 случаев с диагнозом «рак легких» (средний возраст 60,5 лет; 30–84 г.). В контрольную группу (онкологически здоровые) входили 1093 женщины (средний возраст 42,0 г.; 18–74 г.) и 1091 мужчина (средний возраст 36,4 г.; 18–74 г.); образцы крови были собраны в отделениях переливания крови НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова ($n = 744$) и городской больницы № 26 ($n = 1074$), а также в различных отделениях городской больницы № 2 ($n = 281$) и институте пульмонологии (Санкт-Петербург) ($n = 85$) в период с 1998 по 2011 гг.

В исследование были включены пациенты с клиническими признаками туберозного склероза ($n = 61$), в течение 2012–2016 гг. проходившие лечение в медицинских учреждениях Москвы, Санкт-Петербурга, Екатеринбурга и Уфы. Данные по большинству больных присутствовали в реестре пациентов с ТС, который поддерживается в Центре эпилептологии Национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова (Москва). 53 (87%) больных соответствовали критериям несомненного диагноза ТС, тогда как остальные 8 (13%) были классифицированы как случаи возможного ТС. Средний возраст пациентов составил 8,8 года (3 мес.–43 г.).

Пациенты с подозрением на атаксию-телеангиэктазию (17 больных из 16 семей) проходили обследование в течение 2016–2019 гг. 14 детей наблюдались на кафедре клинической иммунологии (Российская клиническая детская больница, Медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва); один пациент был госпитализирован в Первую детскую городскую больницу Санкт-Петербурга, а двое были направлены иммунологом консультационно-диагностического центра Санкт-Петербургского педиатрического университета.

Набор детей с рекуррентными инфекциями производился в 2016–2019 гг. в нескольких лечебных учреждениях Санкт-Петербурга (отделения гастроэнтерологии, эндокринологии и ревматологии СПбГПМУ, Консультационно-диагностический центр СПбГПМУ, отделение респираторных (капельных) инфекций и отделение нейроинфекций и органической патологии нервной системы НИИ детских инфекций, Детская городская больница №1) и Москвы (Российская детская клиническая больница). Изначально были проанализированы истории болезни 422 пациентов, однако, 25 больных были исключены вследствие различных причин (несоответствие критериям отбора, выписаны из ЛПУ и т.д.). К участию в исследовании были привлечены 397 пациентов, полностью соответствующих критериям отбора. Средний возраст пациентов на момент исследования составил 7,5 лет (2 мес.–18 лет).

Большинство пациентов оценивали свое этническое происхождение как «славянское» или «предположительно славянское». Во всех случаях от больных или их родителей/опекунов было получено информированное согласие на участие в исследовании. Проведение исследования одобрено протоколом ЛЭК ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (выписка №20/25 заседания №1 от 28.01.2020 г.).

Выделение ДНК

Экстракция ДНК из периферических лейкоцитов проводилась при помощи модифицированного соль-хлороформного метода [Mullenbach et al., 1989]. В качестве источника опухолевой ДНК использовались срезы фиксированных в формалине кусочков операционного материала, полученных из патоморфологического архива НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова. После мануальной диссекции, направленной на минимизацию примеси нормальных клеток, выделение ДНК осуществлялась как описано ранее [Yanus et al, 2013].

Секвенирование по Сэнгеру и аллель-специфическая ПЦР

Поиск мутаций в генах *TSC1*, *TSC2*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *STK11*, *BLM*, *TP53*, *PALB2*, *BRIPI*, *FANCC*, *MRE11A*, *RAD51C*, *BARD1*, *BRD7*, *CHEK1*, *DDB2*, *ERCC1*, *EXO1*, *FANCG*, *PARP1*, *PARP2*, *RAD51*, *RNF8*, *WRN*, а также отдельных экзонах гена *ATM*, осуществлялся с помощью высокоразрешающего анализа плавления ПЦР-фрагментов (High Resolution Melting, HRM), с использованием стандартных условий, описанных ранее [Sokolenko et al., 2015].

Повторяющийся патогенный вариант *MLH1* с.677G>T (p.Gln197Argfs*8) анализировали с посредством ПЦР в режиме реального времени с использованием проб TaqMan для аллельной дискриминации. Каждая реакция (конечный объем 20 мкл) содержала 1 мкл ДНК, 0,75 ед. ДНК-полимеразы, 1-кратный ПЦР-буфер (pH 8,3), 2,5 мМ MgCl₂, 200 мкМ dNTP, 0,3 мкМ праймеров (MLH1ex8_2F-AACCGTGGACTATATTCGCT и MLH1ex8_2R-ATGTGATGGAATGATAAACCAA) и проб TaqMan (MLH1R226R_FAM-ATCGACATACCGACTAACAGCATTT-BHQ и MLH1R226L_HEX-ATCGACATACCGAATAACAGCATTT-BHQ). Проводилось 45 циклов двухступенчатой амплификации (денатурация: 15 сек при 95⁰C; отжиг и синтез: 55 сек при 60⁰C). ПЦР и этап аллельной дискриминации осуществлялись на приборах CFX96 (BioRad). «Финскую» повторяющуюся мутацию (делецию экзона 16 гена *MLH1*) оценивали с помощью аллель-специфической ПЦР с использованием ранее описанных праймеров и условий реакции [Nyström-Lahti et al., 1995].

MLPA

Выявление крупных генных перестроек (делетий и дупликаций) было выполнено с помощью метода мультиплексной амплификации, зависимой от лигирования зондов (MLPA), с использованием коммерческих наборов компании MRC Holland в соответствии с протоколом производителя (<http://www.mlpa.com>). У пациентов с признаками туберозного склероза использовались наборы P124 (ген *TSC1*) и P046 (*TSC2*); в случаях подозрения на наличие дефекта *TSC2* проводилась дополнительная верификация с применением набора проб P337. Для поиска крупных перестроек генов *MLH1*, *MSH2* и *EPCAM* применялся набор P003-C1; для анализа гена *STK11* – набор P101. Пациентам с повышенным уровнем IgE MLPA проводилась с использованием набора проб P386 DOCK8-STAT3. Больным с подозрением на микроделеционные синдромы проводился MLPA-анализ 22 хромосомных локусов с использованием набора проб P245-B1. Для оценки копийности локуса *ATM* использовались зонды P041-ATM1 и P042-ATM2.

Высокопроизводительное таргетное секвенирование

Выбор генов для создания таргетной панели для диагностики первичных иммунодефицитов основывался на современной классификацией ПИД, предложенной в 2017 году Международным союзом иммунологических обществ (International Union of Immunological Societies, IUIS) [Picard et al, 2018]: туда вошли 344 гена, ассоциированные с 354 известными на тот момент иммунодефицитными состояниями.

Подбор зондов для целевого обогащения осуществлялся с использованием программы NimbleDesign (сейчас – HyperDesign (<https://www.hyperdesign.com/> (Roche))).

Подготовка ДНК-библиотек выполнялась с помощью набора Кара HyperPlus (Roche) по протоколу производителя; селективное обогащение по кодирующим последовательностям и экзон-интронным границам генов ПИД проводилось с помощью пользовательского набора биотинилированных зондов SeqCapEZ System (Roche). Секвенирование было выполнено на платформе MiSeq (Illumina, США) по 150 циклов в каждую сторону со средней глубиной 70–90X и эффективностью прочтения целевых последовательностей 98,8%. Алгоритм анализа включал выравнивание полученных фрагментов (alignment) на эталонный геном версии GRCh37 (hg19) с использованием программного обеспечения BWA 0.7.12, идентификацию вариантов с помощью инструмента HaplotypeCaller (GATK 3.3.0), фильтрацию по качеству с помощью инструментов bcftools 1.2 и аннотацию вариантов с использованием SnpEff4.1.

Потенциально значимые варианты генов ПИД были визуально проверены в геномном браузере Golden Helix Genome Browser 3.0.0; образцы, демонстрирующие относительно низкую глубину прочтения (менее чем 20X) и/или существенное отклонение соотношения между прочтениями («ридами») дикого типа и мутантными, подвергались верификации с помощью секвенирования по Сэнгеру. Интерпретация вариантов проводилась в соответствии с современными зарубежными и отечественными рекомендациями [Richards et al., 2015; Рыжкова et al., 2017].

Анализ крупных перестроек гена *ATM*, основанный на данных NGS, выполнялся с помощью программного обеспечения CNVkit и метода Amplicon [Talevich et al., 2014]. Файл формата bam пациента с подозрением на делецию сравнивался с референсным bam-файлом, содержащим данные, полученные от 25 пациентов без делеций или дупликаций локуса *ATM*; все данные были сгенерированы в одном запуске секвенатора.

Целевое обогащение в отношении генов основных наследственных опухолевых синдромов (*APC*, *ATM*, *BLM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CDH1*, *CDKN2A*, *CHEK2*, *FLCN*, *MAP2K1*, *MAX*, *MEN1*, *MET*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH3*, *MSH6*, *MUTYH*, *NBN*, *NF1*, *NF2*, *PALB2*, *PDGFRA*, *PMS2*, *POLD1*, *POLE*, *PTCH1*, *PTEN*, *RAD50*, *RAD51C*, *RAD51D*, *RBI*, *RET*, *SDHA*, *SDHAF2*, *SDHB*, *SDHC*, *SDHD*, *SMAD4*, *STK11*, *TMEM127*, *TP53*, *TSC1*, *TSC2*, *VHL*, *WRN*) осуществлялось с помощью коммерческого набора HEAT-Seq Choice (Roche) и основывалось на использовании разновидности молекулярных инверсионных проб (HeatSeq Probes). Секвенирование проводилось на платформе MiSeq (Illumina, США) со средней глубиной прочтения не менее 150X и эффективностью прочтения целевых последовательностей 99,2%. Алгоритм биоинформатической обработки, приоритизации и интерпретации вариантов аналогичен описанному выше.

Полноэкзомное секвенирование

Образцы ДНК больных без выявленных мутаций *TSC1/2* подвергали полноэкзомному секвенированию (WES) на платформе NextSeq500 (Illumina) с 50-кратным покрытием. На этапе пробоподготовки и экзомного обогащения использовались коммерческие наборы Nextera Exome Enrichment Kit (Illumina, USA); ДНК-библиотеки готовили по протоколам производителя; процедура обогащения включала два раунда гибридизации ДНК с биотинилированными зондами, комплементарными экзонам. Заявленный производителем размер покрытия генома составлял 37 Мб и включал 214405 экзонов (98,3% последовательностей в базе Refseq). Аккуратность секвенирования оценивалась по количеству ридов (прочтений) с высоким показателем качества (Phred Quality Score, или Q score).

Алгоритм обработки данных секвенирования был идентичен описанному выше для таргетного анализа.

Аннотация идентифицированных вариантов проводилась с использованием ресурса Annovar (<http://www.openbioinformatics.org/annovar/>). Полученный в результате файл в формате .txt послужил основой для дальнейшей фильтрации вариантов (наименование локуса, эффект мутации, частоты в базах данных полиморфизмов, показатель

патогенности *in silico* – CADD score, генотип, глубину прочтения и др.). Все варианты, отобранные для верификации, подвергнуты визуальной проверке в геномном браузере.

Анализ потерь гетерозиготности

Потерю гетерозиготности (Loss-of-heterozygosity, LOH) в локусе *BLM* оценивали с помощью аллель-специфической ПЦР в режиме реального времени с применением флуоресцентного красителя SYBR Green. Для амплификации использованы праймеры 5'-ATGACTTAGAAAGAGAAACCC-3' (аллель дикого типа), 5'-ATGACTTAGAAAGAGAAACT-3' (мутированный аллель) и 5'-TGATGGGTTGATAGGCC-3' (общий обратный праймер). Значения циклов, на которых кривая амплификации приобретала экспоненциальный характер (Ct), сравнивались в опухолевом образце и ДНК нормальных клеток пациента; увеличение соотношения Ct между аллелем дикого типа и мутантной копией гена (delta Ct) свидетельствовало о наличии феномена потери гетерозиготности.

Анализ микросателлитной нестабильности

Наличие феномена микросателлитной нестабильности (MSI-H) в опухолевых клетках оценивали с использованием ПЦР-амплификации квазимономорфных маркеров BAT26, BAT25, BAT40, CAT25, NR22, NR27 с последующим гель-электрофорезом как описано ранее [Yanus et al., 2013].

Иммуногистохимическое окрашивание

Иммуногистохимическую оценку опухолей проводили с помощью наборов реагентов компании Novocastra (Newcastle on Tyne, UK): антитела к ER (клон 6F11), PR (клон 16) и EGFR (клон 25) и DAKO (Carpinteria, CA): антитела к HER2 (HercepTest) и CK 5/6 (клон D5/16 B4). Экспрессия белков репарации неспаренных оснований ДНК оценивалась с применением коммерческих антител MLH1 (ES05, Novocastra Leica), MSH2 (25D12, DBS), MSH6 (EPR3945, Abcam) и PMS2 (MOR4G, Novocastra Leica). Классификация опухолей на экспрессионные подтипы с учетом иммуногистохимических паттернов выполнялась как описано ранее [Russnes et al., 2011].

Статистическая обработка данных

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программного обеспечения SPSS Version 17. Для сравнения малых групп использовался точный тест Фишера. Все различия считались достоверными при доверительной вероятности не менее 95% (уровень значимости $p < 0.05$). Корректировка множественных сравнений осуществлялась с помощью поправки Бонферрони. Для мета-анализа данных, полученных в различных публикациях, использовался метод Mantel-Haenzel.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследование пациентов с подозрением на синдром Линча

Алгоритм исследования представлен на Рис. 2. Феномен микросателлитной нестабильности (MSI-H) был выявлен в 177 из 2889 образцов опухолевой ткани (6%), включая 161 случай рака толстой кишки (РТК) и 16 случаев рака тела матки (РТМ). Отбор пациентов для дальнейшего исследования осуществлялся по следующим критериям:

- возраст манифестации ≤ 50 лет с наличием семейного анамнеза, отягощенного в отношении опухолей спектра синдрома Линча или без такового.
- возраст манифестации ≤ 60 лет в сочетании с наличием семейного анамнеза, отягощенного в отношении опухолей спектра синдрома Линча.
- наличие феномена микросателлитной нестабильности в опухолевой ткани.
- наличие образца лейкоцитарной ДНК.

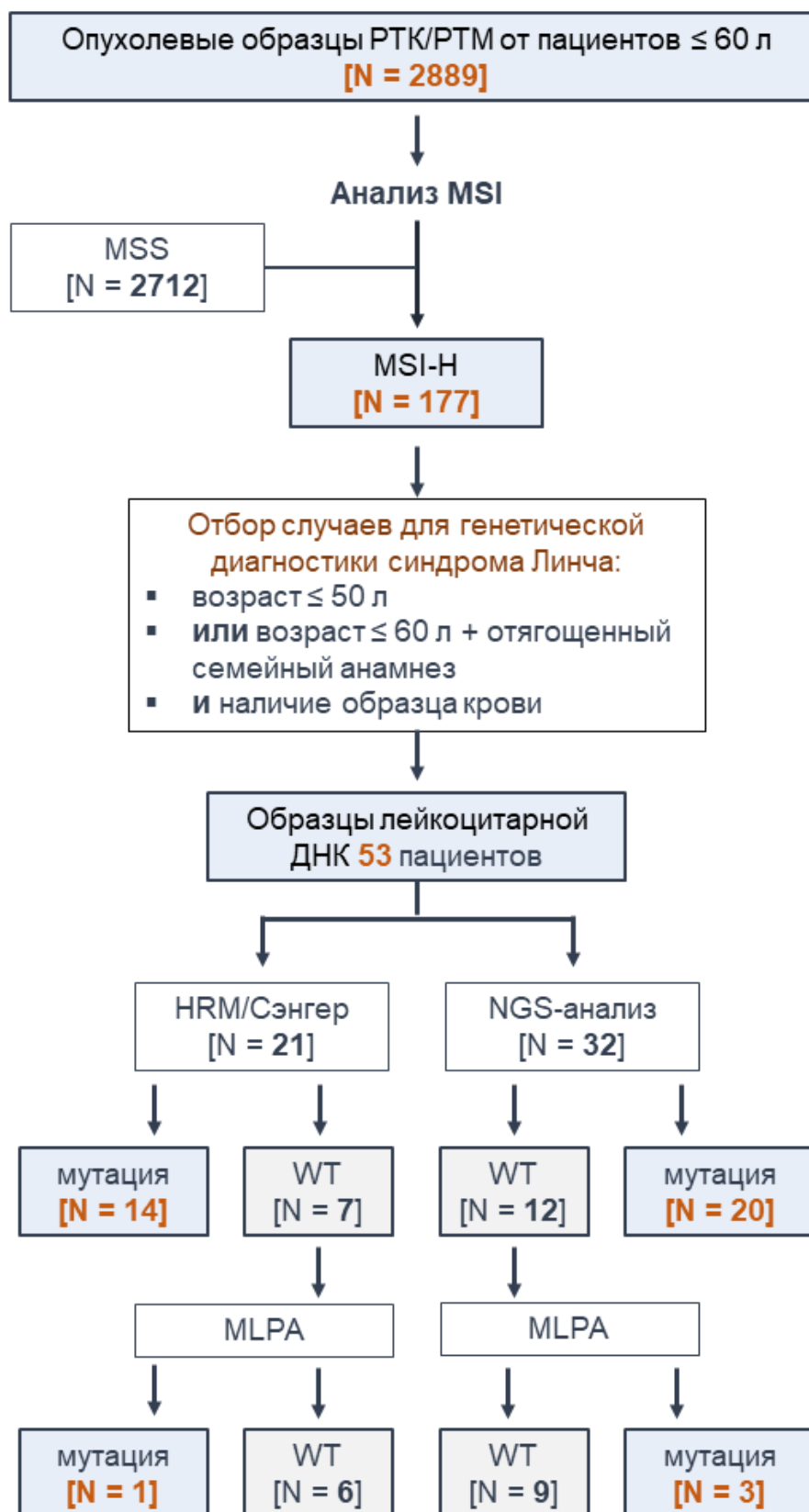


Рисунок 2. Алгоритм поиска мутаций у пациента с признаками синдрома Линча (СЛ). MSI-H – наличие микросателлитной нестабильности; MSS – стабильность микросателлитных повторов; WT – мутации не найдены.

Больные (n = 53) были условно разделены на две группы, в которых применялись разные алгоритмы ДНК-диагностики. В первую группу вошли пациенты (n = 21; 13 мужчин, 8 женщин) с раком толстой кишки (РТК), проходивших обследование в 2013–2018 гг. Средний возраст больных составил 39,9 лет (14–59 лет). Группа включала 19 случаев РТК, и два случая первично-множественного рака (сочетание РТК и астроцитомы, сочетание РТК и рака пищевода). Образцы лейкоцитарной ДНК этих пациентов исследовались на предмет наличия мутаций в генах mismatch-репарации посредством комбинации секвенирования по Сэнгеру и MLPA.

