

Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Уфимский университет науки и технологий»

На правах рукописи

ВАЛОВА ЯНА ВАЛЕРЬЕВНА

**ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ОСНОВ
НАСЛЕДСТВЕННОГО И СПОРАДИЧЕСКОГО РАКА ЯИЧНИКОВ**

1.5.7. Генетика (биологические науки)

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук,
профессор, член-корр. РАО
Э.К. Хуснутдинова

Уфа – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1 Эпидемиология рака яичников	13
1.2 Гистологические подтипы рака яичников	15
1.3 Этиология рака яичников.....	19
1.3 Генетические факторы риска развития рака яичников	28
1.4 Роль генов эксцизионной репарации в патогенезе рака яичников	48
1.5 Технологии NGS в исследовании патогенеза рака яичников	52
1.6 Машинное обучение в прогнозировании риска развития РЯ	55
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	59
2.1. Материалы исследования.....	59
2.1.2 Характеристика общей выборки пациенток с раком яичников	63
2.2. Молекулярно-генетические методы исследования	66
2.2.1. Выделение ДНК из периферической венозной крови	66
2.2.2 Проведение таргетного секвенирования на платформе Miseq.....	67
2.2.3 Биоинформатическая обработка	72
2.2.4 Исследовательский анализ	75
2.2.5 Определение нуклеотидной последовательности ДНК.....	76
2.2.6 Полимеразная цепная реакция синтеза ДНК	77
2.2.7 Рестрикционный анализ	78
2.2.8 Метод электрофореза	81
2.2.9 Анализ кривых плавления с высокой разрешающей способностью (HRM).....	81

2.2.10 Аллель-специфичная ПЦР	83
2.2.11 Высокопроизводительная ПЦР в режиме реального времени по технологии Fluidigm.....	86
2.3 Статистические методы	89
2.4 Построение предсказательных моделей риска	91
2.5 Дизайн исследования	93
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	96
3.1 Таргетное секвенирование образцов ДНК больных с клиническими признаками наследственного рака яичников.....	96
3.2 Скрининг отобранных по результатам таргетного секвенирования генетических вариантов в группе больных РЯ и контроля из Республики Башкортостан	113
3.3 Клинико-морфологическая картина наследственного рака яичников	126
3.4 Анализ показателей выживаемости у пациенток с идентифицированными патогенными вариантами.....	137
3.5 Анализ ассоциации 10 вариантов новых генов-кандидатов с риском развития рака яичников	141
3.6 Анализ ассоциации полиморфных локусов генов системы репарации ДНК <i>ERCC2</i> , <i>ERCC3</i> , <i>XRCC2</i> и <i>XRCC3</i> с развитием рака яичников у женщин из Республики Башкортостан	157
3.7 Построение предсказательных моделей на основе алгоритмов машинного обучения.....	187
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	193
ВЫВОДЫ	198
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	199
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	200

ПРИЛОЖЕНИЯ.....	252
Приложение А. Хроматограммы, подтверждающие наличие изменений нуклеотидной последовательности в генах, отобранных в результате таргетного секвенирования.....	252
Приложение Б. Частота редких аллелей полиморфных локусов генов-кандидатов РЯ, обнаруженных в результате таргетного секвенирования	257
Приложение В. Частота встречаемости редких аллелей 10 генетических вариантов потенциальных генов-кандидатов РЯ	259
Приложение Г. Оценка функциональной значимости миссенс вариантов неясного клинического значения	260

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность и степень разработанности проблемы исследования

Среди опухолей женской репродуктивной системы рак яичников (РЯ) является одним из самых агрессивных и тяжело поддающихся лечению онкологических заболеваний. Несмотря на то, что за последние годы во всем мире наблюдается снижение заболеваемости данной формой онкопатологии, РЯ все еще остается актуальной медико-социальной проблемой в первую очередь по причине низкой выживаемости пациенток. Российская Федерация занимает лидирующие позиции по показателям заболеваемости РЯ (10,46 случаев на 100 тыс. женщин в год). В России злокачественные опухоли яичников ежегодно выявляются более чем у 13 000 женщин, и около 7 000 женщин умирают от этого заболевания. Похожая ситуация складывается и в отдельных регионах страны, в том числе в Республике Башкортостан (РБ) (Каприн и др., 2022).

Согласно современным представлениям, РЯ является сложным гетерогенным заболеванием, на формирование которого влияет множество эндогенных и экзогенных факторов, таких как возраст, отягощенный семейный онкологический анамнез, гормональный дисбаланс, особенности репродуктивной функции, хронические воспалительные заболевания гениталий, низкая физическая активность, канцерогены окружающей среды. Важнейшая роль в развитии данной онкопатологии отводится генетическим факторам. По оценкам до 23% случаев злокачественных новообразований яичников являются наследственно обусловленными (Toss et al., 2015). Одним из наиболее значимых достижений в области изучения РЯ явилось открытие генов *BRCA1* и *BRCA2*. Нарушение структуры этих генов встречается в 90-95% случаев наследственного рака яичников (НРЯ) и в 10-15% случаев спорадических форм РЯ (Лаптиев и др., 2018; Никитин и др., 2020).

Разработка и внедрение современных технологий секвенирования и генотипирования, позволяющих одновременно анализировать большой объем данных, дали мощный толчок дальнейшим исследованиям в сфере онкогенетики и привели к открытию новых генов предрасположенности к РЯ. За последнее десятилетие обнаружено множество онкогенов и генов-супрессоров, ассоциированных с развитием РЯ, включая гены репарации неспаренных оснований (MMR), ген супрессора опухоли *TP53*, а также ряд других генов, принимающих участие в процессе репарации ДНК, таких как *RAD51C*, *RAD51D*, *STK11*, *BRIP1*, *PTEN*, *PALB2* и другие (Lilyquist et al., 2017; Suszynska et al., 2019; Kurian et al., 2019). Таким образом, в последние годы знания о молекулярных механизмах опухолеобразования яичников существенно расширились, однако многие детали этого процесса остаются не до конца ясными.

Лучшее понимание генетических и этноспецифичных особенностей РЯ является одной из наиболее важных задач в фундаментальных исследованиях данной онкопатологии. Башкортостан является многонациональной республикой, что накладывает отпечаток на структуру его генофонда. По этой причине для лучшей организации ранней диагностики РЯ необходимо учитывать частоту встречаемости патогенных вариантов генов в конкретных субпопуляциях.

Цель

Исследование генетической предрасположенности к наследственным и спорадическим формам рака яичников с помощью современных подходов к секвенированию генома и биоинформатического анализа.

Задачи исследования

1. Проведение таргетного NGS-секвенирования в образцах ДНК пациенток с клиническими признаками наследственного рака яичников с последующей идентификацией функционально значимых вариантов нуклеотидной последовательности.
2. Оценка частоты встречаемости отобранных по результатам таргетного NGS-секвенирования вариантов на расширенных выборках больных раком яичников и контроля из Республики Башкортостан.
3. Оценка клинико-морфологических характеристик, а также сравнительная оценка показателей выживаемости у женщин с выявленными патогенными вариантами и без них.
4. Анализ 10 локусов потенциальных генов-кандидатов рака яичников (*ATP23*, *ADPRH*, *PON3*, *USP45*, *MMP1*, *TBRG4*, *PIK3C2G*, *NRIP2*, *RGS20* и *PARP14*) с риском развития заболевания.
5. Ассоциативный анализ полиморфных вариантов генов репарации ДНК (rs13181/*ERCC2*, rs238406/*ERCC2*, rs861539/*XRCC3*, rs3218536/*XRCC2* и rs4150407/*ERCC3*) с риском развития рака яичников у женщин различной этнической принадлежности из Республики Башкортостан.
6. Построение предсказательной модели риска развития исследуемого заболевания.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных результатов подтверждается репрезентативностью выборки, а также применением современных молекулярно-генетических, биоинформатических и статистических методов. Результаты исследования согласуются с данными, представленными в отечественной и зарубежной литературе. Материалы исследования были представлены на международных и российских конференциях:

Международный Конгресс «VII Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров» (г. Санкт-Петербург, 2019), «V Российский Конгресс лабораторной медицины» (г. Москва, 2019), «XIII Международный конгресс по репродуктивной медицине» (г. Москва, 2019), «V Всероссийская конференция по молекулярной онкологии» (г. Москва, 2019), «IX Международная школа молодых ученых по молекулярной генетике «Геномика 21 века – от исследования геномов к генетическим технологиям» (г. Москва, 2021), VI Всероссийская конференция по молекулярной онкологии (г. Москва, 2021), Thirteenth International Multiconference «Bioinformatics of Genome Regulation and Structure/Systems Biology» (г. Новосибирск 2022), XVI международный конгресс по репродуктивной медицине (г. Москва, 2022), VII Всероссийская конференция по молекулярной онкологии (г. Москва, 2022), Всероссийская научная конференция с международным участием «Геномика и биотехнология для медицины и сельского хозяйства» (г. Уфа, 2022), «XVII Международный конгресс по репродуктивной медицине» (г. Москва, 2023).

Личный вклад автора

Определение общего плана работы, формулировка цели и задач исследования проводились автором совместно с научным руководителем д.б.н., проф., Хуснутдиновой Э. К. Соискатель самостоятельно провел анализ зарубежной и отечественной литературы по теме диссертации, участвовал в подготовке публикаций и лично написал рукопись данной работы. Экспериментальная часть работы, включающая в себя формирование выборки, выделение ДНК, NGS-секвенирование, секвенирование по Сэнгеру, генотипирование образцов ДНК, а также биоинформатическая и статистическая обработка полученных данных выполнена автором самостоятельно. Суммарный вклад работы автора составляет более 80%.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Результаты проведенной работы расширяют наши знания о патогенезе злокачественных опухолей яичников, а также могут быть использованы при разработке новых подходов к профилактике, ранней диагностике и персонализации лечения. Материалы исследования могут использоваться при подготовке курса лекций по медицинской генетике и онкогенетике на биологических факультетах университетов, медицинских ВУЗов, на курсах повышения квалификации медицинских работников.

Методология и методы исследования

Основой методологии данного исследования стал системный подход с применением комплекса молекулярно-генетических и статистических методов исследования, а также анализа публикаций отечественных и зарубежных авторов в области генетики рака яичников. В работе наряду со стандартными молекулярно-генетическими методами использованы современные технологии анализа ДНК, такие как таргетное NGS-секвенирование и высокопроизводительная ПЦР на жидкостных микрочипах по технологии Fluidigm.

Научная новизна

В результате проведенного таргетного NGS-секвенирования 48 образцов ДНК больных с клиническими признаками наследственного рака яичников из Республики Башкортостан, у одной пациентки выявлена ранее не описанная нонсенс мутация в гене *NBN* (с.429G>A). Впервые у пациентки с клиническими признаками НРЯ обнаружено сочетанное носительство двух патогенных вариантов – с.2199delG/*BRCA1* и с.1100delC/*CHEK2*. В результате

биоинформатического анализа данных таргетного секвенирования впервые у пациенток с клиническими признаками НРЯ были выявлены 4 варианта неясной клинической значимости – с.3968A>G/*BRCA2*, с.1486G>C/*PALB2*, с.515T>C/*NBN*, с.1967_1969dupGTC/*BARD1*.

Впервые проведена оценка частоты гетерозиготного носительства редких аллелей вероятно патогенных вариантов с.3143delG/*BRCA1*, с.3700_3704delGTAAA/*BRCA1*, с.2199delG/*BRCA1*, с.3751dupA/*BRCA2*, с.1187G>A/*MUTYH*, с.429G>A/*NBN*, а также вариантов неясной клинической значимости с.5624A>C/*BRCA2*, с.3968A>G/*BRCA2*, с.1492G>A/*MRE11*, с.1480G>A/*MRE11*, с.985G>A/*MUTYH*, с.2149C>T/*ATM*, с.315G>C/*PALB2*, с.1912T>C/*NBN* и с.1967_1969dupGTC/*BARD1* среди больных РЯ и здоровых доноров из Республики Башкортостан. Установлено, что описываемые варианты с низкой частотой встречались у больных РЯ и женщин из контрольной группы, проживающих в Республике Башкортостан.

Впервые проведен анализ встречаемости частот редких аллелей 10 генетических вариантов потенциальных генов-кандидатов РЯ rs117230607/*ATP23*, rs144292904/*ADPRH*, rs147006695/*PON3*, rs17850034/*USP45*, rs17879749/*MMP1*, rs36007488/*TBRG4*, rs61757718/*PIK3C2G*, rs73052628/*NRIP2*, rs763243801/*RGS20*, rs201755391/*PARP14* среди больных РЯ и здоровых женщин русской этнической принадлежности из Республики Башкортостан. Установлено, что носительство редкого аллеля полиморфного варианта rs17879749 в гене *MMP1* было ассоциировано с пониженным риском развития спорадических форм РЯ (OR=0,19, p=0,035).

Впервые проведен ассоциативный анализ полиморфных вариантов rs13181, rs238406, rs4150407, rs861539 и rs3218536 генов системы репарации ДНК (*ERCC2*, *ERCC3*, *XRCC2*, *XRCC3*) с риском развития эпителиального РЯ у женщин из Республики Башкортостан. Установлено, что аллель rs13181*G гена *ERCC2* является генетическим маркером повышенного риска развития РЯ

у русских, аллель rs861539*G гена *XRCC3* – маркером повышенного риска развития РЯ у татар. Выявлена ассоциация аллеля rs13181*G и генотипа rs13181*GG гена *ERCC2* с повышенным риском наследственных форм РЯ, РЯ в постменопаузе и с тяжелым течением заболевания.

Впервые построены предсказательные модели на основе выявленных молекулярно-генетических маркеров с использованием алгоритмов машинного обучения.

Положения, выносимые на защиту

1. Патогенные варианты в 6 генах (*BRCA1*, *BRCA2*, *NBN*, *MSH6*, *MUTYH*, *CHEK2*) выявлены у 33,3% пациенток с РЯ из Республики Башкортостан. В 25% случаев развитие заболевания было обусловлено герминальными мутациями в гене *BRCA1*.
2. Спектр выявленных изменений составил 11 патогенных вариантов, локализованных в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *NBN*, *MSH6*, *MUTYH*, *CHEK2*, 1 из которых ранее не был описан в литературе.
3. У больных РЯ из расширенной выборки с частотой 0,64% идентифицирован патогенный вариант c.3700_3704delGTAAA в гене *BRCA1*.
4. Отягощенный семейный онкологический анамнез и низкодифференцированную серозную аденокарциному достоверно чаще диагностировали у женщин с идентифицированными патогенными вариантами ($p < 0,05$).
5. Установлено, что аллель rs13181*G гена *ERCC2* ассоциирован с риском развития РЯ у русских, аллель rs861539*G гена *XRCC3* – с риском развития РЯ у татар.
6. Построены предсказательные модели риска развития РЯ: для женщин различной этнической принадлежности ($AUC=0,69$) и для женщин русской этнической принадлежности ($AUC=0,66$).

Публикации

По теме исследования опубликовано 28 печатных работ, в том числе 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ, 3 статьи из которых индексируются в международных базах данных.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационная работа «Исследование молекулярно-генетических основ наследственного и спорадического рака яичников» соответствует формуле специальности 1.5.7. Генетика. В работе проведено исследование генетических основ риска развития спорадических и наследственных форм РЯ, выявлены новые патогенные/вероятно патогенные варианты в генах-кандидатах РЯ, обнаружены генетические маркеры риска развития заболевания у женщин различной этнической принадлежности из Республики Башкортостан.

Структура и объем работы

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов исследования и их обсуждения, заключения, выводов, библиографического списка и приложений. Список литературы включает 427 работ зарубежных и отечественных авторов. Работа изложена на 260 страницах машинописного текста, содержит 36 рисунков, 41 таблица и 4 приложения.

Конкурсная поддержка работы

Настоящая работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (№ 20-34-90003, 18-29-09129).

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Эпидемиология рака яичников

Рак яичников (РЯ) составляет 4-6% в структуре онкологической заболеваемости женщин и является седьмым по распространенности раком и восьмой ведущей причиной смертности от рака у женщин во всем мире. По данным Международного агентства по изучению рака, в 2020 году в мире зарегистрировано 314 000 новых случаев рака яичников и 207 000 смертей от данной онкопатологии. По прогнозам Globocan, к 2035 году число нововыявленных случаев увеличится до 371 000 в год, а число смертей возрастет до 254 000 (Cabasag et al., 2022). Данная онкопатология характеризуется географической гетерогенностью, частота заболеваемости РЯ среди женского населения разных стран варьирует в широких диапазонах. Самые высокие показатели заболеваемости с поправкой на возраст наблюдаются в развитых странах, включая США (11,4 на 100 тыс. женщин в год) (Torre et al., 2018), а также Центральную и Восточную Европу (10,3-15,7 на 100 тыс. женщин в год). Низкие показатели заболеваемости РЯ отмечены в Южной Америке, Африке и Азии, включая индустриальные страны, такие как Япония (>7 на 100 тыс. женщин в год) (<https://engage.esgo.org>). Российская Федерация (РФ) занимает лидирующие позиции по показателям заболеваемости РЯ (10,46 случаев на 100 тыс. женщин в год). В России злокачественные опухоли яичников ежегодно выявляются более чем у 13000 женщин, и около 7000 женщин умирают от этого заболевания (Набиева и др., 2016; Каприн и др., 2022).

По показателям смертности РЯ занимает первые строчки среди всех гинекологических опухолей в большинстве индустриальных стран мира, поскольку у большинства больных заболевание выявляется на поздних стадиях, когда общая пятилетняя выживаемость больных РЯ не превышает 30-40%. Лишь у 15 % больных заболевание обнаруживается на 1 стадии, тогда

как летальность больных РЯ на первом году после установления диагноза составляет 35% (Martín-Cameán et al., 2019). Примечательно, что показатели общей пятилетней выживаемости при РЯ практически не изменились с 1995 года, что свидетельствует об актуальности проблемы ранней диагностики данной онкопатологии (Allemani et al., 2015; Валова и др., 2021).

На территории РФ в 2021 году было зарегистрировано 13315 новых случаев и 7213 смертельных исходов, а стандартизированный показатель заболеваемости составил 10,46 на 100 тыс. населения (рисунок 1, 2). В структуре онкологической заболеваемости женского населения удельный вес РЯ составляет 4,2%, что делает его восьмым по распространенности злокачественным новообразованием (ЗНО) среди женского населения. В структуре женской смертности от ЗНО на РЯ приходится 5,6%, а для женщин в возрасте 50–59 лет РЯ является (8,7%) второй по частоте причиной смерти от ЗНО после рака молочной железы (РМЖ). Удельный вес пациенток с I-II стадиями заболевания в 2021г. составил 42,4%, на III стадии – 37%, на IV стадии – 19,9%. Летальность больных в течение года с момента установления диагноза злокачественного новообразования составила 17,6%. С 2011 г. данный показатель снизился на 7%.

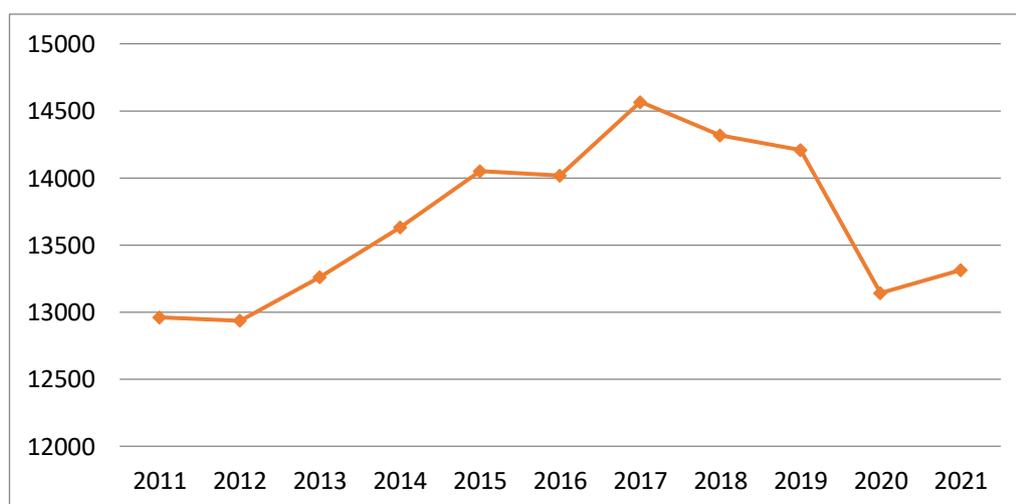


Рисунок 1 – Динамика заболеваемости РЯ в России за период 2011-2021 гг (Каприн и др., 2022).

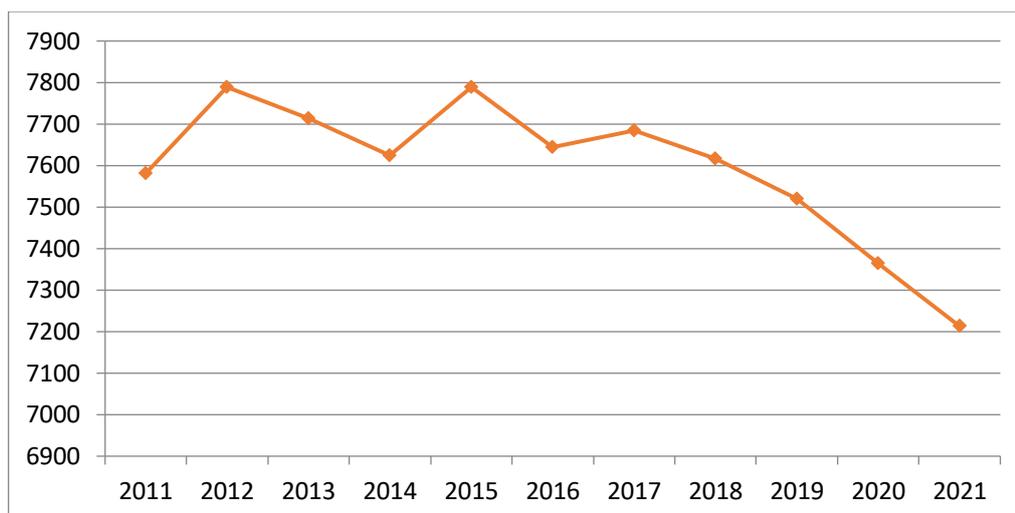


Рисунок 2 – Динамика смертности от РЯ в России за период 2011-2021 гг (Каприн и др., 2022).

В Республике Башкортостан (РБ) показатель заболеваемости РЯ в 2021 году оказался ниже, чем в среднем по РФ и составил 8,9 на 100 тыс. населения. Всего было выявлено 294 новых случаев РЯ и 177 случаев летального исхода по этой причине. Удельный вес больных, выявленных на I стадии заболевания в 2021г., составил 35,3%, на II стадии – 9,1%, на III стадии – 44,4 %, на IV стадии – 11,2%. Летальность больных в течение года с момента установления диагноза ЗНО составила 18,4% (Каприн и др., 2022).

1.2 Гистологические подтипы рака яичников

РЯ является сложным заболеванием, характеризующимся морфологической и молекулярной гетерогенностью. Поскольку различные гистологические подтипы РЯ имеют различные молекулярные пути, влияющие на химиочувствительность, характер метастазирования и прогноз выживаемости, характеристика типа опухоли очень важна для выбора успешной терапевтической стратегии (Karnezis et al., 2017).

Согласно современной классификации, представленной Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) (2014), первичный РЯ был

классифицирован на эпителиальный (90%), герминогенный (5%) и стромальную опухоль полового тяжа (5%) в зависимости от типа ткани, из которой он происходит (Goff et al., 2013).

Герминогенные опухоли происходят из зародышевых клеток и могут возникать в любом возрасте, но наиболее распространены у женщин в возрасте 20 лет. Три основных типа герминогенных опухолей включают тератомы, дисгерминомы и опухоли эндодермального синуса. Стромальные опухоли включают как гранулезоклеточные опухоли, так и опухоли клеток Сертоли-Лейдига, и происходят из соединительной ткани яичников (Goff et al., 2013).

Полагают, что в большинстве случаев злокачественный рост возникает из поверхностного эпителия яичников или производных Мюллера протока, включая дистальные отделы фаллопиевых труб. Эпителиальный РЯ подразделяется на несколько гистологических подтипов, включая серозный высокой и низкой степени злокачественности, эндометриоидный, светлоклеточный, муцинозный, переходно-клеточный, плоскоклеточный, смешанный и недифференцированный (Lisio et al., 2019).

В 2016 году Kurman и Shih предложили дуалистическую систему классификации РЯ, согласно которой опухоли данной локализации можно разделить на два типа в зависимости от степени дифференцировки, генетических нарушений, происхождения, ответа на химиотерапию и прогноза (Kurman et al., 2016).

Опухоли I типа включают серозные карциномы низкой степени злокачественности, эндометриоидные, муцинозные, светлоклеточные карциномы и злокачественные опухоли Бреннера (Kurman et al., 2016). Считается, что они возникают из клеток-предшественниц с низким злокачественным потенциалом и характеризуются медленным ростом, химиорезистентностью и благоприятным прогнозом. Основной молекулярно-генетической особенностью опухолей I типа является низкий уровень хромосомной нестабильности и высокая частота соматических мутаций в

генах *KRAS*, *BRAF*, *HRAS*, *PTEN*, *PIK3CA*, *ARID1A*, *TERT* и *ERBB2* (Lisio et al., 2019; Rojas et al., 2016).

Опухоли II типа являются высокодифференцированными биологически агрессивными опухолями без выявленных предраковых поражений и зачастую диагностируются на поздних стадиях. Такие опухоли чувствительны к химиотерапии, однако часто рецидивируют и имеют плохой прогноз. К опухолям II типа относятся серозная аденокарцинома высокой степени злокачественности, злокачественные смешанные мезодермальные и недифференцированные карциномы, характеризующиеся потерей функции белка TP53 в 50–96% случаев, а также высоким уровнем хромосомной нестабильности, вызванной дефектами в генах системы репарации путем гомологичной рекомбинации (HRR) (Rojas et al., 2016; Lisio et al., 2019). Основные характеристики различных гистотипов РЯ представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Характеристика гистологических подтипов РЯ (Rojas et al., 2016)

	Гистотипы РЯ	Частота	Средний возраст манифестации	Чувствительность к химиотерапии	Прогноз	Генетические нарушения
Тип II	Серозная высокой степени злокачественности	68-71%	59	Высокая	плохой	<i>TP53, BRCA1/2, NF1, RB1</i> , гены системы HRR
	Недифференцированный	<1%			плохой	
	Карциносаркома					<i>TP53, PI3KCA, PPP2R1A, KRAS, PTEN, CHD4, BCOR</i> , гистоны <i>H2A</i> и <i>H2B</i>
Тип I	Серозная низкой степени злокачественности	5%	43-55	низкая	хороший на ранних стадиях	<i>BRAF, KRAS, NRAS, ERBB2</i>
	эндометриоидные	9-11%	40-50		хороший	<i>ARID1a, PIK3CA, PTEN, PPP2R1a, MMR genes</i>
	светлоклеточные	12-13%	55	низкая	плохой	<i>ARID1a, HNF1b, PIK3CA, PTEN, CTNNb1, PPP2R1a</i>
	муцинозные	3%	45-50	низкая	хороший на ранних стадиях	<i>KRAS, TP53, CDKN2A, BRAF, RNF43, HER2</i>
	переходно-клеточные опухоли Бреннера	1-2%				<i>KRAS, HRAS, PIK3CA, CDKN2A</i>
	плоскоклеточный	<1%	–	–	–	–
	смешанный	<1%	–	–	–	–

1.3 Этиология рака яичников

Хотя этиология РЯ до сих пор окончательно не ясна, ученые выделяют ряд факторов, влияющих на риск развития заболевания.

Наследственная предрасположенность

На сегодняшний день роль генетического фактора в этиологии РЯ не вызывает сомнения. Результаты проведенных исследований показали, что риск развития заболевания для женщин с семейной историей РЯ повышается в 3-4 раза по сравнению с общей популяцией (Liu et al., 2021). В свою очередь, наследственные формы РЯ составляют более одной пятой (около 23%) случаев ЗНО яичников (Toss et al., 2015). В настоящее время идентифицировано по крайней мере шесть наследственных синдромов, проявляющихся семейной предрасположенностью к возникновению РЯ (Angeli et al., 2020).

Синдром рака молочной железы и яичников является наиболее распространенной формой наследственного РЯ (65-85% всех случаев). В подавляющем большинстве случаев синдром обусловлен герминальными мутациями в генах *BRCA1* или *BRCA2*. Герминальные мутации *BRCA1* и *BRCA2* встречаются примерно у 20–30% пациенток с НРЯ (Лаптиев и др., 2018; Никитин и др., 2020). Вероятность развития заболевания у женщин с патогенными вариантами в гене *BRCA1* возрастает до 20-50%, а с мутациями в гене *BRCA2* до 5-23 % по сравнению с показателями в общей популяции (риск развития РЯ в течении жизни – 1,6%) (Kuchenbaecker et al., 2017).

Синдром Линча (СЛ) является второй по частоте причиной наследственного эпителиального РЯ, составляющей 10–15% (Toss et al., 2019). В общей структуре эпителиального РЯ СЛ составляет примерно 0,5–3% (Constantinou et al., 2017). Члены семей с данным синдромом склонны к избыткам экстраколонических раков, включая рак эндометрия, яичника, желудка, тонкой кишки, гепатобилиарного тракта, поджелудочной железы,

почечной лоханки, мочеточника, молочной железы, простаты и головного мозга. РЯ в 3 раза чаще встречается у женщин с СЛ по сравнению с общей популяцией (Amin et al., 2020). С клинической точки зрения, РЯ при СЛ характеризуется ранним началом заболевания (в среднем 41-49 лет) и в основном имеет несерозную гистологию с преобладанием эндометриодных, муцинозных и светлоклеточных гистологических типов. Кроме того, в 65–80% случаев РЯ, связанный с СЛ, диагностируется на ранних стадиях и по этой причине имеют более благоприятный прогноз выживаемости по сравнению со спорадическим или наследственным РЯ, вызванным мутациями в генах *BRCA1/2* (Burgess et al., 2018; Валова и др., 2021).

Фредерик Ли и Йозеф Фраумени впервые в 1969 г. предложили теорию синдрома наследственного рака, характеризующегося ранним развитием множественных опухолей (Li et al., 1969). Установлено, что риск развития ЗНО у лиц с синдромом Ли – Фраумени (СЛФ) к 70 годам составляет около 70% для мужчин и более 90% для женщин, при этом, у 50% пациентов с СЛФ первичную опухоль диагностируют уже к 30 годам. Подавляющую часть (77–80%) опухолей при данном синдроме составляют РМЖ, мягкотканые и остеогенные саркомы, рак мозга и рак коры надпочечников. В более редких случаях встречаются лейкоз, рак легких, колоректальный рак, рак кожи, желудка и яичников. Хотя было обнаружено, что РЯ часто встречается по крайней мере в некоторых семьях, соответствующих критериям СЛФ, риск развития РЯ у пациентов с СЛФ до сих пор точно не оценен ввиду низкой частоты встречаемости новообразований яичников по сравнению с опухолями других локализаций. Кроме того, отмечалось, что средний возраст постановки диагноза РЯ в семьях с СЛФ составляет 39,5 года по сравнению с возрастом для спорадических случаев (64,3 года) (Neto et al., 2015).

Атаксия-Телеангиэктазия (АТ) является редким аутосомно-рецессивным заболеванием, проявляющимся множеством фенотипических характеристик, включая нейродегенерацию, мозжечковую атаксию,

иммунодефицит, дисгенезию гонад, радиочувствительность и повышенный риск развития ЗНО (Ambrose et al., 2013). Согласно M.Swift, среди родственников больных АТ моложе 45 лет смертность от онкологических заболеваний в 5 раз выше по сравнению с общей популяцией (Swift et al., 1987). Кроме того, в таких семьях отмечался высокий уровень заболеваемости карциномой яичников, желудка, молочной железы, желчевыводящих путей и другими неоплазиями (Amirifar et al., 2019).

Синдром Ниймегена (СН) относится к группе врожденных синдромов с хромосомной нестабильностью. Данный синдром имеет ряд характерных для этой группы заболеваний особенностей, включая специфические хромосомные перестройки, комбинированный первичный иммунодефицит, чувствительность к ионизирующему излучению и повышенный риск развития ЗНО, включая РЯ и РМЖ (Weemaes et al., 1981). Молекулярной основой развития заболевания являются двуаллельные мутации в гене *NBN* (Van Der Burg et al., 1996; Валова и др., 2021).

Синдром Пейтца-Егерса (СПЕ) является редким заболеванием с аутосомно-доминантным типом наследования. Этиологической основой заболевания являются мутации в гене *STK11*. По разным оценкам риск развития РЯ, связанный с СПЕ, составляет 18–21% (Resta et al., 2013; Van Lier et al., 2010).

Анемия Фанкони (АФ) является редким генетическим заболеванием с преимущественно аутосомно-рецессивным типом наследования (Rosenberg et al., 2011). Этиологическим фактором развития болезни являются герминальные мутации, возникающие в генах системы репарации ДНК, что приводит к широкому спектру клинических проявлений переменной пенетрантности, в основном характеризующихся симптомами прогрессирующей костномозговой недостаточности, врожденными дефектами и предрасположенностью к ЗНО (Mamrak et al., 2017). На сегодняшний день описано по крайней мере 22 гена, ассоциированных с

развитием АФ или клинически схожих состояний (Alter et al., 2014). Риск развития РЯ в семьях с данным синдромом зависит от пораженного гена и по оценкам составляет от 6 до 15% (Niraj et al., 2019; Валова и др., 2021).

Репродуктивные факторы

Одной из теорий, объясняющих причину возникновения РЯ, является теория непрекращающейся овуляции. Согласно ей, факторы, вызывающие увеличение количества овуляторных циклов, такие как ранний менархеальный возраст (до 11 лет), поздняя естественная менопауза (после 55 лет), бесплодие и применение препаратов, стимулирующих овуляцию, повышают вероятность заболевания. Тогда как использование оральных контрацептивов, поздний возраст наступления менархе и ранний возраст наступления менопаузы, беременность, грудное вскармливание и гинекологические операции напротив имеют протективный характер (Хансон и др., 2000).

Считается, что циклические повреждения поверхностного эпителия яичника и фаллопиевой трубы, происходящие в результате овуляции, создают острую провоспалительную среду, плодотворную для возникновения мутаций. При изучении связи между профилями экспрессии генов инвазивных опухолей яичников и количеством циклов овуляции в течение жизни, авторы обнаружили, что многие гены репарации ДНК были подавлены у женщин с более продолжительным репродуктивным периодом (Sasamoto et al., 2022).

В ряде работ сообщалось о связи между количеством овуляторных циклов и риском развития РЯ. В результате исследования, проведенного крупным международным консорциумом, авторы установили, что РЯ в два раза чаще диагностировали у женщин с количеством овуляторных циклов более 514 по сравнению с женщинами с количеством циклов менее 294. При этом, риск развития заболевания увеличивался на 14% за 5-летнее увеличение овуляторных лет в течение жизни. Эта связь была наиболее сильной для серозных, эндометриоидных и светлоклеточных опухолей (Trabert et al., 2020).

Результаты многочисленных исследований позволяют предположить, что беременность играет защитную роль в отношении РЯ (Kim et al., 2017; Gaitskell et al., 2018; Jiang et al., 2020). В проспективном исследовании, в котором приняли участие 1,3 млн женщин из Великобритании, ученые установили, что у нерожавших женщин риск развития РЯ был на 24% выше, чем у женщин с реализованной репродуктивной функцией, а рождение каждого последующего ребенка снижало риск РЯ на 6%. Авторы отмечают, что наиболее сильное снижение риска наблюдалось для эндометриоидных (RR = 1,49, 95% CI: 1,18–1,89) и светлоклеточных опухолей (RR = 1,68, 95% CI: 1,29–2,20), однако не влияло на риск развития серозного РЯ (Gaitskell et al., 2018).

Известно, что грудное вскармливание подавляет овуляцию за счет повышенной выработки пролактина и таким образом может рассматриваться как протективный фактор развития РЯ (Gaitskell et al., 2018; Modugno et al., 2019; Babic et al., 2020). Результаты недавно опубликованного метаанализа свидетельствуют о том, что кормление грудью способствует снижению риска развития инвазивного РЯ на 24% и пограничных опухолей яичников на 28%. При этом существует обратная зависимость степени снижения риска заболевания от продолжительности грудного вскармливания. Так, продолжительность грудного вскармливания от 1 до 3 месяцев снижает риск развития РЯ на 18%, тогда как кормление грудью в течение 12 и более месяцев – на 34% (Babic et al., 2020).

Эпидемиологические исследования свидетельствуют о том, что перевязка маточных труб и гистерэктомия носят протективный характер в отношении развития РЯ примерно на 26–30% (Rice et al., 2014; Darelus et al., 2021). При этом перевязка маточных труб в наибольшей степени связана со снижением риска светлоклеточного, эндометриоидного рака и серозной карциномы высокой степени злокачественности (Gaitskell et al., 2016; Ely et al., 2017), однако, по-видимому, не влияет на развитие муцинозных и

низкодифференцированных серозных новообразований (Sieh et al., 2013; Gaitskell et al., 2016). Тогда как гистерэктомия снижает риск развития светлоклеточного и эндометриоидного РЯ, но не серозных и муцинозных опухолей яичников (Huo et al., 2019).

Заболевания органов малого таза

Роль воспаления и воспалительных заболеваний органов малого таза в возникновении РЯ вызывает споры среди специалистов. В то время как некоторые исследователи указывают на умеренный риск развития РЯ у женщин с хроническим воспалением органов малого таза (Stewart et al., 2018; Lee et al., 2020; Chang et al., 2021), другие отрицают данную взаимосвязь (Shen et al., 2016; Huang et al., 2021; Darelius et al., 2021).

Согласно ряду исследований, наличие эндометриоза в анамнезе повышает риск развития РЯ примерно в 1,32–1,9 раз по сравнению с общей популяцией (Mogensen et al., 2016; Poole et al., 2017; Li et al., 2019; Huang et al., 2021). При этом наиболее сильные ассоциации были отмечены с эндометриоидными и светлоклеточными опухолями яичников, а также РЯ низкой степени злокачественности (Wentzensen et al., 2016; Yarmolinsky et al., 2019; Hermens et al., 2020). Также ученые отмечают, что РЯ, связанный с эндометриозом, как правило диагностируется на ранних стадиях и имеет лучший прогноз (Li et al., 2019; Huang et al., 2021).

Установлено, что некоторые доброкачественные кисты яичников могут выступать в качестве предшественников злокачественных опухолей яичников. В недавно проведенном метаанализе риск развития РЯ оказался в 1,3 раза выше у женщин с синдромом поликистозных яичников (СПКЯ) (Amiri et al., 2022). Интересно отметить, что в другом исследовании ассоциация СПКЯ с повышенным риском развития РЯ оказалась значимой лишь в группе женщин в возрасте до 54 лет, однако не наблюдалась в общей выборке (Li et al., 2022).

Гормональные факторы

Применение оральных контрацептивов (ОК), препятствующих овуляции, выступает в качестве надежного протективного фактора развития РЯ (Michels et al., 2018; Huang et al., 2020). В совокупности данные свидетельствуют о том, что использование ОК в анамнезе снижает риск рака яичников примерно на 40%, что согласуется с оценками, наблюдаемыми в общей популяции (Moorman et al., 2013; Michels et al., 2018; Karlsson et al., 2021). При этом протективный эффект усиливается с увеличением продолжительности использования ОК и сохраняется в течение длительного времени после отмены препарата (Karlsson et al., 2021). Интересно отметить, что защитный эффект от применения ОК присутствует даже у женщин с высоким риском РЯ. Так, в недавнем исследовании авторы установили, что использование ОК снижает риск РЯ среди носителей мутации *BRCA1* (Schrijver et al., 2021).

В то время как бесплодие является доказанным фактором, увеличивающим риск развития РЯ примерно на 50% (Jiang et al., 2020) данные о роли вспомогательных репродуктивных технологий в канцерогенезе РЯ противоречивы. В недавнем исследовании, направленном на изучение связи между применением вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) и развитием инвазивных и пограничных опухолей яичников, авторы пришли к выводу, что женщины, прибегнувшие к ВРТ, имеют более высокий риск развития данных типов новообразований (Lundberg et al., 2019). Похожие результаты были получены ранее Reigstad M. M с коллегами. В своей работе ученые продемонстрировали, что риск развития пограничных опухолей яичников был повышен у всех женщин, получавших ВРТ, однако связи с инвазивным РЯ не наблюдалось (Reigstad et al., 2017).

Kessous R. с коллегами установили, что РЯ значительно чаще диагностировался у женщин, применявших процедуру ЭКО для лечения бесплодия, по сравнению с женщинами без лечения (Kessous et al., 2016). Тем

не менее, ученые отмечают, что данный риск может быть обусловлен фактором бесплодия, а не лечением (Lundberg et al., 2019).

Женщины, применяющие постменопаузальную заместительную гормональную терапию также подвержены повышенному риску развития РЯ (Liu et al., 2019; Tanha et al., 2021). Предыдущие исследования показали, что использование комбинации эстрогена и прогестина в течение 5 и более лет значительно увеличивает риск развития серозного и эндометриоидного РЯ (Beral et al., 2015; Lee et al., 2016). При этом на риск в большей степени влияют длительность терапии, не зависимо от типа ЗГТ режима и способа введения (Trabert et al., 2012).

Образ жизни и питание

Изучению влияния курения на заболеваемость РЯ посвящено множество работ. По всей видимости, курение сигарет не связано с общим риском развития эпителиального рака яичников, однако может повышать и понижать риск развития определенных гистотипов. Согласно ряду исследований, курящие женщины подвержены большему риску развития инвазивного и пограничного муцинозного РЯ по сравнению с некурящими (Faber et al., 2013; Wentzensen et al., 2016; Licaj et al., 2017; Santucci et al., 2019). В нескольких работах также приводятся доказательства связи курения с повышенным риском развития серозных (Praestegaard et al., 2017; Yarmolinsky et al., 2019), а также пониженным риском инвазивных светлоклеточных и эндометриоидных опухолей яичника (Gaitskell et al., 2012; Faber et al., 2013; Wentzensen et al., 2016).

Влияние употребления алкоголя на заболеваемость раком яичников остается предметом обсуждения. В то время как некоторые исследователи заявляют об отсутствии взаимосвязи между потреблением алкоголя и риском РЯ (Kelemen et al., 2013; Yan-Hong et al., 2015; Zhu et al., 2020; Ong et al., 2021) в более ранних исследованиях авторами была обнаружена слабая связь между

потреблением алкоголя и риском развития муцинозных и пограничных серозных опухолей яичника, который также зависел от типа алкоголя, еженедельной дозы и длительности потребления (Goodman et al., 2003; Modugno et al., 2003). Тогда как в работе Cook с соавторами была показана протективная роль красного вина в отношении инвазивных серозных форм РЯ (Cook et al., 2016).

Некоторые данные свидетельствуют о том, что питание также может модулировать риск развития ЗНО яичников. Так, употребление в пищу большого количества растительного белка, овощей и фруктов, а также продуктов, богатых полиненасыщенными жирными кислотами, снижают риск развития РЯ (McManus et al., 2018; West et al., 2018; Dunneram et al., 2019), тогда как диета с высоким содержанием насыщенных жиров, углеводов с высоким гликемическим индексом и животного белка может способствовать процессу канцерогенеза (Shivappa et al., 2016; Peres et al., 2017; Shivappa et al., 2018). Протективный эффект продуктов растительного происхождения обусловлен большим содержанием в них антиоксидантов, изотиоцианатов и флавоноидов, обладающих антимуtagenными и антипролиферативными свойствами (Koshiyama et al., 2019).

Установлено, что ожирение и избыточный вес вызывают метаболические нарушения и значительные изменения в уровне половых гормонов, что приводит к нарушению менструального цикла и даже бесплодию и таким образом может влиять на риск развития РЯ. В исследованиях, использующих метод менделевской рандомизации для оценки влияния ИМТ на риск развития РЯ, высокий генетически предсказанный ИМТ был связан с повышенным риском эндометриоидных и муцинозных, но не серозных РЯ (Dixon et al., 2016; Qian et al., 2019). Похожие результаты были получены в исследовании, проведенном ранее Консорциумом по раку яичников, в котором ученые выявили тесную связь между высоким ИМТ и риском развития пограничного серозного, эндометриоидного, муцинозного и

низкодифференцированного серозного РЯ (Olsen et al., 2013). Кроме того, по сравнению с женщинами с нормальным весом, женщины с ожирением имели более низкие показатели выживаемости без прогрессирования и общей выживаемости (Zamorano et al., 2019). А увеличение ИМТ на 5 единиц было ассоциировано с неблагоприятным прогнозом и повышенной смертностью (Poole et al., 2016; Kim et al., 2017). Это объясняется результатами недавнего исследования, в котором было показано, что жировая ткань является важнейшим компонентом метастатического микроокружения рака яичников, функционируя как липидный резервуар для поддержания высоких энергетических потребностей раковых клеток (Zelevnik et al., 2020).

Таким образом, РЯ является сложным многофакторным заболеванием, в развитие которого вносят вклад наследственная предрасположенность, репродуктивные факторы, гормональный статус и образ жизни.

1.3 Генетические факторы риска развития рака яичников

Согласно современной концепции канцерогенеза, в основе происхождения опухолей лежат мутации генетического аппарата клеток, которые формируют их повышенную чувствительность к воздействию экзогенных и эндогенных факторов. На сегодняшний день известно большое количество генов различной степени пенетрантности, ассоциированных с повышенным риском развития ЗНО яичников.

Ген *BRCA1* (был выделен в 1994 году и картирован на хромосоме 17q21 (Miki et al., 1994). Спустя год в области хромосомы 13q12–13 был обнаружен ген *BRCA2* (Wooster et al., 1995). К настоящему времени получена существенная информация о структуре и функции этих генов. В норме они осуществляют контроль целостности генома (рисунок 3).

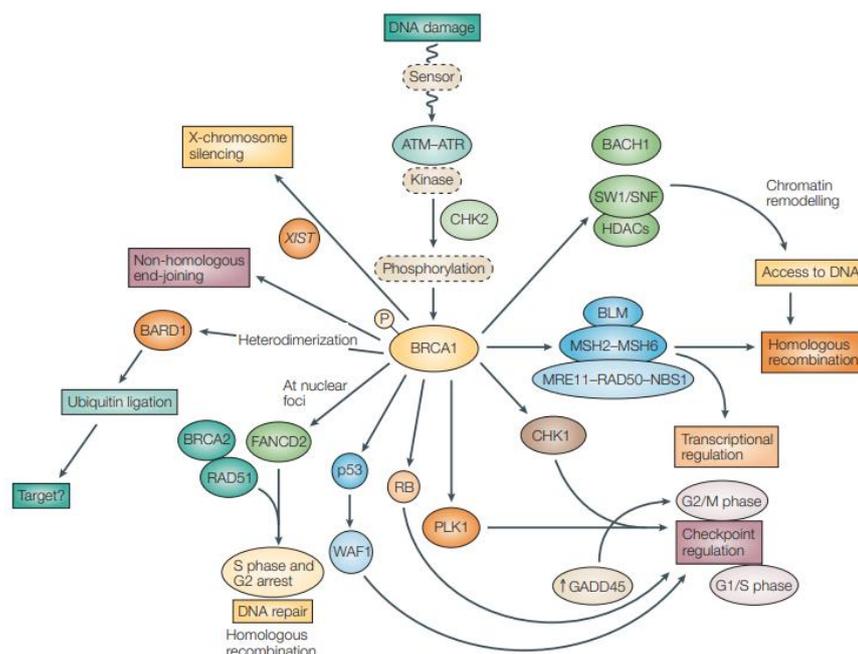


Рисунок 3 – Роль генов *BRCA1/2* в поддержании геномной стабильности (Narod, Foulkes, 2004)

Утрата функции белков *BRCA1/2* влечет за собой ошибки репарации двунитевых разрывов ДНК, вследствие чего инактивируются гены контроля клеточного цикла, ингибирующие дальнейший клеточный рост и индуцирующие апоптоз. Накопление ошибок репарации, которые приводят к нарушениям регуляции клеточного цикла, апоптоза и дифференцировки клетки, ведут к генетической нестабильности, что является ключевым событием в процессе злокачественной трансформации клетки (Gudmundsdottir et al., 2006; Валова и др., 2021).

На сегодняшний день идентифицировано более 6500 различных патогенных/вероятно патогенных вариантов в генах *BRCA1/2* (Kechin et al., 2023). В крупном популяционном исследовании, в котором принимали участие 29700 семей с мутациями *BRCA1/2*, было выявлено 1 650 уникальных вариантов в гене *BRCA1* и 1731 уникальных вариантов в гене *BRCA2*. Большинство из них были представлены мутациями, приводящими к сдвигу рамки считывания, а также нонсенс мутациями, которые являются причиной

преждевременного прекращения трансляции и формирования нефункционального белка. При этом геномные перестройки и миссенс мутации составляют гораздо более высокую долю изменений в гене *BRCA1* по сравнению с геном *BRCA2* (Paluch-Shimon et al., 2016; Валова и др., 2021).

При изучении генетической структуры РЯ в различных популяциях ученые отметили, что не только частота, но и спектр патогенных мутаций различается среди разных групп населения. В некоторых этнических группах представлен широкий спектр различных мутаций с низкой частотой, в то время как в других преобладают лишь несколько повторяющихся специфических мутаций. Такой феномен получил название эффекта основателя. На сегодняшний день мутации основателя в генах *BRCA1/2* описаны у евреев Ашкенази, в польской, норвежской, исландской и других популяциях (Thorlacius et al., 1996; Ramus et al., 1997; Tonin et al., 1999; Gorski et al., 2000; Van der Looij et al., 2000; Ferla et al., 2007; Hamel et al., 2011; Villarreal-Garza et al., 2015; Валова и др., 2021).

Так, в популяции евреев Ашкенази наиболее частыми мутациями являются с.68_69delAG (1%), с.5266dupC (0,1-0,15%) в гене *BRCA1* и с.5946delT (1,52%) в гене *BRCA2*. На их долю приходится до 30 % всех случаев заболеваемости наследственными формами РМЖ и РЯ (Ferla et al., 2007). Многие учёные также отмечают высокую частоту мутаций с.5266dupC и с.68_69delAG в странах восточной Европы, включая Россию (Бермишева и др., 2018; Sokolenko et al., 2020; Фаисханова, 2021; Kechin et al., 2023).

Было идентифицировано и несколько других этноспецифических мутаций, включая исландскую мутацию основателя с.771_775del (999del5) в гене *BRCA2* (Thorlacius et al., 1996); французско-канадские мутации с.4327C>T/*BRCA1* и с.8537_8538del/*BRCA2* (Tonin et al., 1999; Oros et al., 2006); мутации с.181T>G/*BRCA1* и с.4035delA/*BRCA1* в Центральной и Восточной Европе (Gorski et al., 2000; Hamel et al., 2011); с.548-4185del гена *BRCA1* в

Мексике (Villarreal-Garza et al., 2015), мутацию с.9097dup гена *BRCA2* в Венгрии (Ramus et al., 1997; Van der Looij et al., 2000) и другие.

Некоторые из таких мутаций имеют высокую распространенность и в других популяциях. Согласно результатам крупного популяционного исследования, проведенного консорциумом CINBA, наиболее распространенными мутациями оказались мутации с эффектом основателя с.5266dupC/*BRCA1*, с.68_69delAG/*BRCA1* и с.5946delT/*BRCA2*. Так, мутация с.5266dupC с высокой частотой была выявлена в ряде европейских стран, таких как Россия, Польша, Чехия и Литва, где на нее приходится соответственно 94%, 60%, 33% и 50% всех мутаций в гене *BRCA1* (Rebbeck et al., 2018). Еще одним примером служит мутация с.181T>G в гене *BRCA1*, предположительно имеющая восточно-европейское происхождения. Данная мутация наблюдалась в Центральной Европе (Австрия, Чехия, Германия, Венгрия, Белоруссия и Польша) (Gorski et al., 2000; Bogdanova et al., 2010; Rebbeck et al., 2018; Kluz et al., 2018).

Согласно ряду российских исследований, преобладающими мутациями в генах *BRCA1/2* на территории Российской Федерации являются: с.5266dupC, с.181T>G, с.68_69delAG, с.4035delA, с.1961delA, с.68_69delAG, с.3700_3704delGTAAA, которые охватывают до 70–90 % всего спектра выявленных мутаций в этих генах (Любченко, 2009; Пржедецкий и др., 2015; Богомоллова и др., 2017; Бровкина и др., 2017; Бермишева и др., 2018; Sokolenko et al., 2020; Фаисханова, 2021) (рисунок 4). Однако в связи с тем, что население Российской Федерации имеет сложный этнический состав, спектр и частота мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* разнится от региона к региону (Пржедецкий и др., 2015; Богомоллова и др., 2017; Бермишева и др., 2018). Так, в результате скрининга мажорная мутация с.5266dupC была обнаружена лишь у 7% женщин татарской этнической принадлежности, тогда как у женщин со славянским происхождением данная мутация встречалась в 5 раз чаще (Бровкина и др., 2017).

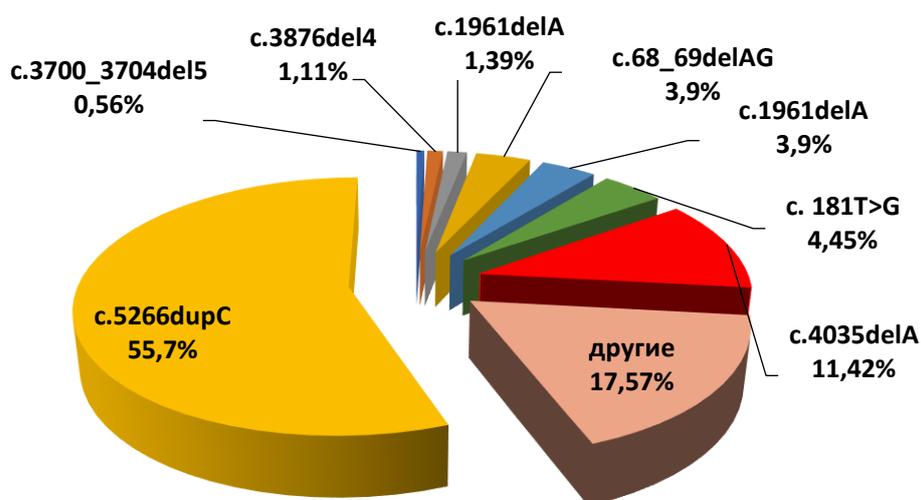


Рисунок 4 – Спектр выявляемых в генах *BRCA1/BRCA2* мутаций у больных РЯ в РФ (Sokolenko et al., 2020)

Патогенные варианты в гене *BRCA2* у больных РЯ в российской популяции встречаются редко (Бермишева и др., 2018; Лаптиев и др., 2018; Никитин и др., 2020; Sokolenko et al., 2020; Фаисханова, 2021). Для данного гена характерно отсутствие «горячих точек» и высокая доля (30%) вновь выявленных мутаций, что определяет необходимость скрининга всей кодирующей части данного гена (Бровкина и др., 2017).

Ген *STK11* расположен на коротком плече хромосомы 19 и кодирует внутриклеточную серин-треониновую киназу, участвующую в клеточном энергетическом метаболизме, пролиферации и поляризации клеток, р53-зависимом апоптозе, а также в регуляции внутриклеточных сигнальных путей VEGF и Wnt (Xu et al., 2013). Ген *STK11* представляет собой опухолевый супрессор, который мутирует при различных спорадических формах рака. В работе Kurian ген *STK11* был связан с 40-кратным увеличением риска развития РЯ (OR=41.9; 95% CI, 5.55–315) (Kurian et al., 2017). Частота герминальных мутаций среди пациентов с эпителиальным РЯ варьирует от 0,23 до 1,61% (Kurian et al., 2017; Li et al., 2019; Shao et al., 2020). На сегодняшний день в гене

STK11 описано более 400 мутаций, приводящих к развитию фенотипа СПЕ (<http://www.hgmd.cf.ac.uk>). Точечные изменения встречаются на всей протяженности гена *STK11* и часто представлены нонсенс мутациями или мутациями сдвига рамки считывания. Большинство из них, по прогнозам, являются патогенными (Chakravarty et al., 2017).

Ген *PTEN* кодирует фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфат-3-фосфатазу, способную дефосфорилировать фосфопептиды и фосфолипиды. Онкосупрессорная активность *PTEN* связана с его способностью дефосфорилировать липидный субстрат — фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфат (PIP3), что приводит к ингибированию передачи сигналов по PI3K/AKT/mTOR-сигнальному пути, являющегося основным путем роста и пролиферации клеток (Mester et al., 2015). Таким образом, белковый продукт гена *PTEN* является одним из ключевых супрессоров опухолей в организме. Кумулятивный риск РМЖ у носителей патогенных/условно патогенных вариантов в гене *PTEN* оценивается в 25–85%, а риск развития карциномы эндометрия матки составляет 28,2% (Angeli et al., 2020), в то время как о повышенном риске карциномы яичников в случаях с патогенными вариантами в гене *PTEN* не сообщалось (Kurman et al., 2010). Однако считается, что эндометриоидная карцинома яичников развивается из ткани эндометрия при ретроградной менструации и имплантации в яичник (Sato et al., 2010). Мутации в гене *PTEN* распознаются в 20% случаев эндометриоидных карцином яичников (Kolasa et al., 2006), а ЛОН составляет от 60 до 64% тогда как эти значения намного ниже при других типах карцином яичников (2% частота мутаций; 28% ЛОН) (Cho et al., 2008; Xu et al., 2011). Эти данные предполагают специфическую ассоциацию изменений нуклеотидной последовательности гена *PTEN* и РЯ эндометриоидного типа (Валова и др., 2021).

Ген *TP53* расположен на коротком плече 17 хромосомы (17p13.1) и кодирует фактор транскрипции, участвующий в таких ключевых процессах

как регуляция клеточного цикла, пролиферация клеток, апоптоз и репарация ДНК. Соматические мутации в этом гене обнаруживаются в 96% случаев серозной аденокарциномы высокой степени злокачественности (Cole et al., 2016), однако частота герминальных мутаций у больных РЯ не превышает 0,5% (Song et al., 2015). Пожизненный риск развития РМЖ у пациентов с мутациями в гене *TP53* оценивается в 25–79% (Masciari et al., 2012), тогда как риск развития РЯ у носителей данных изменений точно не оценен. В результате крупномасштабного экзомного секвенирования, проведенного исследователями из Китая, было обнаружено, что патогенные варианты в гене *TP53* повышают риск развития РЯ в 18,5 раз (OR = 18,50, 95% CI 2,56–808,1) (Lu et al., 2019). Однако в ранее проведенных исследованиях ученым не удалось выявить данной взаимосвязи (Schroeder et al., 2015; Minion et al., 2015; Harter et al., 2017; Castera et al., 2018). Таким образом, имеющиеся на сегодняшний день данные не позволяют сделать однозначные выводы относительно роли гена *TP53* в развитии РЯ. Однако наличие ассоциаций некоторых герминальных вариантов с наследственным РМЖ позволяет сделать предположение о вероятной роли данных вариантов и в патогенезе НРЯ.

Гены *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS1* и *PMS2* кодируют белки, участвующие в многоступенчатом механизме репарации неправильно спаренных оснований ДНК, известном как мисматч репарация (MMR). Белки *MSH2* и *MSH6* формируют гетеродимер, функцией которого является выявление некомплементарных оснований, а также инсерций и делеций, которые могут возникать в процессе репликации ДНК. При обнаружении ошибки к данному комплексу присоединяются белки *MLH1*, *PMS1* или *PMS2*, которые участвуют в восстановлении нити ДНК (рисунок 5) (Guillotin et al., 2014).

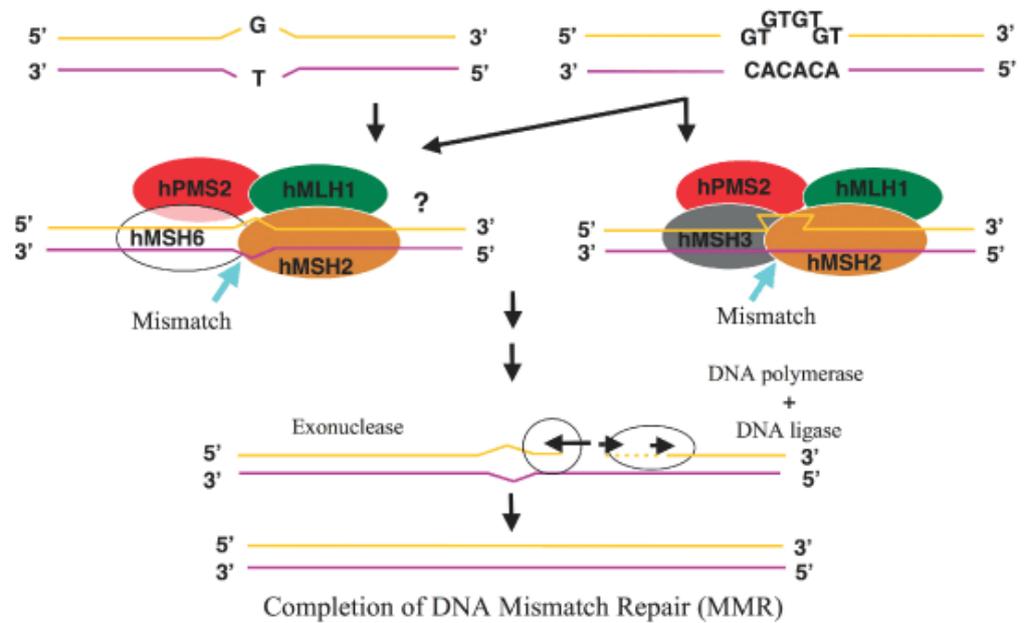


Рисунок 5 – Механизм репарации неправильно спаренных оснований ДНК (Hirai et al., 2008).

Инактивация генов системы MMR приводит к накоплению повторяющихся нуклеотидных последовательностей, вызывая состояние, называемое микросателлитной нестабильностью. Микросателлиты представляют собой короткие тандемные повторяющиеся последовательности ДНК с высокой восприимчивостью к ошибкам репликации. Такие участки содержат некоторые онкогены и гены опухолевых супрессоров, а также гены репарации двунитевых разрывов ДНК, следовательно, дефекты системы MMR могут опосредованно приводить к нарушению работы генов, поддерживающих стабильность генома, таким образом запуская процесс канцерогенеза (Ferreira et al., 2009).

Дефицит системы MMR встречается приблизительно в 10–12% случаев эпителиального РЯ (Toss et al., 2019). В частности, он обнаруживается в 19,2% эндометриоидных, 16,9% муцинозных, 11,5% светлоклеточных и 1–8% серозных гистологических подтипов. Распространенность MMR-дефицита или микросателлитной нестабильности (MSI) при семейном РЯ оценивается от 10% до 20% (Xiao et al., 2014; Burgess et al., 2018; Crosbie et al., 2021).

Распространенность патогенных герминальных вариантов в генах системы MMR среди пациенток с РЯ невысока и оценивается в 0,5–3%, что объясняется их связью с редкими гистотипами при данном заболевании (Walsh et al., 2011; Song et al., 2014; Akbari et al., 2017; Lilyquist et al., 2017; Castéra et al., 2018; Suszynska et al., 2019; Lu et al., 2019). В ходе исследований типа «случай-контроль» было установлено, что риск развития РЯ в 3 раза выше у носителей мутаций в гене *MLH1* (Kurian et al., 2017), от 2 до 14 раз – у пациенток с изменениями в гене *MSH2* (Lilyquist et al., 2017; Castéra et al., 2018; Suszynska et al., 2019; Lu et al., 2019), и от 2 до 9 раз – у больных с мутациями в гене *MSH6* (Song et al., 2014; Lilyquist et al., 2017; Castéra et al., 2018; Suszynska et al., 2019; Lu et al., 2019). При этом сочетанное носительство комбинации патогенных вариантов генов системы MMR приводило к 2-кратному увеличению риска развития РЯ, а кумулятивный риск РЯ к возрасту 80 лет составил 3,7% (Akbari et al., 2017).

Спектр герминальных мутаций в генах системы MMR у больных РЯ изучен недостаточно. По-видимому, большинство из них представлены миссенс-мутациями и мутациями, приводящими к сдвигу рамки считывания (Pal et al., 2012).

Ген *MUTYH* расположен на коротком плече хромосомы 1 (1p34.1) и кодирует фермент ДНК гликозилазу МҮН, являющуюся ключевым участником эксцизионной репарации оснований (BER). Основная роль данного фермента заключается в распознавании и удалении неверно спаренных, алкилированных или окисленных оснований, тем самым предотвращая несоответствующие трансверсии G:C>T:A в последующих раундах репликации ДНК (рисунок 6). В дополнение к своей роли в процессе BER, белок MutҮН также может контролировать гибель клеток путем активации киназы контрольной точки 1 (ЧЕК1) и серин/треониновой протеинкиназы ATR (Hutchcraft, 2021).

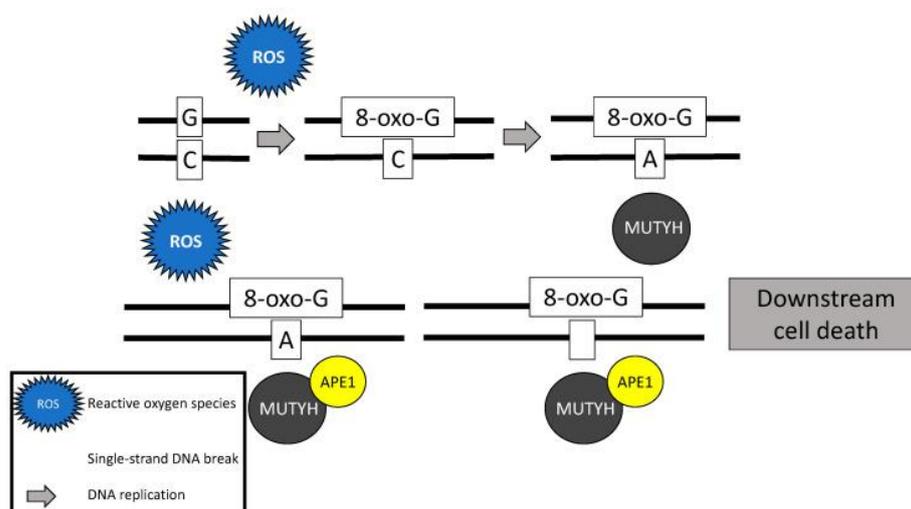


Рисунок 6 – механизм эксцизионной репарации оснований гомолога MutY (MUTYH) в ответ на окислительное повреждение (Hutchcraft et al., 2021)

Герминальные мутации в гене *MUTYH* наиболее известны в контексте MutYH-ассоциированного полипоза и колоректального рака, однако результаты нескольких исследований показали, что такие патогенные варианты могут вносить вклад в патогенез РЯ. В работах Win и Vogt было продемонстрировано, что у носителей двуаллельных мутаций в гене *MUTYH* пожизненный риск развития РЯ составляет приблизительно 10-14%, а средний возраст манифестации заболевания – 51 год (Vogt et al., 2009; Win et al, 2016). Повышенный риск развития РЯ у носителей моноаллельных герминальных мутаций в гене *MUTYH* не отмечался, однако считается, что развитие заболевания в данном случае может быть связано с соматической утратой интактного аллеля (Hutchcraft et al., 2021).

Ген *NBN* был картирован в 1998 году на длинном плече восьмой хромосомы (8q21) и первоначально имел название *NBS1* (Wen et al., 2013). Белковый продукт этого гена является частью тримерного ядерного комплекса MRN (MRE11-RAD50-NBN), являющегося ключевым участником практически всех этапов репарации двуцепочечных разрывов от распознавания повреждений в цепи ДНК и запуска ATM-сигнального каскада до восстановления структуры молекулы. Нарушение работы комплекса MRN

может приводить к накоплению многочисленных повреждений ДНК в клетках, и, как следствие, к их малигнизации (Rupnik et al., 2010). По данным нескольких популяционных исследований, герминальные мутации в гене *NBN* встречаются примерно у 0, 28-1% пациенток с РЯ (Seemanova et al., 2016; Norquist et al., 2016; Kurian et al., 2017; Lhotova et al., 2020), однако их роль в развитии заболевания до сих пор остается предметом дискуссий. В нескольких исследованиях сообщалось об умеренном риске развития РЯ для носителей патогенных вариантов в гене *NBN* (Ramus et al., 2015; Suszynska et al., 2019; Kurian et al., 2019). Тогда как ряд других исследователей не подтвердили данную связь (Rupnik et al., 2010; Kurian et al., 2017). Одной из наиболее изученных и часто обнаруживаемых мутаций в гене *NBN* является делеция с.657_661del5/*NBN*. Частота носительства этого варианта может достигать 1,5% в странах Восточной и Центральной Европы (Польше, России, Украине и др.), что связано с эффектом основателя (Lins et al., 2009; Cybulski et al., 2019). Данная мутация вызывает сдвиг рамки считывания, что приводит к возникновению преждевременного стоп-кодона и, как следствие, к укороченному белковому продукту. Однако функциональные исследования показали, что два новых стартовых кодона, созданные сдвигом рамки считывания, могут генерировать усеченные фрагменты белка *NBN*, тем самым частично сохраняя его функциональность (Suspitsin et al., 2009). В нескольких исследованиях сообщалось о низкой частоте встречаемости мутации с.657del5/*NBN* среди больных РЯ, сопоставимой с таковой в контрольной группе (Батенева и др., 2014; Krivokuca et al., 2019). Тогда как в работах польских и сербских ученых патогенный вариант был выявлен у пациенток с РЯ с частотой от 1,2% до 1,7% (Bogdanova et al., 2008; Nowak et al., 2008; Koczkowska et al., 2018). Другое наиболее часто обнаруживаемое изменение в гене *NBN* представляет собой миссенс вариант с.511A>G, приводящий к замене изолейцина на валин в 171 положении. Данный вариант широко распространен в европейской и азиатской популяциях и по некоторым данным

может способствовать развитию злокачественных опухолей различной локализации. Так, в литературе он был описан у лиц, страдающих РМЖ, РЯ, раком легких, раком головного мозга, колоректальным раком, а также различными формами лейкемии (Nowak et al., 2008; Roźnowski et al., 2008; Koczkowska et al., 2018). Роль варианта с.511A>G/*NBN* в патогенезе РМЖ и РЯ до сих пор неясна. Roźnowski в своей работе продемонстрировал высокий риск развития РМЖ для носителей данного изменения (Roźnowski et al., 2008). Однако большинство ассоциативных исследований не выявило достоверной связи между наличием варианта с.511A>G/*NBN* и развитием наследственных и спорадических форм РМЖ и/или РЯ и на сегодняшний день он значится как вариант с неопределенной патогенностью (Nowak et al., 2008; Бермишева и др., 2009; Stafford et al., 2017).

Что касается генов *MRE11* и *RAD50*, по-видимому, их вклад в развитие РЯ невелик. Несколько авторов сообщали о наличии вероятно патогенных вариантов у пациентов с семейными и спорадическими формами РЯ и РМЖ (Heikkinen et al., 2003; Elkholi et al., 2021). Однако крупные популяционные и исследования типа «случай-контроль» не обнаружили связь мутаций в генах *MRE11* и *RAD50* с развитием РЯ (Lilyquist et al., 2017; Suszynska et al., 2019; Kurian et al., 2019). Таким образом, на сегодняшний день роль генов *MRE11* и *RAD50* в патогенезе РЯ окончательно не установлена, что диктует необходимость проведения дальнейших функциональных и клинических исследований (Валова и др., 2021).

Ген *CHEK2* расположен на длинном плече 22 хромосомы и кодирует белок checkpoint протеинкиназу 2 (Chk2), являющийся одним из ключевых регуляторов клеточного цикла, репарации и апоптоза. Белок Chk2 присутствует в клетке в неактивном состоянии и активируется посредством фосфорилирования вышестоящей киназой АТМ в ответ на повреждение ДНК. В свою очередь, активированная протеинкиназа Chk2 фосфорилирует нижестоящие мишени, к которым относятся белки-супрессоры BRCA1 и p53,

фактор транскрипции E2F1, белок PML, фосфатазы Cdc25. Таким образом, ген *CHEK2* является ключевым звеном таких важнейших процессов как контроль клеточного цикла, репарация и апоптоз, что делает его идеальным геном-кандидатом для изучения предрасположенности к различным ЗНО, в том числе РЯ (Baysal et al., 2004). Частота герминальных мутаций в гене *CHEK2* среди больных с наследственными формами РЯ варьирует от 0,57% до 1,4% (Norquist et al., 2016; Kurian et al., 2017; Lilyquist et al., 2017; Kurian et al., 2019). Однако на сегодняшний день нет убедительных доказательств о связи патогенных вариантов в данном гене с развитием РЯ (Norquist et al., 2016; Kurian et al., 2017; Lilyquist et al., 2017; Kurian et al., 2019). В последние годы большое количество крупных исследований показали связь четырех мутаций основателя с.444+1G>A/*CHEK2*, с.1100delC/*CHEK2*, с.470 T>C/*CHEK2*, del5395/*CHEK2* с повышенным риском РМЖ в различных популяциях. Мутация с.1100delC/*CHEK2* была впервые описана как вероятная причина развития РМЖ в 2002 году, что впоследствии было подтверждено в многочисленных исследованиях (De Jong et al., 2004; Weischer et al., 2008; Schmidt et al., 2016; Liang, M., et al., 2018). Для двух других вариантов с эффектом основателя (с.444+1G>A/*CHEK2*, del5395/*CHEK2*) были показаны ассоциации с РМЖ у женщин из восточной Европы. Мутации с.444+1G>A/*CHEK2* и del5395/*CHEK2* были связаны с РМЖ в Польше, Белоруссии, России и Чехии (Cybulski et al., 2004; Bogdanova et al., 2005; Walsh et al., 2006; Bogdanova et al., 2007; Sokolenko et al., 2007; Cybulski et al., 2007). Полиморфный локус с.470T>C/*CHEK2*, приводящий к аминокислотной замене Ile157Thr, имеет более широкое географическое распространение и был связан с РМЖ у женщин из Польши, Финляндии, Германии и Белоруссии. Однако, по всей видимости, эти варианты не вносят существенного вклада в патогенез РЯ (Kilpivaara et al., 2004; Cybulski et al., 2004; Bogdanova et al., 2005; Walsh et al., 2006; Shaag et al., 2006). В ряде работ, посвященных изучению роли мутации с.1100delC в формировании предрасположенности к РЯ, ученым

не удалось продемонстрировать связи между данным патогенным вариантом и развитием РЯ. В недавней работе Łukomska A. также не было установлено значимой связи рекуррентных мутаций с.444+1G>A/*CHEK2*, с.1100delC/*CHEK2* и полиморфного локуса с.470T>C/*CHEK2* с риском развития РЯ в польской популяции. Полиморфный вариант с.470 T>C/*CHEK2* оказался в значительной степени связан с цистаденомами яичников, пограничными опухолями яичников и инвазивным РЯ низкой степени злокачественности, но не с РЯ высокой степени злокачественности (Baysal et al., 2004; Krylova et al., 2007; Suspitsin et al., 2009; Łukomska et al., 2021). Тем не менее, есть предположения, что другие изменения нуклеотидной последовательности в гене *CHEK2* могут предрасполагать к развитию РЯ (Ow et al., 2014). В результате полногеномного исследования в гене *CHEK2* были идентифицированы пять SNP, связанных с риском развития эпителиального РЯ (Lawrenson et al., 2015). Таким образом, на сегодняшний день роль патогенных вариантов в гене *CHEK2* в патогенезе РЯ неоднозначна. Однако поскольку большинство исследований сосредоточены на нескольких специфических вариантах гена *CHEK2* (del1100C, с.252A>G, с.444+1G>A и с.470T>C), мутации других регионов гена и их связь с патогенезом РЯ все еще нуждаются в детальном исследовании.