Вторая группа включала 32 пациента (n = 32; 25 мужчин и 10 женщин); средний возраст составил 41,1 г. (18–60 лет). Среди них были больные РТК (n = 24) и раком тела матки (РТМ; n = 8), у которых диагностика синдрома Линча осуществлялась в 2019–2022 гг. В этот период в качестве метода исследования было внедрено высокопроизводительное секвенирование с таргетным обогащением по последовательностям генов известных наследственных опухолевых синдромов.

Патогенные/вероятно патогенные варианты генов MMR были выявлены у 38 из 53 (72%) пациентов с подозрением на СЛ. Среди выявленных мутаций преобладали дефекты *MLH1*, которые были обнаружены у 21 из 38 пациентов (55%). (Рис. 3). Процентный вклад различных генов MMR в целом соответствовал данным других исследований, проведенных с привлечением пациентов разных этнических групп [Lagerstedt-Robinson et al., 2016; Sunga et al., 2017; Alvarez et al., 2020].

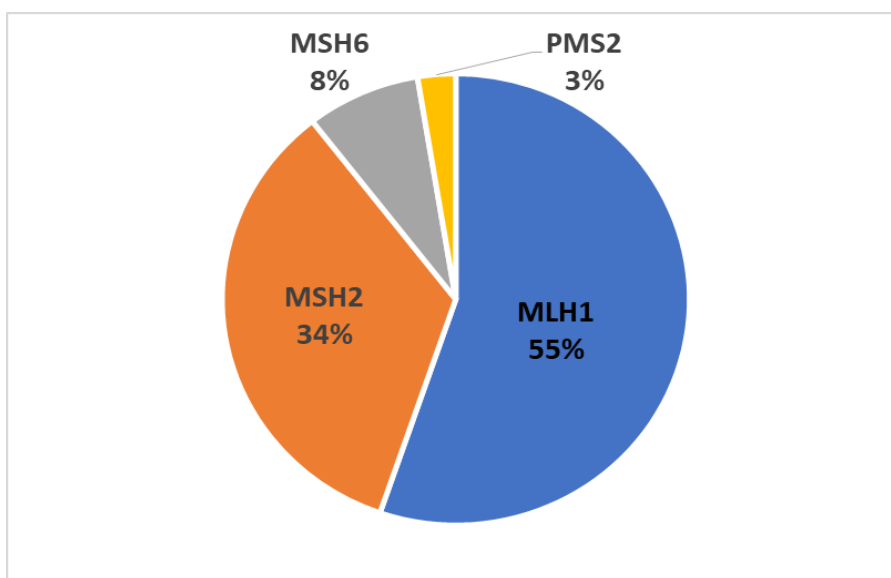


Рисунок 3. Процент мутаций в отдельных генах MMR

Аллель *MLH1* с.677G>T (p.Gln197Argfs*8) был обнаружен у двух неродственных индивидуумов. Большинство вариантов (12/21, 57%) были представлены транквирующими мутациями (сдвиг рамки считывания, *de novo* стоп-кодона), 3 варианта – миссенс-мутациями, 3 – нарушениями сайтов сплайсинга; еще в 3 случаях дефект был представлен крупной делецией, выявленной MLPA. Варианты *MSH2* составляли 34% случаев (13/38); при этом дважды был выявлен известный вариант с.1906G>C (p.Ala636Pro), описанный у евреев-ашкенази. Большинство вариантов (7/13, 54%) были представлены транквирующими мутациями, 4 варианта – миссенс-мутациями; в одном случае выявлено нарушение сайта сплайсинга; еще у одного пациента дефект представлен крупной делецией, выявленной MLPA. Мутации *MSH6* были обнаружены у 3/21 (8%) пациентов; все варианты относились к транквирующим повреждениям; также обнаружен 1 патогенный вариант *PMS2* (миссенс-мутация). Большинство выявленных мутаций были ранее описаны

в научной литературе, тогда как два варианта, *MSH2* с.415_416delAA (p.Asn139fs*) и *MSH6* с.3516_3517delAG (p.Arg1172Serfs*4), обнаружены впервые.

Мы дополнили исследование образцами лейкоцитарной ДНК 30 пациентов с клиническими признаками СЛ и феноменом микросателлитной нестабильности в опухолевой ткани. Они были проанализированы на предмет наличия 5 повторяющихся патогенных вариантов. В перечень таких мутаций вошли аллели *MLH1* с.677G>T (p.Gln197Argfs*8) и *MSH2* с.1906G>C (p.Ala636Pro), идентифицированные в настоящем исследовании, а также патогенные варианты *MLH1* p.Ala681Thr и *MSH2* с.942+3A>T, описанные в качестве повторяющихся в Польше [Dymerska et al., 2010; Kurzawski et al., 2006]. Наконец, учитывая географическую близость Санкт-Петербурга к Финляндии, мы включили в анализ финскую founder-мутацию – делецию экзона 16 гена *MLH1* [Nyström-Lahti et al., 1995].

Генотипирование этой группы больных выявило один случай мутации *MLH1* p.Gln197Argfs*8 у пациента с двумя первично-множественными опухолями толстой кишки, диагностированными в возрасте 42 лет. Кроме того, выполняя секвенирование фрагмента, соответствующего аллелю *MSH2* с.1906G>C (p.Ala636Pro) у больной с аденокарциномой 12-перстной кишки, диагностированной в возрасте 30 лет, мы идентифицировали в этом же ПЦР-фрагменте мутацию *MSH2* с.1861C>T (p.Arg621*). Таким образом, стратегия анализа отдельных повторяющихся мутаций продемонстрировала низкую эффективность, позволив подтвердить диагноз синдрома Линча лишь в 1 из 30 (3.3%) MSI-позитивных опухолей.

Необходимо признать, что предварительный отбор вероятных мутаций с помощью HRM несовершенен, т.к. его интерпретация имеет субъективный компонент. Кроме того, анализ гена *PMS2* технически затрудняется присутствием в геноме его псевдогенов [Gould et al., 2018]. Поэтому следует с осторожностью относиться к отрицательному результату анализа, особенно при наличии убедительных клинических признаков заболевания [Yohe and Thyagarajan, 2017].

Сравнение алгоритмов ДНК-анализа (комбинация секвенирования по Сэнгеру и MLPA и высокопроизводительное секвенирование с таргетным обогащением по последовательностям генов известных наследственных опухолевых синдромов и MLPA) показало практически идентичную частоту выявления мутаций: 15/21 (71%) и 23/32 (72%), соответственно (Рис. 2). Следует учесть, что первая группа состояла исключительно из больных РТК, тогда как вторая группа включала также нескольких пациенток с РТМ: при исключении последних, процент выявления мутаций с помощью NGS незначительно повышается (до 83%). С практической точки зрения, алгоритм, основанный на NGS, является значительно более быстрым и менее трудоемким по сравнению с индивидуальным анализом нескольких генов.

Процент выявления мутаций у пациентов с MSI-позитивными опухолями толстой кишки значительно выше по сравнению с аналогичным показателем MSI-позитивных карцином эндометрия; если в первых мутации обнаружены в 20/24 (83%) случаев, то во вторых – лишь в 3/8 (38%) (p = 0,023). Это наблюдение, в целом, соответствует данным крупного мета-анализа, в котором наследственные мутации выявляются в 25–30% MSI-позитивных аденокарцином эндометрия [Ryan et al., 2019].

Стоит отметить, что в других исследованиях, посвященных молекулярной диагностике СЛ у российских пациентов, частота крупных делеций/дупликаций не исследовалась, в то время как наша работа свидетельствует, что подобный тип повреждений может составлять до 11% выявленных молекулярных дефектов.

Мутация *MLH1* p.Gln197Argfs*8 была обнаружена у трех неродственных пациентов. Известно, что этот аллель часто встречается в Польше (3 из 78 зарегистрированных случаев) [Kurzawski et al., 2006] и Словакии (2 из 11 случаев) [Zavodna et al., 2006]. Другой повторяющийся вариант, *MSH2* p.Ala636Pro, является founder-мутацией евреев-ашкенази; анализ гаплотипов показал, что все носители этого аллеля имеют общего предка [Foulkes

et al., 2002; Goldberg et al., 2015]. Выявление данного варианта у людей без явного еврейского происхождения не вызывает удивления, учитывая, что в странах Восточной Европы исторически проживала значительная доля еврейского населения. Данные о происхождении мутаций, предрасполагающих к СЛ, могут быть значимыми с практической точки зрения, поскольку позволяют установить, должен ли скрининг на конкретный аллель быть ограничен какой-либо этнической группой или может применяться к более широкой популяции. Например, мутация *MSH2* с.942+3A>T, которая часто обнаруживается в славянских и некоторых других популяциях, вероятно, является «горячей точкой» (hotspot), поскольку носители этого варианта характеризуются разнообразием гаплотипов [Desai et al., 2000; Froggatt et al., 1999; Kurzawski et al., 2006]. Тем не менее, некоторые географические и этнические различия в отношении частоты этой и других мутаций в «горячих точках» также могут иметь место: СЛ обычно манифестирует после пика репродуктивной активности, поэтому влияние отрицательного отбора выражено в незначительной степени. Следовательно, даже такие мутации могут быть представлены с необычно высокой частотой в определенных географических регионах. В частности, аллель *MSH2* с.1861C>T, согласно данным крупных исследований и интернет-регистров, более распространен среди русских и других славян [Dymerska et al., 2014; Fokkema et al., 2011; Lagerstedt-Robinson et al., 2016]. Аналогичная, хотя и менее выраженная тенденция наблюдается для аллеля *MLH1* с.350C>T [Fokkema et al., 2011; Grandval et al., 2013; Lagerstedt-Robinson et al., 2016].

Помимо аллелей, идентифицированных в качестве повторяющихся в настоящем исследовании, заслуживают внимания еще несколько рекуррентных вариантов. В частности, *MLH1* с.350C>T (p.Thr117Met), *MLH1* с.677G>T (p.Arg182Serfs*6), *MLH1* с.1852_1854del (p.Lys618del), *MLH1* с.2041G>A (p.Ala681Thr), *MSH2* с.942+3A>T (p.Val265_Gln314del), *MSH2* с.1861C>T (p.Arg621*) и *MSH2* с.1968C>A (p.Tyr656*) неоднократно наблюдались у пациентов из России, Польши и Словакии, т.е. могут рассматриваться как славянские.

В настоящее время, помимо настоящего исследования [Yanus et al., 2020] опубликованы еще несколько работ, посвященных анализу мутаций генов репарации неспаренных оснований ДНК (MMR) у российских больных СЛ [Maliaka et al., 1996; Moliaka et al., 1997; Цуканов и соавт., 2017; Шельгин и соавт., 2021], самая масштабная из которых включает пациентов из 60 семей [Шельгин и соавт., 2021]. Большинство повторяющихся вариантов, обнаруженных у российских пациентов с СЛ, приходится на славянские аллели *MLH1* с.350C>T (p.Thr117Met), *MLH1* с.1852_1854del (p.Lys618del) и *MSH2* с.942+3A>T.

Совокупность данных свидетельствует, что «эффект основателя» в отношении СЛ в России менее выражен, чем в случае наследственного рака молочной железы и яичников. С практической точки зрения это свидетельствует о низкой эффективности тестирования отдельных генетических вариантов.

Пациенты с синдромом Пейтца-Егерса

Комбинация секвенирования по Сэнгеру и MLPA позволила выявить патогенные/вероятно патогенные варианты *STK11* у 8 из 10 пациентов (80%) с подозрением на синдром Пейтца-Егерса (Табл. 1), что очень сходно с данными, полученными другими исследователями [Volikos et al., 2006; Jiang et al., 2018]. Высокая частота выявления мутаций свидетельствует о достаточно надежных клинико-морфологических признаках заболевания. Все больные с мутациями имели характерные меланоцитарные макулы в периоральной области или на слизистой губ; все пациенты также имели характерную гамартomatную морфологию полипов.

Три мутации – с.989_990ins (p.R333Pfs*28), с.559_583del (p.G187Wfs*92) и с.345_346del (p.L117Ifs*44) – описаны впервые. У двух из 8 пациентов (25%) молекулярно-генетические повреждения представлены крупными перестройками – делециями 1 экзона *STK11* или всего гена. Это подтверждает необходимость включения метода MLPA в алгоритм ДНК-диагностики синдрома Пейтца-Егерса.

Таблица 1. Обнаруженные патогенные/вероятно патогенные варианты *STK11*

ID	Возраст, л	Пол	Локализация полипов	Вариант <i>STK11</i> (транскрипт NM_000455)
2272	11	м	Толстая кишка	с.989_990insCCGGTGG (p.R333Pfs*28)
1696	22	м	Толстая кишка	с.923G>A (p.W308*)
1863	32	ж	Тонкая кишка	Ex.1 del
898	11	ж	Желудок	с.180C>G (p.Y60*)
529	27	м	Толстая и прямая кишка	с.559_583delGGTGGCACCCCTCAAAATCTCCGACC (p.G187Wfs*92)
2104	22	ж	Желудок, двенадцатиперстная кишка	Ex1-10 del
789	36	м	Прямая кишка	с.1153_1154insT (p.G385fs)
2277	36	ж	Желудок, тонкая и толстая кишка	с.345_346del (p.L117Ifs*44)

Сравнение полученных данных с результатами других исследований, посвященных российским пациентам [Шельгин и соавт., 2016; Цуканов и соавт., 2017; Янова и соавт., 2022], свидетельствует о том, что практически в каждом случае причиной заболевания является уникальная мутация. Единственным исключением служит крупная делеция экзона 1, отмеченная в одной из отечественных работ [Янова и соавт., 2022]. Повидимому, это генетическое повреждение не является уникальным для российских больных [Ngeow et al., 2013; Vannon et al., 2018]. Редкость повторяющихся патогенных аллелей *STK11* свидетельствует о необходимости секвенирования всей последовательности гена. Благодаря относительно небольшим размерам *STK11* (9 кодирующих экзонов), секвенирование по Сэнгеру остается актуальным методом диагностики.

Идентификация гена *BLM* в качестве генетической детерминанты риска РМЖ

Для поиска новых генов предрасположенности к раку молочной железы (РМЖ) применялся так называемый «кандидатный» подход. Была выдвинута гипотеза, что генетические детерминанты риска РМЖ должны быть функционально вовлечены в процесс ответа на повреждение ДНК. В рамках этой гипотезы 95 «генетически обогащенных» случаев РМЖ, у которых отсутствовали мутации в известных генах наследственного рака, были проанализированы на наличие транквирующих вариантов генов *TP53*, *PALB2*, *BRIP1*, *BLM*, *FANCC*, *MRE11A*, *RAD51C*, *BARD1*, *BRD7*, *CHEK1*, *DDB2*, *ERCC1*, *EXO1*, *FANCG*, *PARP1*, *PARP2*, *RAD51*, *RNF8*, *WRN*. С помощью такого подхода удалось выявить двух носительниц гетерозиготной инактивирующей мутации с.1642C>T (p.Q548*) в гене *BLM*. (Рис. 4).

Исследование всех доступных пациенток с РМЖ позволило выявить аллель p.Q548* в 17/1498 (1,1%) случаях; для сравнения, только 2/1093 (0,2%) здоровых женщин имели этот генетический дефект ($p = 0,005$) (Табл. 2). Соотношение шансов (OR), рассчитанное на основе сравнения последовательных случаев РМЖ (10/879 (1,1%)) и здоровых женщин, достигало 6,28 (95% ДИ 1,52–42,18).

Генотипирование других групп выявило аллель *BLM* p.Q548* у 1/339 (0,3%) пациентов с раком легких, у 1/199 (0,5%) больных раком яичников и у 3/1091 (0,3%) здоровых мужчин.

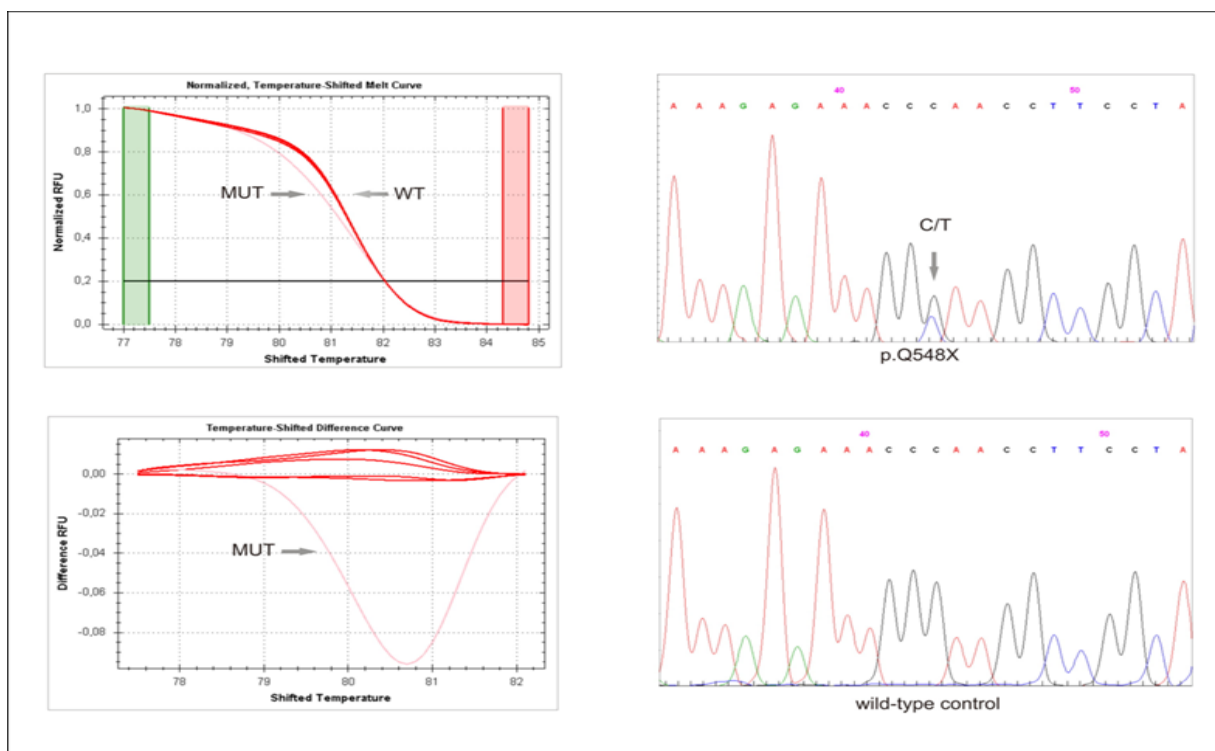


Рисунок 4. Мутация *BLM* с.1642C>T (p.Q548*), идентифицированная с помощью высокоточного анализа плавления и секвенирования по Сэнгеру

Распределение гетерозигот p.Q548* в различных подгруппах пациенток свидетельствует в пользу участия этого аллеля в формировании генетической предрасположенности к РМЖ.