Еще более десяти лет назад появились первые работы о связи патогенных герминальных вариантов в гене *PALB2* с повышенным риском развития РМЖ, что в дальнейшем было подтверждено многочисленными исследованиями (Xia et al., 2006; Ghadirian et al., 2009; Tischkowitz et al., 2013). Обобщением всех предыдущих работ стало крупное международное исследование на основе данных из 524 семей, в котором предполагаемый абсолютный риск у носительниц герминальных патогенных вариантов в гене *PALB2* в возрасте 80 лет составил 53% для РМЖ и 5% для РЯ (Yang et al., 2020). В последние годы ген *PALB2* привлекает внимание ученых в качестве гена предрасположенности к РЯ. Белок PALB2 является основным партнером

BRCA2, который необходим для обеспечения его устойчивости и внутриядерной локализации, а также для привлечения его в сайты повреждения ДНК (Xia et al., 2006). Другой важной функцией PALB2 служит образование «комплекса BRCA», в котором PALB2 служит молекулярным каркасом между BRCA1 и BRCA2 (Zhang et al., 2009). В свою очередь, комплекс BRCA1-PALB2-BRCA2 необходим для рекрутирования белка RAD51 в место повреждения ДНК и инициации гомологичной рекомбинации. Таким образом, белковый продукт гена *PALB2* имеет решающее значение для инициации гомологичной рекомбинации ДНК и играет ключевую роль в поддержании стабильности генома. Двуаллельные герминальные мутации в гене *PALB2* приводят к анемии Фанкони, тогда как моноаллельные мутации связаны с повышенным риском рака молочной железы, поджелудочной железы и, возможно, яичников (Yang et al., 2020). В работе L. Castéra было показано 8-кратное увеличение риска развития наследственного РМЖ и РЯ у носителей патогенных вариантов в гене *PALB2*. Однако значимых различий в частоте встречаемости мутаций в семьях с НРЯ и контролем обнаружено не было (Castéra et al., 2018). В то же время Н. Song в своей работе продемонстрировал связь мутаций в гене *PALB2* с развитием серозного РЯ высокой степени злокачественности (Song et al., 2014). В крупнейшем на сегодняшний день исследовании пациентов с мутациями в гене *PALB2*, включающем более 500 семей, было установлено, что риск развития РЯ у носителей патогенных вариантов в данном гене почти в 3 раза выше, чем в общей популяции (Yang et al., 2020). Согласно популяционным исследованиям, частота герминальных мутаций в гене *PALB2* среди пациенток с семейными формами РЯ составляет 0,28–0,62% (Pennington et al., 2014; Walsh et al., 2011; Norquist et al., 2016; Tung et al., 2016). Спектр мутаций в гене *PALB2* аналогичен таковому в генах *BRCA1* и *BRCA2*. Большинство изменений представлены точечными мутациями, подавляющую часть которых составляют миссенс-мутации, мутации сдвига рамки считывания и нонсенс

мутации (Castéra et al., 2018). Частота патогенных вариантов в гене *PALB2* у пациенток с РЯ невысока и колеблется от 0,21% до 1% (Walsh et al., 2011; Ramus et al., 2015; Norquist et al., 2016; Lilyquis et al., 2017; Lu et al., 2019). В гене *PALB2* выявлено несколько мутаций с эффектом основателя. Так мутация с.2323C>T/*PALB2* была обнаружена у 0,4–0,7% больных РМЖ и у 0,6% больных РЯ франко-канадского происхождения в четырех независимых исследованиях (Ghadirian et al., 2009; Tischkowitz et al., 2013). Интересно отметить, что данная мутация была обнаружена у пациенток преимущественно с ранним возрастом развития РМЖ. Для жителей Центральной и Восточной Европы характерны две рекуррентные мутации в гене *PALB2*, связанные с РМЖ. Одна из них с.509_510delGA/*PALB2* – это европейская мутация-основатель, которая была обнаружена у 0,6-1,7% пациентов с РМЖ из Польши, в общей выборке больных РМЖ из Германии (0,3%), России (0,2%) и Белоруссии (0,3%) (Dansonka-Mieszkowska et al., 2010; Wojcik et al., 2016). Мутация с.172_175delTTGT/*PALB2* была идентифицирована у 0,3% пациентов в общей выборке РМЖ и 0,7% пациентов с семейными формами РМЖ из Польши (Noskowicz et al., 2014), 0,9 % пациентов в общей выборке больных РМЖ из Чехии (Cybulski et al., 2015), а также у 0,1% больных с семейными формами РМЖ из Германии (Janatova et al., 2013) и 0,4% больных РЯ и 0,5% РМЖ из России (Hellebrand et al., 2011). Мутация с.509_510delGA/*PALB2* способствовала развитию наследственных форм РМЖ/РЯ, но отсутствовала у пациентов в общей выборке РМЖ/РЯ, в то время как мутация с.172_175delTTGT/*PALB2* была идентифицирована как у пациентов в общей выборке РМЖ/РЯ, так и в группе пациенток сотягощенным семейным анамнезом (Prokofyeva et al., 2012). В польской популяции мутация с.509_510delGA/*PALB2* достоверно чаще встречалась в группе больных РЯ (0,38%), по сравнению с контрольной группой (0,06%). Тогда как частота патогенного варианта с.172_175delTTGT оказалась примерно одинаковой в обеих группах (Janatova et al., 2013).

Ген *ATM* (ATM serine/threonine kinase) расположен в локусе 11q22-23 и кодирует серин / треониновую протеинкиназу, играющую центральную роль в качестве активатора каскада реакций в ответ повреждение ДНК после двухцепочечных разрывов ДНК и функционирующую как регулятор широкого спектра белков, включая белки-супрессоры опухолевого роста p53, CHEK2 и BRCA1 (Ambrose et al., 2013). Патогенные варианты в гене *ATM* распознаются в 0,64–2,3% случаев больных с наследственными формами РЯ (Suspitsin et al., 2009; Neto et al., 2015; Krivokuca et al., 2019). В ряде исследований «случай-контроль» было установлено, что патогенные варианты в гене *ATM* могут быть связаны с умеренным риском развития семейных случаев РЯ, примерно в 2 раза превышающим популяционный (Thorstenson et al., 2003; Podralska et al., 2014; Southey et al., 2016; Koczkowska et al., 2018). Важно отметить, что связь патогенных вариантов гена *ATM* с развитием РЯ не зависит от наличия в личном или семейном анамнезе пациенток случаев заболевания РМЖ (Koczkowska et al., 2018). В настоящее время идентифицировано более 300 изменений в нуклеотидной последовательности гена *ATM*, большую часть которых составляют нонсенс мутации и мутации сайта сплайсинга (Jerzak et al., 2018). Однако спектр изменений у больных РЯ изучен недостаточно.

Результаты недавних исследований показывают, что после *BRCA1/2* гены *RAD51C* и *RAD51D* могут быть наиболее важными генами предрасположенности к НРЯ (Koczkowska et al., 2018; Suszynska et al., 2019; Felicio et al., 2021). В совокупности герминальные мутации в этих генах составляют ~ 1% случаев РЯ (Suszynska et al., 2019). Интересно отметить, что в отличие от других генов-кандидатов наследственных форм РМЖ и РЯ, таких как *BRCA1/2*, *TP53*, *PTEN*, *NBN* и др., гены *RAD51C* и *RAD51D*, по-видимому, являются генами предрасположенности к наследственным формам РЯ, но не РМЖ (Koczkowska et al., 2018; Suszynska et al., 2019). Белковые продукты генов *RAD51C* и *RAD51D* входят в семейство RAD51, которое также включает

паралоги RAD51, RAD51B, XRCC2 и XRCC3. Белки RAD51 участвуют в процессе репарации двухцепочечных разрывов (DSB) посредством гомологичной рекомбинации, функционируя как хранители генома. Избыточная экспрессия или потеря их функций приводит к геномной нестабильности (Rein et al., 2021). Первое исследование гена *RAD51C* в качестве гена-кандидата РЯ и РМЖ было проведено Meindl et al. в 2010 году (Meindl et al., 2010). Тогда было показано, что герминальные патогенные мутации в этом гене, выявленные у 1,3% семей с наследственным синдромом РМЖ и РЯ, предрасполагают к РЯ, но не связаны с РМЖ. Спустя год в своей работе Loveday с коллегами показали, что герминальные мутации в гене *RAD51D* в шесть раз увеличивают риск развития РЯ в семьях с отягощенным анамнезом РМЖ и РЯ (OR= 6,3; 95%CI: 2.86-13.85; P=4.8×10⁻⁶), тогда как связь с РМЖ оказалась статистически незначимой (Loveday et al., 2014). С тех пор роль паралогов *RAD51C* и *RAD51D* в качестве генов предрасположенности к НРЯ была неоднократно доказана в ряде исследований (Thompson et al., 2013; Coulet et al., 2013; Tung et al., 2016). Вероятность развития РЯ у носителей патогенных изменений в генах *RAD51C* и *RAD51D* к 80 годам составляет 11% и 13%, соответственно (Yang et al., 2020). Согласно данным метаанализа, проведенном M.Suszynska с коллегами на основе объединенных данных из 63 исследований, частота патогенных вариантов в генах *RAD51C* и *RAD51D* среди больных РЯ составила 0,62% и 0,41%, соответственно. При сравнении частот встречаемости патогенных вариантов среди пациенток с РЯ и контроля было установлено, что относительный риск развития заболевания был более чем в пять раз выше у носительниц мутаций в гене *RAD51C* (OR = 5,59, 95% CI 4,42–7,07; p <0,0001) и практически в 7 раз – у пациенток с патогенными изменениями в гене *RAD51D* (Suszynska et al., 2019). Ранее Castéra L. с коллегами был проведен поиск патогенных вариантов в 34 генах-кандидатах РМЖ и РЯ в выборке, включающей более 5 тысяч женщин с наследственными формами РМЖ и/или РЯ. При этом частота патогенных

вариантов в генах *RAD51C* и *RAD51D* составила, соответственно, 0.53% и 0.22%, а наличие этих изменений было ассоциировано с 4-кратным и 5-кратным повышением риска развития наследственных форм РМЖ/РЯ. Интересно отметить, что исследователями не было выявлено ассоциаций патогенных вариантов в анализируемых генах с риском развития РМЖ без семейной истории РЯ, и напротив была обнаружена сильная взаимосвязь при рассмотрении семей только с РЯ (Castéra et al., 2018). Данные результаты свидетельствуют в пользу того, что гены *RAD51C* и *RAD51D* являются генами восприимчивости к РЯ, но не к РМЖ. В гене *RAD51C* известно несколько мутаций с эффектом основателя, ассоциированных с РЯ. Две повторяющиеся мутации с.93delG и с.837+1G>A были идентифицированы в финской популяции у пациентов, страдающих РМЖ и/или РЯ. Анализ гаплотипов подтвердил их общее происхождение. Оба варианта показали сильную связь с РЯ, а также с РМЖ в контексте семейного анамнеза РЯ (Pelttari et al., 2012). Еще одна мутация сайта сплайсинга с.571+4A>G с эффектом основателя была обнаружена у пациенток с РМЖ и РЯ из Ньюфаундлена (Канада) (Dawson et al., 2020). Сообщения о патогенном варианте с.774delT/*RAD51C* с эффектом основателя также были отмечены в шведской популяции (Vuorela et al., 2011). Среди обнаруженных мутаций была выявлена одна мутация с эффектом основателя с.576 + 1G> A/ *RAD51D*, характерная для финской популяции. Ранее эта мутация была обнаружена у 2,9% пациентов с семейным анамнезом РМЖ/РЯ из Финляндии и по результатам исследования случай-контроль охарактеризована как мутация высокого риска РЯ (Yang et al., 2020).

BRIP1, также известный как белок группы J анемии Фанкони (FANCI) или связанная с BRCA1 С-концевая геликаза (BACH1), был впервые идентифицирован с помощью тандемной масс-спектрометрии по его физическому взаимодействию с белком BRCA1 (Rutter et al., 2003). В комплексе с BRCA1 BRIP1 участвует в подавлении роста опухолей и репарации двухцепочечных разрывов ДНК (DSB) во время G2-M фазы

клеточного цикла (Cantor et al., 2011). Ген *BRIP1* экспрессируется как в нормальных, так и в злокачественных клетках и контролирует целостность генома посредством регуляции процессов репликации и гомологичной рекомбинации (London et al., 2008). Герминальные мутации в гене *BRIP1* являются наиболее часто обнаруживаемыми изменениями при раке яичников после мутаций в генах *BRCA1/2* и встречаются примерно в 0,6–0,9% случаев эпителиального РЯ. Предполагаемый кумулятивный риск развития рака яичников у носителей мутаций в гене *BRIP1* к 80 годам составляет примерно 5,8 % (Voutsadakis et al., 2020). По данным недавно проведенного метаанализа, основанном на сравнении ~ 29 400 пациентов с раком яичников без учета семейной истории из 63 исследований и ~ 116 000 контрольных пациентов из базы данных gnomAD, частота патогенных мутаций в гене *BRIP1* составила 0,89 %, а риск развития РЯ у носителей этих изменений был повышен практически в пять раз (Suszynska et al., 2020). Однако риск может быть значительно выше при наличии родственников, страдающих РМЖ и/или РЯ. Согласно Weber-Lassalle, мутации, приводящие к потере функции белка BRIP1, связаны с 20-кратным повышением риска развития РЯ у пациенток с отягощенным семейным анамнезом. Интересно отметить, что частота встречаемости патогенных мутаций в данном гене среди пациенток исключительно с семейной историей РМЖ оказалась близкой к таковой в контрольной группе. Тогда как среди женщин с РМЖ, имевших в анамнезе случаи РЯ, распространенность мутаций в гене *BRIP1* была достоверно выше, чем в контроле (Weber-Lassalle et al., 2018).

В недавнем исследовании 14 генов пути АФ (*FANCA*, *FANCB*, *FANCC*, *FANCD2*, *FANCE*, *FANCF*, *FANCG/XRCC9*, *FANCI*, *FANCL/PHF9*, *FANCM*, *FANCP/SLX4*, *FANCQ/ERCC4*, *FANCR/RAD51* и *FANCU/XRCC2*) были изучены на предмет наличия патогенных мутаций в выборке больных с наследственными формами РЯ (n=1021) и в группе контроля. В результате достоверные ассоциации с риском развития наследственного РМЖ и РЯ были

выявлены лишь для гена *FANCA* (Castaneda et al., 2019). В более раннем исследовании, проведенном Dicks с соавторами, ученые установили, что патогенные варианты в гене *FANCM* способствуют развитию серозного РЯ высокой степени злокачественности ($p=0,008$), но, по-видимому, не связаны с развитием других гистотипов РЯ (Dicks et al., 2017). Подобное исследование было проведено Song H. с соавторами. Ученые провели поиск ассоциаций патогенных вариантов в 54 генах-кандидатах РЯ, в том числе 9 генов пути АФ (*PALB2*, *FANCA*, *FANCB*, *FANCC*, *FANCD2*, *FANCE*, *FANCG*, *FANCI* и *FANCL*), с развитием РЯ высокой степени злокачественности, однако статистически достоверная связь была показана лишь для гена *PALB2* (Song et al., 2021).

Таким образом, спектр молекулярных изменений при РЯ включает герминальные мутации различной степени пенетрантности в генах, принимающих участие в поддержании геномной стабильности.

1.4 Роль генов эксцизионной репарации в патогенезе рака яичников

Эксцизионная репарация нуклеотидов (NER) является одним из основных механизмов репарации ДНК, который осуществляет удаление различных объемных повреждений, дестабилизирующих двойную спираль ДНК, включая УФ-индуцированные пиримидиновые димеры, окислительные и алкильные повреждения и замещает их вновь синтезированным сегментом. NER представляет собой многоэтапный процесс с участием нескольких белков, таких как ERCC1, ERCC2, ERCC3, ERCC4, PCNA, RPA, XPA и др. У эукариот различают два механизма эксцизионной репарации нуклеотидов: репарация, связанная с транскрипцией (TC-NER) и глобальная геномная репарация (GG-NER). GG-NER осуществляет поиск и восстановление повреждённых участков ДНК по всему геному, включая нетранскрибируемые области, и инициируется комплексом, состоящим из трех белков: фактором С

пигментной ксеродермы (XPC), RAD23B и центрином 2 (CETN2), в некоторых случаях с помощью UV-DDB (УФ-поврежденный ДНК-связывающий белок). Тогда как TC-NER отвечает за ускоренную репарацию матричной цепи ДНК только активно транскрибируемых генов и инициируется самой РНК-полимеразой II. Сталкиваясь с препятствием в виде пиримидин-пиримидиновых фотопродуктов или циклобутанпиримидиновых димеров, фермент останавливает движение по матрице ДНК, что приводит к остановке транскрипции и рекрутированию белков CSB, CSA, и UVSSA к месту повреждения ДНК. Дальнейший процесс восстановления нативной структуры ДНК реализуется по одному механизму. К месту повреждения рекрутируются транскрипционный фактор TFIIH и белки XPA и RPA. TFIIH представляет собой сложный комплекс, в состав которого помимо прочих субъединиц входят две АТФ-зависимые геликазы XPB (ERCC3) и XPD (ERCC2), осуществляющие раскручивание и стабилизацию спирали ДНК вокруг поврежденного участка. Тогда как белки XPA и RPA играют решающую роль в окончательной сборке преинцизионного комплекса, включающего структурно-специфические эндонуклеазы XPG (ERCC5) и XPF-ERCC1, а также необходим для координации событий эксцизии и репаративного синтеза. На следующем этапе эндонуклеазы XPF/ERCC1 и XPG последовательно вносят надрезы на расстоянии нескольких нуклеотидов от поврежденного участка, оставляя свободные 3'-гидроксильную группу и 5'-фосфат, соответственно. В пролиферирующих клетках вырезанный фрагмент замещается за счет синтеза новой цепи ДНК-полимеразой ϵ и сшивается ДНК-лигазой I, в то время как в непролиферирующих клетках эти функции выполняют полимеразы δ/κ и комплекс XRCC1-ligase3. Эти этапы также требуют присутствия гетеротримерного белка PCNA (ядерный антиген пролиферирующих клеток) и белка RFC (фактор репликации C) (Zhang et al., 2022) (рисунок 7).

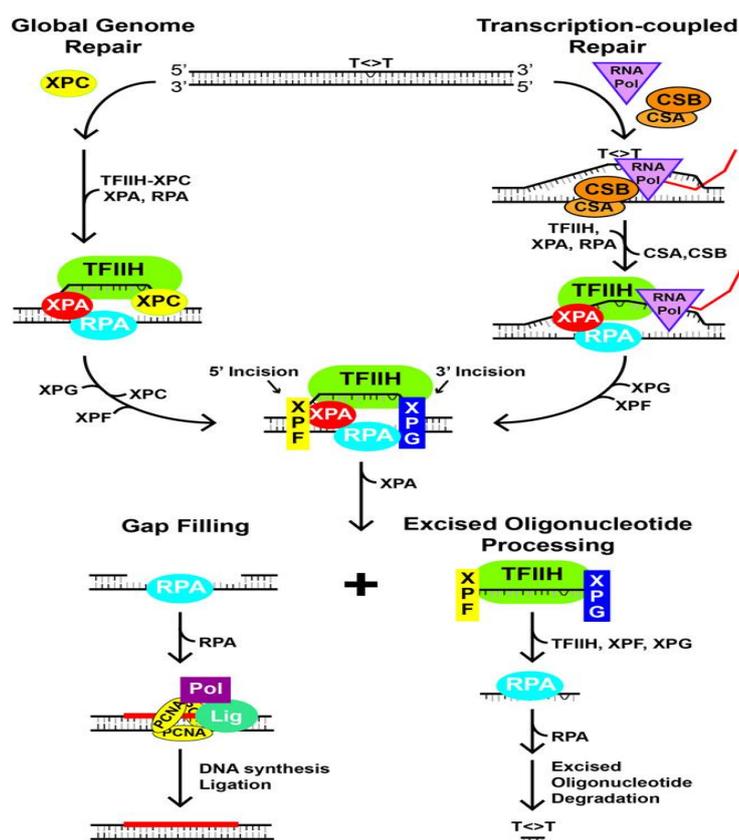


Рисунок 7 – Схема путей эксцизионной репарации нуклеотидов у эукариот (Kemp et al., 2017)

Молекулярные дефекты в генах, участвующих в механизме NER, связаны с рядом наследственных заболеваний с различными фенотипами, включая пигментную ксеродерму (ПК), синдром Коккейна (СК) и синдром чувствительности к ультрафиолету (УФ-ЧС) (Cleaver et al., 2009). Пациенты с ПК характеризуются высоким риском развития рака кожи (Voulikas et al., 1996), в то время как больные СК страдают выраженной задержкой роста, прогерией и фотосенсибилизацией (Hanawalt et al., 2000). Напротив, УФ-ЧС сопровождается лишь повышенной чувствительностью кожи к УФ-излучению (Zhang et al., 2012).

Преыдущие исследования показали, что полиморфные варианты генов пути NER связаны с риском различных типов злокачественных опухолей, таких как рак легких (Zienolddiny et al., 2006), РМЖ (He et al., 2016), колоректальный рак (Salimzadeh et al., 2020), рак желудка (He et al., 2018), рак

предстательной железы (Wang et al., 2017), а также РЯ (Romanowicz et al., 2017).

Zhao Z. с коллегами провели генотипирование 17 полиморфных локусов основных генов пути NER (*XPA*, *XPC*, *XPG*, *ERCC1*, *ERCC2* и *ERCC4*) и установили связь полиморфных вариантов rs11615/*ERCC1*, rs2228000/*XPC*, rs2228001/*XPC* и rs238406/*ERCC2* и rs3212986/*ERCC1* с риском развития РЯ у женщин из Китая. Однако исследование было ограничено небольшим объемом выборки (Zhao et al., 2018). Позже метаанализ, проведенный Yang F., подтвердил наличие ассоциации варианта rs3212986/*ERCC1* с риском развития РЯ (Yang et al., 2019). Ряд исследователей также обнаружили ассоциацию аллеля rs13181*С гена *ERCC2* с повышенным риском развития РЯ в различных популяциях (Michalska et al., 2015; Li et al., 2017).

Ранее сообщалось, что дефекты в генах системы NER определяют чувствительность к препаратам на основе платины в клетках рака яичников *in vitro* (Patch et al., 2015). Сeccaldi R. с коллегами установили, что носительницы функционально значимых изменений генов NER, страдающих серозным ЭРЯ высокой степени злокачественности, имели лучшие показатели общей выживаемости и выживаемости без прогрессирования по сравнению с пациентками с интактной системой NER. Авторы отмечают, что выживаемость пациенток с опухолями, содержащими дефекты в генах пути NER, была аналогична выживаемости пациенток с BRCA-дефицитными опухолями. Таким образом, эффект от потери ключевых белков NER может быть сопоставим с дисфункцией белков BRCA1/2 (Сeccaldi et al., 2015). В результате метаанализа, проведенного Wu J. с соавторами, было установлено, что низкий уровень экспрессии белка *ERCC1* у пациенток с РЯ коррелировал с большей чувствительностью к платиновой химиотерапии (Wu et al., 2020).

Напротив, активация системы NER опосредует резистентность клеток к терапии на основе цисплатина. В своей работе Ishibashi M. с соавторами сообщили, что XPC-опосредованная активация системы NER в клеточной

линии OvC приводила к снижению восприимчивости опухолевых клеток яичника к цисплатин-индуцированной гибели (Ishibashi et al., 2018).

Согласно ряду исследований некоторые полиморфные варианты генов *NER* также могут формировать повышенную или пониженную чувствительность опухолевых клеток яичников к платиновой химиотерапии. Так, в результате недавно проведенного метаанализа, ученые обнаружили, что носители аллеля С полиморфного локуса *rs11615* гена *ERCC1* более чувствительны к химиотерапии на основе платины, чем носители аллеля Т в азиатской популяции (Zhang et al., 2021). Эти данные согласуются с результатами Вао Y., опубликованными годом ранее. Авторы установили, что одновременное носительство гомозиготных по минорному аллелю генотипов полиморфных вариантов *rs11615* и *rs3212986* гена *ERCC1* связано с резистентностью к цисплатину у китайских пациентов с ЭРЯ (Wao et al., 2020).

1.5 Технологии NGS в исследовании патогенеза рака яичников

За последнее десятилетие технология NGS заняла прочное место как в научно-исследовательской деятельности, так и в клинической практике. Благодаря высокой пропускной способности, позволяющей за короткий промежуток времени проводить массовое параллельное секвенирование миллионов последовательностей ДНК или РНК, эта технология нашла свое применение для решения различного рода задач таких как изучение последовательности интересующих областей генома, обнаружение новых вариантов РНК и сайтов сплайсинга, количественная оценка экспрессии мРНК, анализ эпигенетических факторов, таких как метилирование ДНК генома или взаимодействие между белком и ДНК, изучение редких соматических мутаций, опухолевых субклонов, изучение разнообразия микробиома и многое другое.

В клинических лабораториях NGS стал незаменимым инструментом для исследования молекулярных маркеров при анализе разновидностей злокачественных новообразований и широко используется в диагностике, прогнозе и выборе наиболее подходящего лечения (Kamps et al., 2017).

В настоящее время использование мультигенных панелей, позволяющих изучать интересующие подмножества генов, либо специфические области генома, является наиболее часто используемым методом секвенирования в клинических приложениях. Такой подход имеет ряд преимуществ, главными из которых считаются оптимальное качество секвенирования (глубина чтения и охват), экономическая эффективность и короткие сроки выполнения анализа. При этом исследователь может варьировать количество анализируемых генов и образцов в зависимости от целей и дизайна эксперимента. Согласно рекомендациями Европейского общества медицинской онкологии (ESMO), применение мультигенных панелей целесообразно при таких онкопатологиях как холангиокарцинома, рак предстательной железы, немелкоклеточный рак легкого, а также РЯ и РМЖ (Mosele et al., 2020).

Одним из наиболее масштабных исследований генов предрасположенности к РЯ с использованием мультигенной панели является работа Lilyquist J. Ученые оценивали частоту патогенных/вероятно патогенных вариантов 19 генов-кандидатов РЯ среди 7768 пациенток с раком яичников и 25,000 здоровых женщин европейского происхождения. В результате исследования было установлено, что мутации в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *MSH2*, *MSH6*, *RAD51C* и *RAD51D* связаны с высоким риском развития РЯ, а патогенные варианты в гене *ATM* – с умеренным риском развития заболевания (Lilyquist et al., 2017).

Позднее Castéra L. с коллегами провели аналогичное по дизайну исследование, в котором образцы ДНК 5131 пациентки с семейной историей РЯ и/или РМЖ были проанализированы на расширенной панели, включающей

34 гена предрасположенности к РЯ/ПМЖ. Ученые пришли к выводу, что патогенные варианты в генах *RAD51C*, *RAD51D* и *BRIP1* были связаны с семейным анамнезом РЯ, тогда как мутации в генах *PALB2* и *BARD1* обуславливали риск развития ПМЖ (Castéra et al., 2018).

В клинической практике таргетное NGS секвенирование также широко применяется для ретроспективного анализа выживаемости пациенток с патогенными вариантами в генах-предрасположенности к РЯ. Так в недавно опубликованной работе Yao Q. китайские ученые провели скрининг 273 образцов ДНК, выделенных из опухолевой ткани больных ЭРЯ на мультигенной панели, включающей 13 генов, вовлеченных в процесс HRR (*BRCA1*, *BRCA2*, *ATM*, *BRIP1*, *PALB2*, *RAD51C*, *BARD1*, *CHEK1*, *CHEK2*, *RAD51B*, *RAD51D*, *RAD54L*, *FANCI*), а также 8 других генов-кандидатов РЯ (*ATR*, *EMSY*, *FAM175A*, *FANCA*, *MRE11A*, *NBN*, *PTEN*, *RAD50*). В результате биоинформатического анализа патогенные варианты в 9 генах пути HRR (*BRCA1*, *BRCA2*, *ATM*, *BRIP1*, *CHEK2*, *FANCI*, *RAD51C*, *RAD51D* и *RAD54L*) были выявлены у 34,1% пациенток. Проведенный анализ выживаемости показал, что пациентки с мутациями в гене *BRCA1* имели лучшие показатели безрецидивной выживаемости по сравнению с пациентками с интактным геном *BRCA1*, тогда как носители мутаций в других генах пути HRR характеризовались худшими показателями безрецидивной выживаемости по сравнению с пациентками, у которых не было обнаружено патогенных вариантов при секвенировании (Yao et al., 2022). Garziera M. в своей работе применили технологию таргетного NGS-секвенирования для оценки молекулярного профиля опухолей больных РЯ на поздних стадиях заболевания с целью выявления генетических маркеров, предсказывающих резистентность к платиновой химиотерапии и прогноз заболевания. Поиск соматических мутаций в 79 образцах опухолевой ткани яичников был проведен с использованием панели из 26 генов, ассоциированных с раком (*AKT*, *ALK*, *APC*, *BRAF*, *CDH1*, *CTNNB1*, *EGFR*, *ERBB2*, *FBXW7*, *FGFR2*,

FOXL2, GNAQ, GNAS, KIT, KRAS, MAP2K1, MET, MSH6, NRAS, PDGFRA, PIK3CA, PTEN, SMAD4, SRC, STK11, TP53). В результате 81 соматическая мутация была идентифицирована в 64 (81%) образцах опухолевой ткани. При этом в 72,1% образцов были выявлены дефекты в гене *TP53*, значительно реже встречались мутации в генах *KRAS* (8,9%), *FBXW7* (3,8%), *PTEN* (3,8%), *PIK3CA* (3,8%), *APC* (1,3%), *GNAS* (1,3%) и *BRAF* (1,3%). Последующий анализ выживаемости показал, что носители одновременно двух соматических мутаций имели более короткие периоды общей выживаемости, а также бесплатинового и безрецидивного интервалов. Кроме того, носительницы двух соматических изменений значительно чаще встречались среди пациенток с платинорезистентным РЯ (Garziera et al., 2019).

Таким образом, таргетное NGS-секвенирование представляет собой весьма удобный и эффективный инструмент для исследования молекулярных основ злокачественных новообразований яичников и имеет важное значение для перехода к персонализированной медицине.

1.6 Машинное обучение в прогнозировании риска развития РЯ

Ранняя диагностика и выбор эффективного метода лечения являются ключевыми факторами, во многом определяющими исход заболевания. Данные проблемы особенно остро стоят у больных злокачественными новообразованиями, которые плохо диагностируются на начальных этапах развития патологии, а результаты лечения на поздних стадиях заболевания остаются неудовлетворительными. По этой причине разработка моделей, способных с высокой точностью предсказывать риск и прогноз заболевания является актуальной задачей, стоящей перед современными исследователями и клиницистами.

С развитием молекулярных и компьютерных технологий, предоставляющих большой объем биомедицинских данных, все большую

популярность приобретают методы анализа, основанные на алгоритмах машинного обучения. Данная методика позволяет проводить интегрированный анализ информации из разных областей исследований включая геномику, протеомику, метаболомику и транскриптомику с получением общей картины устройства биологической системы. Такой подход оказался особенно полезным в исследовании процессов канцерогенеза, поскольку изменения в генетическом аппарате трансформированной клетки влекут за собой перестройку сигнальных путей и ее системы взаимодействия с окружающей средой, что в свою очередь отражается на течении болезни и ответе на терапевтические вмешательства (Bera et al., 2019; Quazi et al., 2022).

Использование машинного обучения уже позволило добиться определенных успехов в диагностике некоторых онкологических заболеваний, в том числе РЯ. Так Elias K. M. с коллегами объединили NGS-анализ сывороточной микроРНК с методами машинного обучения и разработали алгоритм, позволяющий диагностировать ЭРЯ на основе семи маркеров микроРНК (миР-29а-3р, миР-92а-3р, миР-200с-3р, миР-320с, миР-335-5р, миР-450b-5р и миР-1307-5р) с точностью до 90%. При этом модель одинаково эффективно различала больных РЯ независимо от возраста пациентки, а также гистотипа опухоли и стадии опухолевого процесса (Elias et al., 2017). Аналогичное исследование было проведено Kandimalla R с коллегами. На первом этапе ученые выполнили секвенирование микроРНК в образцах нормальной и опухолевой ткани пациенток с серозным РЯ высокой степени злокачественности на I стадии и идентифицировали восемь микроРНК (миР-182, миР-183, миР-202, миР-205, миР-508, миР-509, миР-513b и миР-513c), которые были дифференциально экспрессированы в нормальной и опухолевой ткани. Для оценки потенциального использования полученной панели маркеров микроРНК в качестве неинвазивного диагностического теста, авторы применили множественную логистическую регрессию для обучения модели на наборе данных секвенирования РНК из 640 образцов сыворотки с

последующей валидацией модели на трех независимых ретроспективных и одном проспективном наборе данных RNA-seq, достигнув значений AUC в диапазоне от 0,82 до 0,92 (Kandimalla et al., 2021). В недавно опубликованной работе Gyllensten U. с коллегами применили технологию высокоточного анализа белков плазмы (Explore PEA) в сочетании с многофакторным моделированием для идентификации высокочувствительных маркеров ранней диагностики ЭРЯ. Итоговая панель, состоящая из 11 белков плазмы (ALPP, CXCL8, DPY30, IL6, IL12, KRT19, PAEP, TSPAN1, SIGLEC5, VTCN1, и WFDC2), позволила различить ранние (I-II) и поздние (III-IV) стадии серозного РЯ высокой степени злокачественности с чувствительностью 81% и специфичностью 75% при тестировании на независимой выборке пациенток. Кроме того, разработанная учеными модель показала многообещающий диагностический потенциал, различая здоровых женщин и пациенток с РЯ (I–IV стадии) с чувствительностью 75% и специфичностью 100% (Gyllensten et al., 2022).

Модели на основе алгоритмов машинного обучения также хорошо показали себя в предсказании ответа после химиотерапии у пациенток с карциномой яичников. Lu T. P. с коллегами использовали алгоритм опорных векторов для разработки модели, прогнозирующую ответ на химиотерапию с использованием набора данных экспрессии генов в 25 клеточных линиях рака яичников, доступных в энциклопедии линий раковых клеток (CCLE). В качестве маркеров учеными была отобрана комбинация из 10 генов (*RHGEF26*, *CP*, *DIO3*, *DPEP2*, *EPS15L1*, *LIPC*, *LRRC32*, *PPT2*, *PRIM2*, *UBE2O*), показавшая точность 100% при классификации тренировочных данных на три группы с «высоким», «средним» и «низким» ответом на терапию. Валидация разработанной модели на трех независимых наборах данных реальных пациентов, показала, что пациентки, стратифицированные моделью как группа с «высоким» ответом имели более длительную

безрецидивную и общую выживаемость во всех наборах данных (Lu et al., 2019).

Еще одной областью применения машинного обучения в практической онкологии является построение прогностических моделей выживаемости. Японские ученые предложили метод регрессии опорных векторов (SVR) для создания прогностической модели на основе микроРНК, связанных с выживаемостью у пациенток с РЯ. Для этой цели авторы использовали данные экспрессии микроРНК и информацию о выживаемости 209 пациенток с РЯ из базы данных Атлас генома рака (TCGA). В результате ученые идентифицировали пять микроРНК (hsa-let-7f, hsa-miR-1237, hsa-miR-98, hsa-miR-933 и hsa-miR-889), которые были в значительной степени связаны с выживаемостью у пациенток с РЯ и обладали наилучшим прогностическим потенциалом. При этом точность прогнозирования полученной модели при сравнении реального и расчетного времени выживания составила 77% со средней абсолютной ошибкой $0,69 \pm 0,02$ года (Sathipati et al., 2021).

Таким образом, применение новейших технологий анализа в комплексе с алгоритмами на основе машинного обучения является многообещающим подходом для ранней диагностики, прогнозирования течения и персонализации лечения злокачественных новообразований яичников.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы исследования

В работе были использованы образцы ДНК женщин с верифицированным диагнозом «рак яичников» (n=313) и женщин без онкологических заболеваний на момент забора крови (n=317) из Республики Башкортостан. Забор периферической венозной крови проводился сотрудниками Республиканского клинического онкологического диспансера МЗ РБ (г. Уфы) и онкологического отделения Городской клинической больницы № 1 (г. Стерлитамак). От всех участников исследования было получено добровольное информированное согласие на проведение молекулярно-генетических исследований. Часть образцов ДНК были любезно предоставлены сотрудниками лаборатории молекулярной генетики человека Института биохимии и генетики УФИЦ РАН (ИБГ УФИЦ РАН). На данное исследование было получено разрешение этического комитета ИБГ УФИЦ РАН, а также со всех участников исследования собраны информированные согласия.

Данные о каждой участнице исследования, собранные путем анкетирования, объективного и физикальных методов обследования, были систематизированы и внесены в таблицу. Для оценки морфологических характеристик опухолевого материала применялась гистологическая классификация Международного противоракового союза (Kurman et al., 2016). Распространенность опухолевого поражения была оценена согласно TNM-классификации ЗНО.

2.1.1 Характеристика выборки пациенток с раком яичников для проведения таргетного NGS-секвенирования

Отбор пациенток для включения в исследование, направленного на таргетное NGS-секвенирование образцов ДНК, осуществлялся на основе оценки клинико-морфологических и гистологических характеристик, а также анкетирования с целью выявления лиц с подозрением на наследственный характер заболевания. Основанием для включения пациентки в исследование служило соответствие двум и более критериям: онкологическая отягощенность семейного анамнеза, возраст пациентки (<50 лет), развитие первично-множественных опухолей (полинеоплазий), низкодифференцированный серозный или недифференцированный РЯ (Любченко и др., 2014).

Таким образом, выборка для данного этапа исследования составила 48 женщин в возрасте от 19 до 74 лет (n=48) с признаками наследственного РЯ.

По возрастному составу исследуемая выборка неоднородна. Возрастное распределение исследуемой группы представлено на рисунке 8.

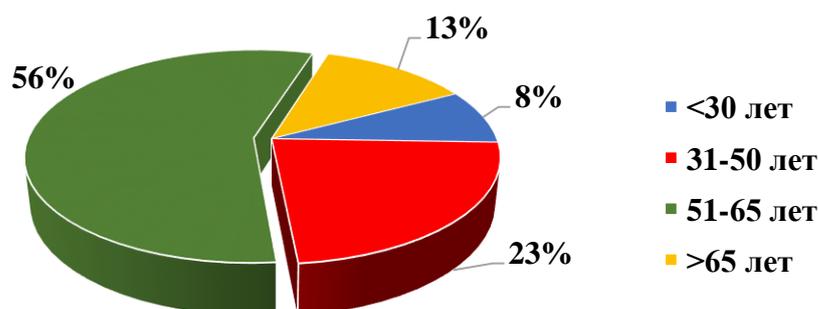


Рисунок 8 – Распределение исследованных пациенток по возрастным группам

Средний возраст манифестации заболевания составляет 53 года. Репродуктивная функция на момент постановки диагноза сохранена у 20,8% пациенток, в состоянии менопаузы – 79,2% больных.

I стадия РЯ была установлена у 15,4% пациенток, II – у 12,8%; III – у 69,2% и IV стадия – у 2,6% женщин с данным заболеванием (рисунок 9).

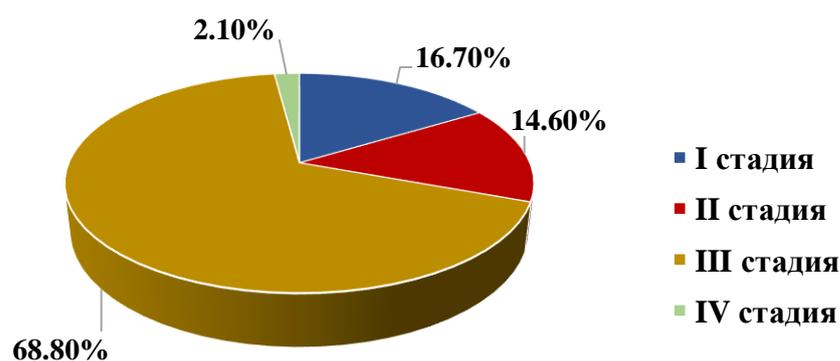


Рисунок 9 – Распределение исследованных пациенток по стадиям опухолевого процесса

В 95,1% случаев опухоли яичников исследуемых пациенток имели эпителиальное происхождение. Распределение участниц исследования по гистотипам РЯ было следующим: у 32/48 женщин обнаружены низко- и умеренно дифференцированные серозные аденокарциномы, у 5/48 – муцинозные, у 3/48 – недифференцированный РЯ, у 2/48 – неэпителиальный РЯ. Эндометриоидный, светлоклеточный, переходно-клеточный, смешанный РЯ, а также злокачественная опухоль Бреннера были обнаружены в единичном случае каждый (рисунок 10).



Рисунок 10 – Распределение исследованных пациенток по гистотипам опухолей

На рисунке 11 представлено распределение пациенток по степени дифференцировки опухолевых клеток. У 58,3% больных РЯ клетки опухоли были преимущественно низкой степени дифференцировки (G3-G4). Клетки с умеренной и высокой степенью дифференцировки (G2 и G1) выявлены у 21% и 2,1%, соответственно. У 18,6% женщин степень дифференцировки раковых клеток гистологически установить не удалось.

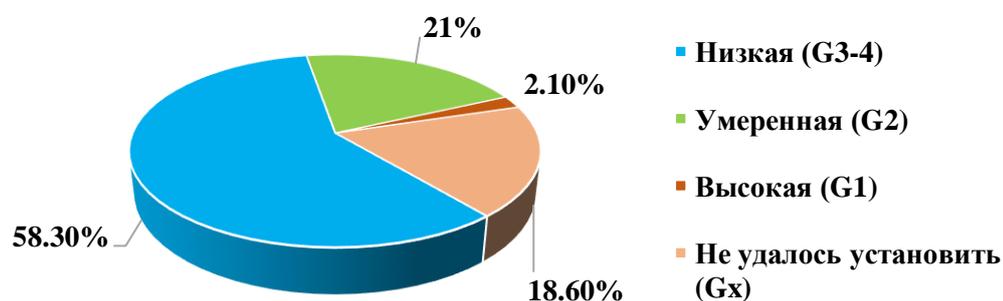


Рисунок 11 – Распределение пациенток по степени дифференцировки опухолевых клеток

Случаи полинеоплазии были зарегистрированы у 18,8% пациенток и 43,8% пациенток имели онкологическую отягощенность семейного анамнеза.

По этническому составу сформированная группа была распределена следующим образом: русские – 41,7%, татары – 41,7%, башкиры – 10,4%, метисы – 6,2% (рисунок 12).

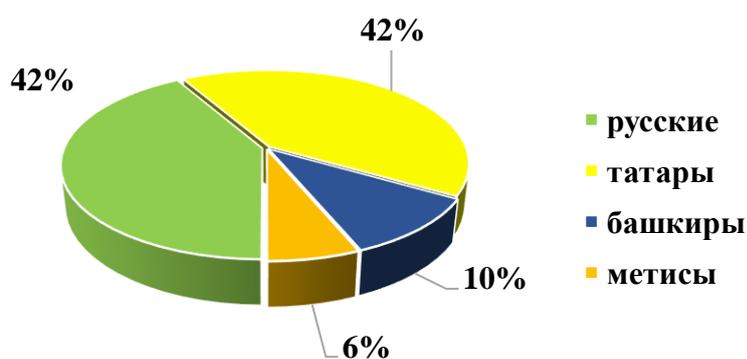


Рисунок 12 – Распределение исследованных пациенток по этнической принадлежности

2.1.2 Характеристика общей выборки пациенток с раком яичников и контроля

Общую выборку больных РЯ и контроля составили 313 женщин с верифицированным диагнозом «рак яичников» и 317 женщин без онкологических заболеваний на момент забора крови в возрасте 17-87 лет из Республики Башкортостан.

Возрастной состав группы больных РЯ был следующим: до 30 лет – 4%; от 31 до 50 лет – 40%; от 51 до 65 лет – 45,5%; старше 66 года – 10,5% (рисунок 13). Средний возраст манифестации заболевания составляет 54 года. Репродуктивная функция на момент постановки диагноза сохранена у 36,7% пациенток, в состоянии менопаузы – 63,3% больных.

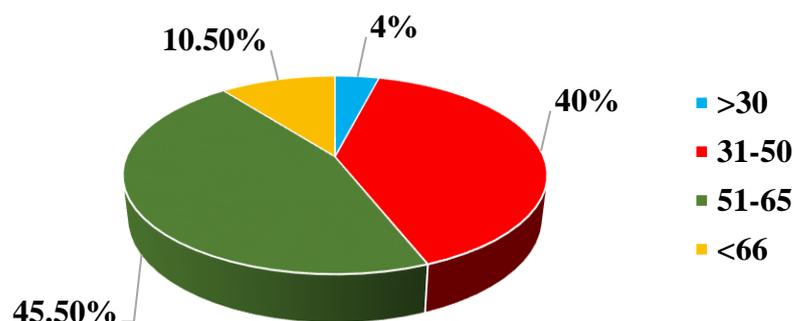


Рисунок 13 – Распределение общей выборки больных РЯ по возрастным группам

Случаи заболевания РЯ и/или РМЖ в семье обнаружены у 9,3% пациенток. Кроме того, в отдельную группу для исследования были включены пациентки, соответствующие критериям отбора пациенток с клиническими признаками НРЯ (n=94) (Любченко и др., 2014). Одностороннее поражение яичников выявлено у 41,4% пациенток, у 58,6% женщин были поражены оба яичника.

I стадия опухолевого процесса была установлена у 16,7% пациенток, II – у 27,9%; III – у 49,2% и IV стадия - у 6,2% женщин с данным заболеванием (рисунок 14).

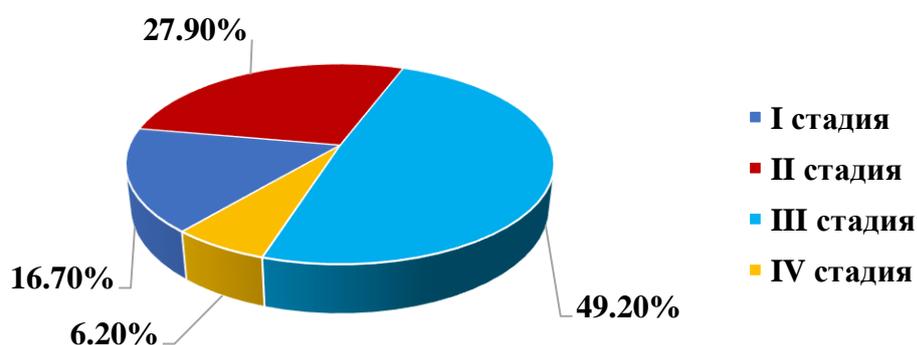


Рисунок 14 – Распределение больных РЯ по стадиям опухолевого процесса

У подавляющего большинства пациенток диагностирован эпителиальный рак яичников (88,2%). Среди них, у 71,8% женщин обнаружены серозные опухоли, у 7,4% – муцинозные опухоли, у 1,8% – светлоклеточные, 2,6%– недифференцированный РЯ и у 1,8% – эндометриоидные опухоли. Распределение больных РЯ по гистологическому типу опухоли яичников представлено на рисунке 15.



Рисунок 15 –Распределение больных РЯ по гистотипам опухолей

Для проведения ассоциативных исследований образцы ДНК женщин с неэпителиальным РЯ были исключены из общей выборки, таким образом выборка больных с эпителиальным РЯ составила 276 индивидов.

Высокая степень дифференцировки опухоли (G1-G2) была установлена 30% больных РЯ, низкая степень дифференцировки (G3-G4) – у 25,5% пациенток. Степень дифференцировки опухолевых клеток не установлена у 44,5% женщин.

По этнической принадлежности группа больных РЯ распределена следующим образом: русские – 47,5%, татары – 35,8%, украинцы – 3,9%, башкиры–5,3%, чувашаи – 2,1%, другие этнические группы – 1,8%, метисы – 3,5% (рисунок 16).

Контрольную группу составляют женщины в возрасте от 20 до 77 лет, средний возраст 46 лет. По этническому составу контрольная группа

соответствует группе больных РЯ: русские – 46,4%, татары – 29,3%, башкиры – 17,7%, чувашаи – 1,8%, украинцы – 1,2%, другие этнические группы – 1,2%, метисы – 2,4% (рисунок 16).

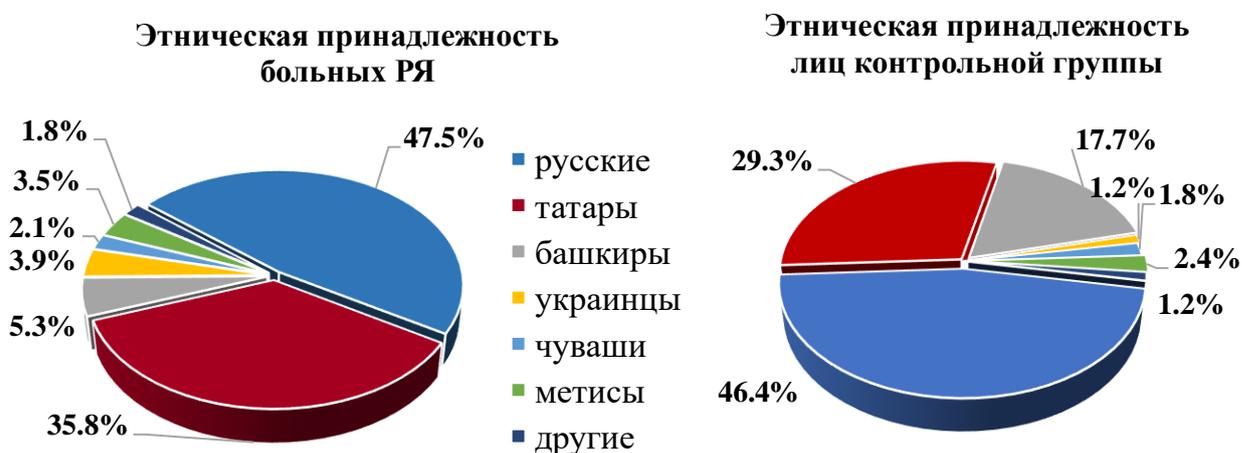


Рисунок 16 – Этнический состав группы больных РЯ и здоровых индивидов

2.2. Молекулярно-генетические методы исследования

2.2.1. Выделение ДНК из периферической венозной крови

Выделение ДНК из периферической венозной крови осуществляли методом фенольно-хлороформной экстракции по Мэтью (Mathew, 1984). Кровь набирали в пробирки с 0,5 М раствором ЭДТА в качестве консерванта, перемешивали и хранили в холодильнике при 4⁰С не более двух недель.

Для получения фракции клеточных ядер в фальконах смешивали 5-10 мл крови и 30 мл свежеприготовленного охлажденного лизирующего буфера на основе сахарозы, после чего полученную смесь подвергали центрифугированию в течение 20 мин при температуре 4⁰С и 4000 об./мин. После окончания программы надосадочную жидкость сливали, к осадку повторно добавляли 20 мл лизирующего буфера и центрифугировали при тех же условиях в течение 10 мин. К осадку добавляли 800 мкл буфера для протеиназы К (Soline ЭДТА), переносили в чистый эппендорф, после чего к смеси добавляли 80 мкл 10% SDS и 40 мкл протеиназы К (10мг/мл).

Эппендорфы с полученной смесью хорошо перемешивали и помещали в термостат, нагретый до 37⁰С на 12-16 часов.

Экстракцию ДНК проводили на следующий день в три этапа. На первом этапе к смеси добавляли 800 мкл забуференного фенола (200 мкл меркаптоэтанола на 50 мл фенола – Трис-НСI, рН 7,8), центрифугировали 10 мин при комнатной температуре и 10000 об./мин. После центрифугирования смесь разделялась на две фракции. Верхнюю фракцию переносили в новый эппендорф и добавляли к ней 800 мкл смеси фенола и хлороформ-изоамилового спирта в соотношении 1:1. Повторяли этап с центрифугированием после чего снова отбирали верхнюю фракцию в новый эппендорф и добавляли к нему 800 мкл хлороформ-изоамилового спирта. После центрифугирования верхнюю фазу переносили в стеклянную колбу и осаждали двумя объемами 96% этанола. Образовавшуюся «медузу» промывали 70% этанолом, подсушивали при комнатной температуре и растворяли в деионизированной воде. Выделенную ДНК хранили при температуре -20⁰С.

2.2.2 Проведение таргетного секвенирования на платформе Miseq

Поиск герминальных мутаций методом таргетного NGS-секвенирования проводили на платформе Illumina MiSeq согласно протоколу AmpliSeq. Кастомная панель содержала праймеры для синтеза 661 ампликона, покрывающих белок-кодирующую область 21 гена, включая UTR-регионы: *BRCA1*, *BRCA2*, *ATM*, *BRIP1*, *RAD51C*, *STK11*, *PALB2*, *CHEK2*, *EPCAM*, *MLH1*, *MRE11A*, *BARD1*, *MSH2*, *MSH6*, *MUTYH*, *NBN*, *PMS2*, *PTEN*, *RAD50*, *CDH1*, *TP53*.

Пробоподготовка

После процедуры выделения ДНК для всех опытных образцов (n=48) было определено качество полученной ДНК, измерены концентрация и

определены показатели соотношения примесей белков и ДНК, а также наличия остатков химических детергентов в растворе. Для определения степени фрагментированности полученных молекул ДНК все образцы были разбавлены и проверены с помощью электрофореза на 1,5% агарозном геле. Пригодными для анализа считались образцы ДНК, которые были представлены высокомолекулярной фракцией (примерно 10 килобаз) и не имели ярко выраженного «шлейфа». Измерение концентрации ДНК проводили с помощью флуориметрического метода на приборе QuantusPromega (США) с использованием наборов QuantiFluor ONE dsDNASystemPromega (США) согласно протоколу производителя.

При разведении ДНК до желаемой конечной концентрации использовали Low TE. Стандартный ввод составлял 10 нг высококачественной ДНК на пул.

Определение чистоты выделенной ДНК в исследуемых образцах проводили на спектрофотометре NanoDrop 2000 ThermoScientific (США) по показателям соотношения длин волн 260\280 и 260\230.

Аmplификация целевой ДНК

Для постановки ПЦР-реакции были приготовлены рабочие растворы ДНК и доведены до концентрации 10 нг\мкл.

На этом этапе проводилась ПЦР для амплификации целевых областей образцов ДНК. Протокол включал следующие шаги:

- добавление 20X AmpliSeqSample ID PanelforIllumina 9 (0,5 мкл) и 2X AmpliSeq DNA PanelPool 1 (5 мкл) для каждого из исследуемых образцов ДНК, с последующим пипетированием, перемешиванием и центрифугированием в эппендорфе объеме на 1,5 мл.

- перенос рабочей смеси из эппендорфов в ПЦР-плашку на 96 ячеек с добавлением по 5 мкл реакционной смеси мастер-микс в каждую ячейку и по

5 мкл 2X AmpliSeq DNA PanelPool 1 и 2X AmpliSeq DNA PanelPool 2 с последующим перемешиванием и центрифугированием.

- постановка готовой плашки в ДНК-амплификатор. Общий объем смеси – 10 мкл.

Схема ПЦР-реакции:

99°C – 2 мин	} 16 циклов
99°C – 15 сек	
60°C – 8 мин	
10°C – forever	

Частичная рестрикция ампликонов

На этом этапе происходит объединение пулов праймеров и ферментативное расщепление димеров праймеров и частичное расщепление ампликонов путем добавления реагента FuPa в каждую ячейку. Общий реакционный объем составляет 22 мкл.

Схема ПЦР реакции:

50°C – 10 мин
 55°C – 10 мин
 62°C – 10 мин
 10°C – до 60 мин

Отжиг индексов

Этот шаг связывает адаптеры Index 1 (i7) и Index 2 (i5) для каждой выборки. Индексы предварительно смешаны в одноразовой плашке для обеспечения уникальных комбинаций. Каждая библиотека должна иметь уникальную комбинацию индексов для двухиндексного секвенирования, включая библиотеки ДНК из одного и того же образца. Общий реакционный объем - 30 мкл.

Схема ПЦР реакции:

22°C – 30 мин

68°C – 5 мин

72°C – 5 мин

10°C до 24 часов

Очистка библиотек

На данном этапе провели очистку полученных библиотек с помощью магнитных частиц Agencourt AMPure XP путем добавления по 30 мкл к каждой смеси, содержащей библиотек. После непродолжительного перемешивания и центрифугирования инкубировали в течении 5 минут при комнатной температуре после чего плашка была поставлена на магнитный штатив. Отмывка осуществляется дважды по следующей схеме:

а Добавить 150 мкл свежеприготовленного 70% EtOH в каждую лунку.

б Инкубировать при комнатной температуре, пока раствор не станет прозрачным (~ 30 секунд).

с Не нарушая осадок, удалить супернатант.

Аmplификация библиотек

На данном этапе проводили повторную ПЦР с использованием набора AmpliSeqLibrary PLUS. Второй этап амплификации библиотеки необходим, чтобы обеспечить достаточное количество продукта для секвенирования на платформе Illumina. Реакция амплификации содержит шарики, которые перенесены с предыдущего этапа. Общий объем реакции 50 мкл.

Схема ПЦР-реакции:

98°C – 2 мин

98°C – 15 сек

64°C – 1 мин

10°C до 24 часов

} 7 циклов

Повторная очистка библиотек

Повторная очистка также проводилась с использованием магнитных частиц AgencourtAMPure XP и включала два раунда. Первый раунд - ДНК с высоким молекулярным весом захватывается шариками и удаляются. Библиотека и праймеры сохраняются в супернатанте и переносятся в новый эпендорф для второго раунда очистки. Второй раунд - библиотеки захватываются шариками, в то время как праймеры остаются в супернатанте. Библиотека захватывается с шариков элюирующим раствором. На первом этапе к 50 мкл библиотеки добавляют 25 мкл гранул AMPure XP. На втором этапе к супернатанту добавляется еще 60 мкл гранул AMPure XP. Отмывать два раза следующим образом:

а Добавить 150 мкл свежеприготовленного 70% EtOH в каждую лунку.

б Инкубировать при комнатной температуре, пока раствор не станет прозрачным (~ 30 секунд).

с Не нарушая осадок, удалить супернатант.

Растворить предварительно высушенный осадок в 30 мкл LowTE.

Проверка качества и концентрации полученных библиотек

Для оценки количества качества и полученных библиотек использовался прибор AgilentTechnologiesBioanalyzer 2100 и флуориметрQauntusPromega. Для оценки количества полученных библиотек использовался флуориметрQauntusPromega с набором QuantiFluor ONE dsDNASystemPromega согласно инструкции производителя. Все полученные библиотеки находились в диапазоне 2,4-22 нг\мкл.

Для оценки качества библиотек от каждого опытного образца брали по 1 мкл предварительно разбавленной библиотеки (до 500 пг\мкл) и добавляли компоненты набора HighSensitivity DNA KitAgilentTechnologies на чипы. Запуск проводили на приборе Bioanalyzer 2100 согласно инструкции

производителя. Качество полученных библиотек оценивали по характеру пиков и диапазону длин фрагментов ДНК в библиотеке.

Разведение библиотек до итоговой концентрации и запуск прибора

На данном этапе все приготовленные библиотеки были разведены до итоговой концентрации (7-9 пМ), необходимой для запуска на секвенаторе Illumina MiSeq с картриджем MiSeq Reagent Kit v3. Далее в каждую ячейку картриджа MiSeq Reagent Kit v3 были добавлены по 600 мкл. приготовленных библиотек. Далее проводили запуск прибора согласно инструкции.

2.2.3 Биоинформатическая обработка

Схематично процесс биоинформатической обработки данных NGS-секвенирования представлен на рисунке 17.

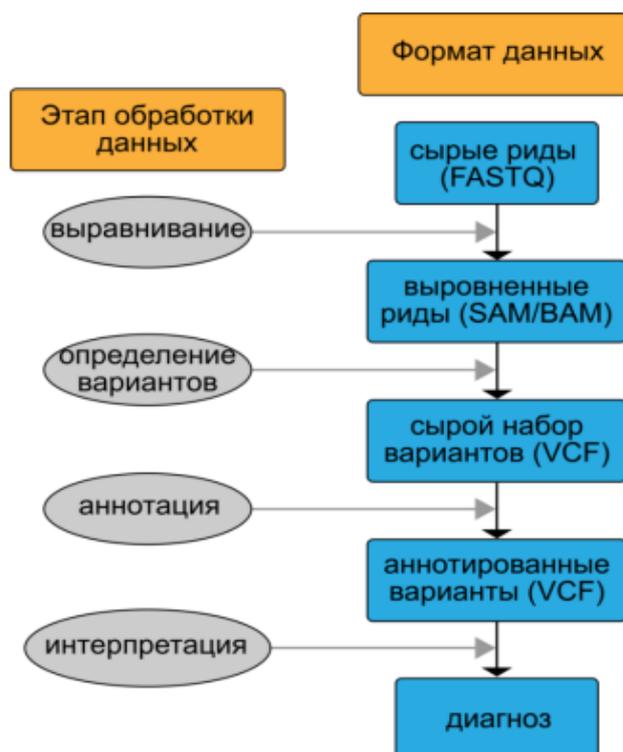


Рисунок 17 – Алгоритм биоинформатического анализа данных NGS-секвенирования (Глотов, 2023)

Первичная биоинформатическая обработка

На первом этапе была проведена автоматическая первичная обработка данных с последующей генерацией fastq-файлов в программе Local Run Manager (предварительно ПО прибора обновлено до версии 3.1). Данный этап представлял собой последовательные шаги:

1. Демультимплексирование индексов
2. Генерация файла FASTQ

Демультимплексирование сравнивает каждую последовательность прочтения индекса с последовательностями индекса, указанными для прогона. Считывания индекса определяли с помощью следующих шагов:

- 1) Образцы нумеровали начиная с 1 в порядке их перечисления для цикла.
- 2) Образец с порядковым номером 0 был зарезервирован для кластеров, которые не были присвоены конкретному образцу.
- 3) Кластеры присваивались образцу, когда последовательность индекса точно совпадала.

После демультимплексирования программное обеспечение сгенерировало промежуточные файлы анализа в формате FASTQ, которые представляют собой текстовый формат, используемый для представления последовательностей. Файлы FASTQ содержат риды для каждого образца и соответствующие показатели качества. Любые элементы управления, используемые для прогона, и кластеры, которые не прошли фильтрацию, исключались. Каждый файл FASTQ содержит риды только для одного образца, а имя этого образца включено в имя файла FASTQ. Файлы FASTQ являются основным input-файлом для выравнивания на референсный геном. На данном этапе для каждого опытного образца было сгенерировано по два .fastq файла. Далее все полученные файлы.fastq проверяли с помощью программы FastQS High ThroughputSequence QS Report для определения качества секвенирования.

Вторичная биоинформатическая обработка

В дальнейшем для каждого опытного образца (n=48) была проведена дополнительная оценка качества прочтения и вторичная обработка данных во многофункциональном онлайн сервисе Base Space Illumina (<https://basespace.illumina.com>) с использованием инструментов:

- DNA Amplicon (BaseSpace Workflow) ver. 2.1.1,
- DNA Amplicon Workflow ver. 3.24.1.10,
- BWA-MEM Whole-Genome (Aligner) ver.0.7.12-r1039,
- Pisces Variant Caller ver. 5.2.9.23,
- Illumina Annotation Engine ver. 2.0.11-0-g7fb24a09,
- Bam Metrics ver. 0.0.22,
- SAMtools ver.1.2

Для записи информации о качестве прочтения нуклеотида использовался параметр Phred.

Также с помощью пакета программ сервиса Base Space Illumina проводили выравнивание прочтений на референсный геном (генерация bam-файлов) и поиск вариантов отличия исследуемых образцов от референсного генома (генерация vcf-файлов). Коллинг вариантов позволил определить однонуклеотидные полиморфизмы (SNP), инсерции/делеции (Indels) и другие структурные варианты в стандартизированном формате вариантов вызова (VCF). Для каждого SNP или Indel вероятность ошибки предоставляется в качестве варианта оценки качества.

Для оценки качества выравнивания прочтения использовался параметр «MQ» (от англ. mapping quality).

Таким образом, после вторичного анализа для каждого исследуемого образца был получен индивидуальный резюмирующий файл, содержащий информацию о количестве прочтений, проценте оснований Q30, проценте покрытия генов, проценте выровненных ридов, уровень коллинга аутосомных вариантов, количестве выявленных SNV, делеций, инсерций относительно

референсного генома, указаны области генов в которых обнаружены изменения и т.д. Также для каждого образца получены файлы формата .vcf и .bam, содержащие полную информацию о всех выявленных изменениях в исследуемых генах. Данная информация использовалась для последующей аннотации вариантов и исследовательского анализа для оценки наличия патогенных мутаций и их частот встречаемости в анализируемых генах.

Аннотацию выявленных генетических вариантов проводили с использованием сервисов Illumina Variant Interpreter, ANNOVAR и SNPeff. Для оценки популяционных частот известных вариантов использовали данные из проектов «1000 геномов», ESP6500 и Exome Aggregation Consortium.

2.2.4 Исследовательский анализ

В ходе исследовательского анализа результатов таргетного секвенирования все выявленные изменения были оценены на функциональную значимость с помощью специализированных программ и общедоступных баз данных с целью последующего отбора вариантов, представляющих ценность в качестве потенциальных молекулярных маркеров исследуемого заболевания.

Для известных вариантов (имеющих индекс *rs*) клиническая значимость была определена с помощью базы данных ClinVar. Определение функциональной значимости неизвестных изменений включала следующие шаги: находится ли варибельная позиция в кодирующей последовательности, регуляторной области, в области некодирующей РНК и т.д. Если изменение обнаружено в кодирующей последовательности, то является ли она значимой, приводит ли к замене аминокислоты, влияет ли на рамку считывания и т.д. Для прогнозирования влияния обнаруженных миссенс вариантов на структуру и функцию белка были использованы ряд инструментов *in silico* таких как SIFT, PolyPhen-2, FATHMM, Mutation Assessor, MutTaster и CADD. Для оценки

функциональной значимости вариантов, находящихся в сайтах сплайсинга применялись инструменты dbscSNV и SpliceAlpred.

2.2.5 Определение нуклеотидной последовательности ДНК

Верификацию молекулярно-генетических изменений, выявленных в результате таргетного NGS-секвенирования, проводили методом секвенирования по Сэнгеру. Определение нуклеотидных последовательностей проводили на автоматическом секвенаторе Seq Studio Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

Первый этап включал постановку ПЦР-реакции в объеме 20 мкл. Для оценки качества полученного ПЦР-продукта 4 мкл амплификата наносили на гель и проводили проверочный гель-электрофорез. Очистку ПЦР-продуктов от димеров, избытка праймеров и dNTP проводили с использованием реагента PEG (полиэтиленгликоль). Для этого оставшийся ПЦР-продукт в объеме 16 мкл смешивали с 16 мкл PEG и после 10-минутной инкубации при комнатной температуре центрифугировали в течение 20 минут при 16100 об/мин при 4°C. Надосадочную жидкость осторожно удаляли, а к осадку добавляли 100 мкл 96% этанола, с последующим центрифугированием в течение 10 минут при 13000 об/мин. После спирт удаляли, осадок сушили при 50 °C в течение 5-10 минут и растворяли в 20 мкл воды.

Для проведения реакции секвенирования к 3,5–4,5 мкл очищенного ПЦР-продукта, добавляли 1,5 мкл праймера (прямого или обратного, 5 мкМ), 1,5 Big Dye (BigDye Terminator Kit v1.1) и 4,5 мкл воды.

Условия реакции были следующие:

денатурация	95°C – 5 мин	} 25 циклов
отжиг праймеров	50°C – 15 сек	
элонгация	60°C – 4мин	
денатурация	95°C – 30 сек	

После реакции секвенирования к полученному ПЦР-продукту добавляли 1/10 объема 3М ацетата натрия (NaCOOH) и 3х объем 96% этанола. Образцы встряхивали и центрифугировали в течение 30 мин при 13000 об/мин, 4°C. После центрифугирования супернатант удаляли, осадок промывали 300 мкл 70% этанола и снова центрифугировали в тех же условиях. После удаления спирта осадок сушили при 50 °С в течение 5-7 мин, растворяли в 11 мкл 95% формамида и оставляли на 5-10 мин в темном месте. Перед внесением образца в плашку секвенатора образцы денатурировали при температуре 95°C в течение 2-3 мин. Для «прочтения» хроматограммы использовали программу Sequencher (v. 5.0 GeneCode Corp).

2.2.6 Полимеразная цепная реакция синтеза ДНК

Для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) готовили реакционную смесь объемом 15-25 мкл. Состав реакционной смеси был следующий: 0,2 мМ смеси dNTP (dATP, dGTP, dCTP, dTTP), 2,5 мкл 10xTaq-буфера (67 мМтрис-НСl (рН 8,8), 16,6 мМ (NH₄)₂ SO₄, 2,5мМ MgCl₂, 0,01% Tween-20), 50 нг геномной ДНК, 1,0 ед. ДНК-полимеразы (Taq ДНК полимеразы от *Thermus aquaticus*) и 5-10 пМ локуспецифичных олигонуклеотидных праймеров. Амплификацию проводили в амплификаторе «T100» компании BioRad согласно схеме:

Предварительная денатурация	95°C – 5 мин	} 30-40 циклов
Отжиг праймеров	54-68°C – 1 мин	
Элонгация	72°C – 1 мин	
Денатурация	94°C – 1 мин	
Конечная элонгация	72°C – 5 мин	

Температура отжига, концентрация ионов магния и режим амплификации для каждого набора праймеров подбирались экспериментально.

2.2.7 Рестрикционный анализ

Анализ локусов с.1967_1969dupGTC/*BARD1*, с.1492G>A/*MRE11*, с.2149C>T/*ATM*, с.985G>A/*MUTYH*, с.5624A>C/*BRCA2*, с.3143delG/*BRCA1*, с.1480G>A/*MRE11*, с.1187G>A/*MUTYH*, с.2199delG/*BRCA1* проводили гидролизом амплифицированных фрагментов соответствующей эндонуклеазой рестрикции. Данные о рестрикционных локусах, названиях эндонуклеаз рестрикции и длины продуктов расщепления представлены в таблице 2.

Для проведения ПДРФ-анализа готовили смесь, содержащую 4 мкл амплификата, 1 мкл 10x буфера и 1,5 ед. соответствующего энзима и доводили водой для инъекций до объема 10 мкл. Полученную смесь инкубировали в термостате течение 12 часов при температуре 37 (65)°C.

Таблица 2 – Перечень, используемых в работе эндонуклеаз рестрикции

Ген	Полиморфный локус	Последовательности праймеров, 5`-3`	T° отжига, °C	Рестриктаза, последовательность 5`-3`	Аллели, размер фрагментов (п.н.)
<i>BARD1</i>	g.215595166_c.1967_1969dupG TC	AGCTGTTGAAAGGGCAGAAGT	37	AvaII ...G [^] GWCC...	insGTC:267 delGTC:122+72
		TGTCAGGGGTAAAAGCATGTC			
<i>MRE11</i>	rs564511708, c.1492G>A	CCAACCATATGCAAGACTCTGTTC	65	<i>TaqI</i> ...T [^] CGA...	G:206+138+14 A:220+138
		TGCTAACAGAAAGAGGGATGGG			
	rs104895016, c.1480G>A	CCAACCATATGCAAGACTCTGTTC	65	<i>TaqI</i> ...T [^] CGA...	G:206+138+14 A:206+152
		TGCTAACAGAAAGAGGGATGGG			
<i>ATM</i>	rs147515380, c.2149C>T	GCCACCTTTAACTCAGTTAACTG	37	Msp I ...C [^] CGG...	C: 203 +151 T: 354
		CCTGCATAAAATTTAATGTCTTCC			
<i>MUTYH</i>	c.985G>A	AGGTCACGGACGGGAACTC	37	HpySE526 I ...A [^] CGT...	G:517+83 A:600
		GCCCTATGACTCAACCCTG			
	c.1187G>A	AGGTCACGGACGGGAACTC	65	BstMB I ... [^] GATC...	G:343 +257 A: 307+257+36
		GCCCTATGACTCAACCCTG			
<i>BRCA1</i>	rs886040100, c.3143delG	CTCAGGTTGCAAAACCCCTAA	37	NlaIV ...GGN [^] NCC...	delG: 90+21+103 G:90+21+21+82
		TACAGTGAGCACAAATTAGCCGTA			
	rs80357944 c.2199delG	CTTCCCTAGAGTGCTAACTTCC	65	Bst6 I ...CTCTTCN [^] ...	delG:267 +187+80 G:187+80
		CGACCTGGTTCTTTTACTAAG			
<i>BRCA2</i>	rs587782583, c.5624A>C	CTGCATTTAGGATAGCCAGTGG	37	Mse I ...T [^] TAA...	C:117+52 A:72+52+45
		TCCAATGCCTCGTAACAACC			

Продолжение таблицы 2

<i>ERCC2</i>	rs13181, c.2251A>C	GTGCGAGGAGGCAGGAGGTGTGGG	37	HpyCH4V ...TG^CA...	C: 239 A: 84+155
		GAGCTCACCTGAGGAACAGG			
<i>ERCC2</i>	rs238406, c.468A>C	TGGAGTGCTATGGCACGATCTCT	37	Hinfl ...G^ANTC...	T:57+473+114 G: 587+57
		CCATGGGCATCAAATTCCTGGGA			
<i>ERCC3</i>	rs4150407, c.471+555A>G	CTAATTCAGGCCCATTTGTAGC	37	Bsp19I ...C^CATGG...	G: 139+266 A: 405
		GTTAGTCAGCTTGGGCTGCC			
<i>XRCC2</i>	rs3218536, c.563G>A	TGTAGTCACCCATCTCTCTGC	37	HpnI ...GTT^AAC...	C: 290 T: 148+142
		AGTTGCTGCCATGCCTTACA			
<i>XRCC3</i>	rs861539, c.722C>T	TGGTCATCGACTCGGTGGCA	37	NlaIII ...CATG^...	C: 288 T: 93+195
		TTCTCGATGGTTAGGCACAGGCT			

2.2.8 Метод электрофореза

Разделение фрагментов ДНК после амплификации и рестрикции проводили методом электрофореза в 7% полиакриламидном геле (ПААГ) или 1% агарозном геле.

Для приготовления ПААГ смешивали 8,3 мл 30% акриламида (29 мл акриламида и 1 мл метиленбисакриламид) и 4 мл 10xТБЕ буфера (0,089 М трис-НСl; 0,089 М борная кислота; 0,002 М ЭДТА, рН=8,0). Полученную смесь доводили дистиллированной водой до 40 мл после чего добавляли 40 мкл ТЕМЕД (СН₃)₂N-СН₂-СН₂-N(СН₃)₂ N,N,N',N'-тетраметилэтилендиамин) и 355 мкл 10% ПСА (Персульфат аммония) и заливали гель. Для приготовления 1% агарозного геля взвешивали 1 г агарозы и разводили 100 мл буфера 1xТБЕ. Раствор нагревали в микроволновой печи до полного расплавления агарозы, после чего охлаждали до 50-60 °С и заливали гель.

Электрофорез проводили в 1 × ТБЕ буфере при напряжении 300В. Перед нанесением на гель образец смешивали с краской (0,25% бромфенолового синего, 0,25% ксиленцианола и 15% фикола) в соотношении 5:1. После окончания электрофореза гель помещали в контейнер с раствором бромистого этидия на 5-7 мин. Визуализацию результатов электрофореза проводили с использованием гель-документирующей системы «Quantum».

2.2.9 Анализ кривых плавления с высокой разрешающей способностью (HRM)

С помощью HRM анализа проанализированы варианты с.3968A>G/*BRCA2*, с.1912T>C/*NBN*, с.315G>C/*PALB2*, с.3700_3704delGTAAA/*BRCA1* и с.3751dupA/*BRCA2* (рисунок 18).