Носители мутаций чаще встречались среди пациенток, сообщивших о семейном анамнезе РМЖ (6/251 (2,4%) против 11/1247 (0,9%), $p = 0,05$), в случаях с ранним дебютом заболевания (12/762 (1,6%) против 5/736 (0,7%), $p = 0,14$) и среди женщин с билатеральным поражением молочных желез (2/122 (1,6%) против 15/1376 (1,1%), $p = 0,64$) (Табл. 2). Генетический материал от родственницы, пораженной РМЖ, был доступен для одной носительницы *BLM* мутации; генотипирование показало, что мать пациентки также была гетерозиготной по аллелю p.Q548*.

Таблица 2. Частота носителей мутаций *BLM* p.Q548* у больных злокачественными опухолями и здоровых индивидуумов

Группа	Носители <i>BLM</i> p.Q548*
РМЖ	17/1498 (1,1%)
Билатеральный РМЖ	2/122 (1,6%)
Монолатеральный РМЖ	15/1376 (1,1%)
Возраст на момент диагноза*	
≤50 лет	12/762 (1,6%)
≥51 года	5/736 (0,7%)
Семейный анамнез	
Позитивный	6/251 (2,4%)
Негативный	11/1247 (0,9%)
Признаки наследственного РМЖ	
Семейный анамнез или билатеральное поражение или ранее начало	14/924 (1,5%)
Отсутствуют	3/574 (0,5%)
Принцип отбора пациентов	
Последовательный	10/879 (1,1%)
Генетическое консультирование	5/451 (1,1%)
Случайный	2/168 (1,2%)
Здоровые индивидуумы	
Женщины	2/1093 (0,2%)
Мужчины	3/1091 (0,3%)
Рак яичников	1/199 (0,5%)
Рак легких	1/339 (0,3%)

*для билатерального РМЖ – возраст на момент диагноза первой опухоли

Клинико-морфологические особенности *BLM*-ассоциированных РМЖ

У пациенток с мутацией p.Q548* наблюдалась обычное распределение по стадиям TNM и степени злокачественности. Данные ИГХ были доступны для 18 карцином. Экспрессия рецепторов стероидных гормонов была обнаружена в 13/18 (72%) случаях; большинство из этих опухолей не экспрессировали базальные маркеры или значимые количества HER2 и, следовательно, принадлежали к люминальному экспрессионному подтипу (Luminal). 5/18 (28%) образцов РМЖ демонстрировали базально-подобные (Basal-like) паттерны экспрессии. Информация о химиочувствительности опухоли была доступна для 5 женщин, прошедших курс неoadъювантной терапии: у трех из них наблюдался полный клинический и патологический ответ, а у двух – частичный клинический ответ.

Соматическая утрата оставшегося аллеля традиционно рассматривается как канонический механизм опухолеспецифической инактивации генов наследственного рака [Beristain et al., 2010]. 10 образцов опухолей после микродиссекции были успешно проанализированы на предмет потери гетерозиготности (LOH) локуса *BLM*, и ни один из них не содержал делецию аллеля *BLM*. Потеря аллеля дикого типа характерна для опухолей, связанных с наследственными мутациями *BRCA1/2* [Collins et al., 1995; Neuhausen and Marshall, 1994]. Соматическая утрата нормальной копии гена нехарактерна для опухолей молочной железы, возникающих у носительниц мутаций *CHEK2*, *NBS1* и *RAD50* [Buslov et al., 2005; Heikkinen et al., 2003; Sodha et al., 2002]; до настоящего времени существуют противоречивые данные о статусе LOH при *PALB2*-ассоциированном РМЖ [Casadei et al., 2011; Tischkowitz et al., 2007]. По всей видимости, имеют место другие механизмы соматической инактивации этих генов; возможно, системная гаплонедостаточность, вызванная уменьшением «дозы гена», способствует

накоплению опухолеспецифических онкогенных мутаций [Dumon-Jones et al., 2003; Goss et al., 2002; Jekimovs et al., 2005; Santarosa and Ashworth, 2004].

Наблюдение об отсутствии потерь гетерозиготности в *BLM*-ассоциированных опухолях представляется очень важным с практической точки зрения. Соматическая инактивация оставшегося аллеля генов репарации ДНК может определять их беспрецедентную чувствительность к некоторым ДНК-повреждающим агентам. Редкость инактивации нормальной копии гена в *BLM*-ассоциированных РМЖ демонстрирует их существенное биологическое отличие от *BRCA1/2*-ассоциированных карцином, и, по-видимому, делает их малоперспективными для клинических испытаний препаратов платины и PARP ингибиторов.

В ходе исследования выявлена одна больная с сочетанием гетерозиготных мутаций *BLM* и *BRCA1*. Примечательно, что опухолевая ткань этой пациентки сохраняла гетерозиготность как в локусе *BRCA1*, так и *BLM*; её принадлежность к базальному экспрессионному типу скорее свидетельствует в пользу доминирующей роли *BRCA1* в развитии новообразования. Комбинация гетерозигот, включающая наследственный дефект *BRCA1*, неоднократно описывалась для носителей мутаций *BRCA2*, *CHEK2*, *NBS1* и *BLM* [Koren-Michowitz et al., 2005; Leegte et al., 2005; Porhanova et al., 2008].

Ранее продемонстрировано, что некоторые опухоли, возникающие у пациентов с синдромом Блума, имеют микросателлитную нестабильность (MSI) [Kaneko et al., 1996]. Кодирующая область гена *BLM* содержит полинуклеотидный трек (A)_n, размер которого часто меняется в опухолях с феноменом микросателлитной нестабильности [Calin et al., 1998]. Секвенирование 12 образцов ДНК, полученных из опухолей, развившихся у носителей мутации *BLM*, не выявило изменений поли(A)-трека. Кроме того, мы использовали квазиоморфный маркер BAT26 для оценки состояния микросателлитов в 14 *BLM*-ассоциированных карциномах и не обнаружили ни одного случая MSI.

В целом, полученные данные свидетельствуют о причастности патогенных вариантов гена *BLM* к формированию предрасположенности к раку молочной железы. Причастность мутаций *BLM* к увеличению риска РМЖ была позже независимо подтверждена с помощью экзомного секвенирования, а также исследований «случай-контроль» [Thompson et al., 2012; Prokofyeva et al., 2013].

Исследование пациентов с туберозным склерозом (ТС)

Мутации *TSC1/2* были выявлены у 53 из 61 пациентов с клиническими признаками туберозного склероза (87%), что хорошо соответствует данным большинства подобных исследований [Au et al., 2007; Dabora et al., 2002; van Eeghen et al., 2012; Jones et al., 1999]. Относительно невысокий процент выявленных мутаций (46%) в одной из российских работ [Аношкин и соавт., 2018], вероятно, может быть объяснен недостаточно жесткими критериями отбора пациентов, что подчеркивает целесообразность следования современным рекомендациям по клинической диагностике [Northrup et al., 2013]. В то же время, самое крупное на сегодня исследование российских пациентов с ТС [Аношкин и др., 2020] позволило добиться обнаружения мутаций в 96,5% случаев. Столь высокая эффективность молекулярной диагностики, по-видимому, связана с применением высокопроизводительного секвенирования, что позволило выявить мозаичные мутации у 6% обследованных, причем минимальная представленность патогенного аллеля составила 0,6%. В нашем исследовании базовым методом служило секвенирование по Сэнгеру, порогом возможности которого является 20% представленность альтернативного варианта [Brewer et al., 2020], чем и объясняется более низкий процент выявления мутаций.

Дефекты *TSC2* обнаруживались значительно чаще, чем мутации *TSC1*; наблюдаемое соотношение мутаций *TSC2/TSC1* 70:30% отмечено и в другой работе, посвященной исследованию российских пациентов [Аношкин и соавт., 2018]. В соответствии с литературными данными [Au et al., 2007; Dabora et al., 2002; Niida et al., 1999; Sancak et al., 2005], повреждения *TSC1* и *TSC2* значительно различаются по спектру мутаций: если

дефекты *TSC1* представлены исключительно транкрирующими мутациями (*de novo* стоп-кодона, сдвиг рамки считывания), то в *TSC2* наблюдается заметно большее разнообразие генетических повреждений (Табл. 3).

Необходимо отметить значительный вклад масштабных перестроек в общую структуру мутаций *TSC2*: на крупные делеции/дупликации приходится 15% от всех повреждений гена *TSC2* и 11% от общего числа мутаций *TSC1/2*. Таким образом, 10% пациентов с ТС имеют подобные дефекты, что заметно выше, чем в других исследованиях [Kozłowski et al., 2007; Rendtorff et al., 2005]; в то же время, в работах российских авторов [Аношкин и др., 2018; Аношкин и др., 2020] отмечена сходная (7–9%) частота протяженных делеций.

Таблица 3. Типы мутаций, выявленные в генах туберозного склероза

Тип мутации	<i>TSC1</i>	<i>TSC2</i>
Нонсенс	8 (57%)	6 (15%)
Сдвиг рамки считывания	6 (43%)	8 (20%)
Делеция без сдвига рамки	0	1 (3%)
Нарушение сайта сплайсинга	0	9 (23%)
Миссенс-мутация	0	9 (23%)
Крупные делеции/дупликации	0	6 (15%)
	14 (100%)	39 (100%)

Комбинация секвенирования по Сэнгеру и MLPA позволила выявить патогенные мутации у 52 из 61 пациента. Кроме того, в одном из 5 образцов, позже проанализированных полноэкзомным секвенированием, была идентифицирована ранее пропущенная мутация *TSC2*. Повторная оценка исходного протокола высокоточного плавления фрагментов ПЦР (HRM) показала, что это была ошибка, связанная с человеческим фактором. Примеры того, что полноэкзомное секвенирование даёт возможность обнаружить дефекты *TSC1/2*, пропущенные в ходе стандартного генетического анализа, ранее описаны в литературе [Qin et al., 2010].

Некоторые мутации были выявлены неоднократно: в частности, у двух больных обнаружен аллель *TSC2* с.138+1G>A. Еще два пациента имели крупные делеции, охватывающие экзоны 37–42 гена *TSC2*, а также часть гена *PKD1*, расположенного дистальнее. Кроме того, два случая ТС были связаны с мутацией *TSC2* с.1832G>A (p.R611Q). Все эти мутации неоднократно описаны ранее [Beauchamp et al., 1998; Dabora et al., 2002; Kwiatkowski et al., 2015; Rendtorff et al., 2005; Sancak et al., 2005]; примечательно, что все они возникли *de novo*, т.е. представляют собой скорее «горячие точки» мутагенеза, нежели циркулирующие в генофонде патогенные аллели.

Ассоциации между генотипом и фенотипом

Мутации гена *TSC1/2* были обнаружены у 47/53 (89%) и 6/8 (75%) пациентов с несомненным и возможным диагнозом ТС, соответственно. Сравнение клинических особенностей пациентов с ТС, имеющих мутацию *TSC1*, *TSC2* или отсутствие наследственных дефектов в этих генах (No Mutation Identified, NMI), выявило некоторые интересные тенденции. Для пациентов из группы без выявленных мутаций (NMI) характерен наиболее старший возраст на момент постановки диагноза, тогда как больные с мутациями *TSC2* были самыми молодыми (*TSC1* по сравнению с *TSC2*: $p = 0,004$; *TSC1* по сравнению с NMI: $p = 0,035$; *TSC2* по сравнению с NMI: $p = 0,002$). Эти данные хорошо согласуются с другими работами [Dabora et al., 2002; Kothare et al., 2014; Staley et al., 2011]. У пациентов из группы NMI отсутствовали кортикальные туберы и субэпендимальные узлы, что подтверждает наблюдения Camposano et al., 2009 и Boronat et al., 2014. Кроме того, случаи NMI характеризовались статистически более низкой

частотой эпилептических приступов, наличием рабдомиома сердца и множественных гипомеланотических пятен. Эти наблюдения хорошо согласуются с результатами нескольких предыдущих исследований, в которых признается более мягкий фенотип пациентов с NMI по сравнению с генетически подтвержденными случаями ТС [Au et al., 2007; Dabora et al., 2002; Qin et al., 2010; Sancak et al., 2005; Van Eeghen et al., 2012; Camposano et al., 2009]. С другой стороны, пациенты без мутаций имели значительно более высокую частоту почечных ангиомиолипом и лимфангиолейомиоматоза; о сходных тенденциях сообщили Staley et al., 2011 и Camposano et al., 2009.

Носители мутации *TSC1*, как правило, имели более низкое соотношение мужчин и женщин и более низкую частоту рабдомиома сердца, чем пациенты с мутацией *TSC2*, однако различия не достигали порога статистической значимости. После корректировки с учётом множественных сравнений оставались значимыми только различия в возрасте пациентов. Вместе с тем, выявленные тенденции хорошо согласуются с другими опубликованными исследованиями.

Исследование мутаций у родителей пациентов

Образцы ДНК родителей были доступны для 46 пациентов. В 44 из 46 (96%) мутации *TSC1/2*, выявленные у детей, отсутствовали у родителей. Вертикальная передача потенциально патогенной мутации была зарегистрирована только в двух из 46 (4%) проанализированных семей. Только в одной из семей был обнаружен родитель (отец), имеющий признаки ТС. В другой семье заболевание, по-видимому, было связано с наличием мутации *TSC2* с.1865G>C (p.R622P). Этот мутантный аллель был унаследован по материнской линии, однако мать не имеет видимых признаков ТС. Существуют некоторые данные, свидетельствующие о том, что аллель с.1865G>C (p.R622P) [Farach et al., 2019] и некоторые другие мутации *TSC1/2* [Jansen et al., 2006] связаны с более легким течением заболевания. В еще одной семье у матери пациента наблюдались некоторые клинические особенности (лицевые ангиофибромы и единичное гипопигментное пятно), однако результат исследования на предмет наличия делеции экзонов 26–27 гена *TSC2*, выявленной у пробанда, был отрицательным. Нельзя исключить наличия у этой женщины мозаичной формы дефекта *TSC2*; известно, что такого рода мутации плохо обнаруживаются с помощью рутинного MLPA-анализа [van Veghel-Plandsoen Van et al., 2011].

Полноэкзомное секвенирование

Пять пациентов были подвергнуты секвенированию экзона. Двое из этих пациентов имели несомненный диагноз ТС, установленный в детском возрасте, тогда как остальные трое были взрослыми женщинами с почечными ангиомиолипомами и лимфангиолейомиоматозом. Как упомянуто выше, секвенирование экзона выявило ранее пропущенный вероятно патогенный вариант *TSC2* с.5227C>T (p.R1743W) у пациента MG187. Далее мы проанализировали гены, которые, в соответствии с базой данных BioGrid, участвуют во взаимодействии с *TSC1*, *TSC2* или *MTOR*. Идентифицировано 8 редких вариантов, имеющих высокий (≥ 20) интегральный CADD score; все они были миссенс-мутациями и не встречались у более чем одного пациента. В случае MG102 обнаружен потенциально релевантный вариант *CCND2* с.455C>A (p.A152E); однако он также выявлен у здоровой матери и сестры пробанда, что является аргументом против его патогенности.

Исследование первичных иммунодефицитных состояний (ПИД)

К участию в исследовании были привлечены 409 детей. Первоначально набор пациентов базировался на соответствии критериям подозрения на наличие первичного иммунодефицита (критерии Jeffrey Modell Foundation (JMF) [<http://www.info4pi.org/library/educational-materials/10-warning-signs>]). 208 пациентов соответствовали этим критериям; число наблюдаемых признаков составляло от 1 до 5; при этом 39 пациентов (19%) имели 3 и более признаков возможного ПИД. Вместе с тем манифестация ПИД может проявляться симптомами, не укладывающимися в критерии JMF. Поэтому мы сознательно включили в исследование больных с другими клиническими признаками, которые также могут наблюдаться при наследственном дефекте иммунитета (n = 192). В качестве дополнительных критериев отбора использовались следующие характеристики:

- наличие эпизодов периодических лихорадок в отсутствие выявленных инфекционных причин; n = 63;
- сочетание инфекционных проявлений с лабораторным феноменом аутоиммунной цитопении (тромбоцитопеническая пурпура, аутоиммунная гемолитическая анемия, синдром Фишера-Эванса; n = 31; у 16 детей он сопровождался лимфопролиферативным синдромом (аутоиммунный лимфопролиферативный синдром);
- наличие лабораторного феномена аномально повышенного IgE (>3000 U/mL); n = 6;
- необычно тяжелое течение инфекционного заболевания (например, тяжелый менингит, деструктивная пневмония и т.д.); n = 21;
- высокое число эпизодов острых респираторных инфекций (8 и более в течение года); n = 54.

Кроме того, несмотря на наличие критериев JMF, мы посчитали целесообразным выделить в отдельную группу пациентов (n = 17) с вероятным диагнозом атаксии-телеангиэктазии (АТ). У всех пациентов обнаружены клинические признаки классической атаксии-телеангиэктазии: с возраста 1–4 лет они страдали от прогрессирующей мозжечковой атаксии и других характерных проявлений АТ, таких как дизартрия и/или телеангиэктазия. Все больные имели славянское происхождение, кроме брата и сестры из одной семьи (пациенты 188 и 189), которые имели алтайские корни. Повышение уровня альфа-фетопротеина (АФП) в крови наблюдалось у всех пациентов, кроме одного (172), у которого этот параметр не исследовался.

Также в отдельную подгруппу были выделены пациенты с «синдромальными» формами ПИД. Согласно данным историй болезни, у ряда больных инфекционные проявления сочетались с наличием множественных микроаномалий развития (стигм дизэмбриогенеза) и/или врожденных пороков развития (n = 18). У всех детей этой категории также наблюдались положительные критерии JMF. В некоторых случаях пациентам проводилось рутинное кариотипирование (пациенты 41, 193, 237) и были выявлены хромосомные аномалии (делеция 5p, кольцевая хромосома 15 и добавочный фрагмент хромосомы 8); такие пациенты были исключены из дальнейшего генетического исследования.

Общий алгоритм исследования представлен на Рис.5.



Рисунок 5. Алгоритм исследования пациентов с подозрением на ПИД

Остальные пациенты были проанализированы на предмет наличия распространенных микроделеционных синдромов с помощью MLPA; аномалии (микродупликация Xq28, микродупликация 17q21.31, микродупликация 4p16.3 и делеция 22q11.2) были выявлены у четырех пациентов (194, 290, MG550, 527); у пациентов 194, 290 и 527 наличие дупликаций было подтверждено методом хромосомного микроматричного анализа (Табл. 4). У трех пациентов на основании фенотипических особенностей (микроцефалия, покатый лоб, крупный нос) лечащими врачами был заподозрен диагноз синдрома Ниймеген. Нами был проведен анализ на повторяющуюся «славянскую» мутацию *NBN* с.657_661del, который выявил 2 пациентов, гомозиготных по этому варианту.

Итого, на предварительном этапе исследования значимые генетические дефекты были обнаружены у 9 из 18 пациентов с «синдромальными» ПИД. Очевидно, что при условии назначения необходимого объема исследований больные этой группы имеют высокие шансы на выявление причин заболевания, что, в свою очередь, открывает новые возможности в области медико-генетического-консультирования семей. С другой стороны, следует иметь в виду, что многие пациенты с комплексом множественных врожденных аномалий нуждаются в консультации иммунолога и исследовании иммунного статуса.