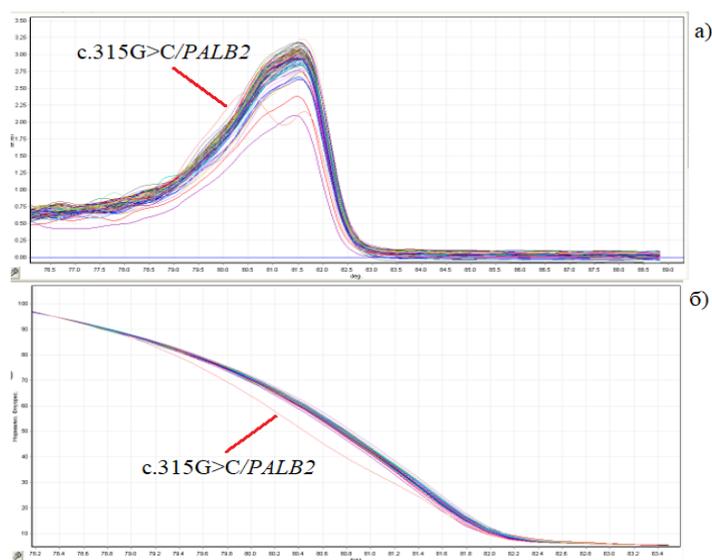


Рисунок 18 – HRM анализ варианта *c.315G>C/PALB2* а) кривые плавления образцов с изменением и в норме б) нормированный график кривых HRM образцов с изменением и в норме

HRM-анализ проводили на приборе Rotor-Gene 6000 с использованием флуоресцентного красителя Eva Green (Синтол, Россия). Смесь для ПЦР-реакции готовили из следующих компонентов (на 1 образец): H₂O – 7,12 мкл; Q-solution – 1,5 мкл; 10X PCR Buffer – 1,5 мкл; Смесь dNTP (dATP, dGTP, dCTP, dTTP) – 0,2 мкл; MgCl₂ – 2,0 мкл; Eva Green – 0,2 мкл; олигонуклеотидные праймеры – 0,2 мкл каждого; Taq-полимераза, 5u/ml – 0,08 мкл; геномная ДНК – 50 нг.

HRM-анализ проводился в эппендорфах объемом 0,2 или 0,1 мл для дисков Gene-Disc™ 36 или Gene-Disc™ 72, соответственно. Общий объем смеси составлял 15 мкл.

ПЦР-реакцию проводили в следующем режиме:

95°C – 7 мин	}	40 циклов
95°C – 20 сек		
58-60°C – 45 сек		
72°C – 45 сек		

Плавление ПЦР-продукта проводили в диапазоне температур 55-95 °С.

2.2.10 Аллель-специфичная ПЦР

Методом аллель-специфичной ПЦР с Т-блокатором проводили генотипирование варианта с.429G>A/*NBN* (рисунок 19). Последовательности специфичных олигонуклеотидных праймеров, показатели температуры отжига, размеры амплифицируемых фрагментов представлены в таблице 3.

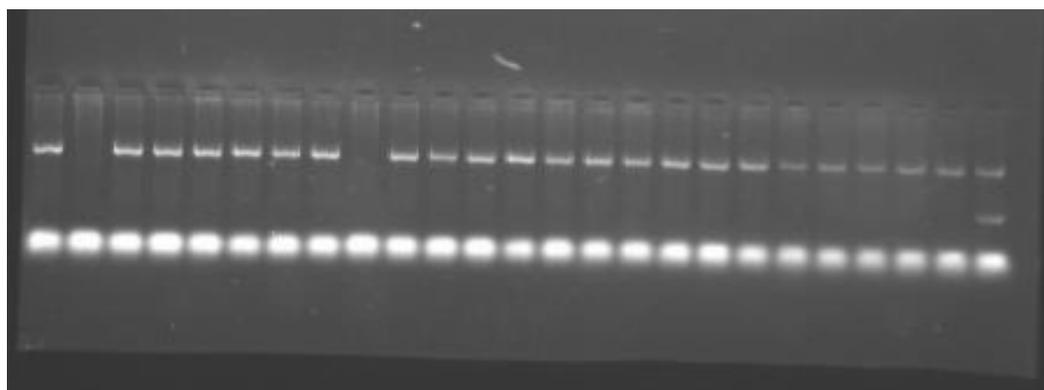


Рисунок 19 – Электрофореграмма, описывающая результаты аллель-специфичной ПЦР варианта с.429G>A/*NBN*. Дорожка 25 – образец с вариантом с.429G>A/*NBN*.

При проведении аллель-специфичной ПЦР с Т-блокатором используют блокирующий олигонуклеотид («блокатор») и два праймера ДНК, предназначенные для специфичного распознавания отдельных участков гена-мишени. Аллель-специфичный праймер (ASP) полностью комплементарен матрице мутантной ДНК и практически комплементарен матрице ДНК дикого типа за исключением последнего нуклеотида на 3'-конце праймера.

Таблица 3 – Последовательность праймеров для аллель-специфичной ПЦР

Ген	Полиморфный локус	Последовательности праймеров, 5`-3`	T° отжига, °C	Размер фрагмента
<i>NBN</i>	с.429G>A	ASP 5`-GGTGAGTGCATTCTTCTGTT-3` BLC 5`-ACCAATTGTTTACAGTAAATCCTC-3` R 5`-GAGTATGAGCCTTTGGTTGCAT-3`	65	124 п.н.
<i>MSH6</i>	Внутренний контроль ПЦР	F: 5`-ATCCCAAGCCCACGTTAGTG -3` R: 5`-TCAGTCTGTTCCACTCGTGC-3`	65	450 п.н.

Праймер-блокатор (BLC) спроектирован таким образом, чтобы быть комплементарным как ДНК-матрице дикого типа, так и 3'-концу аллель-специфичного праймера. Когда 3'-конец аллель-специфичного праймера и 5'-конец блокатора связываются друг с другом образуется триплекс, который не допускает удлинения пары оснований и амплификация не происходит. В том случае, когда аллель-специфичный праймер полностью соответствует мутантному аллелю, праймер удлиняется, блокатор смещается и амплификация протекает эффективно (рисунок 20). Визуализацию ПЦР-продуктов проводили в 7% ПААГ.

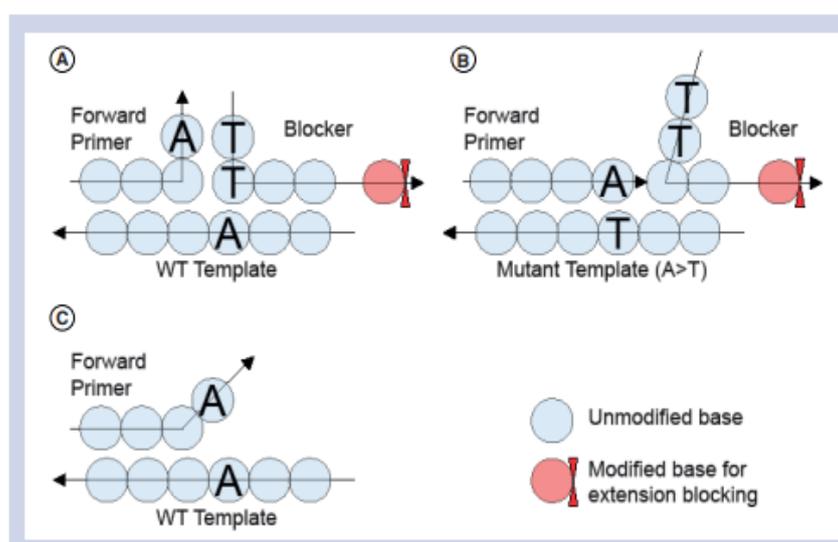


Рисунок 20 – Принцип метода аллель-специфичной ПЦР с Т-блокаторами на примере миссенс мутации А>Т (Kim et al., 2018)

2.2.11 Высокопроизводительная ПЦР в режиме реального времени по технологии Fluidigm

Генотипирование вариантов rs117230607 в гене *ATP23*, rs144292904 в гене *ADPRH*, rs147006695 в гене *PON3*, rs17850034 в гене *USP45*, rs17879749 в гене *MMP1*, rs36007488 в гене *TBRG4*, rs61757718 в гене *PIK3C2G*, rs763243801 в гене *RGS20*, rs73052628 в гене *NRIP2*, rs201755391 в гене *PARP14* проводили с использованием технологии HD Fluidigm BioMark.

Все этапы пробоподготовки проводили согласно протоколу Fluidigm 192.24 SNPtype Genotyping Technology (Fluidigm, Южный Сан-Франциско, Калифорния, США).

Для приготовления 10х пула праймеров для специфической целевой амплификации (СТА) использовали:

Компонент	Объем (μL)	Итоговая концентрация
100 μMSNPTypeAssaySTA Праймер (для каждого из 24 SNP)	2 (x 24 = 48)	500 nM
100 μMSNPTypeAssayLSP (для каждого из 24 SNP)	2 (x 24 = 48)	500 nM
Суспензионный ДНК буфер	304	—
Общий объем	400	—

Для приготовления аликвот СТА Pre-Mix использовали реакционную смесь объемом 5 мкл, которая содержала 2,5 мкл Qiagen 2xMultiplex PCR Master Mix, 0,5 мкл 10xSNP Type STA Primer Pool, 0,75 мкл ПЦР-стерильной деионизованной воды, 1,25 мкл геномной ДНК. Амплификацию проводили в амплификаторе Applied Biosystems 2720 thermal cycler. Режим амплификации был следующим:

95°C – 15 мин	} 14 циклов
95°C – 15 сек	
60°C – 4 мин	

Полученный STA-амплификат разводили в 100 раз в суспензионном ДНК буфере.

Для приготовления 10х пула праймеров объемом 4 мкл смешивали 2 мкл 2х Assay Loading Reagent с 1,2 мкл ПЦР-стерильной деионизованной воды и 0,8 мкл SNP Type Assay Mix.

Для приготовления пре-микса для образцов смешивали 2,25 мкл Biotium 2X Fast Probe Master Mix, 0,225 мкл 20X SNP Type Sample Loading Reagent, 0,075 мкл 60X SNP Type Reagent, 0,027 мкл ROX, 0,048 мкл ПЦР-стерильной деионизованной воды. Для приготовления смесей проб объемом 4,5 мкл смешивали 2,6 мкл пре-микса с 1,9 мкл 1:100 разведенного STA амплификата. Смесь с пробами в течении 20 секунд перемешивали на вортексе и затем центрифугировали в течение 30 секунд.

Внесение образцов на чип проводили согласно инструкции производителя (рисунок 12). В нашем исследовании использовались чипы, рассчитанные на одновременную детекцию 24 однонуклеотидных полиморфных локусов в 192 образцах ДНК.

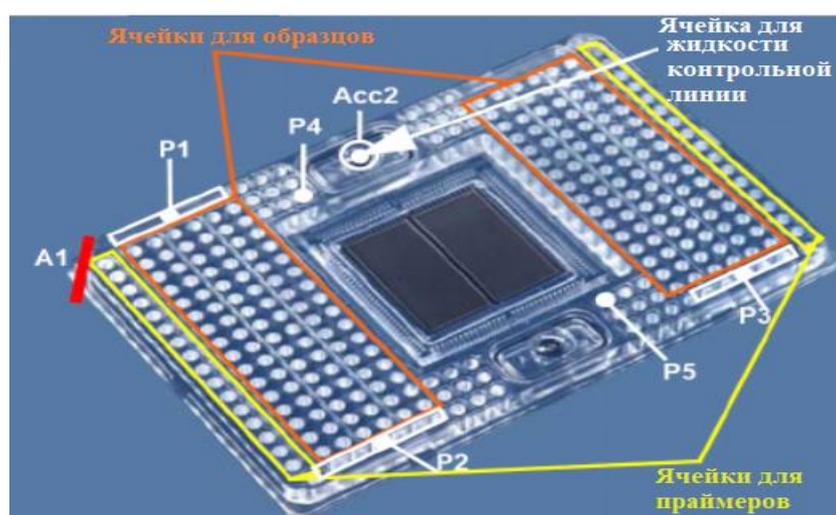


Рисунок 21 – Загрузка 192.24 Dynamic Array

Условия ПЦР были следующими:

Условия термоциклирования	Циклы	Температура	Время
Горячий старт	1	95 °С	5 мин
Отжиг (64 °С–61.0 °С)	1	95 °С	15сек
		64 °С	45сек
		72 °С	15сек
	1	95 °С	15сек
		63 °С	45сек
		72 °С	15сек
	1	95 °С	15сек
		62 °С	45сек
		72 °С	15сек
	1	95 °С	15сек
		61 °С	45сек
		72 °С	15сек
Дополнительный цикл	34	95 °С	15сек
		60 °С	45сек
		72 °С	15сек
Охлаждение	1	25 °С	10сек

Уровень сигнала от каждой лунки, оценка флуоресцентного изображения проводилась по окончании проведения ПЦР в реальном времени с использованием BioMark Reader. Данные были проанализированы с использованием Fluidigm Genotyping Analysis Software v4.5.1 (рисунок 22).

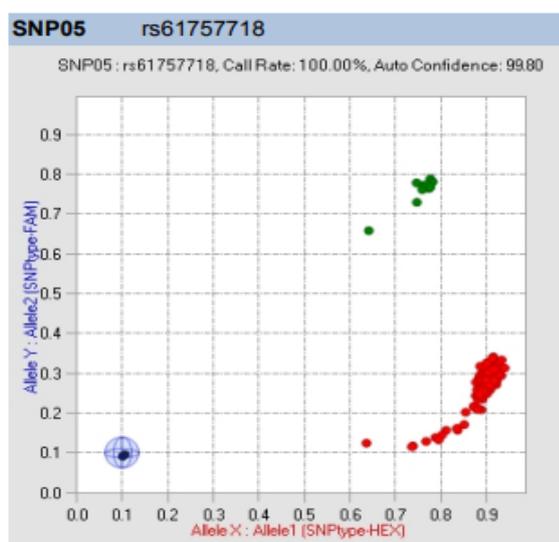


Рисунок 22 – Графическое изображение результатов генотипирования варианта rs17879749/*MMP1* с использованием системы Fluidigm BioMarkHD.

2.3 Статистические методы

В работе были использованы пакет прикладных программ обеспечения MS Excel 2016 (Microsoft) и компьютерная программа RxC (RowsxColumns) на основе алгоритма, описанного Роффом и Бенценом (1989).

Для расчета частот генотипов (P_i) и аллелей (p_i) использовали стандартную формулу Животовского (1991):

$$p_i = N_i/N,$$

где N_i – число i -ых аллелей, N – объем выборки.

Стандартную ошибку рассчитывали по формуле:

$$S_p = \sqrt{\frac{p_i(1-p_i)}{N}}.$$

95% доверительный интервал (confidence interval, CI) для пропорции оценивался как:

$$\left(p - \left[1.96 \sqrt{\frac{p_i(1-p_i)}{N}} \right]; p + \left[1.96 \sqrt{\frac{p_i(1-p_i)}{N}} \right] \right).$$

Частоты генотипов и аллелей, а также стандартную ошибку и доверительный интервал выражали в процентах (%).

Степень ассоциаций оценивали в значениях показателя соотношения шансов odds ratio, OR, по формуле:

$$OR = (axd) / (bxc),$$

где a - число лиц с наличием, b - с отсутствием маркера среди больных; c и d – число лиц соответственно с наличием и отсутствием среди здоровых. При $OR = 1$ нет ассоциации, $OR > 1$ рассматривали как положительную ассоциацию признака с аллелем или генотипом («фактор повышенного риска») и $OR < 1$ – как отрицательную ассоциацию («фактор пониженного риска»). Доверительный интервал для относительного риска рассчитывали с помощью программы: <http://www.biometrica.tomsk.ru:8100/lib/freq.htm> по следующей формуле:

$$OR' = \exp(\ln OR - 1.96 \sqrt{1/a + 1/b + 1/c + 1/d})$$

$$OR\gg = \exp(\ln OR + 1.96 \sqrt{1/a + 1/b + 1/c + 1/d})$$

При попарном сравнении частот генотипов и аллелей в группах больных и здоровых лиц использовался критерий χ^2 (P) для таблиц сопряженности 2x2 с поправкой Йетса на непрерывность. Парное сравнение частот проводили с использованием точного двухстороннего теста Фишера в случае, когда N_i было меньше или равно 5 или суммарное количество индивидов в обеих группах было менее 100. Различия при статистическом критерии $p < 0,05$ оценивались как значимые.

Показатели общей выживаемости считались со дня установления диагноза до даты последнего наблюдения (контрольного исследования) или смерти. Время до появления рецидива также определялось от даты установления диагноза до даты прогрессирования. Оценку общей и безрецидивной выживаемости проводили методом Каплана-Мейера в онлайн сервисе Kaplan Meier and Log Rank (statskingdom.com).

Оценка функции выживаемости (survival function) Каплана-Мейера вычислялась по формуле:

$$S(t) = \prod_{j=1}^t [(n - j)/(n - j + 1)]^{\delta_j}$$

В котором, $S(t)$ - оценка функции выживаемости, n - общее число наблюдений, знак \prod означает произведение по всем наблюдениям, завершившимся к моменту t ; δ_j равно 1, если j -ое наблюдение полное, и равно 0, если это наблюдение цензурированное, причем j – это номер наблюдения, после упорядочивания пациентов по возрастанию количества проведенных под наблюдением дней.

Графическим представлением метода Каплана-Мейера являются кривые выживаемости, где по оси ординат откладывают вероятность наступления событий, а по оси абсцисс – время.

Для сравнения полученных кривых выживаемости в рассматриваемых группах использовался критерий логарифмического ранга Мантел-Кокса. Различия в выживаемости считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

2.4 Построение предсказательных моделей риска

Для построения предсказательных моделей риска развития РЯ использовались шесть наиболее популярных и надежных алгоритмов машинного обучения, применяемых для классификации данных:

1. Дерево принятия решений (DT)
2. Случайный лес (RandomForestClassifier)
3. Логистическая регрессия
4. К-ближайших соседей (KNeighborsClassifier)
5. Метод опорных векторов (Support Vector Machines — SVM)
6. Градиентный бустинг (CatBoost) (Dhiman et al., 2022)

Последовательность действий для построения модели представлена на рисунке 23.

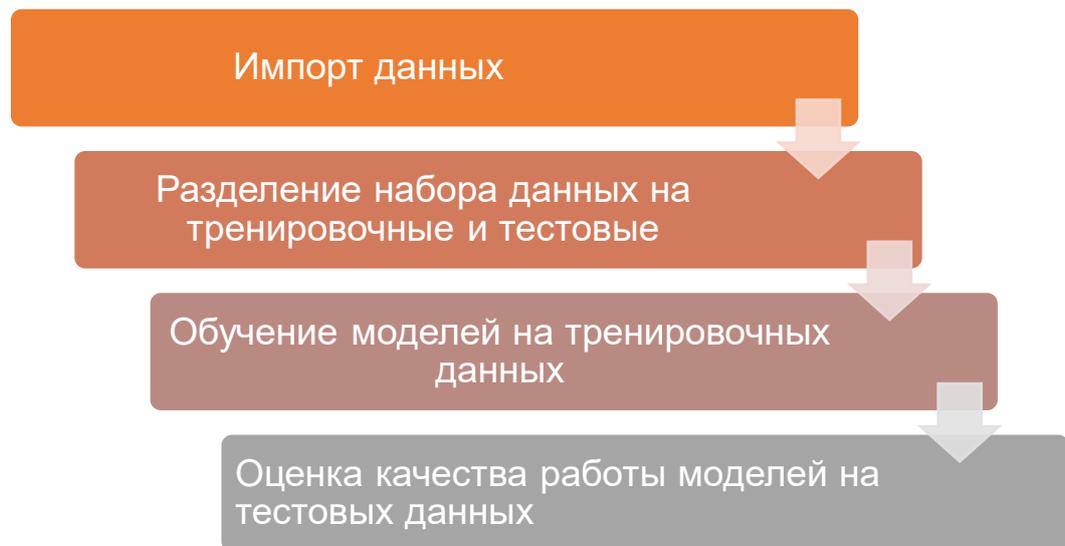


Рисунок 23 – Последовательность шагов для построения модели

Построение моделей проводили в редакторе исходного кода visual studio code v.1.77.00, команды прописывали на языке программирования Python v.3.9. На первом этапе проводили загрузку библиотек из пакета свободно распространяемого программного обеспечения для машинного обучения Scikit-learn, а также импорт предварительно подготовленного набора данных, содержащего категориальные и количественные признаки исследуемых групп.

Исследуемую выборку делили на 2 набора данных: 75% тренировочный и 25% проверочный. Тренировочный набор данных использовался для обучения и оценки модели на этапе разработки. Тогда как проверочный набор служил для оценки предсказательной способности полученной модели.

При обучении модели применяли кросс-валидацию по методу k-Fold, который является обобщением метода hold-out. Датасет разбивается на n-количество одинаковых частей, далее происходит n-количество итераций, во время каждой из которых один фолд выступает в роли тестового множества, а объединение остальных — в роли тренировочного. Модель учится на n фолде и тестируется на оставшемся. Метод k-Fold даёт более надёжную оценку качества модели, чем hold-out, так как обучение и тест модели происходят на разных подмножествах исходного датасета.

Далее на основе построенной модели проводили оценку показателей важности признаков в предсказании развития РЯ.

Сравнение моделей, полученных при помощи различных алгоритмов машинного обучения, оценивали по следующим характеристикам: информационный критерий Акаике (AIC), чувствительность, специфичность и площадь под ROC-кривой (AUC). Лучшую модель выбирали на основе площади под ROC-кривой (AUC).

Анализ качества предсказаний и настройку гиперпараметров для обучения модели проводили на основе графика плотности предсказаний, графика нормальной вероятности остатков, графика остатков относительно

прогноза, автокорреляции остатков и графика сравнения спрогнозированных и фактических значений.

Сравнение моделей, полученных при помощи различных алгоритмов машинного обучения, оценивали по следующим характеристикам: коэффициент детерминации r^2 , среднеквадратическая ошибка (RMSE). Лучшую модель выбирали на основе RMSE.

2.5 Дизайн исследования

Настоящая работа базируется на комплексном исследовании молекулярно-генетических основ развития одного из наиболее распространённых и смертоносных заболеваний женской репродуктивной системы – рака яичников. С этой целью было сформировано несколько направлений исследования:

1. Поиск новых патогенных и вероятно патогенных вариантов в генах-кандидатах РЯ методом таргетного NGS-секвенирования.
2. Анализ полиморфных локусов и редких генетических вариантов новых потенциальных генов-кандидатов РЯ, отобранных по результатам международных исследований.
3. Анализ ассоциации ряда полиморфных локусов генов репарации ДНК *ERCC2*, *ERCC3*, *XRCC2* и *XRCC3* с риском развития рака яичников с учетом этноспецифических особенностей нашего региона.
4. Построение предсказательной модели риска и прогноза течения заболевания на основе выявленных молекулярно-генетических маркеров.

Для реализации первого этапа проекта нами был проведен анализ клинических данных больных РЯ и отобраны 48 больных РЯ с подозрением на наследственный характер заболевания. Для установления молекулярной причины развития заболевания у данных пациенток было проведено таргетное

NGS-секвенирование 21 гена-кандидата РЯ (*BRCA1*, *BRCA2*, *ATM*, *BARD1*, *BRIP1*, *CDH1*, *CHEK2*, *EPCAM*, *MLH1*, *MRE11*, *MSH2*, *MSH6*, *MUTYH*, *NBN*, *PALB2*, *PMS2*, *PTEN*, *RAD50*, *RAD51C*, *STK11* и *TP53*). Полученные данные были подвержены нескольким этапам биоинформатической обработки, после чего отобранные генетические варианты верифицировали с помощью прямого секвенирования по Сэнгеру и проводили анализ частоты их встречаемости на расширенной выборке больных РЯ и контроля. В завершении данного этапа исследования была проведена оценка клинико-морфологических характеристик пациенток с выявленными патогенными вариантами, а также сравнительная оценка показателей выживаемости у женщин с выявленными патогенными вариантами и без них.

Вторым этапом данной работы было проведение исследования по типу «случай-контроль» 10 генетических вариантов новых генов-кандидатов РЯ (*RGS20*, *ATP23*, *USP45*, *MMP1*, *PIK3C2G*, *PARP14*, *TBRG4*, *NRIP2*, *ADPRH*, *PON3*), отобранных по результатам экзомного секвенирования, проведенного Международным консорциумом по изучению рака яичников. Генотипирование локусов осуществлялось с использованием системы для проведения высокопроизводительной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени по технологии Fluidigm.

Еще одним направлением нашего исследования было проведение ассоциативного анализа полиморфных локусов rs13181 и rs238406 гена *ERCC2*, rs4150407 гена *ERCC3*, rs3218536 гена *XRCC2* и rs861539 гена *XRCC3* с риском развития РЯ у женщин из Республики Башкортостан с учетом этноспецифических особенностей нашего региона. Учитывая неоднородность населения Республики Башкортостан в этническом отношении, в отдельные подгруппы для исследования были выделены индивиды наиболее многочисленных этнических групп Башкортостана: русских и татар.

Завершающим этапом данной работы была разработка предсказательной модели на основе алгоритмов машинного обучения и выявление наиболее

значимых диагностических и прогностических маркеров риска и прогноза течения исследуемого заболевания. Схема дизайна исследования представлена на рисунке 24.

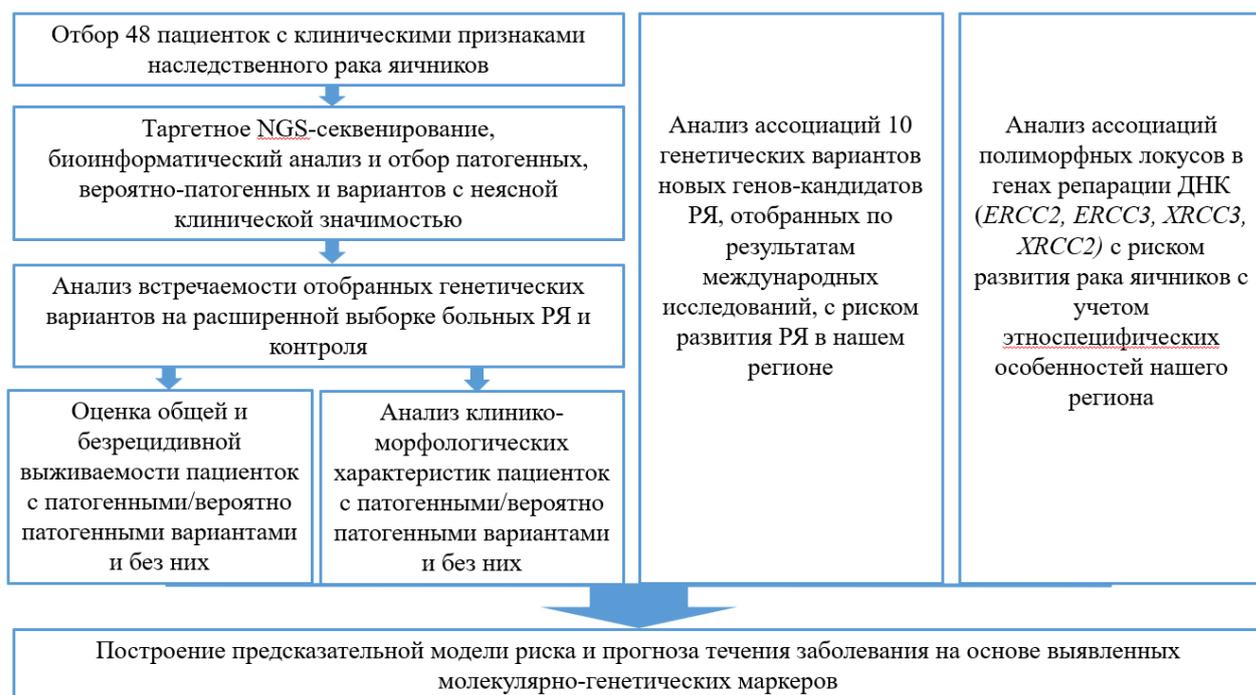


Рисунок 24 – Схема дизайна исследования

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Таргетное секвенирование образцов ДНК больных с клиническими признаками наследственного рака яичников

Нами было проведено таргетное NGS секвенирование кодирующих регионов и прилегающих не транслируемых участков наиболее важных генов-кандидатов РЯ (*BRCA1*, *BRCA2*, *ATM*, *BARD1*, *BRIP1*, *CDH1*, *CHEK2*, *EPCAM*, *MLH1*, *MRE11A*, *MSH2*, *MSH6*, *MUTYH*, *NBN*, *PALB2*, *PMS2*, *PTEN*, *RAD50*, *RAD51C*, *STK11* и *TP53*) в 48 образцах ДНК пациенток с клиническими признаками НРЯ из Республики Башкортостан.

Обработка данных таргетного NGS секвенирования включала три этапа:

- первичная биоинформатическая обработка, основанная на удалении плохих ридов, выравнивании последовательности относительно референсного генома и определении качества секвенирования;
- вторичная биоинформатическая обработка, которая заключалась в определении кодирующих последовательностей и выравнивании ридов по парам;
- исследовательский анализ, целью которого было определение типа изменения нуклеотидной последовательности ДНК, функциональной значимости и отбор генетических вариантов для последующего исследования типа «случай-контроль».

В результате проведенного таргетного секвенирования и последующего биоинформатического анализа среди исследованных областей 21-го гена, в среднем, у каждой пациентки было идентифицировано 181 (122-226) изменение нуклеотидной последовательности ДНК. Большинство изменений (в среднем, 88 варианта в одном образце) были идентифицированы в интронной области генов и в 3'-нетранслируемой области (3'-UTR) генов (в среднем, 31 вариант в образце). Данные типы изменений были выявлены во

всех изученных образцах. Также во всех образцах были идентифицированы варианты нуклеотидной последовательности в 5'-нетранслируемой области (5'-UTR), миссенс варианты, синонимичные замены, варианты нуклеотидной последовательности, расположенные в 5'-области выше изучаемого гена, а также варианты сайта сплайсинга.

В 45/48 исследованных образцах ДНК были обнаружены варианты транскриптов, содержащие однонуклеотидные замены; в 41/48 образце – варианты нуклеотидной последовательности, расположенные в 3'-области ниже изучаемого гена; в 12/48 образцах – изменения, приводящие к сдвигу рамки считывания; в 12/48 образцах – варианты сайта сплайсинга, приводящие к изменению 2 пар оснований на 5'-конце интронной области гена; в 12/48 образцах – интронные, не кодирующие транскрипт варианты; в 4/48 образцах – несинонимичные варианты, которые приводят к удалению оснований из кодирующей последовательности; в 3/48 образцах – варианты последовательности, которые изменяют одно или несколько оснований, что приводит к другой аминокислотной последовательности, с сохранением длины аминокислотной последовательности (миссенс варианты/варианты сайта сплайсинга); в 1/48 образце – варианты сайта сплайсинга, не приводящие к изменению аминокислоты (не синонимичные замены); в 2/48 образцах – варианты нуклеотидной последовательности, при которых, по крайней мере, одно основание кодона изменяется, что приводит к образованию преждевременного стоп-кодона, и, как следствие, к формированию укороченного транскрипта (нонсенс варианты) (рисунок 25).

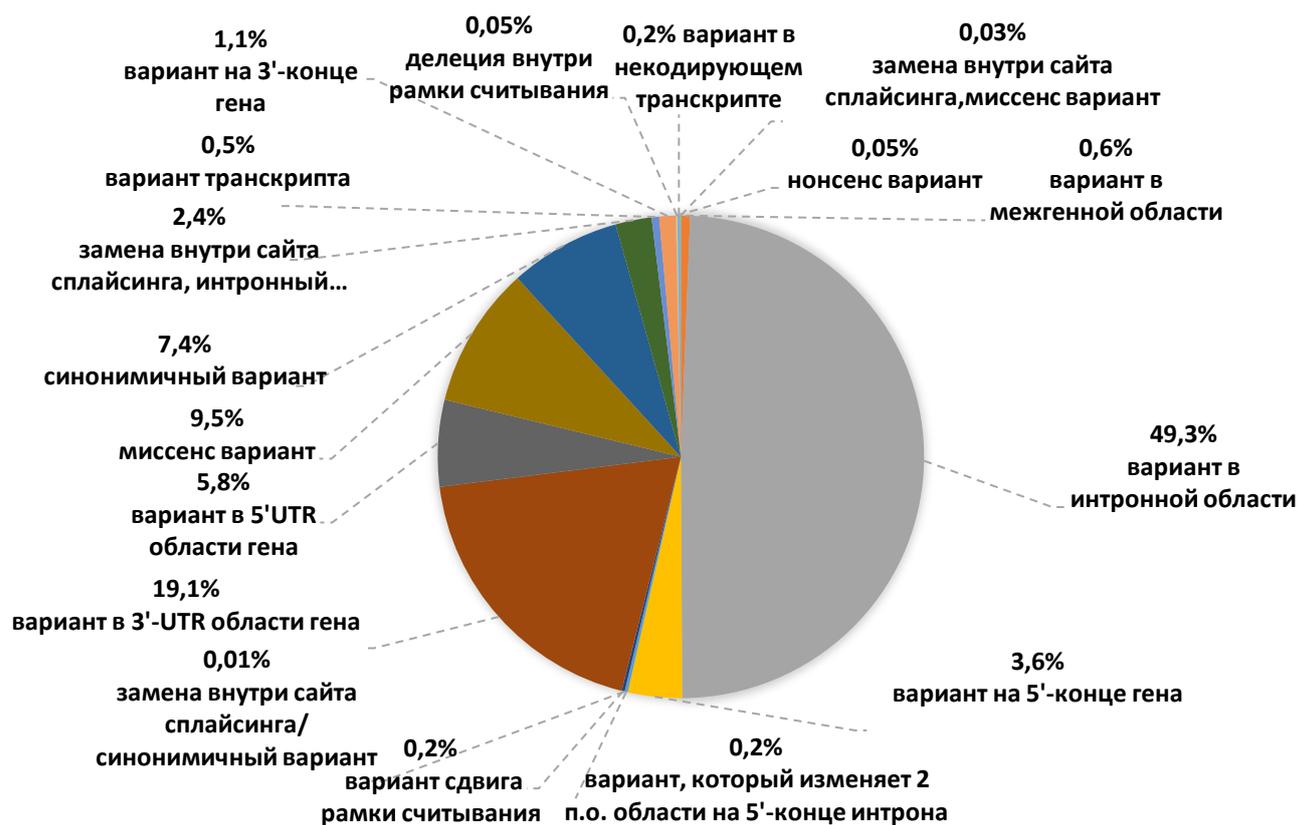


Рисунок 25 – Спектр вариантов нуклеотидной последовательности, обнаруженных с помощью таргетного секвенирования образцов ДНК больных с клиническими признаками РЯ из Башкортостана

После аннотации выявленных изменений нуклеотидной последовательности был проведен исследовательский анализ, целью которого был поиск патогенных и вероятно патогенных вариантов, представляющих собой потенциальные драйверные мутации в развитии рака яичников. Этот анализ включал в себя использование пользовательских фильтров на основе следующих критериев:

1. Отбор вариантов, расположенных в экзонах и сайтах сплайсинга;
2. Отбор функционально значимых генетических вариантов: мутаций, приводящих к сдвигу рамки считывания, нонсенс мутаций, и несинонимичных одиночных нуклеотидных замен;
3. Отбор вариантов с частотой не более 1% по данным 1000 Genomes, Exome Aggregation Consortium и Allele Frequency Aggregator;

4. Отбор вариантов ранее не описанных в базах данных.

Все отобранные на данном этапе варианты верифицировались с помощью прямого секвенирования по Сэнгеру.

Патогенные/вероятно патогенные варианты

В целом, патогенные (PV) и вероятно-патогенные варианты (LPV) в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *NBN*, *MSH6* и *MUTYH* выявлены у 16/48 пациенток (33,3%). Подавляющее большинство пациенток с идентифицированными вариантами оказались носительницами изменений в гене *BRCA1* (12/48). У одной пациентки с мутации в гене *BRCA1* также наблюдался PV/LPV в гене *CHEK2*. Мутации в генах *NBN*, *BRCA2*, *MUTYH* и *MSH6* были отмечены в одном случае (рисунок 26). Патогенных и вероятно патогенных вариантов не было обнаружено в других исследованных генах *BARD1*, *BRIP1*, *CDH1*, *EPCAM*, *MLH1*, *MRE11A*, *MSH2*, *NBN*, *PALB2*, *PMS2*, *PTEN*, *RAD50*, *RAD51C*, *STK11*, *TP53*.

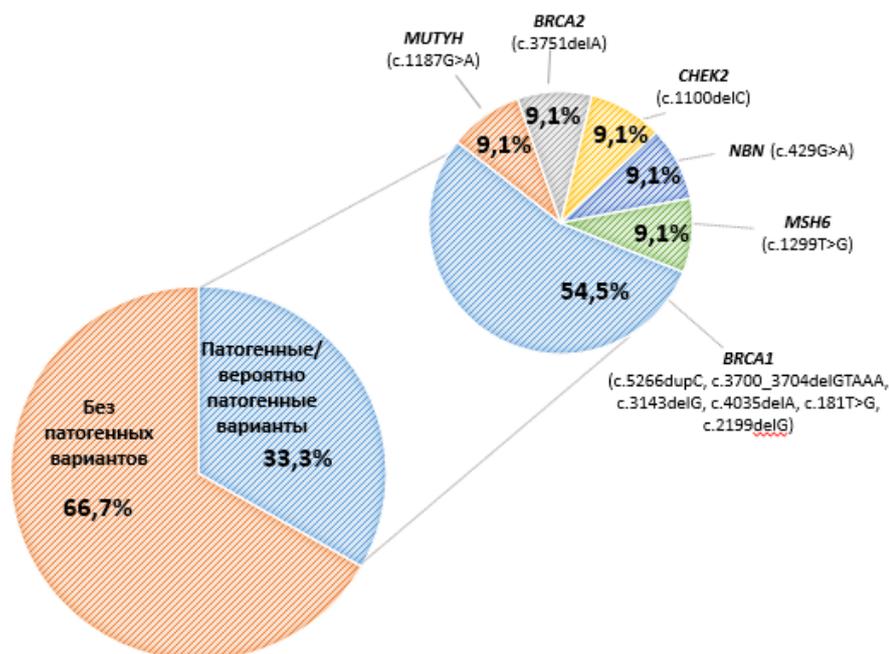


Рисунок 26 – Распределение пациентов с патогенными/ вероятно патогенными вариантами и без них и спектр этих вариантов в генах-кандидатах РЯ

Спектр выявленных изменений включал 11 различных вариантов, приводящих к потере функции белка. Большую часть из них составили мутации сдвига рамки считывания (58,3%), 25% – миссенс мутации, 16,7% – мутации, приводящие к образованию преждевременного стоп-кодона. Наиболее часто мутировавший ген был *BRCA1*, в котором обнаружены: мутация с эффектом основателя с.5266dupC в 7 изученных образцах, а также варианты нуклеотидной последовательности с.3143delG, с.4035delA, с.2199delG, с.3700_3704delGTAAA, с.181T>G в единичном случае каждый. В гене *CHEK2* нами идентифицирована мутация с.1100delC. В одном случае выявлен миссенс вариант в гене *MUTYH* (с.1187G>A). В гене *BRCA2* мы обнаружили один патогенный вариант (с.3751dupA). В гене *NBN* обнаружен новый нонсенс вариант (с.429G>A). Кроме того, был выявлен вариант нуклеотидной последовательности, приводящий к образованию преждевременного стоп-кодона в гене *MSH6* (с.1299T> G) (таблица 4).