Таблица 4. Хромосомные повреждения, выявленные у пациентов с синдромальными ПИД

ID	Возраст, лет	Пол	Симптоматика	Выявленные аномалии
41	4	ж	Задержка психоречевого развития. Мышечная гипотония, страбизм, микроцефалия, гипертелоризм, низкопосаженные ушные раковины, широкая спинка носа. Рекуррентные пневмонии	Делеция 5p. Синдром «кошачьего крика»
193	6	ж	Задержка речевого развития. Снижение прибавки роста и массы. Хроническая диарея	Кольцевая хромосома 15
237	12	м	Задержка умственного развития, дизартрия. Лимфаденопатия, рекуррентные респираторные инфекции, хронический кожно-слизистый кандидоз, синуситы	Добавочный фрагмент хромосомы 8
194	2	ж	ЗВУР, двухсторонний врожденный вывих бедра, задержка психомоторного развития, мышечная гипотония. Плоское лицо, глазной гипертелоризм, плоская переносица, короткий нос, микростомия, V-образная форма верхней губы, короткая шея. Гипоплазия мозолистого тела. Снижение прибавки роста и массы. Хронический обструктивный бронхиолит	MLPA: синдром микродупликации Xq28 arrayCGH: arr [hg19] Xq27.3q28(144 495 493-154 908 471)x3
290	11	м	Задержка умственного развития, дизартрия, брахицефалия, гипертелоризм глаз, птоз, толстый завиток ушной раковины. В анамнезе энцефалит, рекуррентная пневмония	MLPA: микродупликация 17q21.31 arrayCGH: arr [hg19] 17q21.31(44188441_44 694283)X3
MG 550	6	м	Задержка психоречевого развития, врожденный порок сердца, гипоплазия тимуса, пахово-мошоночная грыжа, необычная форма ушей, эпистаксис, кандидоз, тяжело протекающие ОРВИ	MLPA: делеция 22q11.2 (синдром Ди Джорджи)
527	9 мес.	ж	Гипертелоризм, готическое нёбо, поперечная складка на ладони, низкопосаженные уши, макроглоссия, короткая шея. ВПС: открытый артеральный проток. Снижение прибавок по росту и массе, нейросенсорная тугоухость, петехиальная сыпь на коже; тромбоцитопения, анемия, лейкопения, низкий IgA	MLPA: делеция 4p16.3 arrayCGH: arr[hg19] 4p16.3(1159060_19928 26)X3

Эффективность таргетного мультигенного секвенирования

Таргетному секвенированию подвергались образцы 400 пациентов, соответствующих критериям подозрения на наличие ПИД. В это число вошли и больные с атаксией-телеангиэктазией, а также дети с «синдромальными» ПИД после исключения случаев с хромосомными аномалиями и синдромом Ниймеген. В одном случае (пациентка 527) выявленная микрохромосомная аномалия (микродупликация 4p16.3) не вполне соответствовала наблюдаемым лабораторным феноменам (панцитопения и низкий уровень IgA), поэтому образец был подвергнут дальнейшему анализу (таргетному секвенированию).

Эффективность использования таргетного секвенирования нового поколения в разных группах пациентов отражена в Табл. 5.

Применение таргетного высокопроизводительного секвенирования позволило нам выявить вероятную причину заболевания у 18% всех детей с рекуррентными инфекциями и у 21% больных, соответствующих JMF-критериям подозрения на наличие ПИД. Такая эффективность обнаружения мутаций сравнима с данными предыдущих исследований, в которых применялся такой же методический подход [Stoddard et al., 2014; Al-Mousa and Al-Saud, 2017; Bisgin et al., 2018; Gallo et al., 2016; Moens et al., 2014; Nijman et al., 2014; Rae et al., 2018].

Процент установленных причин заболевания для неселектированных больных с признаками ПИД варьирует от 14 до 46%, в среднем составляя около 25% [Yska и др., 2019]. Выявление патогенных мутаций становится значительно более эффективным при наличии жесткого предварительного отбора: так, в работе Yu et al, 2016, посвящённой исследованию пациентов со сниженными показателями TREC, удалось найти причину заболевания у 14 из 20 пациентов (70%). В то же время, исследование гетерогенных групп больных, как правило, даёт значительно более скромные результаты [Gallo и др., 2016; Kojima и др., 2016].

Следует заметить, что большинство пациентов, включенных в наше исследование, не получили предварительной оценки иммунологического статуса в объеме, необходимом для подтверждения диагноза первичного иммунодефицита. Иными словами, большая часть больных направлена на генетическое исследование специалистами первичного звена (гастроэнтерологи, ревматологи, эндокринологи, пульмонологи, инфекционисты); подобная специфика отбора пациентов объясняет относительно невысокий процент выявления «истинных» ПИД.

К ограничениям нашей работы следует отнести невозможность детекции вариаций числа копий (CNV) для всех генов, входящих в панель. Выявление этого типа молекулярных повреждений с помощью таргетного секвенирования обычно представляет технические трудности: необходимо либо специально вносить дополнительные референсные участки, либо использовать полногеномное секвенирование; в противном случае, детекция CNV, как правило, ненадежна [Moens et al., 2014]. Следует заметить, что частота CNV, выявляемых в генах ПИД, как правило, очень невелика; нарушения копийности характерны лишь для ограниченного числа генов, таких как *IL7R* и *DOCK8* [Engelhardt et al., 2017; Stray-Pedersen et al., 2017]. Учитывая эти факты, мы ограничились проведением MLPA-анализа при подозрении на аутосомно-рецессивный гипер-IgE синдром, при котором такой вид повреждений встречается довольно часто.

Кроме того, в связи с грандиозным прогрессом в изучении генетических детерминант ПИД отмечается постоянное «отставание» состава таргетной панели от актуального положения дел; в частности, согласно недавно вышедшему очередному пересмотру классификации IUIS на сегодня число известных генов ПИД составляет уже более 480! [Tangye et al., 2022].

Таблица 5. Эффективность применения таргетного секвенирования в различных группах

Группа пациентов	n	Патогенные / вероятно патогенные варианты	Варианты с неясным значением	Всего
Один или более позитивных критериев JMФ без дизморфий	198	42 (21%)	7 (4%)	49 (25%)
Один или более позитивных критериев JMФ в сочетании с дизморфиями («синдромальные ПИД»)	10	4 (40%)	0	4 (40%)
Атаксия-телеангиэктазия (АТ)	17	17 (100%)	0	0
Все пациенты с позитивными критериями JMФ	208	44 (21%)	7 (3%)	51 (24%)
- включая АТ	225	62 (27%)	7 (3%)	69 (30%)
Периодические лихорадки (ПЛ)	63	16 (25%)	10 (16%)	26 (41%)
Аутоиммунные цитопении (АИГА, ИТП, синдром Фишера-Эванса) без лимфопролиферативного синдрома	15	1 (7%)	1 (7%)	2 (13%)
Аутоиммунные цитопении в сочетании с лимфопролиферативным синдромом (АЛПС)	16	3 (19%)	0	3 (19%)
Изолированный лабораторный феномен повышенного IgE	6	0	0	0
Рекуррентные респираторные инфекции (8 и более эпизодов в год)	54	3 (6%)	3 (6%)	6 (11%)
Необычно тяжелое протекание инфекций	21	1 (5%)	2 (10%)	3 (14%)
Все пациенты, за исключением АТ	383	70 (18%)	23 (6%)	93 (24%)
Все пациенты, включая АТ	400	88 (22%)	23 (6%)	111 (28%)

АИГА – аутоиммунная гемолитическая анемия; АЛПС – аутоиммунный лимфопролиферативный синдром; ИТП – идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура

Теоретически, использование экзомного секвенирования для диагностики пациентов с признаками ПИД способно охватить более широкий круг нозологий, выходящих за рамки нарушений иммунной системы. Любопытно, что расширение объема исследования до экзома приводит к крайне незначительному увеличению процента выявления мутаций по сравнению с мультигенными панелями [Arts et al., 2019]. Большие перспективы в области ДНК-диагностики имеет полногеномное секвенирование; однако, в настоящий момент его применение, помимо высокой стоимости, ограничивается возможностями интерпретации значения вариантов, расположенных в некодирующих частях генома.

Пациенты с атаксией-телеангиэктазией

У всех детей с подозрением на АТ наблюдался повышенный уровень АФП в крови (43,0–1571,0; в среднем 361,7 МЕ/мл; норма для лиц старше года 0–5,8 МЕ/мл). Секвенирование гена *ATM* подтвердило диагноз АТ у всех 17 пациентов (Табл. 6). Три патогенных аллеля, а именно с.5932G>Т (р.Е1978*); с.450_453delТТСТ (р.С151*) и с.1564_1565delGA (р.Е522Pеfs*43) были обнаружены более одного раза. Мутация с.5932G>Т была выявлена у 12 из 16 пациентов (75%) славянского происхождения, включая пациентку 527, обследованную в группе синдромальных ПИД по причине отсутствия атаксии; пациенты 185 и 434 были гомозиготными по этому аллелю.

Повторяющаяся мутация с.450_453delТТСТ выявлена у пациентов 172 и 360; еще трое детей (186, 527, 1191) были обладателями хорошо известного патогенного варианта с.1564_1565delGA. Оба эти аллеля обнаруживались в сочетании с другими транквирующими мутациями *ATM*.

Представляет интерес случай досимптоматической диагностики атаксии-телеангиэктазии. У девочки 9 месяцев (пациентка 527, Табл. 4), наблюдались множественные врожденные аномалии и двусторонняя нейросенсорная глухота. Проведенный микроматричный анализ показал наличие микродупликации региона 4p16.3 размером 0.8 Мб. Хотя фенотип ребенка в целом соответствовал обнаруженной хромосомной аномалии, панцитопения и низкий уровень IgA не могли быть удовлетворительно объяснены наличием этого изменения. Таргетное секвенирование выявило два патогенных варианта *ATM* (с.1564_1565delGA и с.5932G>А); анализ ДНК родителей подтвердил, что мутации находились в транс-положении. Таким образом, один случай атаксии-телеангиэктазии был выявлен фактически случайно, путем таргетного мультигенного анализа пациента с дизморфиями и положительными критериями JMF.

Таргетное секвенирование пациента 438 первоначально выявило только гетерозиготную мутацию с.5932G>Т, что недостаточно для подтверждения диагноза аутосомно-рецессивного заболевания. Мы предположили, что оставшийся аллель может быть инактивирован за счет крупной делеции или дупликации. Анализ файла .bam выявил снижение среднего покрытия (т.е., вероятное уменьшение копииности) области генома hg19 11: 108235808-108239829, соответствующего экзонам 62 и 63 гена *ATM*. MLPA-тест этого образца подтвердил наличие делеции. Таким образом, в 16 изученных семьях был обнаружен один случай крупной перестройки *ATM* (6%).

Также были выявлены четыре ранее не описанных наследственных варианта *ATM*. Эти мутации (с.5254_5255insGT, р.(I1752Sfs*5); с.3554Т> А, р.(L1185*); с.494Т> G, р.(L165*); с.1571G>А, р.(W524*)) были обнаружены в сочетании с известными патогенными аллелями *ATM*. Мутация *ATM* с.3554Т>А (р.L1185*) была выявлена у двух пациентов, принадлежащих к одной и той же алтайской семье. Вариант с.1571G>А (р.W524*) ранее упоминался в качестве соматического события в костном мозге человека с мантийноклеточной лимфомой [Eskelund et al., 2017], но никогда не был описан как мутация, вызывающая АТ. Анализ ДНК родителей показал, что у всех пяти пациентов (172, 188, 189, 441 и 1026) мутации располагались в транс-положении. Информация обо всех новых вариантах внесена в базу данных LOVD.

Таблица 6. Характеристики пациентов с признаками атаксии-телеангиэктазии

ID	Возраст, лет	Пол	Клинические признаки	АФП, МЕ/мл	Аллель 1	Аллель 2
172	4	м	Атаксия, низкий IgA и IgG	-	c.450_453delTTCT (p.S151*)	c.5254_5255insGT (p.I1752Sfs*5)
185	15	м	Атаксия, телеангиэктазия; синуситы, этмоидиты; низкий IgA. Острый лимфобластный лейкоз в возрасте 13 лет	144,8	c.5932G>T (p.E1978*)	c.5932G>T (p.E1978*)
186	13	м	Атаксия, телеангиэктазия; пятна «кофе с молоком», хроническая пневмония, синусит, бронхолит, некротический васкулит пальцев кистей и стоп; низкие IgA, IgG, IgM	43,0	c.1564_1565delGA (p.E522Ifs*43)	c.7240C>T (p.E2414*)
188	5	ж	Атаксия, телеангиэктазия, дизартрия; хронический обструктивный бронхит; низкие IgA и IgG	110,5	c.2413C>T (p.R805*)	c.3554T>A (p.L1185*)
189 (брат 188)	7	м	Атаксия, телеангиэктазия, дизартрия; пятна «кофе с молоком», ринофарингит; низкий IgA	132,0	c.2413C>T (p.R805*)	c.3554T>A (p.L1185*)
250	12	м	Атаксия, телеангиэктазия, дизартрия; пятна «кофе с молоком»; низкие IgA, IgM, IgG	371,2	c.1339C>T (p.R447*)	c.8287C>T, (p.R2763*)
254	11	ж	Атаксия, телеангиэктазия; пятна «кофе с молоком»; снижение прибавок по росту и массе, мигренеподобные головные боли; уровень иммуноглобулинов не снижен	322,0	c.3802delG (p.V1268*)	c.5932G>T (p.E1978*)
255	3	ж	Атаксия, телеангиэктазия; пятна «кофе с молоком»; снижение IgA и IgG	93,9	c.5932G>T (p.E1978*)	NG_009830.1(ATM_v001):c.7630-2A>C
298	17	м	Атаксия, телеангиэктазия, дизартрия; низкий IgA; лимфома Ходжкина в возрасте 15 лет	278,3	NG_009830.1 (ATM_v001): c.5497-1G>A	c.5932G>T (p.E1978*)
360	3	ж	Атаксия, телеангиэктазия; лейкопения; низкий IgG	84,9	c.450_453delTTCT (p.S151*)	c.8977C>T (p.R2993*)

ID	Возраст, лет	Пол	Клинические признаки	АФП, IU/мЛ	Аллель 1	Аллель 2
364	10	ж	Атаксия, телеангиэктазия, дизартрия; пятна «кофе с молоком», остеомиелит; снижение числа В-клеток, низкий IgA	139.6	c.5932G>T (p.E1978*)	c.6095G>A (p.R2032L)
434	13	ж	Атаксия, телеангиэктазия	1133.0	c.5932G>T (p.E1978*)	c.5932G>T (p.E1978*)
438	13	ж	Атаксия, телеангиэктазия; лейкопения, уровень иммуноглобулинов не снижен	845.8	c.5932G>T (p.E1978*)	NG_009830.1(NM_000051.3):c.(9235+1_9236-1)_(13146+1_13148-1)del
441	6	м	Атаксия, телеангиэктазия; внутривенное применение антибиотиков при инфекциях; лейкопения, низкий IgA	159.2	c.494T>G (p.L165*)	c.5932G>T (p.E1978*)
444	5	м	Атаксия, телеангиэктазия; снижение числа Т-лимфоцитов; низкие IgA, IgM, IgG	1571.0	c.4642_4645delGATA (p.D1548Tfs14*)	c.5932G>T (p.E1978*)
1026	8	м	Атаксия, телеангиэктазия, дизартрия; 2 гипопигментных пятна на коже, окулоmotorная апраксия; снижение числа Т-лимфоцитов, CD3+CD25+ клеток, повышение NK, низкий IgA	288.6	c.5932G>T (p.E1978*)	c.1571G>A (p.W524*)
1191	2	м	Атаксия, дизартрия, отиты, пятна «кофе с молоком», снижение IgA, IgG	70.0	c.1564_1565delGA (p.E522Ifs*43)	c.5188C>T (p.R1730*)

Известно, что аллель с.5932G>T, (p.E1978*), наиболее часто встречающийся в настоящем исследовании, распространен в России [Birrell et al., 2005; Bogdanova et al., 2009; Mitui et al., 2005], Польше [Mitui et al., 2005; Podralska et al., 2014], Чехии [Soukupova et al., 2008; Soukupova et al., 2011], Беларуси и Украине [Bogdanova et al., 2009]. Интересно, что этот вариант был первоначально обнаружен в семьях североамериканских меннонитов [Mitui et al., 2005; Telatar et al., 1998]. Менониты проживали в России до конца XIX века; они были вынуждены покинуть страну в связи с введением обязательной военной службы, которая оказалось несовместимой с их религиозными убеждениями.

Мутация *ATM* с.1564_1565delGA неоднократно описывалась во многих популяциях по всему миру [Campbell et al., 2003; Demuth et al., 2011; Stankovic et al., 1998], включая страны с преимущественно славянской популяцией [Birrell et al., 2005; Mitui et al., 2005; Soukupova et al., 2011]. Хотя вышеуказанные мутации хорошо известны из предыдущих исследований, третья повторяющаяся мутация, *ATM* с.450_453delTTCT, (p.S151*), имеет очень низкую частоту в соответствии с базой данных ExAC и никогда не наблюдалась в предыдущих исследованиях с участием славянских пациентов. Этническое и географическое распределение этого аллеля заслуживает дальнейшего изучения. Описаны два других славянских аллеля (с.7630-2A>C и с.6095G>A), которые распространены в Польше [Mitui et al., 2005; Podralska et al., 2014]; однако в нашем исследовании эти варианты не относились к повторяющимся.

Крупные генные перестройки, как правило, редко встречаются у пациентов с АТ [Carranza et al., 2017; Cavalieri et al., 2008; Savitsky et al., 1995; Telatar et al., 1998]. Есть два опубликованных славянских исследования, в которых исследовался этот тип мутаций. Podralska et al., 2014 сообщили о масштабных дефектах *ATM* у 2 из 24 польских пациентов (8%); у одного из них была выявлена делеция экзонов 62–63 гена *ATM*, обнаруженная в настоящем исследовании. Soukupova et al., 2011 проанализировали 11 чешских и словацких семей с АТ и не обнаружили случаев крупных перестроек *ATM*. В соответствии с другими авторами, наша работа подтвердила пригодность таргетного NGS для обнаружения больших делеций/дупликаций [Kerkhof et al., 2017; Sanchez-Navarro et al., 2018].

Таким образом, настоящее исследование демонстрирует, что более половины мутаций *ATM* у российских пациентов представлены повторяющимися патогенными аллелями. Эти данные должны быть приняты во внимание при планировании обследования больных с подозрением на АТ и, возможно, рассмотрении вопроса о целесообразности скрининга данного синдрома.

Синдром Блума

Реестр пациентов с синдромом Блума описывает несколько десятков различных мутаций в гене *BLM*, и многие из них, по-видимому, являются повторяющимися [German et al., 2007]. Однако до настоящего времени этническая специфичность вариантов зарегистрирована только у евреев-ашкенази, у которых популяционная частота аллеля с.2207_2212delATCTGAinsTAGATTC (*BLM*^{Ash}) приближается к 0,4–1% [Fares et al., 2008]. Высокая частота варианта *BLM* с.1642C>T (p.Q548*), выявленная нами при поиске новых генов наследственного РМЖ, подразумевает его возможную роль в качестве славянской founder-мутации.

Проведенные исследования свидетельствуют, что частота гетерозиготных носителей *BLM* с.1642C>T (p.Q548*) в славянских популяциях обычно находится в пределах 0,2–0,6% (Табл. 7). Если предположить, что общее число славян в мире близко к 300 миллионам человек, причем почти половина из них проживает в России, можно ожидать, что в настоящее время синдромом Блума могут страдать от 300 до 2700 человек славянского происхождения. Возможно, фактическое число распространенных случаев несколько ниже, учитывая сокращение продолжительности жизни у пациентов [Agora et al., 2014; Cunniff et al., 2017; German et al., 2007]

Таблица 7. Частота мутации *BLM* с.1642С>Т (р.Q548*) у людей славянского происхождения

Ссылка	Страна/регион	Частота гетерозигот
Настоящее исследование	Санкт-Петербург	5/2184* (0,23%)
Prokofyeva et al., 2013	Белоруссия, только женщины	2/1235* (0,16%)
Antczak et al., 2013	Польша, только мужчины	15/2604* (0,58%)
Anisimenko et al., 2014	Новосибирск	35/7920 (0,44%)
Bogdanova et al., 2014	Уфа	0/604* (0)

*не страдающие злокачественными новообразованиями

Исходя из полученных сведений о высокой частоте мутации *BLM* с.1642С>Т у жителей Российской Федерации, мы предпринимали попытки поиска пациентов с синдромом Блума в основных медико-генетических центрах России, в результате чего удалось выявить один случай заболевания.

Пациент 1 (Рис. 6) родился от родителей, проживающих в Республике Татарстан; его мать имела смешанные русские и татарские корни, а отец был этническим русским. Мальчик постоянно наблюдался в эндокринологическом центре в связи с низкорослостью.



Рисунок 6. Пациент 1 в возрасте 5 и 12 лет

Диагноз синдрома Блума был заподозрен клинически в медико-генетической консультации. Генетическое тестирование (секвенирование гена *BLM*) было проведено в возрасте 12 лет. У ребенка выявлен «славянский» аллель с.1642С>Т (р.Q548*) материнского происхождения в сочетании с ранее не описанным вариантом с.2512С>Т (р.Q838*). Нами проанализирована частота аллеля с.2512С>Т в группе 575 здоровых жителей Санкт-Петербурга: ни одного случая носительства не было выявлено.

Второй ребенок, родившийся от неродственных российских родителей, происходящих из разных регионов России (Архангельск и Краснодар), постоянно наблюдался иммунологами, клиническими генетиками и эндокринологами по поводу низкого роста и рецидивирующих инфекций (Рис. 7). Иммунологическое исследование показало снижение уровня иммуноглобулинов всех классов.



Рисунок 7. Пациент 2 в возрасте 1 года и 6 лет

Генетическое обследование (таргетное секвенирование нового поколения) было проведено в связи с подозрением на наличие первичного иммунодефицита (хроническая диарея, частые респираторные инфекции); была обнаружена мутация *BLM* с.1642C>T (p.Q548*) в гомозиготном состоянии. В возрасте 6 лет у мальчика развилась десмопластическая медуллобластома, которая, несмотря на проводимую химиотерапию, стала причиной смерти.

Общими для пациентов характеристиками были наличие задержки внутриутробного развития, микроцефалия, низкорослость умеренной степени (-2SD), трудности при кормлении. Фенотипически оба ребенка имели удлиненное лицо, крупный нос. В обоих случаях наблюдалось снижение уровня одного или нескольких классов иммуноглобулинов, а также рекуррентные респираторные инфекции, которые были основным поводом для обследования.

Реестр пациентов с синдромом Блума [<http://weill.cornell.edu/bsr/>] не даёт информации о других случаях этого заболевания в странах с преимущественно славянским населением. Представляется вероятным, что больные могут быть пропущены из-за отсутствия надлежащей бдительности среди медицинских работников. Диагноз СБ может быть непростым, учитывая, что единственными относительно постоянными признаками являются низкорослость и эритема, индуцированная инсоляцией, тогда как наличие других характеристик заболевания может варьировать [German et al., 2007]. Кроме того, большинство пациентов с СБ, описанных в литературе, являются носителями аллеля *BLM*^{Ash}, характерного для евреев-ашкенази [German et al., 2007; Arora et al., 2014; Sunniff et al., 2016]. Предстоит выяснить, влияет ли локализация инактивирующей мутации *BLM* на клиническую картину заболевания. Например, у второго ребенка, описанного в нашем исследовании, наблюдалась неполная картина СБ, поскольку у него отсутствовала лицевая эритема, вызванная солнечными лучами (Рис. 7). У ребенка 1 (Рис. б) эритема наблюдалась, но была выражена достаточно слабо и не имела характерного вида «бабочки». Важно признать, что диагноз СБ у описанных нами больных был установлен исключительно по факту биаллельной инактивирующей мутации *BLM*; к сожалению, анализ обмена сестринских хроматид, который является стандартным инструментом для диагностики СБ, был недоступен для этих пациентов.

Неясно, связано ли отсутствие кожных симптомов с низкой инсоляцией, фенотипическим эффектом мутации *BLM* с.1642C>T (Q548*) или другими факторами. Если атипичный вариант синдрома, с отсутствием кожных проявлений, действительно характерен для гомозиготных носителей мутации *BLM* с.1642C>T (p.Q548*), это может правдоподобно объяснить низкую эффективность диагностики СБ в славянских странах. В поддержку такой точки зрения свидетельствует описание трех sibсов с признаками синдрома Блума из Словакии [Vojtková et al, 2016]: все они были гомозиготны по мутации p.Q548* и у всех отсутствовала лицевая эритема. По всей видимости, отсутствие кожных проявлений встречается не только у обладателей славянской мутации. В частности, описана 36-летняя женщина из Нидерландов с низкорослостью, микроцефалией, врожденным гипотиреозом, преждевременной менопаузой и носоглоточной карциномой.

Генетический анализ выявил у неё компаунд-гетерозиготу по аллелям *BLM* с.2207_2212delinsTAGATTC (p.Tyr736Leufs*5) и с.3681del (p.Lys1227Asnfs*52); лицевая эритема у неё отсутствовала на момент обследования и не наблюдалась никогда ранее [Bouman et al, 2018].

Учитывая, что тестирование повторяющейся мутации *BLM* с.1642C>T (Q548*) отличается простотой и невысокой стоимостью, мы считаем целесообразным выполнять анализ всех индивидуумов славянского происхождения, имеющих хотя бы один из признаков СБ (низкий рост, задержка внутриутробного развития в анамнезе, необычная чувствительность кожи к инсоляции, дефицит подкожной клетчатки, рецидивирующие инфекции, развитие злокачественной опухоли в молодом возрасте и т. д.), на наличие этого аллеля. Ожидаемо, спектр мутаций гена *BLM* не ограничивается *BLM* с.1642C>T даже в славянских популяциях, поэтому следует всегда проводить секвенирование всего гена у индивидуумов с гетерозиготной мутацией *BLM* с.1642C>T (Q548*) и/или комбинацией клинических признаков СБ. Эти усилия помогут выявить новых пациентов с СБ, а также уточнить частоту атипичных вариантов с неполными фенотипическими проявлениями.

ВЫВОДЫ

1. Молекулярно-генетический анализ подтвердил диагноз синдрома Линча у 38 из 53 (72%) пациентов, у которых наблюдались клинические признаки этого заболевания в сочетании с феноменом микросателлитной нестабильности (MSI-H) в опухолевой ткани. Комбинация секвенирования по Сэнгеру и MLPA обладает сходной эффективностью выявления мутаций генов mismatch – репарации (MMR) по сравнению с комбинацией таргетного NGS и MLPA (14/21 (71%) vs. 26/35 (72%)).
2. Процент выявления наследственных мутаций генов MMR у пациентов с MSI-положительными опухолями толстой кишки значительно выше, чем у больных с MSI-положительными карциномами эндометрия ((20/24 (83%) vs. 3/8 (38%); p = 0,023)).
3. Повторяющиеся варианты генов MMR редко встречаются у российских пациентов с синдромом Линча. У двух и более индивидуумов выявлены только варианты *MLH1* с.677G>T и *MSH2* с.1906G>C. В то же время, у 10,5% пациентов с подозрением на синдром Линча обнаружены крупные генные перестройки (делеции отдельных экзонов) *MLH1* и *MSH2*, что свидетельствует об обязательности использования метода MLPA при анализе подобных больных.
4. Клинико-морфологические критерии синдрома Пейтца-Егерса обладают высокой степенью информативности: они дают возможность выявления наследственных патогенных вариантов *STK11* у 80% пациентов. Наличие повторяющихся патогенных вариантов *STK11* нехарактерно для российских пациентов с синдромом Пейтца-Егерса.
5. Частота мутации *BLM* с.1642C>T (p.Q548*) значительно выше в группе пациентов с РМЖ по сравнению со здоровыми донорами (10/879 (1,1%) vs. 2/1093 (0,2%), p = 0,007). Относительный риск развития РМЖ составил 6,28 (ДИ 1,52–42,18). Таким образом, *BLM* относится к категории генов, ассоциированных с повышенным риском наследственного РМЖ.
6. Для карцином молочной железы, возникающих у пациенток с наследственными мутациями *BLM*, нехарактерен феномен соматической утраты интактного аллеля. Потеря гетерозиготности не была обнаружена ни в одном из 10 исследованных случаев, т.е., наиболее вероятным механизмом развития опухолей представляется гаплонедостаточность.
7. У российских пациентов с туберозным склерозом (ТС) наблюдается доминирование спорадических форм, связанных с мутациями *de novo*; процент семейных случаев существенно ниже по сравнению с данными других авторов (5% против 11–38%). К возможным объяснениям можно отнести плохую социальную адаптацию пациентов,

- недостаточно эффективную диагностику легких форм ТС или низкую популяционную частоту наследственных мутаций. Значительная доля (11%) мутаций, выявленных у пациентов с ТС, представлена крупными перестройками *TSC2*, что свидетельствует о необходимости включения MLPA-тестирования или аналогичных методов в стандарт генетического обследования.
8. Больные ТС без выявленных мутаций *TSC1/2* имели более лёгкое течение заболевания по сравнению с теми, у кого дефекты этих генов были обнаружены. В частности, характерны более поздний возраст на момент диагноза, отсутствие кортикальных туберов и субэпендимальных узлов, а также низкая частота эпилептических приступов.
 9. Среди детей с рекуррентными инфекциями патогенные мутации в генах первичных иммунодефицитов (ПИД) удалось выявить у 88 из 400 (22%) проанализированных пациентов. Эффективность таргетного секвенирования зависит от использованных критериев отбора больных. В группе детей, соответствующих критериям JMF, частота обнаружения мутаций составила 44/208 (21%), а у пациентов с периодическими лихорадками – 16/63 (25%). В то же время, у пациентов с аутоиммунными цитопениями эта цифра составляла 4/31 (13%), у часто болеющих детей – 3/54 (6%), у пациентов с необычно тяжелым течением инфекций – 1/21 (5%), а при наличии изолированного повышения уровня IgE – 0 (0/6).
 10. В группе пациентов с подозрением на атаксию-телеангиэктазию (АТ) мутации *ATM* были выявлены у 17 из 17 человек, что свидетельствует о надежности существующих клинико-лабораторных критериев этого заболевания. Мутация *ATM* с.5932G>T была обнаружена у 12 из 16 пациентов славянского происхождения (75%) с атаксией–телеангиэктазией; кроме того, выявлены еще два повторяющихся аллеля - с.450_453delTTCT и с.1564_1565delGA.
 11. Гомозиготная «славянская» мутация *BLM* с.1642C>T (p.Q548*) ассоциирована с редким фенотипом синдрома Блума, характеризующимся отсутствием лицевой эритемы. Такая особенность клинических проявлений данного заболевания может служить объяснением низкой эффективности диагностики этого синдрома у жителей Российской Федерации.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Тестирование российских пациентов с клиническими признаками синдрома Линча и феноменом микросателлитной нестабильности на наличие повторяющихся мутаций неэффективно вследствие низкой распространенности founder-вариантов. С учетом необходимости анализа нескольких генов, рекомендовано проведение таргетного высокопроизводительного секвенирования; частое обнаружение крупных делеций *MLH1/MSH2* свидетельствует о необходимости включения в алгоритм обследования метода MLPA.
2. Для диагностики синдрома Пейтца-Егерса рекомендуется использование секвенирования по Сэнгеру гена *STK11*, дополненное использованием метода MLPA.
3. Рекомендуется включить исследование аллеля *BLM* с.1642C>T (p.Q548*) в диагностическую панель, направленную на диагностику наследственного рака у российских пациенток с опухолями молочной железы.
4. Диагностика туберозным склероза должна включать не только стандартное секвенирование генов *TSC1* и *TSC2*, но и анализ крупных перестроек гена *TSC2*.
5. Генетическое тестирование мутаций в генах ПИД методом таргетного мультигенового секвенирования целесообразно рекомендовать детям, отвечающих хотя бы одному из следующих требований: а) соответствие критериям JMF; б) наличие периодических лихорадок; в) наличие аутоиммунного лимфопролиферативного синдрома.

6. Повышенная частота инфекционных эпизодов у детей (более 8 в год), а также лабораторный феномен изолированного повышения IgE более 2000 МЕ/мл в отсутствие инфекционных проявлений, не являются показаниями для поиска мутаций в генах ПИД.
7. Больные, у которых рекуррентные инфекции сочетаются с множественными аномалиями развития, нуждаются в консультации клинического генетика и генетическом обследовании для исключения хромосомных/микроделеционных синдромов.
8. Российским пациентам с признаками атаксии-телеангиэктазии процесс ДНК-диагностики целесообразно начинать с тестирования трех повторяющихся мутаций *ATM*: с.5932G>T (p.E1978*), с.1564_1565delGA (p.E522Pefs*43) и с.450_453delTTCT (p.S151*).
9. Рекомендуются генетическое обследование с целью исключения синдрома Блума всем детям с сочетанием низкорослости, рекуррентных инфекций и задержкой внутриутробного развития в анамнезе. У пациентов славянского происхождения тестирование целесообразно начинать с анализа повторяющейся мутации *BLM* с.1642C> T (p.Q548*).

ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Планируется продолжение изучения наследственного неполипозного рака толстой кишки, синдромов Пейтца-Егерса и Блума, атаксии-телеангиэктазии за счет привлечения большего числа пациентов. Относительная редкость этих заболеваний влечет за собой необходимость многолетнего создания коллекций образцов.

Требуется продолжение поиска новых генов, ассоциированных с высоким риском развития рака молочной железы. Возможные успехи в этой области могут быть связаны с улучшением биоинформатической обработки результатов высокопроизводительного секвенирования – в частности, оптимизацией способов детекции нарушений копияности (CNV) и выявления патогенных вариантов, располагающихся в некодирующих областях генома.

Также необходимо дальнейшее изучение генетического груза российской популяции в отношении наследственных дефектов иммунитета. Одним из перспективных подходов к исследованию может стать анализ данных экзомного секвенирования российских пациентов с целью выявления повторяющихся вариантов, связанных с развитием аутосомно-рецессивных и X-сцепленных болезней.

Большой интерес представляет изучение молекулярно-генетических особенностей опухолей, развившихся на фоне наследственного дефекта иммунитета, в частности, в рамках синдромов с хромосомной нестабильностью.

Наконец, еще одним важным направлением для разработки является внедрение экспериментальных методик, направленных на уточнение функциональной значимости генетических вариантов, обнаруженных в результате проведения таргетного и экзомного секвенирования.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Suspitsin E.N., Buslov K.G., Grigoriev M.Yu., Ishutkina J.G., Ulibina J.M., Gorodinskaya V.M., Pozhariski K.M., Berstein L.M., Hanson K.P., Togo A.V., Imyaninov E.N. Evidence against involvement of p53 polymorphism in breast cancer predisposition. // Int. J. Cancer. – 2003. – Vol.103. – P.431 - 433. Q1.**
2. **Buslov K.G., Iyevleva A.G., Chekmariova E.V., Suspitsin E.N., Togo A.V., Kuligina E.Sh., Sokolenko A.P., Matsko D.E., Turkevich E.A., Lazareva Y.R., Chagunava O.L., Bit-Sava E.M., Semiglazov V.F., Devilee P., Cornelisse C., Hanson K.P., Imyaninov E.N. NBS1 657del5 mutation may contribute only to a limited fraction of breast cancer cases in Russia // Int. J. Cancer. -2005. – Vol. 114. – P. 585 – 589. Q1.**