Таблица 4 – Варианты нуклеотидной последовательности, приводящие к потере функции белка, обнаруженные в результате таргетного секвенирования образцов ДНК больных с клиническими признаками НРЯ из Башкортостана

ген	изменение на уровне кДНК	изменение на уровне белка	зиготность	тип изменения	данные о патогенности, ClinVar
<i>BRCA1</i>	c.181T>G	p.Cys61Gly	Гет	миссенс	патогенный
<i>BRCA1</i>	c.3143delG	p.Gly1048ValfsTer14	Гет	фреймшифт	патогенный
<i>BRCA1</i>	c.3700_3704 delGTAAA	p.Val1234GlnfsTer8	Гет	фреймшифт	патогенный
<i>BRCA1</i>	c.2199delG	p.Lys734AsnfsTer2	Гет	фреймшифт	патогенный
<i>BRCA1</i>	c.4035delA	p.Glu1346LysfsTer20	Гет	фреймшифт	патогенный
<i>BRCA1</i>	c.5266dupC	p.Gln1756ProfsTer74	Гет	фреймшифт	патогенный
<i>BRCA2</i>	c.3751dupA	p.Thr1251fs	Гет	фреймшифт	патогенный
<i>CHEK2</i>	c.1100delC	p.Thr367MetfsTer15	Гет	фреймшифт	патогенный
<i>MSH6</i>	c.1299T>G	p.Tyr433Ter	Гет	нонсенс	патогенный
<i>NBN</i>	c.429G>A	p.Trp143Ter	Гет	нонсенс	–
<i>MUTYH</i>	c.1187G>A	p.Gly396Asp	Гет	миссенс	патогенный

У семи пациенток, гетерозиготных носительниц мутации с.5266dupC, были диагностированы серьезный (6/7) и недифференцированный (1/7) РЯ. Четыре носительницы данного нарушения были русского происхождения и три носительницы татарской этнической принадлежности. Три пациентки с изменением с.5266dupC также имели сопутствующую онкопатологию – рак молочной железы. У всех носительниц данного изменения установлен отягощенный семейный анамнез. У трех пациенток заболевание было диагностировано в пременопаузе. У носительницы варианта с.3700_3704delGTAAA в гене *BRCA1* русского этнического происхождения в период постменопаузы диагностирована серьезная цистаденокарцинома высокой степени злокачественности с метастазами в сальник и брыжейку. Пациентка татарской этнической принадлежности с мутацией с.4035delA в гене *BRCA1* также страдала серьезным РЯ высокой степени злокачественности с метастазами в большой сальник. У женщины установлен отягощенный анамнез по РЯ. У носительницы патогенного варианта с.3143delG в гене *BRCA1* русской этнической принадлежности в период постменопаузы была диагностирована низкодифференцированная серьезная аденокарцинома яичников. Женщина также имела сопутствующую онкопатологию – РМЖ. У пациентки с мутацией с.181T>G в гене *BRCA1* русской этнической принадлежности в период постменопаузы диагностирована низкодифференцированная муцинозная аденокарцинома. В семейном анамнезе женщины установлены случаи заболевания РМЖ/РЯ. Носительница двух патогенных вариантов с.2199delG в гене *BRCA1* и с.1100delC в гене *CHEK2* страдала серьезной умереннодифференцированной карциномой яичников. У носительницы патогенного варианта с.3751dupA в гене *BRCA2* с серьезной аденокарциномой и канцероматозом брюшины в анамнезе также были зарегистрированы случаи заболевания раком желудка и колоректальным

раком. У пациентки с мутацией с.1187G>A в гене *MUTYH* в возрасте 46 лет установлен диагноз «умереннодифференцированная серозная цистаденокарцинома яичников с наличием метастазов в сальнике и раковых эмболов в сосудах». У носительницы нонсенс варианта р.У433Х в гене *MSH6* башкирской этнической принадлежности с диагнозом «серозная аденокарцинома», также был выявлен рак тела матки. Кроме того, у пациентки с выявленным нарушением имеется отягощенный семейный анамнез по РЯ. У пациентки с мутацией с.429G>A в гене *NBN* в постменопаузе был установлен диагноз серозный РЯ с метастазами по брюшине и забрюшинные лимфоузлы. Клинические данные описанных и других носительниц обнаруженных патогенных вариантов приведены в таблице 5.

Таблица 5 – Клинические данные пациенток с идентифицированными вариантами, приводящими к потере функции белка

Патогенный вариант	Этническая принадлежность	Семейный анамнез	Полинеоплазии	Гистологический подтип опухоли	Gn	метастазы
<i>BRCA1</i> с.5266dupC	татарка	РМЖ, РЯ	–	серозный	G ₃	сальник
	татарка	РМЖ	–	серозный	G ₃	брюшина
	русская	гемобластоз, рак поджелудочной железы	–	серозный	G ₃	сальник
	русская	колоректальный рак, рак печени	рак шейки матки /РМЖ/РЯ	недифференцированный	G ₄	печень
	русская	РЯ	РМЖ	серозный	G ₃	–
	татарка	Рак гортани	–	серозный	G ₄	влагалище, печень, параректальные, парасакральные л/у
	русская	РМЖ	РМЖ	серозный	G ₃	большой сальник, брюшина
<i>BRCA1</i> с.3700_3704d eIGTAAA	русская	–	–	серозный	G ₃	сальник, брыжейка

Продолжение таблицы 5

<i>BRCA1</i> с.3143delG	русская	–	РМЖ	серозный	G ₃	подвздошные, забрюшинные л/у
<i>BRCA1</i> с.4035delA	татарка	РЯ	–	серозный	G ₃	сальник
<i>BRCA1</i> с.181T>G	русская	РЯ, РМЖ	–	муцинозный	G ₂ /G ₃	сальник
<i>BRCA2</i> с.3751dupA	башкирка	рак желудка, колоректальный рак	–	серозный	G ₃	брюшина
<i>BRCA1</i> с.2199delG <i>CHEK2</i> с.1100delC	татарка	–	–	серозный	G ₂	–
<i>NBN</i> с.429G>A	татарка	–	–	серозный	G _x	брюшина, забрюшинные л/у
<i>MSH6</i> с.1299T>G	башкирка	РЯ	рак тела матки	серозный	G ₃	–
<i>MUTYH</i> с.1187G>A	русская	–	–	серозный	G ₂	сальник

Варианты неопределенного значения

На следующем этапе нами были отобраны 13 редких вариантов неопределенного значения, включая 6 вариантов с неясной клинической значимостью (VUS), 3 – с противоречивыми данными о патогенности и 4 – ранее не описанных в литературе или базах данных (таблица 6). Идентифицированные изменения были локализованы в генах *BRCA2* (3), *PALB2* (2), *ATM* (1), *NBN* (2), *MRE11* (2), *MUTYH* (1), *CHEK2* (1) и *BARD1* (1). 12/13 отобранных изменений представляют собой миссенс варианты, локализованные в кодирующей области генов, из них 1 вариант является изменением в сайте сплайсинга. Кроме того, в гене *BARD1* обнаружен вариант, приводящий к вставке трех нуклеотидов. У носительниц 10 миссенс вариантов не было обнаружено иных патогенных/вероятно патогенных изменений нуклеотидной последовательности в изученных генах. Тогда как у пациентки с вариантами с.985G>A/*MUTYH* и с.5624A>C/*BRCA2*, а также у носительницы варианта с.2149C>T/*ATM* были выявлены мутации, приводящие к потере функции белка в генах *MSH6* и *BRCA1*, соответственно, что снижает вероятность того, что данные генетические варианты могут быть причиной злокачественной трансформации клеток в данных случаях. Одна пациентка оказалась носительницей 3 генетических вариантов в генах *NBN* (с.1912T>C), *MRE11* (с.1492G>A) и *BRCA2* (с.3968A>G), что свидетельствует о сложности определения причинного варианта среди редких миссенс вариантов ряда генов репарации ДНК, обнаруженных у одного и того же пациента.

Имеющихся на сегодняшний день данных недостаточно для установления роли описанных выше генетических вариантов в развитии РЯ, однако, согласно ряду предсказательных программ, данные изменения могут влиять на функцию белка, а значит, быть вероятной причиной развития заболевания. Такие редкие варианты могут внести значительный вклад в те две трети пациентов с наследственным раком яичников, у которых развитие заболевания не вызвано патогенными вариантами генов.

Таблица 6 – Варианты нуклеотидной последовательности с неясной клинической значимостью, обнаруженные в результате таргетного секвенирования образцов ДНК больных с клиническими признаками НРЯ из РБ

Ген	Вариант	Экзон	Тип варианта	Изменение белка	Мутации в других генах	Базы данных		
						dbSNP	ClinVar	gnomAD, %
<i>ATM</i>	с. 2149С>Т	ex.14	миссенс	p.(Arg717Trp)	<i>BRCA1</i> с.3700 3704delGTA AA	rs14751538	неясная клиническая значимость	0,00003
<i>BRCA2</i>	с.5624А>С	ex.11	миссенс	p.(Lys1875Thr)	<i>MSH6</i> с.1299Т>G	rs58778258 3	неясная клиническая значимость	0,00001
<i>PALB2</i>	с.315G>С	ex. 4	миссенс	p.(Glu105Asp)	–	rs51572610 8	неясная клиническая значимость	0,003
<i>NBN</i>	с.1912Т>С	ex. 12	миссенс, сайт сплайсинга	p.(Ser638Pro)	–	rs19965756 6	неясная клиническая значимость	0,003
<i>MRE11</i>	с.1492G>А	ex. 13	миссенс	p.(Asp498Asn)	–	rs56451170 8	неясная клиническая значимость	0,001
<i>BRCA2</i>	с.3709G>С	ex.11	миссенс	p.(Ala1237Pro)	–	rs39812277 0	неясная клиническая значимость	0,00001
<i>MRE11</i>	с.1480G>А	ex.13	миссенс	p.(Glu494Lys)	–	rs10489501 6	противоречивые данные о патогенности	0,06
<i>MUTYH</i>	с.985G>А	ex.11	миссенс	p.(Val329Met)	<i>MSH6</i> с.1299Т>G	rs14771816 9	противоречивые данные о патогенности	0,003
<i>CHEK2</i>	с.470Т>С	ex. 4	миссенс	p.(Ile157Thr)	–	rs17879961	противоречивые данные о патогенности	0,01

Продолжение таблицы 6

<i>BRCA2</i>	с.3968A>G	ex.11	миссенс	p.(Lys1323Arg)	–	–	новый	–
<i>PALB2</i>	с.1486G>C	ex.4	миссенс	p.(Asp496His)	–	–	новый	–
<i>NBN</i>	с.515T>C	ex.5	миссенс	p.(Val172Ala)	–	–	новый	–
<i>BARD1</i>	с.1967_1969dupGTC	ex.10	инсерция	p.(Gly656_Pro657insArg)	–	–	новый	–

Клинические данные носительниц обнаруженных редких миссенс вариантов приведены в таблице 7. У пациентки, являющейся носительницей трех миссенс вариантов (с.1912Т>С/*NBN*, с.1492G>А/*MRE11* и с.3968А>G/*BRCA2*) установлен диагноз умереннодифференцированный серозный РЯ. Женщина также страдает сопутствующей онкопатологией – РМЖ. У пациенток русской и татарской этнической принадлежности с генетическими вариантами с.3709G>С в гене *BRCA2* и с.515Т>С в гене *NBN*, соответственно, в результате гистологического анализа выявлен муцинозный РЯ с метастазами в сальник. Носительница неопisanного ранее миссенс варианта в гене *PALB2* (с.1486G>С) страдает низкодифференцированной серозной аденокарциномой. Тогда как у пациентки с другим изменением в гене *PALB2* (с.315G>С) диагностирован эндометриоидный РЯ. У носительницы варианта с.1480G>А в гене *MRE11* был диагностирован редкий агрессивный тип рака – недифференцированная аденокарцинома яичников со множественными метастазами в брюшину, печень, лимфоузлы средостения и тазовые лимфоузлы. Кроме того, в семейном анамнезе носительницы данного изменения установлен случай заболевания раком матки. Вероятно, доброкачественный вариант сайта сплайсинга в гене *MRE11* был выявлен у пациентки татарской этнической принадлежности, страдающей серозным РЯ с метастазами в брюшину. У пациентки татарской этнической принадлежности с миссенс мутацией с.470Т>С/*CHEK2* в постменопаузальном периоде была диагностирована серозная папиллярная аденокарцинома. Также в семейном анамнезе женщины отмечены многочисленные случаи онкологических заболеваний различных локализаций (рак молочной железы, рак яичников и колоректальный рак).

Таблица 7 – Клинические данные пациенток из РБ с идентифицированными вариантами с неясной клинической значимостью

Редкие миссенс варианты	Патогенные варианты	Этническая принадлежность	Гистологический подтип опухоли	Семейный анамнез	Gn	Полинеоплазии	Метастазы
<i>BRCA2</i> с.5624A>C <i>MUTYH</i> с.985G>A	MSH6 с.1299T>G	башкирка	серозный	РЯ	G3	рак тела матки	–
<i>BRCA2</i> с.3709G>C	–	русская	муцинозный	–	G3	–	сальник
<i>PALB2</i> с.1486G>C	–	татарка	серозный	–	G3	–	–
<i>PALB2</i> с.315G>C	–	русская	эндометриоидный	–	Gx	–	–
<i>ATM</i> с.2149C>T	<i>BRCA1</i> с.3700_3704del GTAAA	русская	серозный	–	G3	–	сальник, брыжейка
<i>NBN</i> с.1912T>C <i>MRE11</i> с.1492G>A <i>BRCA2</i> с.3968A>G	–	метис (татарка/ башкирка)	серозный	–	G2	РМЖ	–
<i>NBN</i> с.515T>C	–	татарка	муцинозный	–	G2/ G3	–	сальник

Продолжение таблицы 7

<i>MRE11</i> с.1480G>A	–	татарка	недифференцирован ный	Рак матки	G4	–	брюшина, печень, лимфоузлы средостения, тазовые лимфоузлы
<i>CHEK2</i> с.470T>C	–	татарка	серозный	РМЖ, РЯ, колоректа льный рак	G3	–	брюшина, сальник, подвздошны е л/у

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что около одной трети случаев НРЯ в Республике Башкортостан можно объяснить приводящими к изменению функции белка мутациями в одном из изученных генов, в большей степени в гене *BRCA1*. Наиболее часто встречалась мутация *c.5266dupC/BRCA1* (примерно в 1 из 7 случаев), что подтверждает, что данная мутация является мажорной в нашем регионе (Фаисханова, 2021). Благодаря ранее проведенным исследованиям РМЖ в Башкортостане было установлено, что мутация *c.5266dupC* встречается примерно у 4% пациенток с РМЖ (Бермишева, 2018), что указывает на 3-4-кратное преобладание числа патогенных вариантов в гене *BRCA1* у больных РЯ по сравнению с пациентками с РМЖ из того же региона.

Мутация *c.1100delC/CHEK2* выявлена в настоящем исследовании у пациентки с диагнозом «рак яичников» из Республики Башкортостан впервые (Прокофьева, 2013). Данная мутация была ранее описана у двух российских пациенток с ЗНО яичников (Krylova et al, 2007). Несмотря на то, что было высказано предположение об определенной роли мутаций в гене *CHEK2* в развитии РЯ (Lawrenson et al., 2015), в настоящее время недостаточно данных для того, чтобы сделать вывод, что нарушения в данном гене способствуют повышению риска развития РЯ, как это наблюдается у пациенток с РМЖ (Krylova et al., 2007).

В целом, полученные нами результаты указывают на то, что нарушения в гене *BRCA1* выступают в качестве основного фактора риска развития НРЯ в Республике Башкортостан, а также позволили обнаружить новые варианты нуклеотидной последовательности генов-кандидатов РЯ. Установить роль данных изменений в развитии заболевания позволят дополнительные исследования по типу «случай-контроль».

3.2 Скрининг отобранных по результатам таргетного секвенирования генетических вариантов в группе больных РЯ и контроля из Республики Башкортостан

Скрининг вариантов с.3143delG, с.3700_3704delGТААА и с.2199delG в гене BRCA1

Герминальный вариант с.3143delG, расположенный в 9 экзоне гена *BRCA1*, вызывает трансляционный сдвиг рамки считывания, в результате чего формируется альтернативный стоп-кодон (р. G1048Vfs*14). Данное изменение было впервые обнаружено у женщины с РМЖ из Франции с частотой 0,0007% (Lecarpentier et al., 2012). Кроме того, минорный аллель данного варианта с низкой частотой встречался в контрольной группе по данным gnomAD (0,0004%) (Hu et al., 2018). В недавно опубликованной работе делеция с.3143delG была обнаружена у женщины с РЯ из Республики Башкортостан в результате таргетного секвенирования 50 образцов ДНК женщин, страдающих РЯ (Миннихметов и др., 2022).

В проведенном нами исследовании среди больных РЯ (n=219), больных с клиническими признаками НРЯ (n=94) и здоровых доноров (n=317) данная делеция была идентифицирована у одной пациентки с НРЯ (1,06%) в гетерозиготном состоянии во время таргетного секвенирования. Скрининг данного варианта на расширенной выборке не выявил других носительниц, ни в группе больных РЯ, ни в группе контроля. По этнической принадлежности носительница мутации с.3143delG русская. У пациентки с данным изменением установлен диагноз «серозный рак яичников высокой степени злокачественности». Манифестация заболевания произошла в постменопаузальный период. Женщина также имеет сопутствующий диагноз рак левой молочной железы. У носительницы изучаемого изменения не идентифицировано иных патогенных или вероятно патогенных вариантов.

Вариант с.3700_3704delGTAAA (p.Val1234Glnfs) в гене *BRCA1* представляет собой мутацию сдвига рамки считывания, которое по прогнозам, вызывает потерю нормальной функции белка из-за синтеза укороченного полипептида или нонсенс-опосредованного распада мРНК. В зарубежных источниках данное изменение было описано в семьях с синдромом наследственного РМЖ и РЯ и было высказано предположение, что вариант с.3700_3704delGTAAA является мутацией основателя в Чехии, Германии, Греции и Польше (Gorski et al., 2000; Foretova et al., 2004; Machackova et al., 2008; Ratajska et al., 2008; Brozek et al., 2011; Konstantopoulou et al., 2014; Heramb et al., 2018). В работе Kostovska показана высокая частота (6%) встречаемости данного фреймшифт варианта среди албанских пациенток с наследственными формами РМЖ (Kostovska et al., 2022). Согласно исследованиям, проведенным российскими учеными, данный вариант является редким и среди больных РМЖ встречается с частотой от 0,03 до 2,3% (Гулян и др., 2018; Миннихметов и др., 2022). В недавно опубликованной работе Kechin с соавторами провели скрининг патогенных вариантов генов *BRCA1/2* у 1406 пациенток с РЯ из различных регионов РФ. В результате патогенный вариант с. 3700_3704delGTAAA был обнаружен у 1,5% пациенток, принявших участие в исследовании (Kechin et al., 2023).

В результате проведенного нами исследования были обнаружены две носительницы данной мутации – в группе больных спорадическим РЯ 1/219 (0,45%) и в группе с клиническими признаками НРЯ, выявленной в ходе таргетного секвенирования 1/94 (1,06%). По этнической принадлежности обе женщины русские. Согласно клиническим данным у обеих пациенток диагностирован один из самых агрессивных типов РЯ – серозный с высокой степенью злокачественности. На момент манифестации заболевания у обеих пациенток репродуктивная функция была сохранена. У одной пациентки с изменением с.3700_3704delGTAAA установлен отягощенный семейный

анамнез. У носительниц варианта с.3700_3704delGTAAA не выявлено иных мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2*.

Делеция гуанина в позиции с.2199 кДНК вызывает сдвиг рамки считывания, что приводит к появлению преждевременного стоп-кодона и, как следствие, к синтезу нефункционального белкового продукта. Данный вариант был обнаружен в нескольких независимых исследованиях среди больных РМЖ (Eccles et al., 2016; Rebbeck et al., 2018; Copson et al., 2018), а также у пациента, страдающего раком поджелудочной железы и имеющего в анамнезе случаи РМЖ/РЯ (Al-Sukhni et al., 2008). На сегодняшний день не сообщалось о случаях носительства варианта с.2199delG гена *BRCA1* среди жителей РФ.

В результате скрининга нами не было выявлено других носительниц варианта с.2199delG в гене *BRCA1* кроме носительницы, обнаруженной в ходе таргетного секвенирования. У женщины установлен диагноз «низкодифференцированная папиллярная аденокарцинома». У данной пациентки также была обнаружена широко распространенная мутация с.1100delC в гене *CHEK2*, являющаяся маркером предрасположенности к развитию РМЖ (Bermisheva et al., 2014). Важно отметить, что сочетанное носительство мутаций с.1100delC в гене *CHEK2* и с.2199delG в гене *BRCA1* ранее не было описано в литературе.

Скрининг вариантов с.5624A>C, с.3751dupA и с.3968A>G в гене BRCA2

Мутация с.3751dupA, расположенная в 11 экзоне гена *BRCA2*, приводит к сдвигу рамки считывания и преждевременной остановке трансляции, в результате чего синтезируется укороченный и предположительно нефункциональный белок. Однако экспериментальные исследования, демонстрирующие влияние данного изменения на функцию белка, по видимому, не проводились. В литературе данный вариант был впервые описан у турецкой пациентки с РЯ (Yazici et al., 2002). Позже данная мутация была

обнаружена у иранской пациентки с ранним началом РМЖ (Yassaee et al., 2016). Интересно отметить, что вариант с.3751dupA с различной частотой был идентифицирован в 5 независимых исследованиях женщин с РЯ и/или РМЖ из Турции, что дает основание предположить, что данное изменение является повторяющейся мутацией, характерной для данного региона (Bahsi и Erdem H. B., 2019; Peker Eyüboğlu et al., 2020; Solmaz et al., 2020; Sunar et al., 2022).

В проведенном нами исследовании среди больных РЯ (n=219), НРЯ (n=94) и здоровых доноров (n=317) данная дупликация была идентифицирована у одной пациентки с клиническими признаками наследственного РЯ (1,06 %) в гетерозиготном состоянии во время таргетного секвенирования. По этнической принадлежности носительница варианта татарка. Манифестация заболевания произошла в период постменопаузы. По данным анамнеза женщина имеет родственников с онкологическими заболеваниями. Иных патогенных изменений в изученных генах у данной пациентки не обнаружено.

Замена аденина на цитозин в 5624 положении кДНК на аминокислотном уровне приводит к замене лизина на треонин в позиции 1875 (p.Lys1875Thr). Данное изменение локализовано в области так называемых BRC-повторов, состоящих из последовательности 35 высококонсервативных аминокислот и играющих ключевую роль в восстановлении повреждений ДНК во время мейотической рекомбинации (Martinez J. S. et al., 2016). Согласно Dines, 10 и 11 экзоны гена *BRCA2* являются «холодными», поэтому миссенс-варианты, обнаруженные в данных регионах, вероятнее всего будут являться доброкачественными (Dines et al., 2020). Алгоритмы, разработанные для прогнозирования влияния миссенс-изменений на структуру и функцию белка, также предполагают, что описываемый вариант, вероятно, не приведет к существенным нарушениям структуры и функции белка *BRCA2*, однако эти прогнозы не были подтверждены функциональными и клиническими исследованиями. Таким образом, имеющихся данных недостаточно, чтобы

окончательно определить роль данного варианта в заболевании, поэтому на сегодняшний день он классифицируется как вариант неопределенного значения.

В результате рестрикционного анализа нами не было выявлено других носительниц варианта с.5624A>C в гене *BRCA2* кроме носительницы, обнаруженной в ходе таргетного секвенирования. У данной пациентки установлен диагноз серозная аденокарцинома высокой степени злокачественности, а также сопутствующий диагноз рак тела матки. Манифестация заболевания произошла в постменопаузальный период. Кроме того, у женщины установлен отягощенный семейный анамнез по раку яичников. У данной пациентки также была обнаружена мутация с.1299T>G в гене *MSH6*, приводящая к преждевременной остановке трансляции.

Миссенс вариант с.3968A>G приводит к замене лизина на аргинин в 1323 позиции кодируемой белковой последовательности. Данный вариант был впервые обнаружен нами при таргетном секвенировании. Анализ *in silico* прогнозирует, что данное изменение не приведет к существенным нарушениям функции белка. Кроме того, описываемый миссенс-вариант локализован в регионе BRC-повторов, являющимся «холодным» регионом в гене *BRCA2*, что также снижает вероятность того, что данное изменение является патогенным (Dines et al., 2020). Тем не менее отсутствие функциональных и клинических исследований не позволяют однозначно установить роль варианта с.3968A>G в развитии заболевания.

Скрининг варианта с.3968A>G на расширенной выборке больных РЯ (n=219), больных с клиническими признаками НРЯ (n=94) и контроля (n=317) не выявил дополнительных носительниц данного изменения. Пациентка, у которой в результате таргетного секвенирования обнаружен описываемый вариант, является представительницей татарской этнической группы. Манифестация заболевания произошла в период постменопаузы. Помимо РЯ у пациентки диагностирован рак Педжета левой молочной железы. Женщина

также является носителем вариантов с.1492G>A/*MRE11* и с.1912T>C/*NBN*.

Скрининг вариантов с.1492G>A и с.1480G>A в гене MRE11

Вариант с.1492G>A локализован в 12 экзоне гена *MRE11*. Замена гуанина на аденин в 1492 положении согласно кДНК на аминокислотном уровне приводит к замене аспарагиновой кислоты на аспарагин в 498 положении. Данное изменение присутствует в базе данных gnomAD с частотой 0,007%. На сегодняшний день в литературных источниках не описаны случаи носительства описываемого ДНК-локуса в связи с заболеваниями. Результаты анализа *in silico* носят противоречивый характер. Три из шести алгоритмов, предсказывающих влияние миссенс-вариантов на структуру и функцию белка, прогнозируют вероятно патогенный характер данного изменения. Таким образом, на сегодняшний день изменение нуклеотидной последовательности с.1492G>A классифицируется как вариант неопределенного значения.

Скрининг варианта с.3968A>G на расширенной выборке больных РЯ (n=219), больных с клиническими признаками НРЯ (n=94) и контроля (n=317) не выявил других носительниц изменения. Носительница варианта с.1492G>A, обнаруженная в ходе таргетного секвенирования, по этнической принадлежности татарка. Диагностирование заболевания произошло в период постменопаузы. Женщина имеет сопутствующий диагноз рак Педжета левой молочной железы. Наряду с описанным вариантом у женщины также зарегистрированы изменения нуклеотидной последовательности с.1912T>C в гене *NBN* и с.3968A>G в гене *BRCA2*.

Миссенс вариант с.1480G>A, расположенный в 12 кодирующем экзоне гена *MRE11A*, приводит к замене глутаминовой кислоты на лизин в 494 положении белка *MRE11* (p.Glu494Lys). Три из шести алгоритмов, предсказывающих влияние миссенс-вариантов на структуру и функцию белка,

прогнозируют вероятно патогенный характер данного изменения, однако эти прогнозы не были подтверждены функциональными исследованиями (Couch et al., 2015). Вариант с.1480G>A был зарегистрирован у лиц, страдающих РМЖ в двух независимых исследованиях. В исследовании, проведенном консорциумом по изучению тройного негативного РМЖ этот вариант был обнаружен у 2 из 1824 женщин с ТНРМЖ без учета семейного анамнеза РМЖ и/или РЯ (Couch et al., 2015). Позже данное изменение было выявлено у 1/287 пациентки с РМЖ, имеющей в семейном анамнезе случай заболевания РЯ (Saminsky et al., 2016). Однако авторы работ не делают однозначных выводов об ассоциации варианта с.1480G>A с развитием РМЖ, поэтому на сегодняшний день он классифицируется как вариант неопределенного значения.

В проведенном нами исследовании среди больных РЯ (n=219), больных с клиническими признаками НРЯ (n=94) и здоровых доноров (n=317) миссенс-вариант с.1480G>A был идентифицирован у одной пациентки с признаками НРЯ (1,06%) в гетерозиготном состоянии во время таргетного секвенирования. По этнической принадлежности носительница описываемого изменения татарка. Согласно клиническим данным у женщины в период постменопаузы диагностирован редкий агрессивный тип РЯ – недифференцированная карцинома с метастазами в печень и тазовые лимфоузлы. Среди родственников пациентки был зарегистрирован случай заболевания раком эндометрия.

Скрининг вариантов с.985G>A и с.1187G>A в гене MUTYH

Замена гуанина на аденин в 985 положении, согласно кДНК, приводит к консервативной аминокислотной замене валина на метионин в кодируемой белковой последовательности (p.Val329Met). Алгоритмы, разработанные для прогнозирования влияния миссенс-изменений на структуру и функцию белка имеют противоречивые результаты. Пять из шести инструментов *in silico*

предсказывают, что данный вариант не влияет на функцию белка *MUTYH*, однако для исключения патогенности необходимо проведение функциональных исследований. В литературе вариант с.985G>A был идентифицирован у лиц, страдающих плоскоклеточным раком головы и шеи (Gorgens et al., 2007), папиллярным раком щитовидной железы (Greidinger et al., 2020), колоректальным раком (Ricci et al., 2017; Li et al., 2019), синдромом Линча (Yurgelun et al., 2015) и РМЖ (Dorling L., 2021). Однако авторы работ не делают однозначных выводов об ассоциации данного изменения с заболеваниями.

В результате скрининга нами не было выявлено других носительниц варианта с.985G>A в гене *MUTYH* кроме носительницы, обнаруженной в ходе таргетного секвенирования. По этнической принадлежности носительница варианта башкирка. Согласно клиническим данным, у пациентки в период постменопаузы диагностирована серозная аденокарцинома высокой степени злокачественности. Помимо мутации в гене *MUTYH*, у женщины выявлена нонсенс мутация с.1299T>G в гене *MSH6*. В ходе сбора анамнеза было установлено, что сестра пациентки также страдает РЯ.

Замена гуанина на аденин в 1187 положении кДНК (p.Gly396Asp) приводит к неконсервативной аминокислотной замене глицина на аспарагиновую кислоту в гидролазном домене NUDIX кодируемой белковой последовательности. В экспериментах *in vitro* было показано, что мутантный белок проявлял значительно сниженную активность ДНК-гликозилазы (Parker et al., 2005), а также приводил к значительному снижению эффективности эксцизионной репарации оснований (BER) по сравнению с диким типом (Plotz et al., 2012; Ruggieri et al., 2013).

Миссенс-вариант с.1187G>A хорошо описан в литературе как один из двух наиболее распространенных патогенных вариантов в гене *MUTYH*, связанных не менее чем с 90% случаев *MUTYH*-ассоциированного полипоза у лиц европейского происхождения (Aretz et al., 2014; Yurgelun et al., 2017;

DeRycke et al., 2017; Kidambi et al., 2018; Sutcliffe et al., 2019). В одном исследовании также была установлена ассоциация данного изменения с РМЖ. В работе Rennert показано, что у сефардских еврейских женщин с мутацией с.1187G>А риск развития РМЖ был в 1,86 выше, чем у женщин не несущих данное изменение (Rennert et al., 2012). Однако о носителях данного изменения среди больных РЯ ранее не сообщалось.

В результате проведенного нами исследования были обнаружены четыре носительницы данного варианта – в группе больных спорадическим РЯ 1/219 (0,45%), в группе с клиническими признаками НРЯ, выявленной в ходе таргетного секвенирования 1/94 (1,06%) и две носительницы среди здоровых индивидов 2/317 (0,63%). По этнической принадлежности женщины с вариантом с.1187G>А в гене *MUTYH* принадлежат к разным группам: русские – 75%, башкиры–25%. У одной пациентки в период постменопаузы установлен диагноз умереннодифференцированная серозная цистаденокарцинома яичников с метастазами в сальник и наличием опухолевых эмболов в сосудах. У другой носительницы данного изменения в пременопаузе диагностирована папиллярная аденокарцинома яичников. Одна носительница из контрольной группы имеет отягощенный онкологический семейный анамнез.

Скрининг варианта с.2149C>T в гене ATM

Вариант с.2149C>T, расположенный в 14 кодирующем экзоне гена *ATM*, на аминокислотном уровне приводит к замене аргинина на триптофан в 717 положении кодируемой аминокислотной последовательности. Данные аминокислоты обладают разными физико-химическими свойствами, и три из шести инструментов, предсказывающих влияние миссенс мутаций на функцию белка прогнозируют, что вариант с.2149C>T может влиять на структуру и функции белка *ATM*.

В литературе данный вариант был описан в различных этнических группах у лиц с ЗНО различных локализаций, включая рак поджелудочной железы (Chou et al., 2016), РМЖ (Tung et al., 2015; Girard et al., 2019; Kaneyasu et al., 2020; Dorling L., 2021; Lerner-Ellis et al., 2021; Mittal et al., 2022), лейкемию (Tiao et al., 2017) и колоректальный рак (Staninova-Stojovska et al., 2019). Однако о случаях носительства данного варианта среди больных РЯ ранее не сообщалось.

В проведенном нами исследовании среди больных спорадическим РЯ (n=219), больных с клиническими признаками НРЯ (n=94) и здоровых доноров (n=317) данный вариант был идентифицирован у одной пациентки русской этнической принадлежности с клиническими признаками НРЯ (1,06 %) в гетерозиготном состоянии во время таргетного секвенирования. При обследовании у женщины диагностирована серозная цистаденокарцинома со множественными метастазами. Женщина также является носительницей патогенной мутации c.3700_3704delGTAAA в гене *BRCA1*.

Скрининг варианта c.315G>C в гене PALB2

Миссенс-вариант c.315G>C (p.Glu105Asp) в гене *PALB2* приводит к аминокислотной замене глутаминовой кислоты на аспарагиновую кислоту в 105 позиции кодируемой белковой последовательности. Остаток глутаминовой кислоты умеренно консервативен в данном положении и четыре из шести инструментов *in silico* прогнозируют, что данное изменение не приведет к нарушению функции белка *PALB2*, однако функциональные исследования не проводились.

Данный вариант был описан у лиц, страдающих РМЖ и/или РЯ в различных популяциях. Так, в работе Momozawa данное изменение было выявлено у 7 /7051 пациенток с РМЖ и у 5/11241 женщин из контрольной группы японского происхождения (Momozawa et al., 2018). Данный вариант был также выявлен у 46-летней пациентки с РМЖ и РЯ из Сербии. Женщина

имела отягощенный анамнез по РМЖ, а также являлась носителем патогенного варианта в гене *BRCA1* (с.1054G>T, р.Glu352*) (Krivokuca et al., 2019). В результате исследования по типу «случай-контроль», проведенного Консорциумом по изучению РМЖ, миссенс-вариант с.315G>C был обнаружен у 4/60466 пациенток РМЖ и 1/53461 женщины из контрольной группы (Dorling L. et al., 2021). Интересно отметить, что в литературе не описаны случаи носительства данного варианта у больных другими онкопатологиями, кроме РМЖ/РЯ.

В результате скрининга нами не было выявлено других носительниц варианта с.315G>C в гене *PALB2* кроме носительницы, обнаруженной в ходе таргетного секвенирования. По этнической принадлежности носительница изменения русская. Согласно клиническим данным, у женщины диагностирована эндометриоидная карцинома яичников. Манифестация заболевания произошла в период постменопаузы. У пациентки не выявлено других патогенных изменений нуклеотидной последовательности.

Скрининг вариантов с.429G>A и с.1912T>C в гене NBN

Замена гуанина на аденин в 429 положении, согласно кДНК, приводит к замене триптофана на терминирующий кодон, в результате чего синтезируется укороченный белковый продукт. Данный вариант был впервые обнаружен нами при таргетном секвенировании. Некоторые исследования показывают, что нарушения в гене *NBN* могут быть ассоциированы с РЯ (Walsh et al, 2011, Ramus et al, 2015, Kurian et al, 2017, Koczkowska et al, 2018, Krivokuca et al, 2019). Однако поскольку в литературе отсутствуют сведения о данном изменении, его роль в развитии заболевания не установлена.

В проведенном нами исследовании среди больных РЯ (n=219), НРЯ (n=94) и здоровых доноров (n=317) данная нонсенс-мутация была идентифицирована у одной пациентки с клиническими признаками наследственного РЯ (1,06 %) в гетерозиготном состоянии во время таргетного

секвенирования. Согласно клиническим данным, у пациентки диагностирована серозная аденокарцинома высокой степени злокачественности на III стадии опухолевого процесса.

Миссенс вариант с.1912Т>С (p.Ser638Pro) приводит к неконсервативной аминокислотной замене серина на пролин в 638 положении кодируемой белковой последовательности. Исследуемый вариант расположен в домене связывания белка MRE11 и описан как соматическое событие при внутрипеченочной холангиокарциноме. Было высказано предположение, что данное изменение может нарушать связывание MRE11 с NBN и таким образом изменять функцию комплекса MRN (Wang et al., 2013).

Данное изменение было обнаружено в нескольких независимых исследованиях у женщин, страдающих РМЖ и/или РЯ. Так, в результате таргетного секвенирования 481 образца ДНК пациенток с РМЖ из Китая вариант с.1912Т>С был идентифицирован у одной пациентки с семейным РМЖ/РЯ (Wang J. et al., 2019). Позже Lerner-Ellis провели аналогичное по дизайну исследование на 3251 образце ДНК женщин с семейными формами РМЖ/РЯ, в результате которого миссен-вариант с.1912Т>С был обнаружен у одной пациентки с РЯ из Канады (Lerner-Ellis et al., 2021). В результате широкомасштабного исследования в дизайне случай-контроль, проведенного Консорциумом по изучению РМЖ, вариант с.1912Т>С был идентифицирован по крайней мере у пяти человек с РМЖ, однако также встречался среди лиц контрольной группы (Dorling et al., 2021). Данный вариант был также зарегистрирован у одного человека, страдающего колоректальным раком и раком легких, однако авторы не делают однозначных выводов об ассоциации описываемого ДНК-локуса с синдромом Неймегена (Yurgelun et al., 2017).