3. Imyanitov E.N., Hairutdinov V.R., Moshkalov A.V., Samtsov A.V., Buslov K.G., Kuligina E.Sh., Mitiushkina N.V., Suspitsin E.N., Togo A.V., Hanson K.P. Apoptosis-deficient Pro allele of p53 gene is associated with the resistance of psoriasis to the UV-based therapy // *J. Dermatol Sci.* – 2005. – Vol.37. - P.185 – 187. Q1.
4. Sokolenko A.P., Mitiushkina N.V., Buslov K.G., Bit-Sava E.M., Ievleva A.G., Chekmariova E.V., Kuligina E.Sh., Ulibina Y.M., Rozanov M.E., Suspitsin E.N., Matsko D.E., Chagunava O.L., Trofimov D.Yu., Devilee P., Cornelisse C., Togo A.V., Semiglazov V.F., Imyanitov E.N. High frequency of BRCA1 5382insC mutation in Russia breast cancer patients // *Eur J Cancer*, 42, 2006, P. 1380-1384. Q1.
5. Suspitsin E.N., Sokolenko A.P., Togo A.V., Lazareva Yu.R., Turkevich E.A., Matsko D.E., Henrich K.-O., Borresen-Dale A.-L., Schwab M., Cornelisse C.J., Imyanitov E.N. //Nonrandom distribution of oncogene amplifications in bilateral breast carcinomas: possible role of host factors and survival bias. *Int J Cancer.* – 2006. - Vol.120. - P. 297-302. Q1.
6. Kuligina E.Sh., Grigoriev M.J., Suspitsin E.N., Buslov K.G., Zaitseva O.A., Yatsuk O.S., Lazareva Yu.R., Togo A.V., Imyanitov E.N. Microsatellite instability analysis of bilateral breast tumors suggests treatment-related origin of some contralateral malignancies // *J Cancer Res Clin Oncol.* – 2007. – Vol. 133. - P. 57-64. Q1.
7. Suspitsin E.N., Due E.U., Vu P., Hirvonen A., Borresen-Dale A.-L., Imyanitov E.N. TP53 mutations in synchronous and metachronous bilateral breast carcinomas. // *Cancer Genet Cytogenet.* – 2008. - Vol. 184. - P. 119-121.
8. Moiseyenko V.M., Protsenko S.A, Brezhnev N.V., Maximov S.Y., Gershveld E.D., Hudyakova M.A., Lobeiko O.S., Gergova M.M., Krzhivitskiy P.I., Semionov I.I., Matsko D.E., Iyevleva A.G., Sokolenko A.P., Sherina N.Y., Kuligina E.Sh., Suspitsin E.N., Togo A.V., Imyanitov E.N. High sensitivity of BRCA1-associated tumors to cisplatin monotherapy: report of two cases // *Cancer Genet Cytogenet.* - 2010 - Vol. 197 (1), P. 91-94.
9. Iyevleva A.G., Suspitsin E.N., Kroeze K., Gorodnova T.V., Sokolenko A.P., Buslov K.G., Voskresenskiy D.A., Togo A.V., Kovalenko S.P., Stoep N.V., Devilee P., Imyanitov E.N. Non-founder BRCA1 mutations in Russian breast cancer patients // *Cancer Lett.*, 2010, Vol. 298. - P. 258-263. Q1.
10. Sokolenko A.P., Iyevleva A.G., Mitiushkina N.V., Suspitsin E.N., Preobrazhenskaya E.V., Kuligina E.Sh., Voskresenskiy D.A., Lobeiko O.S., Krylova N.Yu., Gorodnova T.V., Buslov K.G., Bit-Sava E.M., Dolmatov G.D., Porhanova N.V., Polyakov I.S., Aysheva S.N., Katanugina A.S., Baholdin D.V., Yanus G.A., Togo A.V., Moiseyenko V.M., Maximov S.Ya., Semiglazov V.F., Imyanitov E.N. Hereditary breast-ovarian cancer syndrome in Russia // *Acta Naturae.* – 2010. – Vol.4(7). - P. 31-35.
11. Цыбакова Н.Ю., Соколенко А.П., Иевлева А.Г., Суспицын Е.Н., Имянитов Е.Н. Анализ встречаемости повторяющихся мутаций в генах BRCA1, CHEK2, NBS1, CFTR, PAH и CX26 у здоровых жительниц Санкт-Петербурга // *Medline.ru.* – 2011. - Т. 12. - С. 1329–1341.
12. Russnes H.G., Kuligina E.S., Suspitsin E.N., Voskresenskiy D.A. Jordanova E.S., Cornelisse C.J., Borresen-Dale A.-L., Imyanitov E.N. Paired distribution of molecular subtypes in bilateral breast carcinomas // *Cancer Genetics.* – 2011. – Vol. 204. - P. 96-102.
13. Suspitsin E., Sokolenko A., Voskresenskiy D., Ivantsov A., Shelehova K., Klimashevskiy V., Matsko D., Semiglazov V., Imyanitov E. Mixed epithelial/mesenchymal metaplastic carcinoma (carcinosarcoma) of the breast in BRCA1 carrier // *Breast Cancer.* – 2011. –Vol.18(2). – P. 137-140.
14. Suspitsin E.N., Levchenko E.V., Moiseyenko F.V., Ivantsov A.O., Radzhabova S.A., Matsko D.E., Moiseyenko V.M., Imyanitov E.N. Rapid symptomatic improvement in gefitinib-treated patients with EGFR-mutated lung cancer: possible role of

- downregulation of inflammatory molecules? // *Onkologie*. – 2011. - Vol. 34 (10). - P. 559-560.
15. Sokolenko A., Iyevleva A., Preobrazhenskaya E., Mitiushkina N., Aбыsheva S., Suspitsin E., Kuligina E., Gorodnova T., Pfeifer W., Togo A., Turkevich E., Ivantsov A., Voskresenskiy D., Dolmatov G., Bit-Sava E., Matsko D., Semiglazov V., Fichtner I., Larionov A., Kuznetsov S., Antoniou A., Imyanитov E. High prevalence and breast cancer predisposing role of the BLM c.1642 C>T (Q548X) mutation in Russia // *Int. J. Cancer*. – 2012. – Vol. 130(12). – P. 2867-2873. Q1.
 16. Belyaeva A.V., Yanus G.A., Suspitsin E.N., Zaitseva O.A., Yatsuk O.S., Moiseenko A.B., Gulyaev A.V., Imyanитov E.N. Age-related and clinicopathological features of colorectal cancer associated with K-ras gene status // *Adv. Gerontol.* – 2012. - Vol. 2. - P. 306-311.
 17. Янус Г.А., Корнилов А.В., Суспицын Е.Н., Зайцева О.А., Яцук О.С., Стрекалов Д.Л., Поляков И.С., Бреништер С.И., Правосудов И.В., Гуляев А.В., Семиглазов В.В., Имянитов Е.Н. Молекулярно-генетическая диагностика наследственного неполипозного рака толстой кишки // *Сибирский онкологический журнал*. – 2012. - № 2(50). - С. 29-38.
 18. Янус Г.А. Суспицын Е.Н., Дорофеева М.Ю., Имянитов Е.Н. Молекулярная диагностика туберозного склероза // *Педиатр*. – 2013. - Т. 4. - №1. - С. 3–8.
 19. Moiseyenko V., Volkov N., Suspitsin E., Yanus G., Iyevleva A., Kuligina E., Togo A., Kornilov A., Ivantsov A., Imyanитov E. Evidence for predictive role of BRCA1 and bTUBIII in gastric cancer // *Med. Oncol.* – 2013. – Vol. 30(2). –P. 545. Q1.
 20. Суспицын Е.Н., Имянитов Е.Н. Проблемы диагностики редких заболеваний // *Справочник заведующего КДЛ*. – 2013. - №6. - С. 29–38.
 21. Suspitsin E.N., Yanus G.A., Sokolenko A.P., Yatsuk O.S., Zaitseva O.A., Bessonov A.A., Ivantsov A.O., Heinstejn V.A., Klimashevskiy V.F., Togo A.V., Imyanитov E.N. Development of breast tumors in CHEK2, NBN/NBS1 and BLM mutation carriers does not commonly involve somatic inactivation of the wild-type allele // *Med. Oncol.* - 2014, Vol. 31. - P. 828. Q1.
 22. Sokolenko A.P., Bulanova D.R., Iyevleva A.G., Aleksakhina S.N., Preobrazhenskaya E.V., Ivantsov A.O., Kuligina E.Sh., Mitiushkina N.V., Suspitsin E.N., Yanus G.A., Zaitseva O.A., Yatsuk O.S., Togo A.V., Kota P., Dixon J.M., Larionov A.A., Kuznetsov S.G., Imyanитov E.N. High prevalence of GPRC5A germline mutations in BRCA1-mutant breast cancer patients // *Int. J. Cancer*. - 2014, Vol. 134(10) - P. 2352–2358. Q1.
 23. Suspitsin E.N., Sokolenko A.P., Lyazina L.V., Preobrazhenskaya E.V., Lepenchuk A.Y., Imyanитov E.N. Exome sequencing of a family with Bardet-Biedl syndrome identifies the common Russian mutation c.1967_1968delTAinsC in BBS7 // *Mol. Syndromol.* – 2015. - Vol. 6. - P. 96-98.
 24. Sokolenko AP, Suspitsin EN, Kuligina ESh, Bizin IV, Frishman D, Imyanитov EN. Identification of novel hereditary cancer genes by whole exome sequencing // *Cancer Lett.* – 2015. - Vol. 369(2). - P. 274-288. Q1.
 25. Sokolenko A., Volkov N., Preobrazhenskaya E., Suspitsin E., Garifullina A., Ivantsov A., Togo A., Imyanитov E. Evidence for a pathogenic role of BRCA1 L1705P and W1837X germ-line mutations // *Mol. Biol. Rep.* – 2016. – Vol. 43(5). – P. 335-338.
 26. Suspitsin E.N., Imyanитov E.N. Bardet-Biedl Syndrome // *Mol. Syndromol.* – 2016. - Vol.7(2). - P. 62-71.
 27. Суспицын Е.Н., Тюрин В.И., Имянитов Е.Н., Соколенко А.П. Полноэкзомное секвенирование: принципы и диагностические возможности // *Педиатр*. – 2016. - Т. 7. - №4. - С. 142–146.
 28. Суспицын Е.Н., Соколенко А.П., Имянитов Е.Н. Полноэкзомное секвенирование в онкологии // *Вопросы онкологии*. – 2016. - Т. 62. - №6. - С. 713–718.

29. **Иванцов А.О., Янус Г.А., Суспицын Е.Н., Анисимова Е.И., Имянитов Е.Н.** Молекулярные маркеры чувствительности и резистентности карцином толстой кишки к терапии антагонистами EGFR // *Сибирский онкологический журнал*. – 2016. - Т. 15. - №1. - С. 59–66.
30. Сибгатулина Ф.И., Имянитов Е.Н., Суспицын Е.Н., Пятёркина О.Г., Вильданов И.Х. Первый генетически подтвержденный случай синдрома Блума в России // *Практическая медицина*. – 2016. - Т. 7(99). - С. 102–105.
31. **Suspitsin E.N., Sibgatullina F.I., Lyazina L.V., Imyanitov E.N.** First Two Cases of Bloom Syndrome in Russia: Lack of Skin Manifestations in a BLM c.1642C>T (p.Q548X) Homozygote as a Likely Cause of Underdiagnosis // *Mol. Syndromol.* – 2017. - Vol. 8. - P. 103-106.
32. **Preobrazhenskaya E.V., Bizin I.V., Kuligina E.S., Shleykina A.Y., Suspitsin E.N., Zaytseva O.A., Anisimova E.I., Laptiev S.A., Gorodnova T.V., Belyaev A.M., Imyanitov E.N., Sokolenko A.P.** Detection of BRCA1 gross rearrangements by droplet digital PCR // *Breast Cancer Res. Treat.* – 2017. - Vol.165. - P. 765–770. Q1.
33. **Лязина Л.В., Бодюль Н.Н., Вохмянина Н.В., Ефимова А.Г., Серебрякова Е.А., Иващенко Т.Э., Глотов О.С., Глотов А.С., Романова О.В., Куранова М.Л., Василишина А.А., Суспицын Е.Н., Михайлов А.В., Сарана А.М., Щербак С.Г., Баранов В.С.** Возможности оказания медицинской помощи в современных условиях на примере семьи с наследственной патологией. *Медицинская генетика*. – 2017. – Т. 16(10). – С. 51-54.
34. **Суспицын Е.Н., Янус Г.А., Дорофеева М.Ю., Имянитов Е.Н.** Генетика туберозного склероза // Глава в книге. Дорофеева М.Ю. Туберозный склероз. Диагностика и лечение /М., Адаре, 2017 – 287 с. С. 37-45.
35. **Туркунова М.Е., Дитковская Л.В., Суспицын Е.Н., Тыртова Л.В., Желенина Л.А., Гусева М.Н.** Неонатальный сахарный диабет в структуре IPЕХ-синдрома // *Педиатр*. – 2017. - Т. 8. - №2. - С. 99–104.
36. **Yanus G.A., Akharkina T.A., Ivantsov A.O., Preobrazhenskaya E.V., Aleksakhina S.N., Bizin I.V., Sokolenko A.P., Mitiushkina N.V., Kuligina E.S., Suspitsin E.N., et al.** Spectrum of APC and MUTYH germ-line mutations in Russian patients with colorectal malignancies // *Clin. Genet.* – 2018. - Vol. 93(5). - P. 1015-1021. Q1.
37. **Kostik M.M., Suspitsin E.N., Guseva M.N., Levina A.S., Kazantseva A.Y., Sokolenko A.P., Imyanitov E.N.** Multigene sequencing reveals heterogeneity of NLRP12-related autoinflammatory disorders // *Rheumatol. Int.* – 2018. - Vol. 38(5). - P. 887-893.
38. **Suspitsin E.N., Yanus G.A., Dorofeeva M.Y., Ledashcheva T.A., Nikitina N.V., Buyanova G.V., Saifullina E.V., Sokolenko A.P., Imyanitov E.N.** Pattern of TSC1 and TSC2 germline mutations in Russian patients with tuberous sclerosis // *J. Hum. Genet.* – 2018. - Vol. 63(5). - P. 597-604.
39. **Кондратенко И.В., Суспицын Е.Н., Вахлярская С.С., Бологов А.А., Имянитов Е.Н.** Синдром Кабуки // *Вопросы гематологии и иммунопатологии в педиатрии*. – 2018. - Т.16. - №4. - С. 75–83.
40. **Суспицын Е.Н., Махова М.А., Имянитов Е.Н.** Злокачественные новообразования, ассоциированные с наследственными иммунодефицитами // *Вопросы онкологии*, 2018 - Т. 64. - №1. - С. 7–14.
41. **Сулейманова А.М., Филин А.В., Качанов Д.Ю., Шаманская Т.В., Метелин А.В., Феоктистова Е.В., Рошин В.Ю., Щербаков А.П., Терещенко Г.В., Земцова Л.В., Преображенская Е.В., Суспицын Е.Н., Варфоломеева С.Р.** Описание клинического случая развития воспалительной миофибробластической опухоли печени у пациента раннего возраста // *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии*. – 2018. – Т.17. – №3. – С. 93–102.

42. Zheglo D, Brueckner LM, Sepman O, Wecht EM, Kuligina E, Suspitsin E, Imyanitov E, Savelyeva L. The FRA14B common fragile site maps to a region prone to somatic and germline rearrangements within the large GPHN gene. *Genes Chrom. Cancer.* – 2019. – Vol. 58(5). – P. 284–294. Q1.
43. Yanus GA, Akhapkina TA, Whitehead AJ, Bizin IV, Iyevleva AG, Kuligina ES, Aleksakhina SN, Anisimova MO, Holmatov MM, Romanko AA, Zaitseva OA, Yatsuk OS, Zagorodnev KA, Matsneva MA, Koloskov AV, Togo AV, Suspitsin EN, Imyanitov EN. Exome-based search for recurrent disease-causing alleles in Russian population. *Eur. J. Med. Genet.* – 2019. Vol. 62(7). – P. 103656. Q1.
44. Suspitsin E, Sokolenko A, Bizin I, Tumakova A, Guseva M, Sokolova N, Vakhlyarskaya S, Kondratenko I, Imyanitov E. ATM mutation spectrum in Russian children with ataxia-telangiectasia. *Eur. J. Med. Genet.* – 2020. – Vol. 63(1). – P.103630. Q1.
45. Glotov OS, Serebryakova EA, Turkunova ME, Efimova OA, Glotov AS, Barbitoff YA, Nasykhova YA, Predeus AV, Polev DE, Fedyakov MA, Polyakova IV, Ivashchenko TE, Shved NY, Shabanova ES, Tiselko AV, Romanova OV, Sarana AM, Pendina AA, Scherbak SG, Musina EV, Petrovskaya-Kaminskaya AV, Lonishin LR, Ditkovskaya LV, Zhelenina LA, Tyrtova LV, Berseneva OS, Skitchenko RK, Suspitsin EN, Bashnina EB, Baranov VS. Whole-exome sequencing in Russian children with non-type 1 diabetes mellitus reveals a wide spectrum of genetic variants in MODY-related and unrelated genes. *Mol. Med. Rep.* - 2019. - Vol. 20(6). – P. 4905-4914.
46. Yanus GA, Akhapkina TA, Iyevleva AG, Kornilov AV, Suspitsin EN, Kuligina ES, Ivantsov AO, Aleksakhina SN, Sokolova TN, Sokolenko AP, Togo AV, Imyanitov EN. The spectrum of Lynch syndrome-associated germ-line mutations in Russia. *Eur. J. Med. Genet.* – 2020. Vol. 63(3)/ - P. 103753. Q1.
47. Kuligina ES, Sokolenko AP, Bizin IV, Romanko AA, Zagorodnev KA, Anisimova MO, Krylova DD, Anisimova EI, Mantseva MA, Varma AK, Hasan SK, Ni VI, Koloskov AV, Suspitsin EN, Venina AR, Aleksakhina SN, Sokolova TN, Milanović AM, Schürmann P, Prokofyeva DS, Bermisheva MA, Khusnutdinova EK, Bogdanova N, Dörk T, Imyanitov EN. Exome sequencing study of Russian breast cancer patients suggests a predisposing role for USP39. *Breast Cancer Res. Treat.* – 2020. – Vol. 179(3). – P. 731-742. Q1.
48. Suspitsin EN, Guseva MN, Kostik MM, Sokolenko AP, Skripchenko NV, Levina AS, Goleva OV, Dubko MF, Tumakova AV, Makhova MA, Lyazina LV, Bizin IV, Sokolova NE, Gabrusskaya TV, Ditkovskaya LV, Kozlova OP, Vahliarskaya SS, Kondratenko IV, Imyanitov EN. Next generation sequencing analysis of consecutive Russian patients with clinical suspicion of inborn errors of immunity. *Clin. Genet.* – 2020. – Vol. 98(3). – P. 231-239. Q1.
49. Sokolova TN, Breder VV, Shumskaya IS, Suspitsin EN, Aleksakhina SN, Yanus GA, Tiurin VI, Ivantsov AO, Vona B, Raskin GA, Gamajunov SV, Imyanitov EN. Revisiting multiple erroneous genetic testing results and clinical misinterpretations in a patient with Li-Fraumeni syndrome: lessons for translational medicine. *Hered. Cancer Clin. Pract.* 2021. - Vol. 9(1):2.
50. Kuligina, E.S., Romanko A.A., Suspitsin E.N., Tumakova A.V., Martianov A.S., Bizin I.V., Gorgul J., Yanus G.A., Kashyap A., Cybulski C., Jakubowska A., Lubiński J., Imyanitov, E.N. Analysis of germline variants in the immune response-related genes in BRCA1 mutation carriers: possible modifying effect on age-dependent BRCA1 penetrance. *Ann. Oncol.* – 2021. - Vol. 32. - Suppl 5. Q1.
51. Васильев А.Е., Янус Г.А., Суспицын Е.Н., Иевлева А.Г., Соколова Т.Н., Бизин И.В., Соколенко А.П., Преображенская Е.В., Ни В.И., Лайдус Т.А., Чуйнышена С.А., Горгуль Ю.А., Алексахина С.Н., Михетько А.А., Имянитов Е.Н. Случай

рака молочной железы у носительницы патогенной мутации в гене PMS2. Вопросы онкологии. 2021. Т. 67. № 4. С. 579-583.