В результате скрининга нами не было выявлено других носительниц варианта с.1912Т>С в гене *NBN* кроме носительницы, обнаруженной в ходе таргетного секвенирования. По этнической принадлежности носительница описываемого изменения татарка. Диагностирование заболевания произошло

в период постменопаузы. Женщина имеет сопутствующий диагноз рак Педжета левой молочной железы. Наряду с описанным вариантом пациентка также является носителем других изменений неопределенной клинической значимости – с.1492G>A в гене *MRE11* и с.3968A>G в гене *BRCA2*.

Скрининг варианта с.1967_1969dupGTC в гене BARD1

В ходе проведенного нами таргетного секвенирования в 10-м экзоне гена *BARD1* был обнаружен неописанный ранее вариант с.1967_1969dupGTC, приводящий к добавлению одной аминокислоты p. (Gly656_Pro657insArg).

В проведенном нами исследовании среди больных спорадическим РЯ (n=219), больных с клиническими признаками НРЯ (n=94) и здоровых доноров (n=317) вариант с.1967_1969dupGTC был идентифицирован у одной пациентки с признаками НРЯ (1,06 %) в гетерозиготном состоянии во время таргетного секвенирования. Носительница изучаемого варианта по этнической принадлежности является татаркой. Согласно клиническим данным, у женщины в период пременопаузы диагностирована низкодифференцированная цистаденокарцинома яичника. У носительницы данного варианта не обнаружено зародышевых мутаций в высокопенетрантных генах *BRCA1* и *BRCA2*.

Полученные нами результаты свидетельствуют о низкой частоте встречаемости редких аллелей 15 изученных вариантов нуклеотидной последовательности в группе больных РЯ и контроля из республики Башкортостан, что согласуется с данными, представленными в базах 1000 Genomes, ALFA, gnomAD-Exomes. Интересно отметить, что патогенный вариант с.3700_3704delGTAAA в гене *BRCA1*, описанный как повторяющийся вариант у лиц из Восточной Европы (Foretova et al., 2004; Foretova et al., 2010; Schneegans et al., 2012; de Juan Jimenez et al., 2013; Ratajska et al., 2015), в нашем исследовании был выявлен лишь у одной пациентки в общей выборке больных РЯ. Тем не менее, полученные нами данные о распространённости данного

варианта среди больных РЯ согласуются с результатами, полученными другими российскими исследователями (Kechin et al., 2023). Вариант с.1187G>A в гене *MUTYH* примерно с одинаковой частотой встречался в группе больных РЯ и контроля из Республики Башкортостан, что противоречит данным о патогенности этого изменения согласно Clinvar. Таким образом, для уточнения роли варианта с.1187G>A в гене *MUTYH* в развитии РЯ у женщин из Республики Башкортостан необходимо проведение репликативных исследований на расширенной выборке.

3.3 Клинико-морфологическая картина наследственного рака яичников

Для изучения особенностей клинического течения и молекулярно-генетических характеристик пациентки были распределены на 2 группы (таблица 8).

Таблица 8 – Группы пациенток с диагнозом «рак яичников», включенные в исследование

Основная группа, N=16	Группа сравнения, N=32
Больные с клиническими признаками НРЯ с идентифицированными патогенными/вероятно патогенными вариантами (PVs/LPVs)	Больные с клиническими признаками НРЯ без клинически значимых мутаций

Ранний возраст проявления заболевания является важной особенностью, на которую должен обратить внимание врач при первичном осмотре пациента. Согласно литературным данным, РЯ ассоциированный с герминальными мутациями в гене *BRCA1* манифестирует на 5-10 лет раньше спорадических форм заболевания (Kentwell, 2017).

Средний возраст манифестации опухолевого процесса пациенток с герминальными нарушениями составил – $52,7 \pm 9,3$ лет, а в группе без герминальных нарушений – $54,0 \pm 13,6$ лет (таблица 9). У носительниц герминальных мутаций в генах *BRCA1/BRCA2* средний возраст манифестации заболевания был несколько ниже и составил $51,7 \pm 8,9$ года. Тогда как у женщин с иными нарушениями в генах репарации ДНК кроме генов *BRCA1/BRCA2* он составил $57 \pm 11,5$. Однако проведенный дисперсионный анализ не выявил статистически значимых различий между группами ($p > 0,05$).

Таблица 9 – Возраст манифестации заболевания у пациентов с признаками НРЯ

Форма заболевания		n=48	Средний возраст манифестации заболевания M±Sd
с герминальными PVs\LPVs	<i>BRCA</i> -ассоциированный РЯ	13	$51,7 \pm 8,9$
	<i>BRCA1</i> -ассоциированный РЯ	12	$51,4 \pm 9,3$
	Опухоли с мутациями в генах репарации ДНК (кроме генов <i>BRCA1/2</i>)	3	$57 \pm 11,5$
без герминальных PVs\LPVs		32	$54,0 \pm 13,6$

Повозрастной анализ показал, что в молодом возрасте (18-44 года) частота пациенток с герминальными мутациями была незначительно ниже, чем в группе пациенток без клинически значимых вариантов ($17,65\%$ vs $19,35\%$) и статистически значимых различий между группами обнаружено не было ($p=0,81$) (таблица 10). В возрастной группе 45-59 лет (лица среднего возраста) больных с патогенными/вероятно патогенными вариантами было на $22,77\%$ больше, чем в группе сравнения ($50,91 \pm 6,74\%$ и $30,88 \pm 5,6\%$), однако различия не достигли уровня статистической значимости. Напротив, в группе

лиц пожилого возраста (60-74 года), пациенток без герминальных нарушений было в 3,2 раза больше, чем в группе сравнения (40,6% и 12,5%), различия также оказались статистически не значимы. Возраст манифестации заболевания в зависимости от выявленных герминальных патогенных и вероятно патогенных вариантов нуклеотидных последовательностей представлен в таблице.

Таблица 10 – Распределение больных по основным возрастным группам

Возраст	N	с герминальными PVs\LPVs		без герминальных PVs\LPVs		P
		n	$p \pm s_p$ CI, %	n	$p \pm s_p$ CI	
18-44	9	3	18,75±9,76 (4,05-45,65)	6	18,75±6,90 (7,21-36,44)	0,9
45-59	24	11	68,75±11,59 (41,34-88,98)	13	40,63±8,68 (23,70-59,36)	0,12
60-74	15	2	12,50±8,27 (1,55-38,35)	13	40,63±8,68 (23,70-59,36)	0,09

В целом, полученные нами данные согласуются с результатами исследований российских авторов (Виллерт, 2022; Фаисханова, 2021, Журман, 2022). В настоящем исследовании средний возраст установления диагноза у носительниц герминальных патогенных вариантов в гене *BRCA1* составил 51,4 года, тогда как в аналогичных работах он варьировал в диапазоне от 52,3 до 52,95 лет (Виллерт, 2022; Фаисханова, 2021, Журман, 2022). Поскольку в нашем исследовании была обнаружена лишь одна носительница патогенного варианта в гене *BRCA2*, нам не удалось установить средний возраст манифестации заболевания при *BRCA2*-ассоциированном РЯ.

Одной из особенностей рака яичников является бессимптомное течение заболевания. Это приводит к тому, что в 70-80% случаев больные обращаются за медицинской помощью, находясь на III-IV стадии заболевания.

В настоящем исследовании у 33/48 пациенток заболевание было выявлено на поздних стадиях (III-IV) опухолевого процесса. В группе пациенток без герминальных мутаций РЯ чаще выявлялся на ранних стадиях заболевания (I-II стадии) по сравнению носительницами патогенных вариантов изученных генов ($17,65 \pm 9,25\%$ vs $38,71 \pm 8,75\%$). Напротив, пациентки с поздними стадиями заболевания (III-IV) чаще встречались среди больных с герминальными мутациями по сравнению с женщинами без клинически значимых изменений в генах ($81,25 \pm 9,76\%$ vs $62,5 \pm 8,56\%$) (таблица 11). Тем не менее, достоверных различий по степени распространенности опухолевого процесса в сравниваемых группах обнаружено не было.

Таблица 11 – Распределение больных РЯ по стадиям заболевания

Стадия опухолевого процесса	с герминальными PVs\LPVs, N=17		без герминальных PVs\LPVs, N=31		Р точный критерий Фишера
	n	$p \pm s_p$ CI, %	n	$p \pm s_p$ CI, %	
I	2	$12,50 \pm 8,27$ (1,55-38,35)	6	$18,75 \pm 6,90$ (7,21-36,44)	0,9
II	1	$6,25 \pm 6,05$ (0,16-30,23)	6	$18,75 \pm 6,90$ (7,21-36,44)	0,48
III	13	$81,25 \pm 9,76$ (54,35-95,95)	19	$59,38 \pm 8,68$ (40,64-76,30)	0,23
IV	-	-	1	$3,13 \pm 3,08$ (0,08-16,22)	0,9

Гистотип опухоли является важным прогностическим фактором течения заболевания и играет важную роль в персонализированном подходе к лечению РЯ (Савинова и др., 2016). Согласно литературным данным, у больных с

наследственными формами РЯ доминирующим гистотипом является серозная аденокарцинома высокой степени злокачественности (Hodgson et al., 2020).

В настоящем исследовании низкодифференцированная серозная аденокарцинома была диагностирована у 30/48 (62,50±6,99%) пациенток. При этом, данный гистологический тип достоверно чаще диагностировали у пациенток с герминальными мутациями по сравнению с женщинами без патогенных/вероятно патогенных вариантов – 87,50±8,27 vs 50,00±8,84, $p=0,022$. Недифференцированная аденокарцинома была выявлена у 1 пациентки с герминальными нарушениями в генах репарации ДНК (6,25±6,05%) и у 2 пациенток без клинически значимых вариантов исследованных генов (6,25±4,28%). Частота встречаемости пациенток с муцинозной карциномой была несколько выше в группе больных без патогенных/вероятно патогенных вариантов в изученных генах, чем в группе больных с герминальными PVs\LPVs (12,50±5,85% vs 6,25±6,05), однако различия оказались статистически не значимы.

Кроме того, в группе больных РЯ без герминальных PVs\LPVs с низкой частотой встречались пациентки с серозной карциномой низкой степени злокачественности (6,25±4,28%), эндометриоидной карциномой (3,13±3,08%), смешанной эпителиальной карциномой (6,25±4,28%), светлоклеточной карциномой (3,13±3,08%), переходно-клеточным РЯ (3,13±3,08%), злокачественной опухолью Бреннера (3,13±3,08%), а также опухолью полового тяжа (6,25±4,28%) (таблица 12).

Таблица 12 – Распределение больных по гистологическим типам РЯ

	с герминальными PVs\LPVs		без герминальных PVs\LPVs	
	n	$P \pm S_p$ CI, %	n	$P \pm S_p$ CI, %
серозная карцинома высокой степени злокачественности	14	87,50±8,27 (61,65-98,45)	16	50,00±8,84 (31,89-68,11)
серозная карцинома низкой степени злокачественности	–	–	2	6,25±4,28 (0,77-20,81)
эндометриоидная карцинома	–	–	1	3,13±3,08 (0,08-16,22)
недифференцированная карцинома	1	6,25±6,05 (0,16-30,23)	2	6,25±4,28 (0,77-20,81)
муцинозная карцинома	1	6,25±6,05 (0,16-30,23)	4	12,50±5,85 (3,51-28,99)
смешанная эпителиальная карцинома	–	–	2	6,25±4,28 (0,77-20,81)
светлоклеточная карцинома	–	–	1	3,13±3,08 (0,08-16,22)
переходно-клеточный	–	–	1	3,13±3,08 (0,08-16,22)
опухоль Бреннера	–	–	1	3,13±3,08 (0,08-16,22)
неэпителиальный рак	–	–	2	6,25±4,28 (0,77-20,81)

Установлено, что женщины с семейной историей РЯ, РМЖ, рака поджелудочной железы, колоректального рака и других локализаций могут быть подвержены повышенному риску развития РЯ (Negri et al., 2003). Наличие в семье множественных случаев онкологических заболеваний может являться следствием унаследованной герминальной мутации, вызывающей «синдром семейного рака». По этой причине изучение семейного анамнеза является первым этапом обследования больного с подозрением на наследственный характер заболевания.

Анализ семейной истории заболевания больных, вошедших в исследование, показал, что 43,8% пациенток имелиотягощенный семейный

онкологический анамнез. Установлено, что у пациенток с герминальными мутациями в анамнезе достоверно чаще встречаются родственники 1 и 2 степени родства, страдающие онкологическими заболеваниями, по сравнению с больными РЯ без клинически значимых изменений в исследованных генах ($68,75 \pm 11,59\%$ vs $31,25 \pm 8,19\%$, $p=0,03$) (таблица 13).

Таблица 13 – Семейная история заболевания у больных с признаками НРЯ

Тип рака яичников	Степени родства				p, критерий Фишера
	1 степени родства		2 степени родства		
	n	%	n	%	
с герминальными PVs\LPVs	9	$56,25 \pm 12,40$ (29,88-80,25)	2	$12,50 \pm 8,27$ (1,55-38,35)	0,03
без герминальных PVs\LPVs	8	$25,00 \pm 7,65$ (11,46-43,40)	2	$6,25 \pm 4,28$ (0,77-20,81)	

Кроме того, пациентки, имеющие родственников 1-ой степени родства с онкологическим анамнезом, в 2 раза чаще встречались среди носительниц герминальных патогенных/вероятно патогенных вариантов, чем в группе без таковых, однако различия не достигли уровня статистической значимости ($p=0,07$).

Среди нозологических форм в семьях пациенток с герминальными вариантами наиболее часто встречались РЯ (6/11), РМЖ (4/11) и колоректальный рак (2/11). В единичных случаях отмечены рак гортани, гемобластоз, рак поджелудочной железы, рак печени и рак желудка. 5/11 пациенток имели 2 и более родственников, страдающих онкологическим заболеванием.

В группе пациенток без идентифицированных герминальных PVs\LPVs случаи заболевания РМЖ в семейном анамнезе отмечены у 5/10, РЯ/колоректальный рак – 1/10, рак легких – (2/10), рак желудка – (2/10), рак

матки – (1/10), рак поджелудочной железы – (1/10), лейкоз – (1/10). 4/10 имели двух и более родственников с онкологическим анамнезом.

Анализируя полученные результаты, можно сделать вывод, что наличие в семейном анамнезе родственников 1 и 2 степени родства с РМЖ, РЯ и колоректальным раком является основанием для проведения молекулярно-генетического анализа. Тем не менее нельзя исключать, что некоторые наследственные синдромы могут проявляться в виде злокачественных опухолей и других локализаций.

Наличие полинеоплазий является важным диагностическим признаком наследственного рака яичников. В настоящем исследовании первично-множественные опухоли различных локализаций были выявлены у 9/48 (18,8%) пациенток: 5 из них относились к пациенткам с герминальными PVs\LPVs, 4 – без них. Согласно проведенному анализу, частота встречаемости пациенток с полинеоплазиями была на 16,5% выше среди носительниц герминальных патогенных и вероятно патогенных вариантов чем в группе сравнения (таблица 14). Однако ввиду небольшого размера выборки различия не достигли уровня статистической значимости ($p > 0,05$).

Таблица 14 – Первично-множественные опухоли у больных с признаками НРЯ

Полинеоплазии	Группы пациентов				p, критерий Фишера
	с герминальными PVs\LPVs		без герминальных PVs\LPVs		
	n	%	n	%	
Есть	5	31,25±11,59 (11,02-58,66)	4	12,50±5,85 (3,51-28,99)	0,24
Нет	11	68,75±11,59 (41,34-88,98)	28	87,50±5,85 (71,01-96,49)	

У 4 из 5 пациенток с полинеоплазиями из группы с выявленными герминальными PVs\LPVs вторая опухоль была представлена РМЖ. Из них у одной пациентки зафиксировано 3 злокачественных новообразования: рак

яичников, рак молочной железы, рак шейки матки. У 1 пациентки из данной группы наряду с РЯ был обнаружен рак тела матки. Тогда как в группе пациенток без герминальных PVs\LPVs первично-множественные опухоли были представлены различными нозологиями: рак поджелудочной железы, РМЖ, рак поперечной ободочной кишки, рак шейки матки. Таким образом, РМЖ чаще обнаруживался в качестве второй опухоли в группе пациенток с выявленными герминальными мутациями ($23,53 \pm 10,29\%$), чем в группе сравнения ($3,23 \pm 3,17\%$), однако различия не достигли уровня статистической значимости ($p=0,09$).

Метастазирование опухоли тесно связано с неблагоприятным прогнозом и является основной причиной смерти больных РЯ. В подавляющем большинстве случаев прогрессия РЯ осуществляется путем прямой миграции опухолевых клеток яичников в брюшную полость и сальник через перитонеальную жидкость (Yousefi et al., 2020). Отдаленные метастазы чаще всего поражают печень, забрюшинные лимфатические узлы, плевру и легкие (Gardner et al., 2020).

На момент постановки диагноза метастазы за исключением имплантационных метастазов по брюшине и большому сальнику, были выявлены у $29,03 \pm 8,15\%$ пациенток без герминальных мутаций и у $35,29 \pm 11,59\%$ больных РЯ с герминальными нарушениями в генах репарации ДНК ($p=0,99$) (таблица 15).

Вторичные очаги в печени с одинаковой частотой обнаруживались среди пациенток с PVs\LPVs и без них ($12,50 \pm 8,27$ vs $12,50 \pm 5,85$, $p=0,99$). Интересно отметить, что метастазы в печени были выявлены лишь у носительниц мутации c.5266dupC в гене *BRCA1* и не встречались у носительниц других герминальных вариантов. Метастазы в забрюшинных лимфоузлах в 2 раза чаще выявлялись среди носительниц герминальными PVs\LPVs по сравнению с пациентками без клинически значимых вариантов в исследованных генах ($25,00 \pm 10,83\%$ и $12,50 \pm 5,85\%$, соответственно), однако

различия не достигли уровня статистической значимости ($p=0,34$). В группе пациенток без герминальных PVs\LPVs также были установлены случаи метастазирования в мягкие ткани (12,5%), а также специфический плеврит в единичном случае.

Таблица 15 – Частота встречаемости отдаленных метастазов у больных с признаками НРЯ

Локализация	с герминальными PVs\LPVs			без герминальных PVs\LPVs		p, критерий Фишера
	n	$p \pm s_p$ CI	Локусы мутаций			
Печень	2	12,50±8,27 (1,55-38,35)	<i>BRCA1</i> с.5266dupC	4	12,50±5,85 (3,51-28,99)	0,99
Плевра	–	–	–	1	3,13±3,08 (0,08-16,22)	–
Мягкие ткани	–	–	–	4	12,50±5,85 (3,51-28,99)	–
Забрюшинные лимфоузлы	4	25,00±10,83 (7,27-52,38)	<i>BRCA1</i> с.3143delG <i>NBN</i> с.429G>A <i>BRCA1</i> с.5266dupC	4	12,50±5,85 (3,51-28,99)	0,34
Всего	5	31,25±11,59 (11,02-58,66)		10	31,25±8,19 (16,12-50,01)	0,99

Степень дифференцировки является важной морфологической характеристикой опухоли, отражающей степень ее злокачественности. Наиболее агрессивным течением и плохим прогнозом обладают злокачественные новообразования 3 и 4 степени дифференцировки.

В настоящем исследовании степень дифференцировки опухоли гистологически удалось установить у 39/48 пациенток, включенных в

исследование. Проведенный анализ показал, что в группе больных РЯ с идентифицированными патогенными/вероятно патогенными вариантами чаще выявлялись пациентки с низко/недифференцированными опухолями ($87,50 \pm 8,27\%$), чем в группе сравнения ($60,87 \pm 10,18\%$), однако различия оказались статистически незначимы ($p > 0,05$) (таблица 16). При отдельном рассмотрении BRCA-ассоциированных форм РЯ нами были получены статистически значимые различия. У пациенток с идентифицированными мутациями в генах *BRCA1/2* достоверно чаще обнаруживались опухоли с низкой степенью дифференцировки, по сравнению с пациентками без выявленных герминальных мутаций (100% vs $60,87 \pm 10,18\%$, $p = 0,017$).

Таблица 16 – Распределение пациенток по степени дифференцировки опухоли

Степень дифференцировки	с герминальными PVs\LPVs N=17		без герминальных PVs\LPVs n=22		p, критерий Фишера
	n	$p \pm s_p$ 95% CI, %	n	$p \pm s_p$ 95% CI, %	
G1-G2	2	$12,50 \pm 8,27$ (1,55-38,35)	9	$39,13 \pm 10,18$ (19,71-61,46)	0,14
G3-G4	14	$87,50 \pm 8,27$ (61,65-98,45)	14	$60,87 \pm 10,18$ (38,54-80,29)	

Таким образом наши результаты показывают, что герминальные мутации в генах *BRCA1/2* ассоциированы с преимущественно серозным гистологическим типом и высокой степенью злокачественности опухоли, являются высокопенетрантными мутациями и, в целом, характерны для более агрессивных форм злокачественных новообразований яичников, что согласуется с литературными данными (Pietragalla et al., 2020).

3.4 Анализ показателей выживаемости у пациенток с идентифицированными патогенными вариантами

На момент анализа данных доля действительно живых пациенток составляла 52,1%. Частота живых пациенток в группе с выявленными герминальными патогенными и вероятно патогенными вариантами изученных генов была несколько выше, чем больных НРЯ без герминальных PVs и LPVs ($56,25 \pm 12,40\%$ vs $43,75 \pm 8,77\%$), однако различия не достигли уровня статистической значимости $p=0,6$ (рисунок 27).

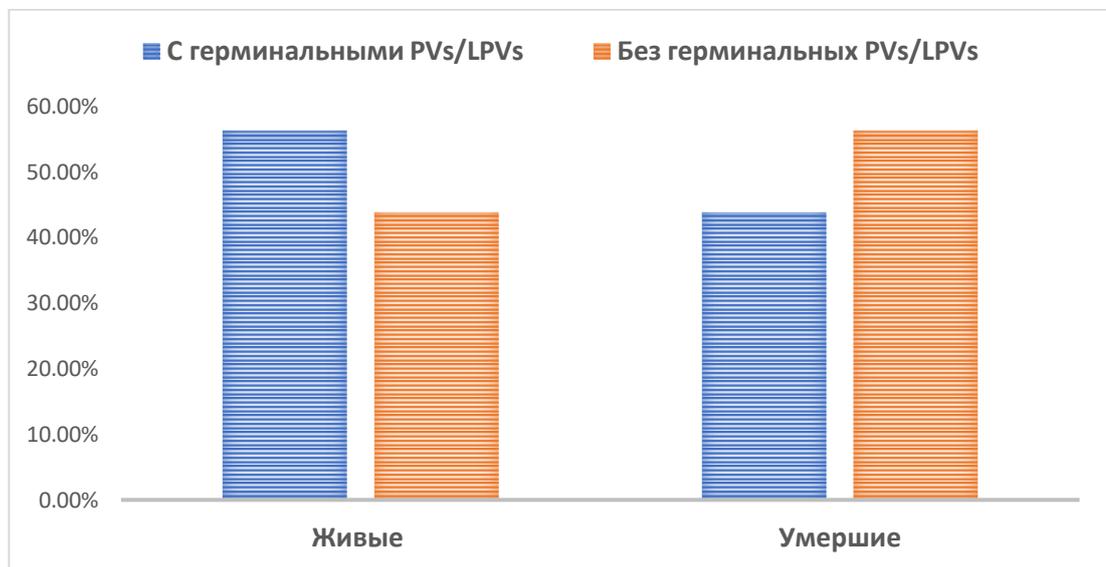


Рисунок 27 – Доля лиц живых и умерших на момент обработки полученных данных (с 2019 по 2023 гг)

При сравнении общей выживаемости женщин среди больных с выявленными герминальными патогенными/вероятно патогенными вариантами ($124 \pm 20,1$) и без них ($79,1 \pm 18,07$) статистически значимых различий выявлено не было ($p=0,12$) (рисунок 28).

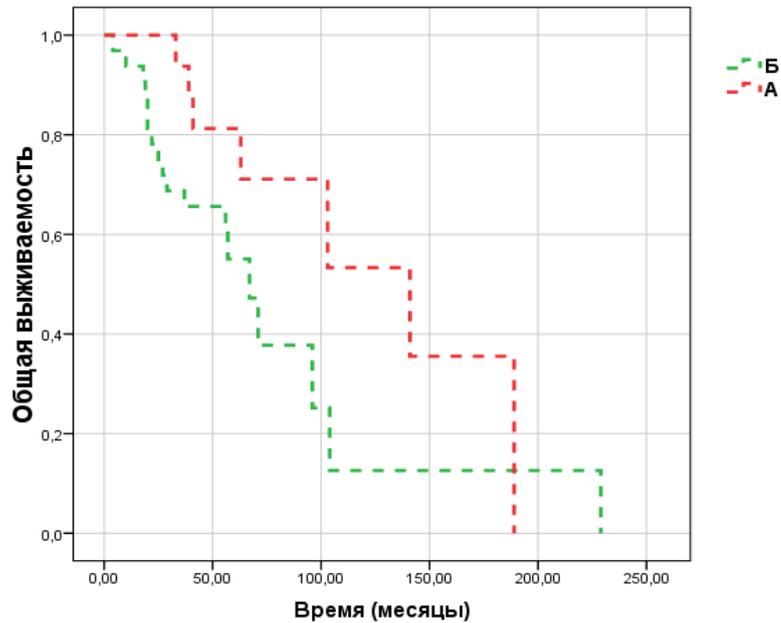


Рисунок 28 – Показатели общей выживаемости больных раком яичников с герминальными патогенными и вероятно патогенными вариантами (А) и без них (Б)

Общая выживаемость пациенток с герминальными мутациями в генах *BRCA1/2* и в генах со средней и низкой пенетрантностью была незначительно выше, чем в группе женщин без клинически значимых вариантов, однако различия также оказались статистически не значимы ($p=0,49$) (таблица 17).

Таблица 17 – Общая и безрецидивная выживаемость исследованных пациенток

Пациентки с раком яичников	Безрецидивная выживаемость, мес., N=48	Общая выживаемость, мес., N=48
Патогенные и вероятно патогенные варианты в генах	57,2±13,8	124±20,1
Патогенные и вероятно патогенные варианты в генах <i>BRCA1/2</i>	56,9±16,1	121±24,4
Патогенные и вероятно патогенные варианты в генах со средней и низкой пенетрантностью	73,0±26,5	141±0,0
Без патогенных и вероятно патогенных вариантов в изученных генах	58,9±6,4	79,1±18,07

На момент ретроспективного исследования за период с 2019 по 2023 годы рецидив РЯ был установлен у 26 пациенток из 48. В результате анализа общей и безрецидивной выживаемости у пациенток с рецидивным РЯ не было выявлено статистически значимых различий между группами больных РЯ с патогенными/вероятно патогенными вариантами в изученных генах и без них ($p>0,05$) (рисунок 29).

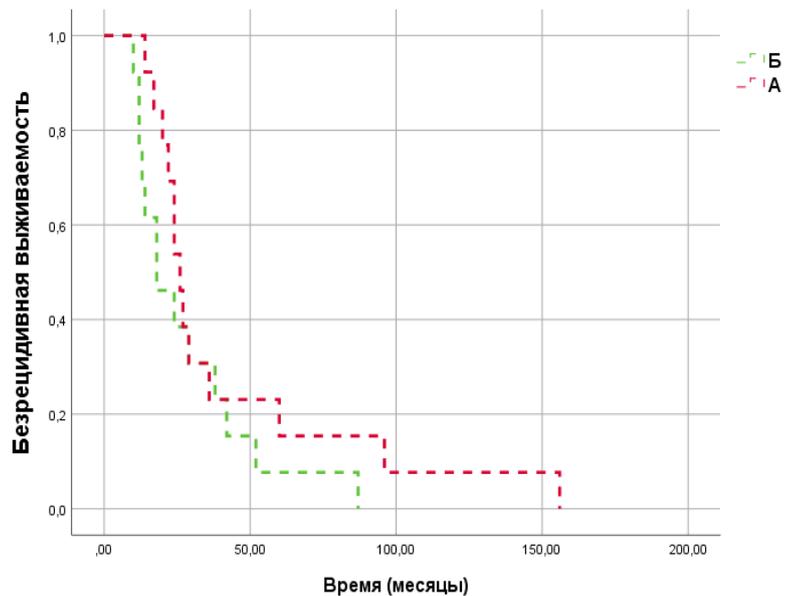


Рисунок 29 – Показатели безрецидивной выживаемости пациенток с рецидивным РЯ с герминальными PVs и LPVs (А) и без них (Б)

Общая выживаемость пациенток с рецидивным РЯ в группе с герминальными PVs и LPVs, а также в группе с идентифицированными мутациями в генах *BRCA1/2* лишь незначительно превышала общую выживаемость пациенток без клинически значимых изменений в изученных генах в группе пациенток ($p=0,3$). При этом наиболее длительный период общей выживаемости отмечался у носительниц клинически значимых вариантов в генах со средней и низкой пенетрантностью ($141,0\pm 0,0$ месяцев).

Наиболее высокие показатели безрецидивной выживаемости у женщин с рецидивным РЯ отмечены у носительниц герминальных PVs и LPVs в генах

со средней и низкой пенетрантностью (*MSH6*, *NBN*, *MUTYH*) ($61,5 \pm 34,5$ месяцев). Продолжительность безрецидивного периода была выше в группе пациенток с выявленными герминальными нарушениями в изученных генах, чем в группе без таковых, однако различия оказались статистически незначимы ($p=0,25$) (таблица 18).

Таблица 18 – Общая и безрецидивная выживаемость пациенток с рецидивным раком яичников

Пациентки с рецидивным раком яичников	Безрецидивная выживаемость, мес., N=26	Общая выживаемость, мес., N=26
Патогенные и вероятно патогенные варианты в генах	42,4±11,3	116,4±21,4
Патогенные и вероятно патогенные варианты в генах <i>BRCA1/2</i>	38,9±12,3	112,7±25,4
Патогенные и вероятно патогенные варианты в генах со средней и низкой пенетрантностью	61,5±34,5	141±0,0
Без патогенных и вероятно патогенных вариантов в изученных генах	28,4±6,1	80,2±19,4

Таким образом, в проведенном исследовании нам не удалось выявить статистические значимых различий показателей общей и безрецидивной выживаемости у больных РЯ с патогенными/вероятно патогенными герминальными вариантами и без них, что частично согласуется с результатами других исследователей. В отечественной и зарубежной литературе данные о влиянии мутационного статуса больных РЯ на прогноз заболевания противоречивы. Так в результате метаанализа, проведенного Ху К., было установлено, что носители мутаций в генах *BRCA1/2* имеют лучшие показатели как общей, так и безрецидивной выживаемости (Xu et al., 2017). Тогда как в недавно опубликованной работе De Jong D. показано, что мутационный статус генов *BRCA1/2* не влиял на эффективность химиотерапии

и общую выживаемость пациенток с распространенным серозным РЯ высокой степени злокачественности (De Jong D. et al., 2022). В результате диссертационного исследования Фаисхановой Р.Р. было обнаружено, что мутации в генах пути HR, а также в гене *BRCA1* были связаны с более продолжительным периодом безрецидивной, но не общей выживаемости (Фаисханова, 2021). Напротив, польские ученые заявили о лучших показателях общей выживаемости у носителей мутаций в гене *BRCA1*, тогда как безрецидивная выживаемость была примерно одинаковой в сравниваемых группах (Synowiec et al., 2016).

3.5 Анализ ассоциации 10 вариантов новых генов-кандидатов РЯ с риском развития заболевания

В рамках совместных исследований, проведенных с коллегами из Германии (Высшая медицинская школа, Ганновер), были выявлены новые локусы, потенциально ассоциированные с РЯ (rs117230607 в гене *ATP23*, rs144292904 в гене *ADPRH*, rs147006695 в гене *PON3*, rs17850034 в гене *USP45*, rs17879749 в гене *MMP1*, rs36007488 в гене *TBRG4*, rs61757718 в гене *PIK3C2G*, rs763243801 в гене *RGS20*, rs73052628 в гене *NRIP2*, rs201755391 в гене *PARP14*) (таблица 19).

С использованием технологии Fluidigm BioMark™ HD нами было проведено генотипирование 10 полиморфных локусов на выборке больных спорадическим РЯ (n=86), пациенток с признаками НРЯ (n=33) и женщин из контрольной группы (n=146) русской этнической принадлежности из Республики Башкортостан.

Таблица 19 – Полиморфные локусы и редкие варианты потенциальных генов-кандидатов РЯ

№ п/п	SNP ID	Ген	Генетический вариант	Позиция на хромосоме, локализация
1.	rs117230607	<i>ATP23</i>	g.58350618C>G, c.686C>G, p.Ala229Gly	Chr.12:58350618
2.	rs144292904	<i>ADPRH</i>	g.119306449G>A, c.798G>A, p.Trp266Ter	Chr.3:119306449
3.	rs147006695	<i>PON3</i>	g.95024007G>A, c.94C>T, p.Arg32Ter	Chr.7: 95024007
4.	rs17850034	<i>USP45</i>	g. 99930627A>G, c.847T>C, p.Trp283Arg	Chr.6: 99930627
5.	rs17879749	<i>MMP1</i>	g.102667448delA, c.573delA, p.Ile191fs	Chr.11:102667448
6.	rs36007488	<i>TBRG4</i>	g. 45148837delG, c.-1delG, p.Met12fs	Chr.7:45148837
7.	rs61757718	<i>PIK3C2G</i>	g.18800961G>C, c.4460G>C, p.Ter1487Ser	Chr.12:18800961
8.	rs763243801	<i>RGS20</i>	g.54792120delC, c.468delC, p.Arg157fs	Chr.13:54792120
9.	rs73052628	<i>NRIP2</i>	g.2943924G>A, c.226C>T, p.Arg76Ter	Chr.12:2943924
10.	rs201755391	<i>PARP14</i>	g.122404166G>A, c.321+1G>A	Chr.3:122404166

Скрининг ДНК-локуса *rs17850034* гена *USP45* в группе больных РЯ и здоровых индивидов

Ген *USP45* (ubiquitin specific peptidase 45) локализован на длинном плече 6 хромосомы (6q16.2) и содержит 24 экзона (рисунок 30). Белок, кодируемый данным геном, представляет собой деубиквитилазу, которая связывает каталитическую субъединицу ERCC1 эндонуклеазы репарации ДНК XPF-ERCC1, тем самым контролируя способность ERCC1 перемещаться в очаги повреждения ДНК (Perez-Oliva et al., 2015). Комплекс XPF-ERCC1 участвует в процессе репарации межцепочечных поперечных связей ДНК (ICL) и эксцизионной репарации нуклеотидов (NER) и необходим для восстановления однонитевых повреждений ДНК, образующихся под воздействием УФ-излучения или электрофильных соединений, таких как цисплатин (McNeil et al., 2012).



Рисунок 30 – Структура гена *USP45* (Perez-Oliva et al., 2015)

Таким образом, способность *USP45* контролировать комплекс XPF-ERCC1 имеет решающее значение для эффективной репарации ДНК. Это утверждение подтверждается и тем, что нокаут гена *USP45* значительно повышает чувствительность клеток к УФ-облучению и межцепочечным поперечным сшивкам ДНК, подобно клеткам, дефектным по гену *ERCC1* (Perez-Oliva et al., 2015). Последние исследования показали, что нарушение процессов убиквитинирования белков может служить триггером развития различных онкологических заболеваний (Young et al., 2019). Согласно portalу cbioportal мутации в гене *USP45* были выявлены в 12% случаев злокачественных новообразований предстательной железы и в 5% случаев диффузной В-крупноклеточной лимфомы (<http://www.cbioportal.org>). В

недавней работе Shahi ген *USP45* был предложен в качестве гена-кандидата РМЖ (Shahi et al., 2019).

Однонуклеотидная замена тимина на цитозин в позиции 847 кДНК, на аминокислотном уровне приводит к замене триптофана на аргинин – р. Trp283Arg.

В проведенном нами исследовании среди больных РЯ и контрольной группы полиморфный локус rs17850034 гена *USP45* был идентифицирован у 1/146 женщины из контрольной группы (0,68%) и у 2/86 (2,33%) пациенток со спорадическим РЯ в гетерозиготном состоянии. В группе с клиническими признаками НРЯ носительниц данного варианта не обнаружено.

Скрининг ДНК-локуса rs763243801 гена RGS20 в группе больных РЯ и здоровых индивидов

Ген *RGS20* (regulator of G protein signaling 20) локализован на длинном плече 8 хромосомы (8q11.23). Данный ген в высокой степени экспрессируется в головном мозге, особенно в хвостатом ядре и височной доле, и кодирует белок, принадлежащий к семейству белков-регуляторов передачи сигналов G-белка (RGS) (Nunn et al., 2006). Белки RGS являются регуляторными и структурными компонентами рецепторных комплексов, способных негативно регулировать передачу сигналов гетеротримерных G-белков путем увеличения активности GTPase альфа-субъединиц G-белка, тем самым переводя их в неактивные формы, связанные с GDP (Burchett et al., 2000). В последние два десятилетия была установлена роль гетеротримерных G-белков, а также сопряженных с ними рецепторов в инициации и прогрессировании рака (Dorsam et al., 2007), что вызвало большой интерес к изучению регуляторной роли RGS-белков при канцерогенезе.

На сегодняшний день идентифицировано большое количество белков семейства RGS, связанных с различными формами онкопатологий (Wiechec et al., 2008; Hurst et al., 2009; James et al., 2009; Hurst&Hooks, 2009). В частности,

повышенный уровень экспрессии гена *RGS20* был отмечен при раке мочевого пузыря, трижды негативном РМЖ и плоскоклеточном раке полости рта (Riker et al., 2017; Huang et al., 2018; Li et al., 2019). В эксперименте на различных линиях опухолевых клеток было установлено, что сверхэкспрессия гена *RGS20* усиливает агрегацию, миграцию, инвазию и адгезию раковых клеток, тем самым способствуя распространению опухолевого процесса (Yang et al., 2016).

Вариант нуклеотидной последовательности ДНК rs763243801 гена *RGS20*, расположенный в позиции с.468del кДНК, приводит к сдвигу рамки считывания – р.Arg157fs.