52. **Orlov IE, Laidus TA, Tumakova AV, Yanus GA, Iyevleva AG, Sokolenko AP, Bizin IV, Imyanitov EN, Suspitsin EN. Identification of recurrent pathogenic alleles using exome sequencing data: Proof-of-concept study of Russian subjects. Eur. J. Med. Genet. – 2022. – Vol. 65(2). - P. 104426. Q1.**

ТЕЗИСЫ КОНФЕРЕНЦИЙ

1. Imyanitov E.N., Kuligina E.Sh., Suspitsin E.N., Grigoriev M.Yu., Togo A.V., Pozharisski K.M., Semiglazov V.F., Hanson K.P. Molecular genetic analysis of metachronous bilateral breast carcinomas: allelic profile of the consequent contralateral carcinomas may imply causal relationship with the preceding chemotherapy for the first malignancy // 12th International Congress on Anti-cancer Treatment.- 2002. - Feb 4-7, Paris, France. - P.108.
2. Hanson K.P., Suspitsin E.N., Grigoriev M.Yu., Togo A.V., E.S. Kuligina, Belogubova E.V., Pozharisski K.M., O.L. Chagunava, E.P. Sokolov, C. Theillet, L.M. Bershtein, E.N.Imyanitov. Distinct prevalence of CYP19del3 (TTTA)7 allele in premenopausal versus postmenopausal breast cancer patients // 6th International Symposium on Predictive Oncology and Intervention Strategies. – 2002. - Feb 11, Paris, France. - Abstract 283.
3. Imyanitov E.N., Suspitsin E.N., Grigoriev M.Y., Togo A.V., Kuligina E.S., Belogubova E.V., Buslov K.G., Karpova M.B., Pozharisski K.M., Turkevich E.A., Rodriguez C., Hanson K.P., Cornelisse C.J., Theillet C. Concordance of allelic imbalance profiles in synchronous and metachronous bilateral breast carcinomas // 18th UICC International Cancer Congress, 30 June – 5 July 2002, Oslo – Norway. – Int. J. Cancer. – Suppl. 13. – 2002. - P206.
4. Hanson K.P., Suspitsin E.N., Grigoriev M.Y., Togo A.V., Kuligina E.S., Belogubova E.V., Pozharisski K.M., Berstein L.M., Chagunava O.L., Sokolov E.P., Theillet C., Imyanitov E.N. Distinct prevalence of CYP19del3(TTTA)7 allele in premenopausal versus postmenopausal breast cancer patients // 18th UICC International Cancer Congress, 30 June – 5 July 2002, Oslo – Norway. – Int. J. Cancer. – Suppl. 13. – 2002. - P144.
5. Imyanitov Evgeny, Buslov Konstantin, Suspitsin Evgeny, Kuligina Ekatherina, Belogubova Evgeniya, Grigoriev Maxim, Togo Alexandr, Hanson Kaido Improved genotyping technique for detection of polymorphic variations within TNF-alpha gene // 11th Euroconference on Apoptosis – Ghent, Belgium, October 25-28. – 2003. - Poster abstract 46.
6. Imyanitov E.N., Suspitsin E.N., Buslov K.G., Grigoriev M.Y., Ishutkina Y.G., Ulibina Y.M., Gorodninskaya V.M., Pozharisski K.M., Berstein L.M., Togo A.V., Hanson K.P. Evidence against involvement of p53 gene polymorphism in breast cancer predisposition. // 10th Euroconference on Apoptosis “Charming to death”, Institut Pasteur, Paris, France, October 11-13. - 2002. - Abstract book. - P58.
7. Hanson K.P., Suspitsin E.N., Grigoriev M.Y., Togo A.V., Kuligina E.S., Belogubova E.V., Pozharisski K.M., Berstein L.M., Chagunava O.L., Sokolov E.P., Theillet C., Imyanitov E.N. Distinct prevalence of CYP19 del3(TTTA)7 allele in premenopausal versus postmenopausal breast cancer patients. // 6th International symposium on Predictive Oncology and Intervention Strategies, Institut Pasteur, Paris, France, February 9 -12. - 2002. – 283. - S128.
8. Imyanitov E.N., Buslov K.G., Suspitsin E.N., Kuligina E.S., Belogubova E.V., Grigoriev M.Y., Togo A.V., Hanson K.P. Reversible deposition of allele-specific primers by excess of complementary oligonucleotides drastically improves the reliability of allele-specific PCR // American Association for Cancer Research. 94th Annual Meeting. - April 5-9. - Ab. 4505, 2003. - S1032-1033.
9. Imyanitov E.N., Buslov K.G., Suspitsin E.N., Kuligina E.Sh., Belogubova E.V., Grigoriev M.J., Togo A.V., Hanson K.P. Reversible deposition of allele-specific primers by excess of complementary oligonucleotides drastically improves the reliability of allele-specific PCR // Epidemiology and Biostatistics 8. Proceedings of the American Association for Cancer Research, March 2003. - #4505. - P 1032-1033.
10. Филимоненко В.П., Егоренков В.В., Буслов К.Г., Суспицын Е.Н. Поиски путей индивидуализации лечения больных колоректальным раком препаратами фторпиримидинового ряда // Медицинский академический журнал. - Прилож. 5. – Т. 4. - №3. – 2004. - С 190–191.

11. Imyanитov E., Sokolenko A., Iyevleva A., Chekmariova E., Buslov K., Suspitsin E., Togo A., Bit-Sava E., Semiglazov V. High frequency of selected founder mutations in Russian breast cancer patients // *Materialy z konferencji: Nowotwory dziedziczne –profilaktyka, diagnostyka, leczenie.* - Szczecin 8-9.12.2005. - P. 34.
12. Пискунова Т.С., Соколенко А.П., Суспицын Е.Н. Влияние целебрекса на старение и развитие опухолей молочной железы у трансгенных мышей HER-2/Neu // Санкт-Петербургские научные чтения, международный молодежный медицинский конгресс, онкология. – 2005. - С.93.
13. Hairutdinov V., Moshkalov A., Samtsov A., Buslov K., Kuligina E., Suspitsin E., Iyevleva A., Sokolenko A., Ulibina Y., Imyanитov E. Association between apoptosis-deficient Pro allele of p53 gene and the resistance of the UV-treatment in psoriasis patients // *J. Invest. Dermatol.* – Abstracts. – 2005. - 123.
14. Imyanитov E.N., Sokolenko A.P., Iyevleva A.G., Chekmariova E.V., Buslov K.G., Suspitsin E.N., Bit-Sava E.M., Semiglazov V.F., Togo A.V., Hanson K.P. “Comparison of extremes” approach reveals a noticeable breast cancer predisposing role of the BRCA1 5382insC founder mutation in Russia // *Ann. Oncol. Educational and Abstract Book. ESMO scientific and educational conference (Budapest, June 2-5).* – Vol. 16. – 2005. – Suppl. 2. - ii272. - 6P.
15. Кулигина Е.Ш., Григорьев М.Ю., Улыбина Ю.М., Городинская В.М., Суспицын Е.Н., Буслов К.Г., Туркевич Е.А., Пожарисский К.М., Того А.В., Хансон К.П., Имянитов Е.Н. Частичное восстановление деградированной ДНК, полученной из архивных тканей // *Вопросы онкологии.* – Прилож. - Тезисы Российской конференции по фундаментальной онкологии Петровские чтения. - 2005. – Т. 51. - №1. - С.13 – 14.
16. Соколенко А.П., Суспицын Е.Н., Григорьев М.Ю., Того А.В., Кулигина Е.Ш., Белогубова Е.В., Пожарисский К.М., Чагунава О.Л., Семиглазов В.Ф., Берштейн Л.М., Хансон К.П., Имянитов Е.Н. Аллель del3(ТТТА)7 гена CYP19 ассоциирован с менопаузальным статусом больных раком молочной железы // *Вопросы онкологии.* – Прилож. - Тезисы Российской конференции по фундаментальной онкологии Петровские чтения. - 2005.- Т. 51. - №1. - С.22.
17. Суспицын Е.Н., Григорьев М.Ю., Того А.В., Кулигина Е.Ш., Белогубова Е.В., Пожарисский К.М., Туркевич Е.А., Rodriguez C., Cornelisse C.J., Хансон К.П., Theillet C., Имянитов Е.Н. Аллельные имбалансы в билатеральных карциномах молочной железы – конкордантность или дискордантность? // *Вопросы онкологии.* - Прилож. - Тезисы Российской конференции по фундаментальной онкологии Петровские чтения. - 2005, том 51, №1, Петровские чтения – 2005.- Т. 51. - №1. - С.22.
18. Буслов К.Г., Суспицын Е.Н., Кулигина Е.Ш., Белогубова Е.В., Григорьев М.Ю., Того А.В., Хансон К.П., Имянитов Е.Н. Увеличение воспроизводимости аллель-специфической ПЦР посредством обратимого депонирования праймеров избытком комплементарных олигонуклеотидов // *Вопросы онкологии.* - Прилож. - Тезисы Российской конференции по фундаментальной онкологии Петровские чтения. - 2005, том 51, №1, Петровские чтения – 2005.- Т. 51. - №1. - С.8.
19. Suspitsin E.N., Kuligina E.Sh., Buslov K.G., Lazareva Y.R., Togo A.V., Imyanитov E.N. MSI-H in bilateral breast tumors: treatment-related origin of some contralateral malignancies? // *FEBS J.* – Vol. 273. – Suppl. 1. - P. 222.
20. Imyanитov E.N., Suspitsin E.N., Sokolenko A.P., Togo A.V., Lazareva Yu.R., Matsko D.E., Giercksky H., Borresen-Dale A-L., Schwab M., Cornelisse C.J. Non-random distribution of oncogene amplifications in bilateral breast carcinomas: possible role of host factors and survival bias // *Ann. Oncol. Abstract Book of the 31st ESMO congress (Turkey, Istanbul, September-October 2006).* – Vol. 17, Suppl. 9, 100P.
21. Suspitsin E.N., Kuligina E.Sh., Buslov K.G., Lazareva Y.R., Togo A.V., Imyanитov E.N. Microsatellite instability analysis of bilateral breast tumors suggests treatment-related origin of some contralateral malignancies // *Proceedings of the 97th AACR Annual Meeting (Washington, DC, 1-5 April 2006).* - №3342.
22. Соколенко А.П., Митюшкина Н.В., Буслов К.Г., Бит-Сава Е.М., Иевлева А.Г., Чекмарева Е.В., Кулигина Е.Ш., Улыбина Ю.М., Розанов М.Е., Суспицын Е.Н., Мацко Д.Е., Чагунава О.Л., Трофимов Д.Ю., Devilee P., Cornelisse C., Того А.В., Семиглазов В.Ф., Имянитов Е.И. Высокая частота мутации BRCA1 5382insC у больных раком молочной железы в России // *Вопросы онкологии.* - 2006. - Т. 52. Приложение. Петровские чтения – 2006, тезисы 2-й Российской конференции по фундаментальной онкологии. - С. 36.

23. Суспицын Е.Н., Соколенко А.П., Того А.В., Лазарева Ю.Р., Мацко Д.Е., Schwab M., Имянитов Е.Н. Амплификация онкогенов ERBB2 (HER-2/neu), C-MYC и CCND1 в билатеральных карциномах молочной железы // Вопросы онкологии, 2006, Т. 52, Приложение. Петровские чтения – 2006, тезисы 2-й Российской конференции по фундаментальной онкологии. - С. 37
24. Imyanitov E.N., Buslov K.G., Ievleva A.G., Filimonenko V.P., Matsko D.E., Suspitsin E.N., Kuligina E.Sh., Yatsuk O.S., Togo A.V., Moiseyenko V.M. RNA analysis of formalin-fixed paraffin-embedded archival tissue for the individualization of cancer chemotherapy // Abstract book. 17th International Congress on Anti-cancer Treatment. - Jan. 30 – 2 Feb. 2006, Paris. - P. 352.
25. Соколенко А.П., Митюшкина Н.В., Буслов К.Г., Бит-Сава Е.М., Иевлева А.Г., Чекмарева Е.В., Кулигина Е.Ш., Улыбина Ю.М., Розанов М.Е., Суспицын Е.Н., Мацко Д.Е., Чагунава О.Л., Трофимов Д.Ю., Devilee P., Cornelisse C., Того А.В., Семиглазов В.Ф., Имянитов Е.И. Высокая частота мутации BRCA1 5382insC у больных раком молочной железы в России. // Материалы международной конференции «Генетика в России и мире», посвященной 40-летию Института генетики им. Н.И. Вавилова РАН. 2006. - С.186.
26. Буслов К.Г., Иевлева А.Г., Филимоненко В.П., Мацко Д.Е., Суспицын Е.Н., Кулигина Е.Ш., Зайцева О.А., Яцук О.С., Того А.В., Моисеенко В.М., Имянитов Е.И. РНК-анализ экспрессии генов метаболизма цитостатиков в архивном патоморфологическом материале // Вопросы онкологии/ - 2006. - Т. 52. Приложение. Петровские чтения – 2006, тезисы 2-й Российской конференции по фундаментальной онкологии. - С. 9–10.
27. Suspitsin E.N., Ievleva A.G., Buslov K.G., Erofeev A.F., Togo A.V., Matsko D.E., Filimonenko V.P., Prochukhanov A.R., Moiseyenko V.M., Imyanitov E.N. Measurement of DPD and TS transcripts aimed to predict clinical benefit from fluoropyrimidines: confirmation of the trend in Russian colorectal cancer series and caution on the gene-referee // ECCO-14 Conference, Barcelona, September 23 -27. – 2007. - EJC Suppl. - Vol. 5. - №4, - Pо 558. - P. 106.
28. Суспицын Е.Н., Мацко Д.Е., Due E., Vu P., Hirvonen A., A.-L. Borresen-Dale, Имянитов Е.И. Анализ мутаций гена p53 в билатеральных карциномах молочной железы // Вопросы онкологии, 2008, Т. 54. - №2. - Приложение. Петровские чтения – 2008, тезисы 4-й Российской конференции по фундаментальной онкологии. - С. 26–27.
29. Кулигина Е.Ш., Соколенко А.П., Григорьев М.Ю., Суспицын Е.Н., Буслов К.Г., Зайцева О.А., Яцук О.С., Лазарева Ю.Р., Того А.В., Имянитов Е.Н. Анализ микросателлитной нестабильности в билатеральных опухолях молочной железы: свидетельства мутагенного эффекта лечения первой опухоли // Вопросы онкологии, 2008, Т. 54. №2 Приложение. Петровские чтения – 2008, тезисы 4-й Российской конференции по фундаментальной онкологии. - С. 15.
30. Суспицын Е.Н., Соколенко А.П., Воскресенский Д.А., Иванцов А.О., Шелехова К.В., Климашевский В.Ф., Мацко Д.Е., Семиглазов В.Ф., Имянитов Е.Н. Смешанная эпителиально-мезенхимальная метапластическая карцинома молочной железы у носительницы мутации в гене BRCA1 // Сборник материалов. Научно-практическая конференция с международным участием «Совершенствование медицинской помощи при онкологических заболеваниях, включая актуальные проблемы детской гематологии и онкологии. Национальная онкологическая программа». VII съезд онкологов России, 29–30 октября 2009 г. - Т. I. - Москва. - 2009. - С. 245.
31. Соколенко А.П., Воскресенский Д.А., Иевлева А.Г., Бит-Сава Е.М., Гуткина Н.И., Анисименко М.С., Шерина Н.Ю., Митюшкина Н.В., Улыбина Ю.М., Яцук О.С., Зайцева О.А., Суспицын Е.Н., Того А.В., Поспелов В.А., Коваленко С.П., Семиглазов В.Ф., Имянитов Е.Н. Две мутации BRCA1 в одной семье: аспекты генетического тестирования // Сборник материалов. Научно-практическая конференция с международным участием «Совершенствование медицинской помощи при онкологических заболеваниях, включая актуальные проблемы детской гематологии и онкологии. Национальная онкологическая программа». VII съезд онкологов России, 29–30 октября 2009 г. Т. I. – Москва. - 2009. - С. 80.
32. Жабина А.С., Иевлева А.Г., Соколенко Е.Н., Улыбина Ю.М., Буслов К.Г., Суспицын Е.Н., Моисеенко В.М., Имянитов Е.Н. Экспрессия маркеров чувствительности к цитостатикам у пациентов с колоректальным раком // Сборник материалов. Научно-практическая конференция с международным участием «Совершенствование медицинской помощи при онкологических заболеваниях, включая актуальные проблемы детской гематологии и

- онкологии. Национальная онкологическая программа». VII съезд онкологов России, 29–30 октября 2009 г. – Т. I. - Москва. - 2009. - С. 161.
33. Sokolenko A., Kashyap A., Suspitsin E., Shelechova K., Kornilov A., Ivantsov A., Gorodnova T., Yanus G., Togo A., Imyanitov E. Evidence for angiogenesis-independent contribution of VEGFR1 (FLT1) in gastric cancer recurrence // EJC Supplements. - 2009, Vol. 7. - No. 2. Joint ECCO 15-34th ESMO Multidisciplinary Congress, Abstract book - P. 399.
 34. Порханова Н.В., Крылова Н.Ю., Пономарева Д.Н., Шерина Н.Ю., Огородникова Н.Ю., Логвинов Д.А., Лобейко О.С., Урманчеева А.Ф., Максимов С.Я., Того А.В., Суспицын Е.Н., Имянитов Е.Н. Высокая частота мутаций в гене BRCA1 в спорадических раках яичника // Тезисы онкологического конгресса, ноябрь 2009. - С.59.
 35. Суспицын Е.Н., Девили П. Частота изменений копийности экзонов BRCA1 у пациенток с ранним, семейным и билатеральным раком молочной железы // Вопросы онкологии, 2009, Т. 55, № 2. Приложение. Тезисы 5-й Российской конференции по фундаментальной онкологии «Петровские чтения -2009». Санкт-Петербург, 17 апреля 2009 г. - С. 33–34.
 36. Суспицын Е.Н., Соколенко А.П., Воскресенский Д.А., Иванцов А.О., Шелехова К.В., Климашевский В.Ф., Мацко Д.Е., Семиглазов В.Ф., Имянитов Е.Н. Смешанная эпителиально-мезенхимальная метапластическая карцинома молочной железы у носительницы мутации в гене BRCA1 // Вопросы онкологии, 2009, Т. 55, № 2. Приложение. Тезисы 5-й Российской конференции по фундаментальной онкологии «Петровские чтения - 2009». Санкт-Петербург, 17 апреля 2009 г. - С. 34.
 37. Соколенко А.П., Воскресенский Д.А., Иевлева А.Г., Бит-Сава Е.М., Гуткина Н.И., Анисименко М.С., Шерина Н.Ю., Митюшкина Н.В., Улыбина Ю.М., Яцук О.С., Зайцева О.А., Суспицын Е.Н., Того А.В., Поспелов В.А., Коваленко С.П., Семиглазов В.Ф., Имянитов Е.Н. Две мутации BRCA1 в одной семье: аспекты генетического тестирования // Вопросы онкологии, 2009, Т. 55, № 2. Приложение. Тезисы 5-й Российской конференции по фундаментальной онкологии «Петровские чтения -2009». Санкт-Петербург, 17 апреля 2009 г. - С. 33.
 38. Городнова Т.В., Суспицын Е.Н. Роль генов PALB2 и ARLTS1 в формировании предрасположенности к раку молочной железы // Вопросы онкологии, 2009, Т. 55, № 2. Приложение. Тезисы 5-й Российской конференции по фундаментальной онкологии «Петровские чтения -2009». Санкт-Петербург, 17 апреля 2009 г. - С. 14–15.
 39. Имянитов Е.Н., Моисеенко В.М., Левченко Е.В., Проценко С.А., Мацко Д.Е., Суспицын Е.Н., Моисеенко Ф.В., Иванцов А.О. Синдром Лазаря и изменения экспрессии провоспалительных цитокинов у больных немелкоклеточным раком лёгкого (НМРЛ) с мутацией рецептора эпидермального фактора роста (РЭФР) на фоне терапии gefitinibом // Материалы VI съезда онкологов и радиологов стран СНГ, 1 – 4 октября 2010, г. Душанбе. - С. 320.
 40. Жабина А.С. Проценко С.А., Иевлева А.Г., Суспицын Е.Н., Того А.В., Имянитов Е.Н., Моисеенко В.М. Экспрессия маркеров чувствительности к цитостатикам у пациентов с немелкоклеточным раком лёгкого (НМРЛ) // Материалы VI съезда онкологов и радиологов стран СНГ, 1 – 4 октября 2010, г. Душанбе. - С. 125.
 41. Янус Г.А., Суспицын Е.Н., Имянитов Е.Н. Нестабильность митохондриального генома в билатеральных опухолях молочной железы // Материалы VI съезда онкологов и радиологов стран СНГ, 1–4 октября 2010, г. Душанбе. - С. 62.
 42. Янус Г.А., Суспицын Е.Н. Нестабильность митохондриального генома в билатеральных карциномах молочной железы // Вопросы онкологии. - 2010. - Т. 56. - № 2. Приложение. Тезисы 6-й Российской конференции по фундаментальной онкологии «Петровские чтения - 2010». Санкт-Петербург, 16 апреля 2010 г. - С. 62.
 43. Соколенко А.П., Kashyap A., Суспицын Е.Н., Шелехова К.В., Корнилов А.В., Иванцов А.О., Артемьева А.С., Кулигина Е.Ш., Того А.В., Имянитов Е.Н. Вклад VEGFR1 в развитие рецидивов карцином желудка не опосредован влиянием на ангиогенез // Вопросы онкологии - 2010, - Т. 56. - № 2. Приложение. Тезисы 6-й Российской конференции по фундаментальной онкологии «Петровские чтения -2010». Санкт-Петербург, 16 апреля 2010 г. - С. 43.
 44. Sokolenko A., Suspitsin E., Iyevleva A., Chekmariova E., Mitiushkina N., Aysheva S., Imyanitov E. Search for novel germ-line mutations in familiar BRCA1/2-negative breast cancers // European Journal of Human Genetics, 2011, Vol. 19, Suppl. 2. European Human Genetics Conference 2011 (May 28-31, 2011, Amsterdam, The Netherlands). Abstracts. - P. 195. - P06.029.

45. Belyaeva A.V., Yanus G.A., Imyanitov E.N., Suspitsin E.N., Goulyayev A.V., Iyevleva A.G., Moiseenko A.B. Significance of mutation in K-ras gene in pathogenesis and clinical course of colorectal cancer // European Journal of Cancer. Abstract book. The European Multidisciplinary Cancer Congress (ECCO 16), Stockholm, 23-27 September. - 2011. - P: S410. - Poster 6065.
46. Суспицын Е.Н., Янус Г.А., Катанугина А.С. Оценка тканевой специфичности экспрессии секретоглобинов // Вопросы онкологии, 2011, Т. 57, № 2. Приложение. Тезисы 7-й Российской конференции по фундаментальной онкологии «Петровские чтения -2011». Санкт-Петербург, 22 апреля 2011 г. - С. 61-62.
47. Суспицын Е.Н., Янус Г.А. Анализ частоты встречаемости и структуры мутаций онкогена KRAS в метастатических карциномах толстой кишки // Вопросы онкологии, 2011, Т. 57, № 2. Приложение. Тезисы 7-й Российской конференции по фундаментальной онкологии «Петровские чтения -2011». Санкт-Петербург, 22 апреля 2011 г. - С. 62.
48. Корнилов А.В., Суспицын Е.Н., Янус Г.А., Имянитов Е.Н. Молекулярно-генетическая диагностика наследственного неполипозного рака толстой кишки // Вопросы онкологии, 2011, Т. 57, № 2. Приложение. Тезисы 7-й Российской конференции по фундаментальной онкологии «Петровские чтения -2011». Санкт-Петербург, 22 апреля 2011 г. - С. 40.
49. Беляева А.В., Суспицын Е.Н., Янус Г.А., Имянитов Е.Н., Иевлева А.Г., Гуляев А.В. Эпидемиология и клиническое значение мутации в гене KRAS у российских больных колоректальным раком // Вопросы онкологии, 2011, Т. 57, № 2. Приложение. Тезисы 7-й Российской конференции по фундаментальной онкологии «Петровские чтения -2011». Санкт-Петербург, 22 апреля 2011 г. - С. 9-10.
50. Suspitsin E.N., Sokolenko A.P., Iyevleva A.G., Mitiushkina N.V., Aбышева S.N., Matsko D.E., Imyanitov E.N. Search for novel hereditary breast cancer genes suggests a causative role of heterozygous BLM mutation // Abstracts – European Human Genetics Conference 2012. - P06.036.
51. Соколенко А.П., Иевлева А.Г., Чекмарёва Е.В., Митюшкина Н.В., Абышева С.Н., Суспицын Е.Н., Иванцов А.О., Туркевич Е.А., Имянитов Е.Н. BLM – новый ген наследственного рака молочной железы // Тезисы 8-й конференции по фундаментальной онкологии «Петровские чтения-2012», 20 апреля 2012 г., Санкт-Петербург. - С. 136-138.
52. Kuligina E.Sh., Sokolenko A.P., Suspitsin E.N., Iyevleva A.G., Checkmariova E.V., Aбышева S.N., Imyanitov E.N. Identification of new genes for hereditary breast cancer // Proceedings of the 103rd Annual Meeting of the American Association for Cancer Research (AACR). – 2012. - Mar. 31 – Apr. 4, Chicago, Illinois. - Abstract nr. 2597.
53. Корнилов А.В., Имянитов Е.Н., Правосудов И.В., Суспицын Е.Н., Семиглазов В.В. Молекулярно-генетическая диагностика синдрома Линча // Вопросы онкологии, приложение к № 3, Т. 59, 2013. Материалы VIII Всероссийского съезда онкологов, 11–13 сентября 2013 г, Санкт-Петербург. Онкология XXI века: от научных исследований – в клиническую практику. – Т. I. - С. 84–85.
54. Очир-Гаряев А.Н., Панеях М.Б., Янус Г.А., Суспицын Е.Н. Мутация BLM Q548X и предрасположенность к солидным опухолям // Вопросы онкологии, приложение к № 3, Т. 59, 2013. Материалы VIII Всероссийского съезда онкологов, 11–13 сентября 2013 г, Санкт-Петербург. Онкология XXI века: от научных исследований – в клиническую практику. - Т. I. - С. 112.
55. Янус Г.А., Суспицын Е.Н. Анализ мутаций R132S в колоректальных карциномах // Вопросы онкологии, приложение к № 3. -Т. 59. - 2013. Материалы VIII Всероссийского съезда онкологов, 11–13 сентября 2013 г, Санкт-Петербург. Онкология XXI века: от научных исследований – в клиническую практику. – Т. I. - С. 150–151.
56. Суспицын Е.Н., Янус Г.А., Соколенко А.П., Имянитов Е.Н. Молекулярный патогенез наследственного рака молочной железы: соматическая утрата оставшегося аллеля или гаплонедостаточность? // Вопросы онкологии, приложение к № 3. - Т. 59. - 2013. Материалы VIII Всероссийского съезда онкологов, 11–13 сентября 2013 г, Санкт-Петербург. Онкология XXI века: от научных исследований – в клиническую практику. – Т. I. - С. 128–129.
57. Янус Г.А., Суспицын Е.Н. Анализ частоты микросателлитной нестабильности в последовательных случаях колоректального рака // Тезисы 10-й конференции по фундаментальной онкологии «Петровские чтения-2014», 10 апреля 2014 г., Санкт-Петербург. - С. 105.
58. Янус Г.А., Суспицын Е.Н. Молекулярно-генетические маркеры в диагностике аденокарцином из невыясненного первичного очага // Тезисы 10-й конференции по

- фундаментальной онкологии «Петровские чтения-2014», 10 апреля 2014 г., Санкт-Петербург. – С. 106.
59. Янус Г.А., Суспицын Е.Н., Корнилов А.В., Имянитов Е.Н. Спектр наследственных мутаций в гене APC при семейном аденоматозном полипозе // 1-й Российский онкологический научно-образовательный форум с международным участием «Белые Ночи – 2015». 8–10 июня 2015 г., Санкт-Петербург. Сборник тезисов. - С. 495-496.
 60. Суспицын Е.Н., Янус Г.А., Ледашева Т.А., Дорофеева М.Ю., Имянитов Е.Н. ДНК-диагностика туберозного склероза в России // 1-й Российский онкологический научно-образовательный форум с международным участием «Белые Ночи – 2015». 8–10 июня 2015 г., Санкт-Петербург. Сборник тезисов. - С. 505.
 61. Жабина А.С., Иевлева А.Г., Соколенко Е.Н., Улыбина Ю.М., Буслов К.Г., Суспицын Е.Н., Моисеенко В.М. Экспрессия маркеров чувствительности к цитостатикам у пациентов с распространённым колоректальным раком // 1-й Российский онкологический научно-образовательный форум с международным участием «Белые Ночи – 2015». 8–10 июня 2015 г., Санкт-Петербург. Сборник тезисов. - С. 114-115.
 62. Suspitsin E.N., Yanus G.A., Dorofeyeva M.Y., Ledashcheva T.A., Imyanotov E.N. Spectrum of TSC1 and TSC2 alterations in Russian patients with tuberous sclerosis // Eur. J. Hum. Genet., 2016. - Vol. 24. - E-Suppl. 1. European Human Genetics Conference 2016, May 21-24, Barcelona, Spain. Abstracts. - P. 257. - P11.154.
 63. Суспицын Е.Н. Секвенирование нового поколения в диагностике первичных иммунодефектов // ActaNaturae Спецвыпуск Научные труды, V съезд физиологов СНГ, V съезд биохимиков России, конференция ADFLIM. 4–8 октября 2016 г., Сочи-Дагомыс. Сборник тезисов. - Т. 2, - С. 111–112.
 64. Imyanotov E., Preobrazhenskaya E., Bizin I., Kuligina E., Anisimova E., Laptiyev S., Suspitsin E., Aleksakhina S., Togo A., Sokolenko A. BRCA1 large gene rearrangements (LGRs) in Russian breast cancer patients: the development of the droplet digital PCR assay for LGR detection and the identification of recurrent exon 8 deletions // Ann. Oncol. - 2017. - Vol. 28 (Suppl. 5). ESMO 2017 congress abstract book, 8 - 12 September 2017, Madrid, Spain. - 1263P.
 65. Суспицын Е.Н., Гусева М.Н., Соколенко А.П., Бизин И.В., Имянитов Е.Н. Таргетное секвенирование нового поколения (NGS) в диагностике первичных иммунодефицитов // Тезисы конференции. XVI Всероссийский научный форум с международным участием имени академика В.И. Иоффе «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге 2017». 5 – 8 июня 2017 года. Медицинская иммунология. – 2017. - Т. 19. - С. 174.
 66. Герасимов А.П., Суспицын Е.Н., Афанасьева Н.Г. Клинический случай судорог при синдроме Корнелии де Ланге: проблема нетипичной симптоматики при генетическом заболевании // В книге: Давиденковские чтения. Сборник тезисов конгресса с международным участием. Под ред. С.В. Лобзина. - 2017. - С. 67-68.
 67. Kostik M., Suspitsin E., Levina A., Guseva M., Dubko M., Snegireva L., Likhacheva T., Kazantseva A., Makhova M., Sokolenko A., Imyanotov E., Chasnyk V. Clinical picture and spectrum of conditions associated with NLRP12 gene mutations // EULAR, 13-16 June 2018, Amsterdam, Netherlands. Ann. Rheum. Dis. – 2018. - Vol. 77. – Suppl. 2. - P. 99.
 68. Суспицын Е.Н., Янус Г.А., Преображенская Е.В., Горбунова В.Н., Дорофеева М.Ю., Имянитов Е.Н. Молекулярная генетика туберозного склероза // В поисках моделей персонализированной медицины. Сборник научных трудов V международной конференции “Постгеном 2018”. Казань, 29 октября – 2 ноября 2018. - С. 248.
 69. Преображенская Е.В., Тюрин В.И., Суспицын Е.Н., Митюшкина Н.В., Качанов Д.Ю., Сулейманова А.М., Иевлева А.Г. Молекулярно-генетическое исследование мишеней таргетной терапии ингибиторами тирозинкиназ в воспалительных миофибробластических опухолях у детей // IV Петербургский онкологический форум «Белые Ночи – 2018» (Петровские чтения). 5-8 июля 2018г., Санкт-Петербург. Сборник тезисов. - С. 304.
 70. Захваткина М.А., Козлова О.П., Суспицын Е.Н., Климко Н.Н. Гематологические особенности хронического кандидоза кожи и слизистых оболочек у детей // Всероссийская научно-практическая конференция молодых учёных «Актуальные проблемы клинической гематологии» (15 ноября 2019 г., Санкт-Петербург). Вестник гематологии. – 2019. - Т. XV. - № 4. - С. 40–41.
 71. Исаева Н.В., Козлова О.П., Габруская Т.В., Фролова Е.В., Богомолова Т.С., Суспицын Е.Н., Климко Н.Н. Хронический кандидоз кожи и слизистых у детей с мутациями гена *aire* и *stat1*

- в Санкт-Петербурге // В сборнике: Мечниковские чтения-2019. материалы Всероссийской научно-практической студенческой конференции с международным участием. Под редакцией А.В. Силина, С.В. Костюкевича. - 2019. - С. 61-62.
72. Raskin G., Preobrazhenskaya E., Gorustovich O., Heinshtein V., Shelekhova K., Suspitsin E. Analysis of molecular alterations in undifferentiated pleomorphic sarcomas // 31st European Congress of Pathology, 7-11 September 2019, Nice, France. Abstracts. Virchows Arch. - 2019. - Vol. 475 (Suppl. 1). - P. S406-407.
 73. Suspitsin E.N., Kostik M.M., Yanus G.A., Akhapkina T.A., Garipova N.T., Gharabaghtsyan M.M., Kenis V.M., Kozhevnikov A.N., Gesheva Z.V., Chasovskih Y.P., Ushakova S.A., Khalidulina O.Y., Imyanitov E.N. Clinical and molecular characteristics of Russian patients with CACP syndrome // Eur. J. Hum. Genet., Vol. 27. - Suppl. 2. Abstracts from the 52nd European Society of Human Genetics (ESHG). June 15–18. - 2019, Gothenburg, Sweden. - С. 1873.
 74. Соколова Т.Н., Имянитов Е.Н., Соколенко А.П., Бизин И.В., Суспицын Е.Н., Кулигина Е.Ш. Разработка программы автоматизированного подбора специфичных праймеров для полного секвенирования кодирующей последовательности гена // Форум «Белые ночи 2019». 20-23 июня, Санкт-Петербург. Тезисы. - С. 495-496.
 75. Горустович О.А., Преображенская Е.В., Суспицын Е.Н. Молекулярно-генетические особенности недифференцированных плеоморфных сарком // Форум «Белые ночи 2019». 20-23 июня, Санкт-Петербург. Тезисы. - С. 480.
 76. Загороднев К.А., Бизин И.В., Кулигина Е.Ш., Имянитов Е.Н., Анисимов М.О., Романько А.А., Суспицын Е.Н., Соколенко А.П. Использование таргетной мультигенной панели для поиска генетических детерминант наследственного рака молочной железы у российских пациенток // Форум «Белые ночи 2019». 20-23 июня, Санкт-Петербург. Тезисы. - С. 394-396.
 77. Zhogova O., Lagunova N., Ivanovskiy S., Suspitsin E., Kostik M. Crimean tatars is new target nationality for the familial mediterranean fever // ISSAID, 31 March – 1 April 2019, Genoa, Italy. Abstract book. - P. 101. - P1040.
 78. Suspitsin E., Kostik M., Argunova V., Kosmin A., Kuchinskaya E. Molecular findings in patients with systemic lupus erythematosus from Sakha Republic (Yakutia) // Proceedings of the 26th European Paediatric Rheumatology Congress, Virtual (23 - 26 September 2020). Pediatr. Rheumatol. – 2020. - Vol. 18 (Suppl.2) - P. 82. - P249.
 79. Козлова О.П., Суспицын Е.Н., Сусллова И.Е., Фролова Е.В., Богомолова Т.С., Шабашова Н.В., Климко Н.Н. Хронический кандидоз кожи и слизистых оболочек у детей с мутациями гена STAT1 // Проблемы медицинской микологии. - 2020. - Т. 22. - № 3. - С. 88.
 80. Тумакова А.В., Нижник В.И., Минина С.Н., Корниенко Е.А., Суспицын Е.Н. Исследование частоты мутаций в генах наследственного панкреатита у пациентов с раком поджелудочной железы // Форум «Белые ночи 2020». 25–28 июня, Санкт-Петербург. Тезисы. - С. 317.
 81. Мартыанов А.С., Загороднев К.А., Лайдус Т.А., Суспицын Е.Н., Соколенко А.П., Романько А.А., Бизин И.В., Кулигина Е.Ш. Поиск потенциально патогенных мутаций в гене POLE, участвующих в формировании наследственного риска рака молочной железы // Форум «Белые ночи 2020». 25–28 июня, Санкт-Петербург. Тезисы. - С. 298.
 82. Горгуль Ю.А., Мартыанов А.С., Романько А.А., Суспицын Е.Н., Соколенко А.П., Кулигина Е.Ш. Поиск наследственных патогенных мутаций в генах иммунодефицитов у больных BRCA1-позитивным раком молочной железы: влияние на возраст-зависимую пенетрантность BRCA1 // Материалы VIII Петербургского международного онкологического форума «Белые ночи 2022» (27 июня - 03 июля 2022 г.). Вопросы онкологии. – 2022. - Т. 68. - № S3. - С. 333–334.

ПАТЕНТ НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

Патент № 2755538 С1 Российская Федерация, МПК С12Q 1/6869. Способ синтеза наборов олигонуклеотидов для ампликонного таргетного секвенирования: № 2020130897: заявл. 18.09.2020: опубл. 17.09.2021 бюллетень № 26 / И. В. Бизин, С. Н. Алексахина, А. А. Романько, Е.Н. Суспицын, А.В. Того, Е.Н. Имянитов; заявитель Федеральное государственное бюджетное учреждение "Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

БЛАГОДАРНОСТИ

Выражаю искреннюю благодарность научному руководителю диссертационной работы, профессору Евгению Наумовичу Имянитову за неоценимую помощь и постоянное внимание. Выражаю глубокую признательность всем сотрудникам научной лаборатории молекулярной онкологии, в особенности к.м.н. А.П. Соколенко и к.м.н. Г.А. Янусу, за поддержку и доброжелательное отношение. Огромная благодарность врачу-иммунологу М.Н. Гусевой, д.м.н. М.М. Костику, д.м.н. И.В. Кондратенко, д.м.н. М.Ю. Дорофеевой за плодотворное сотрудничество.