В проведенном нами исследовании среди больных РЯ и здоровых женщин данный вариант был идентифицирован лишь у 1/145 (0,68%) женщины из контрольной группы в гетерозиготном состоянии.

Скрининг ДНК-локуса rs117230607 гена ATP23 у больных РЯ и здоровых доноров

Ген *ATP23* (ATP23 metalloproteinase and ATP synthase assembly factor homolog), локализован на длинном плече 12 хромосомы (12q14.1) и кодирует митохондриальную протеазу, необходимую для процессинга предшественника 6 субъединицы митохондриальной АТФазы (F1-FO) (Zeng et al., 2007). Эта субъединица является частью комплекса Fo большой трансмембранной АТФ-синтазы F-типа, катализирующей векторный перенос протонов в компартмент матрикса (Senior et al., 2002). Функциональные исследования показали, что мутанты, дефектные по *ATP23*, не способны собрать функциональный АТФазный комплекс (Zeng et al., 2007). Кроме того, белок, кодируемый геном *ATP23*, по-видимому, влияет на эффективность репарации двухцепочечных разрывов путем негомологического соединения концов (NHEJ). Fischer с коллегами продемонстрировали, что снижение эндогенной экспрессии гена *ATP23* в клетках глиобластомы

приводит к снижению эффективности репарации двухцепочечных разрывов после облучения (Fischer et al., 2013).

Замена цитозина на тимин в положении 686 кДНК гена *ATP23* (rs117230607) на аминокислотном уровне приводит к замене аланина на валин – p.Ala229Val.

Скрининг варианта rs117230607 гена *ATP23* в группе больных РЯ и контроля выявил наличие 1/86 носительницы среди пациенток со спорадическим РЯ (1,16%), 1/33 носительницы среди пациенток с признаками НРЯ (3,03%) и 2/146 носительниц среди здоровых женщин (1,37%) в гетерозиготном состоянии. Однако статистически значимых различий по частоте варианта rs117230607/*ATP23* среди исследуемых групп не обнаружено ($p > 0,05$).

*Скрининг ДНК-локуса rs144292904 гена ADPRH
у больных РЯ и здоровых доноров*

Ген *ADPRH* (ADP-ribosylarginine hydrolase) локализован на длинном плече 3 хромосомы (3q13.33). Фермент, кодируемый этим геном, катализирует отщепление моно-АДФ-рибозы от аргининовых остатков белков в цикле АДФ-рибозилирования (Munnur et al., 2019). АДФ-рибозилирование представляет собой обратимую посттрансляционную модификацию белков, которая контролирует основные клеточные и биологические процессы, включая репарацию повреждений ДНК, пролиферацию и дифференцировку клеток, метаболизм, стрессовые и иммунные реакции (Palazzo et al., 2019). Несмотря на то, что роль белка *ADPRH* все еще до конца не установлена, некоторые исследования указывают на его вероятное участие в канцерогенезе. В работе Kato J. было показано, что мыши, несущие мутантный аллель гена *ADPRH*, были более предрасположены к развитию опухолей, чем мыши, несущие аллель дикого типа (Kato et al., 2011). Позже было установлено, что белок *ADPRH* играет ключевую роль в формировании аденокарциномы легкого и лимфомы (Ishiwata-Endo et al., 2020). Повышенный уровень

экспрессии гена *ADPRH* был зарегистрирован в регуляторных Т-лимфоцитах при колоректальном раке и немелкоклеточном раке легкого (De Simone et al., 2016). Кроме того, количество транскриптов гена *ADPRH* было значительно выше в образцах глиомы низкой степени злокачественности по сравнению с нормальной тканью головного мозга и коррелировало с плохим прогнозом для пациентов с данным диагнозом (Zhang et al., 2021).

Замена гуанина на аденин в позиции 798 кДНК гена *ADPRH* (rs144292904) приводит к преждевременной остановке трансляции и синтезу укороченного белка – p.Trp266Ter.

В результате скрининга варианта rs144292904 гена *ADPRH* среди больных РЯ и здоровых индивидов были обнаружены 2/146 носительницы данного варианта в контрольной группе (1,37%) и 1/33 носительница с клиническими признаками НРЯ (3,03%) в гетерозиготном состоянии. Среди больных спорадическими формами РЯ носительниц данного варианта не обнаружено. Выявленные различия между исследуемыми группами не достигли уровня статистической значимости ($p > 0,05$).

Скрининг ДНК-локуса rs147006695 гена PON3 у больных РЯ и здоровых доноров

Ген *PON3* является членом семейства параоксоназ и локализуется в кластере на длинном плече 7 хромосомы (7q21.3-q22.1) с двумя другими членами семейства *PON1* и *PON2* (www.genecards.org). Белки данной группы обладают антиоксидантными свойствами и липолактоназной активностью и вовлечены в патогенез ряда воспалительных заболеваний, включая атеросклероз, болезнь Альцгеймера, Паркинсона, диабет и рак (She et al., 2012). Продукт гена *PON3* представляет собой гликопротеин с молекулярной массой 40 кДа, который в основном синтезируется в печени. По сравнению с гомологами, *PON3* является наименее изученным и его точный физиологический субстрат до сих пор не ясен. Однако известно, что данный

фермент может гидролизовать гиполипидемические лекарства, снижающие уровень холестерина (Draganov et al., 2004). В исследованиях *in vitro* и *in vivo* было продемонстрировано, что сверхэкспрессия гена *PON3* снижает риск развития атеросклероза и заболеваний коронарных артерий (Shih et al., 2007; She et al., 2012).

Согласно ряду исследований *PON3* также может играть определенную роль в процессе канцерогенеза. Повышенный уровень экспрессии гена *PON3* наблюдался в различных клеточных линиях опухолей человека (Schweikert et al., 2012). В работе Zhu было показано, что продукт гена *PON3* способствует пролиферации клеток и метастазированию, регулируя сигнальный путь PI3K/Akt при плоскоклеточной карциноме полости рта (Zhu et al., 2017).

Однонуклеотидная замена цитозина на тимин в позиции 94 кДНК гена *PON3* (rs147006695) приводит к образованию преждевременного стоп-кодона и синтезу укороченного белка – p.Arg32Ter. Данный вариант был обнаружен у 5 пациентов с боковым амиотрофическим склерозом из Турции в результате полногеномного секвенирования (Tunca et al., 2020).

Поиск данного варианта в группе больных РЯ и здоровых индивидов выявил наличие 1/86 носительниц изучаемого варианта среди пациенток со sporadическим РЯ (1,16%). В группе контроля, а также в группе больных с признаками НРЯ носительниц данного варианта обнаружено не было.

*Скрининг ДНК-локуса rs36007488 гена TBRG4
у больных РЯ и здоровых доноров*

Ген *TBRG4* (The transforming growth factor β regulator 4) локализован на коротком плече 7 хромосомы (7p13) и вовлечен в развитие различных заболеваний, в том числе онкологических. Кодированный данным геном белок является регулятором трансформирующего фактора роста бета (TGF- β), который контролирует пролиферацию, апоптоз, клеточную дифференцировку и другие важные функции в большинстве клеток (Tzavlaki et al., 2020). В ряде

исследований было отмечено, что сверхэкспрессия гена *TBRG4* была связана с прогрессированием опухолевого процесса при различных типах рака. В частности, при остеосаркоме высокий уровень транскрипционной активности гена *TBRG4* коррелировал с низкой выживаемостью, способствуя пролиферации и инвазии клеток за счет усиления передачи сигналов TGF- β и PI3K/АКТ (Huang et al., 2020). Wang с коллегами продемонстрировали, что экспрессии гена *TBRG4* была повышена в опухолевой ткани легкого в экспериментах *in vitro* и *ex vivo* (Wang et al., 2018). В недавно опубликованной работе было показано, что ген *TBRG4* гипометилирован при колоректальном раке, что подчеркивает его ценность в качестве потенциального маркера в прогнозе метастазирования (Pi et al., 2020).

Делеция гуанина в позиции с.33 согласно кДНК гена *TBRG4* (rs36007488) приводит к сдвигу рамки считывания.

Скрининг генетического варианта rs36007488 гена *TBRG4* в группе больных РЯ и здоровых доноров выявил 3/86 носительниц данного варианта среди пациенток со спорадическим РЯ (3,5%) и 3/146 носительниц среди здоровых индивидов (2,05%) в гетерозиготном состоянии, однако различия оказались статистически недостоверны ($p > 0,05$). Среди больных с признаками НРЯ носительниц данного варианта не обнаружено.

Скрининг полиморфного локуса rs17879749 гена MMP1 у больных РЯ и здоровых доноров

Ген *MMP1* картирован на длинном плече 11 хромосомы и кодирует интерстициальную коллагеназу, способную разрушать интерстициальные коллагены I, II и III типов. Данный фермент принадлежит к семейству металлопротеиназ (ММР). ММР представляют собой большую группу кальций-зависимых цинксодержащих эндопептидаз, которые участвуют в разрушении различных компонентов белков внеклеточного матрикса и играют важную роль в нормальных физиологических процессах, таких как

эмбриональное развитие, размножение и ремоделирование тканей, а также в патологических процессах опухолевой трансформации и метастазирования при различных злокачественных заболеваниях (Kessenbrock et al., 2010).

Многочисленные исследования показали, что прогрессирование опухолевого процесса при РЯ тесно связано с активностью ММР. Эти ферменты опосредуют деградацию базальной мембраны, которая является решающим этапом эпителиальной трансформации, онкогенеза яичников и внутрибрюшинного метастазирования (Karam et al., 2012). Установлено, что ММР могут передавать сигналы миграции и инвазии опухолевым клеткам через рецептор клеточной поверхности PAR1 (рецептор-1, активируемый протеазами), связанный с G-белками (Juncker-Jensen et al., 2013). Agarwal и коллеги идентифицировали металлопротеазный каскад, в котором pro-MMP1 активируется до MMP1, который, в свою очередь, активирует PAR1 (Agarwal et al., 2008). Активация MMP1-PAR1 индуцирует секрецию ангиогенных факторов из клеток карциномы яичников, которые действуют на эндотелиальные рецепторы CXCR1/2 паракринным образом, вызывая пролиферацию эндотелиальных клеток, образование эндотелиальных трубок и миграцию (Agarwal et al., 2010). Дальнейшие исследования показали, что повышенный уровень экспрессии гена *MMP1* тесно коррелирует с повышенной инвазией клеток эпителиального рака яичников, опосредованной PAR1 (Wang et al., 2011).

Делеция тимина в позиции 573 кДНК гена *MMP1* (rs17879749) приводит к сдвигу рамки считывания. Данное изменение было идентифицировано в результате экзомного секвенирования 26 образцов ДНК пациентов с тяжелой формой бронхолегочной дисплазии (Carrera et al., 2015).

В результате поиска варианта rs17879749 гена *MMP1* в выборке больных РЯ и контрольной группе нами было выявлена 1/86 носительница данного изменения среди пациенток со спорадическим РЯ (1,16%), 4/33 носительницы среди больных с клиническими признаками НРЯ (12,12%) и 12/146

носительниц среди здоровых доноров (8,2%) в гетерозиготном состоянии. При сравнении частоты встречаемости ДНК-локуса rs17879749 гена *MMP1* в группе больных спорадическим РЯ и контроля было установлено, что исследуемый вариант чаще встречался в группе здоровых доноров по сравнению с группой пациенток с РЯ (OR=0,19, p=0,035) (рисунок 31).

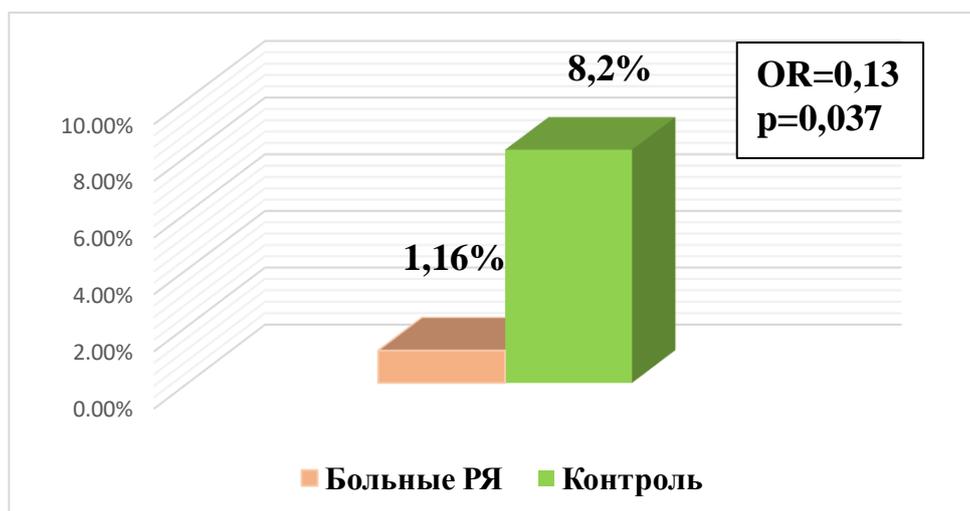


Рисунок 31 – Частота встречаемости варианта rs17879749 гена *MMP1* у больных РЯ и в контрольной группе

Скрининг ДНК-локуса rs61757718 гена *PIK3C2G* у больных РЯ и здоровых доноров

Ген *PIK3C2G* (phosphatidylinositol-4-phosphate 3-kinase catalytic subunit type 2 gamma) картирован на 12 хромосоме и содержит 45 экзонов. Белок, кодируемый этим геном, принадлежит к семейству фосфоинозитид-3-киназ (PI3K), катализирующих перенос фосфатной группы с молекулы аденозинтрифосфата на 3D-положение инозитольного кольца фосфатидилинозитолов. Ферменты PI3K являются ключевым элементом PI3K/АКТ/mTOR сигнального пути, регулирующего широкий спектр внутриклеточных процессов таких как рост, пролиферация, дифференцировка, подвижность, выживание, миграция и внутриклеточный транспорт белков (рисунок 32) (Engelman et al., 2006). Нарушение регуляции пути PI3K/АКТ/mTOR связано с развитием ЗНО различных локализаций,

включая РМЖ, колоректальный рак и гематологические злокачественные новообразования. Таким образом, компоненты данного сигнального пути могут быть рассмотрены в качестве потенциальных терапевтических мишеней при лечении рака (Asati et al., 2016; Verret et al., 2019; Yang et al., 2019).

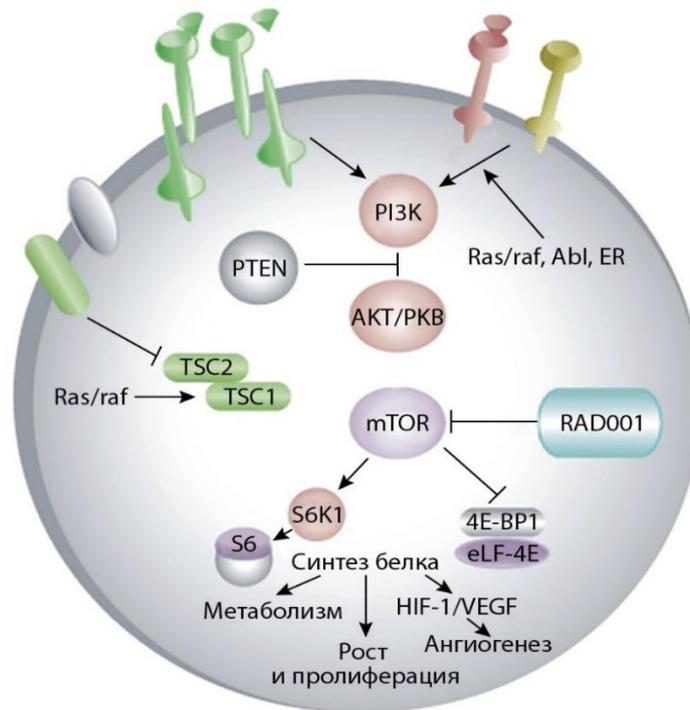


Рисунок 32 – Схема регуляции сигнального пути PI3K/AKT/mTOR в опухолевых клетках (Rozonova et al., 2021)

Белок PIK3C2G относится ко II классу фосфоинозитид-3-киназ и содержит каталитический домен липидкиназы, а также С-концевой домен С2, характерный для PI3-киназ класса II. Домены С2 действуют как кальций-зависимые мотивы связывания фосфолипидов, которые опосредуют транслокацию белков к мембранам, а также могут опосредовать белок-белковые взаимодействия. В отличие от других членов класса II, которые широко экспрессируются в различных тканях организма, белок PIK3C2G преимущественно присутствует в экзокринных железах, таких как печень и поджелудочная железа, а также в молочной железе, простате и тонком кишечнике (Braccini et al., 2015).

Многие авторы отмечают важную роль *PIK3C2G* в контроле клеточного метаболизма и связывают дефицит данного фермента с заболеваниями обмена веществ. У мышей с дефицитом *PIK3C2G* наблюдалось снижение накопления гликогена в печени и развивалась гиперлипидемия, ожирение, а также резистентность к инсулину с возрастом или после диеты с высоким содержанием жиров (Braccini L. et al., 2015). Эти результаты нашли свое подтверждение в полногеномных ассоциативных исследованиях (GWAS). Так, однонуклеотидные полиморфные варианты (SNP) в гене *PIK3C2G* были связаны с диабетической нефропатией (Saeed et al., 2018), высоким индексом массы тела (Anderson et al., 2015) и повышенным риском развития диабета 2 типа (Daimon et al., 2008), а также гиперлипидемией и инфарктом миокарда (Shia et al., 2011).

Помимо метаболических нарушений, ген *PIK3C2G* также вовлечен в развитие различных онкопатологий. Мутации в данном гене были в значительной степени ассоциированы с неблагоприятным прогнозом у пациентов с внутripеченочной холангиоцеллюлярной карциномой (Ruzzenente et al., 2016). В более ранней работе было показано, что у пациентов с колоректальным раком, получавших химиотерапию на основе оксалиплатина, низкий уровень экспрессии гена *PIK3C2G* был ассоциирован с 2,44-кратным увеличением вероятности рецидива и 2,89-кратным увеличением риска летального исхода (Li et al., 2015).

Замена гуанина на цитозин в позиции с.4460 гена *PIK3C2G* (rs61757718) приводит к замене терминирующего кодона на серин (p.Ter1487Ser), что приводит к аномальному удлинению карбоксильного конца белка. Данный полиморфный вариант был также обнаружен в результате прямого секвенирования гена *PIK3C2G* у 3 пациентов, страдающих семейными формами болезни Меньера, из Швеции. Однако последующий анализ в исследовании по типу «случай-контроль» не выявил ассоциаций данного локуса с развитием болезни (Gabriková et al., 2010).

В проведенном нами исследовании среди больных РЯ и контрольной группы полиморфный локус rs61757718 гена *PIK3C2G* был идентифицирован у 6/86 (6,9%) женщин, страдающих спорадическими формами РЯ, 1/33 (3,03%) пациентки с признаками НРЯ и 6/146 (4,1%) женщин из контрольной группы в гетерозиготном состоянии. Однако выявленные различия между исследуемыми группами не достигли уровня статистической значимости ($p > 0,05$).

*Скрининг ДНК-локуса rs73052628 гена NRIP2
у больных РЯ и здоровых доноров*

Ген *NRIP2* локализован на коротком плече 12 хромосомы (12p13.33) и кодирует белок, взаимодействующий с ядерным рецептором. Белковый продукт данного гена первоначально был описан как супрессор ядерного рецептора, селективно связывающий рецептор ретиноевой кислоты и рецептор тиреоидного гормона в мозге мыши (Greiner et al., 2000). Физиологическая роль данного белка изучена недостаточно, однако предполагается, что он является звеном сигнального пути Notch и может действовать как отрицательный регулятор транскрипции с помощью РНК-полимеразы II (<https://www.alliancegenome.org/>). Некоторые исследователи предполагают участие *NRIP2* в развитии аденокарциномы толстой кишки. Так, в работе Wen Z. ученые обнаружили, что ген *NRIP2* был сверхэкспрессирован в клетках, инициирующих колоректальный рак и опосредовал их самообновление путем регуляции сигнального пути Wnt (Wen et al., 2017). В недавно опубликованной работе авторами было высказано предположение, что данный ген может быть связан с лекарственной устойчивостью у больных с аденокарциномой толстой кишки (Li et al., 2022).

Замена гуанина на аденин в позиции с.226 гена *NRIP2* (*rs61757718*) на аминокислотном уровне приводит к замене аргинина на терминирующий кодон (p.Arg76Ter) и, как следствие, к синтезу укороченного белка.

В результате проведенных нами исследований носительницы варианта rs73052628 гена *NRIP2* не обнаружены как среди больных РЯ, так и среди женщин из контрольной группы.

*Скрининг ДНК-локуса rs201755391 гена PARP14
у больных РЯ и здоровых доноров*

Ген *PARP14* (poly(ADP-ribose) polymerase family member 14) кодирует белок из суперсемейства поли(АДФ-рибоза)-полимераз (PARP), осуществляющих посттрансляционную модификацию гистонов путем переноса АДФ-рибозила на поли-АДФ-рибозильную цепь, связываемую с белком. Семейство PARP состоит из 17 белков, которые участвуют в широком спектре биологических процессов, включая репарацию ДНК, регуляцию транскрипции, апоптоз и реакцию на тепловой шок (Vyas et al., 2014). Наиболее изученным из этого семейства является белок PARP1, который был предложен в качестве потенциальной мишени для лечения пациенток с РМЖ и РЯ (Moore et al., 2018).

В последние годы ген *PARP14* также вызывает большой интерес ученых в качестве потенциальной мишени для противоопухолевой терапии. Установлено, что белковый продукт, кодируемый данным геном, участвует в регуляции множественных сигнальных путей, вовлеченных в канцерогенез. Так, в работе Yao N. было показано, что PARP14 способствовал прогрессированию РПЖ путем активации сигнального пути ядерного фактора-κВ (NF-κB). Ученые также отметили, что ген *PARP14* был высоко экспрессирован в образцах первичного РПЖ человека и значительно коррелировал с плохим прогнозом пациентов (Yao et al., 2019). В более ранних работах было продемонстрировано, что PARP14 способствовал выживанию опухолевых клеток при множественной миеломе и гепатоцеллюлярной карциноме через сигнальный путь JNK (Barbarulo et al., 2013; Iansante et al., 2015). Недавнее исследование показало, что PARP14 также может

способствовать активации клеточного цикла, воздействуя на белок циклин D1, который является одним из ключевых элементов, контролирующих переход клетки из фазы G1 в фазу S в клеточном цикле (O'Connor et al., 2021). Учитывая важную роль сигнальных путей D1-CDK4/6-RB, NF-κB и JNK в канцерогенезе, необходимы дальнейшие исследования по оценке терапевтической эффективности применения ингибиторов PARP14 при лечении различных типов рака.

Замена гуанина на аденин в позиции 711-1 согласно кДНК гена гена *PARP14* (rs201755391) приводит к изменению сайта сплайсинга.

В результате поиска варианта rs201755391 гена *PARP14* в выборке больных РЯ и контрольной группе нами не было обнаружено носительниц данного варианта.

В результате проведенного анализа редкие аллели 7 изученных вариантов новых генов-кандидатов РЯ примерно с одинаковой частотой встречались в группе больных спорадическим РЯ, больных с клиническими формами РЯ и контроля из Республики Башкортостан. Таким образом, данные варианты, вероятно, не вносят существенного вклада в патогенез РЯ. Редкие аллели генетических вариантов rs73052628/*NRIP2* и rs201755391/*PARP14* не были обнаружены ни в группе больных РЯ, ни в группе контроля, что подчеркивает необходимость проведения репликативных исследований на расширенной выборке. При сравнении частоты встречаемости варианта нуклеотидной последовательности rs17879749 в гене *MMP1* в группе больных спорадическим РЯ и здоровых доноров, была установлена протективная роль данного варианта в отношении спорадических, но не наследственных форм РЯ.

3.6 Анализ ассоциации полиморфных локусов генов системы репарации ДНК *ERCC2*, *ERCC3*, *XRCC2* и *XRCC3* с развитием рака яичников у женщин из Республики Башкортостан

Анализ ассоциации полиморфных локусов rs13181 и rs238406 гена ERCC2 с риском развития рака яичников

Ген *ERCC2* расположен на хромосоме 19q13.3, состоит из 23 экзонов и охватывает примерно 54 000 пар оснований (Laine et al., 2007). Данный ген кодирует высококонсервативный фермент, АТФ-зависимую геликазу, ответственную за раскручивание ДНК вокруг участка повреждения, что является решающим шагом для инициации процесса эксцизионной репарации нуклеотидов (Egly, 2001). В настоящем исследовании проведен анализ распределения частоты аллелей и генотипов полиморфных вариантов rs13181 и rs238406 гена *ERCC2* в группах больных спорадическим РЯ, с клиническими признаками НРЯ и здоровых индивидов различной этнической принадлежности, проживающих в РБ.

Полиморфный локус rs13181 (p.Lys751Gln) локализован в АТФ-связывающем домене белка *ERCC2* и влияет на его геликазную активность (Sung et al., 1993). Предполагается, что лизин в 751 кодоне белка *ERCC2* участвует в его взаимодействиях с субстратом, поэтому любая замена этого остатка может нарушить способность *ERCC2* к репарации ДНК (Coin et al., 1998). Данное предположение было позже подтверждено в работах Duell и Hou. Ученые установили, что замена лизина на глутамин в 751 кодоне белка *ERCC2* ассоциирована с более высокими уровнями аддуктов ДНК и меньшей эффективностью репарации ДНК (Hou et al., 2002; Duell et al., 2000; Валова и др., 2022).

При изучении распределения частот генотипов полиморфного локуса rs13181 гена *ERCC2* было установлено, что в выборках нашего региона чаще встречается гетерозиготный генотип rs13181*TG, выявленный с частотой

46,51% у больных спорадическим РЯ, 39,1% у больных с признаками НРЯ и 44,52% у здоровых индивидов. Минорный аллель rs13181*G достоверно чаще встречался среди пациенток со спорадическим РЯ и пациенток с признаками НРЯ по сравнению с контрольной группой (OR=1,45; 95% CI:(1,11-1,89), p=0,009; OR=1,64; 95% CI:(1,12-2,41), p=0,015, соответственно), а образованный им гомозиготный генотип rs13181*GG оказался маркером повышенного риска развития наследственных форм заболевания (OR=2,12; 95% CI:(1,19-3,81), p=0,017). Частота встречаемости аллеля rs13181*T оказалась значительно выше в группе контроля по сравнению с группами больных как спорадическими так и наследственными формами РЯ (OR=0,69; 95% CI:(0,53-0,9), p=0,01; OR=0,61; 95% CI:(0,42-0,9), p=0,015, соответственно), а гомозиготный генотип rs7517847*TT оказался протективным маркером развития спорадических форм РЯ (OR=0,61; 95% CI:(0,4-0,93), p=0,03) (таблица 20) (Валова и др., 2022).

Аллель rs13181*G и генотип rs13181*GG также достоверно чаще встречались у пациенток в постменопаузе, чем у здоровых женщин того же возраста (OR=1,69; 95% CI:(1,16-2,45), p=0,01; OR=2,53; 95% CI:(1,37-4,69), p=0,005, соответственно) (таблица 21), а также в группе больных с поздними стадиями заболевания (OR=1,73; 95% CI:(1,26-2,39), p=0,002; OR=2,21; 95% CI:(1,36-3,61), p=0,003, соответственно) (таблица 22). При разделении выборки по этнической принадлежности ассоциация аллеля rs13181*G с развитием заболевания сохранилась лишь для женщин русской этнической принадлежности (OR=1,65; 95% CI:(1,14–2,38); p=0,011) (таблица 23).

Таблица 20 – Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного варианта rs13181 гена *ERCC2* в группах больных СРЯ, с клиническими признаками НРЯ и индивидов контрольной группы

Генотип, аллель		Больные РЯ (спорадические формы)	Контроль (в целом)	Больные РЯ (с признаками НРЯ)	Контроль (в целом)
1	2	3	4	5	6
GG	n_i	50	61	23	61
	$p_i \pm s_p$ CI %	29,07±3,46 (22,41-36,47)	20,89±2,38 (16,37-26,01)	35,94±6,00 (24,32-48,90)	20,89±2,38 (16,37-26,01)
	χ^2	3,54		5,78	
	p	0,06		0,017	
	OR (CI)	1,55 (1,01-2,4)		2,12 (1,18-3,8)	
GT	n_i	80	130	25	130
	$p_i \pm s_p$ CI %	46,51±3,80 (38,88-54,26)	44,52±2,91 (38,73-50,42)	39,06±6,10 (27,10-52,07)	44,52±2,91 (38,73-50,42)
	χ^2	0,10		0,43	
	p	0,75		0,51	
	OR (CI)	1,08 (0,74-1,58)		0,79 (0,45-1,39)	
TT	n_i	42	101	16	101
	$p_i \pm s_p$ CI %	24,42±3,28 (18,20-31,54)	34,59±2,78 (29,14-40,35)	25,00±5,41 (15,02-37,40)	34,59±2,78 (29,14-40,35)
	χ^2	4,79		1,77	
	p	0,03		0,18	
	OR (CI)	0,61 (0,4-0,93)		0,63 (0,34-1,16)	
G	n_i	199	252	58	252
	$p_i \pm s_p$ CI %	52,09±2,56 (46,95-57,20)	43,15±2,05 (39,09-47,28)	59,18±4,96 (48,79-69,01)	43,15±2,05 (39,09-47,28)
	χ^2	6,96		5,94	
	p	0,01		0,015	
	OR (CI)	1,45 (1,11-1,89)		1,64 (1,12-2,41)	
T	n_i	183	332	40	332
	$p_i \pm s_p$ CI %	47,91±2,56 (42,80-53,05)	56,85±2,05 (52,72-60,91)	40,82±4,96 (30,99-51,21)	56,85±2,05 (52,72-60,91)
	χ^2	6,96		5,94	
	p	0,01		0,015	
	OR (CI)	0,69 (0,53-0,9)		0,61 (0,42-0,9)	

Таблица 21 – Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs13181 в гене *ERCC2* у больных РЯ и здоровых женщин с учетом менопаузального статуса

Генотип, аллель		Больные РЯ в пременопаузе	Контроль в пременопаузе	Больные РЯ в постменопаузе	Контроль в постменопаузе
1	2	3	4	5	6
GG	n _i	16	34	38	21
	p _i ±s _p CI %	28,07±5,95 (16,97-41,54)	22,52±3,40 (16,13-30,02)	35,19±4,60 (26,24-44,96)	17,65±3,49 (11,27-25,70)
	χ ²	0,43		8,16	
	p	0,51		0,005	
	OR(CI)	1,34 (0,67-2,68)		2,53 (1,37-4,69)	
GT	n _i	29	68	40	55
	p _i ±s _p CI %	50,88±6,62 (37,29-64,37)	45,03±4,05 (36,94-53,33)	37,04±4,65 (27,94-46,86)	46,22±4,57 (37,04-55,59)
	χ ²	0,36		1,6	
	p	0,55		0,21	
	OR(CI)	1,26 (0,69-2,32)		0,68 (0,4-1,16)	
TT	n _i	12	49	30	43
	p _i ±s _p CI %	21,05±5,40 (11,38-33,89)	32,45±3,81 (25,07-40,54)	27,78±4,31 (19,59-37,22)	36,13±4,40 (27,53-45,45)
	χ ²	2,07		1,45	
	p	0,15		0,23	
	OR(CI)	0,56 (0,27-1,14)		0,68 (0,39-1,19)	
G	n _i	61	34	116	97
	p _i ±s _p CI %	53,51±4,67 (43,93-62,90)	40,96±5,40 (30,28-52,31)	53,70±3,39 (46,81-60,49)	40,76±3,19 (34,45-47,29)
	χ ²	2,55		7,11	
	p	0,11		0,01	
	OR (CI)	1,66 (0,94-2,94)		1,69 (1,16-2,45)	
T	n _i	53	49	100	141
	p _i ±s _p CI %	46,49±4,67 (37,10-56,07)	59,04±5,40 (47,69-69,72)	46,30±3,39 (39,51-53,19)	59,24±3,19 (52,71-65,55)
	χ ²	2,55		7,11	
	p	0,11		0,01	
	OR (CI)	1,66 (0,94-2,94)		0,59 (0,41-0,86)	

Таблица 22 – Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs13181 в гене *ERCC2* у больных РЯ и здоровых женщин с учетом тяжести течения заболевания

Генотип, аллель		Больные РЯ (I-II стадия)	Контроль (в целом)	Больные РЯ (III-IV стадия)	Контроль (в целом)
1	2	3	4	5	6
GG	n_i	20	61	38	61
	$p_i \pm s_p$ CI %	27,78 \pm 5,28 (17,86-39,59)	20,89 \pm 2,38 (16,37-26,01)	36,89 \pm 4,75 (27,59-46,97)	20,89 \pm 2,38 (16,37-26,01)
	χ^2	1,21		10,38	
	p	0,27		0,003	
	OR(CI)	1,45 (0,81-2,62)		2,21 (1,36-3-61)	
GT	n_i	30	130	41	130
	$p_i \pm s_p$ CI %	41,67 \pm 5,81 (30,15-53,89)	44,52 \pm 2,91 (38,73-50,42)	39,81 \pm 4,82 (30,29-49,92)	44,52 \pm 2,91 (38,73-50,42)
	χ^2	0,09		0,69	
	p	0,76		0,41	
	OR (CI)	0,89 (0,52-1,5)		0,82 (0,52-1,3)	
TT	n_i	22	101	24	101
	$p_i \pm s_p$ CI %	30,56 \pm 5,43 (20,24-42,53)	34,59 \pm 2,78 (29,14-40,35)	23,30 \pm 4,17 (15,54-32,66)	34,59 \pm 2,78 (29,14-40,35)
	χ^2	0,26		4,49	
	p	0,61		0,03	
	OR(CI)	0,83 (0,48-1,45)		0,57 (0,34-0,96)	
G	n_i	70	252	117	252
	$p_i \pm s_p$ CI %	48,61 \pm 4,17 (40,20-57,08)	43,15 \pm 2,05 (39,09-47,28)	56,80 \pm 3,45 (49,73-63,66)	43,15 \pm 2,05 (39,09-47,28)
	χ^2	1,4		10,85	
	p	0,24		0,002	
	OR (CI)	1,25 (0,86-1,8)		1,73 (1,26-2,39)	
T	n_i	74	332	89	332
	$p_i \pm s_p$ CI %	51,39 \pm 4,17 (42,92-59,80)	56,85 \pm 2,05 (52,72-60,91)	43,20 \pm 3,45 (36,34-50,27)	56,85 \pm 2,05 (52,72-60,91)
	χ^2	1,4		10,85	
	p	0,24		0,002	
	OR (CI)	1,25 (0,86-1,8)		0,58 (0,42-0,8)	

Таблица 23 – Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного варианта rs13181 гена *ERCC2* в группе больных и индивидов контрольной группы в зависимости от этнической принадлежности

Генотип, аллель		Больные РЯ русские	Контроль русские	Больные РЯ татары	Контроль татары
1	2	3	4	5	6
GG	n_i	23	43	21	23
	$p_i \pm s_p$ CI %	24,47±4,43 (16,19-34,42)	35,25±4,33 (26,82-44,41)	28,38±5,24 (18,50-40,05)	28,75±5,06 (19,18-39,95)
	χ^2	2,94		0,02	
	p	0,087		0,899	
	OR(CI)	1,83 (0,97-3,44)		0,98 (0,49-1,98)	
GT	n_i	43	56	26	36
	$p_i \pm s_p$ CI %	45,74±5,14 (35,42-56,34)	45,90±4,51 (36,85-55,16)	35,14±5,55 (24,39-47,11)	45,00±5,56 (33,85-56,53)
	χ^2	0,01		1,17	
	p	0,910		0,280	
	OR (CI)	0,99 (0,58-1,71)		0,66 (0,35-1,27)	
TT	n_i	28	23	27	21
	$p_i \pm s_p$ CI %	29,79±4,72 (20,79-40,10)	18,85±3,54 (12,34-26,93)	36,49±5,60 (25,60-48,49)	26,25±4,92 (17,04-37,29)
	χ^2	2,42		1,43	
	p	0,120		0,233	
	OR(CI)	0,6 (0,33-1,09)		1,61 (0,81-3,21)	
G	n_i	99	102	68	82
	$p_i \pm s_p$ CI %	52,41±3,65 (44,99-59,74)	41,80±3,16 (35,54-48,27)	45,95±4,10 (37,73-54,32)	51,25±3,95 (43,23-59,22)
	χ^2	4,60		0,67	
	p	0,032		0,415	
	OR(CI)	1,55 (1,06-2,27)		0,81 (0,52-1,27)	
T	n_i	89	142	80	78
	$p_i \pm s_p$ CI %	47,59±3,65 (40,26-55,01)	58,20±3,16 (51,73-64,46)	54,05±4,10 (45,68-62,27)	48,75±3,95 (40,78-56,77)
	χ^2	4,60		0,67	
	p	0,032		0,415	
	OR(CI)	0,65 (0,44-0,95)		1,24 (0,79-1,94)	

В целом, данные, полученные в нашем исследовании, согласуются с результатами, опубликованными в зарубежной литературе. В метаанализе,

проведенном Li J. N. с коллегами, гомозиготный генотип rs13181*GG оказался ассоциирован с повышенным риском развития рака яичников в общей выборке больных, не стратифицированных по этническому признаку (Li et al., 2017). При этом, в ряде исследований, включенных в метаанализ, не было установлено наличие связи изучаемого полиморфного локуса с развитием заболевания, что подтверждает важность размера выборки в ассоциативных исследованиях.

Полиморфный локус rs238406 гена *ERCC2* представляет собой синонимичную замену (Arg156Arg), которая может влиять на уровень белка *ERCC2* посредством aberrантного сплайсинга мРНК (Zhu et al., 2014).

Анализ полиморфного локуса rs238406 гена *ERCC2* показал, что гетерозиготный генотип rs238406*GT достоверно чаще встречался в группе больных спорадическим РЯ по сравнению с группой контроля (OR=1,62; 95% CI: (1,1-2,38); p=0,016). Однако ассоциаций данного полиморфного локуса с развитием наследственных форм РЯ не обнаружено. Частота гомозиготного по мажорному аллелю генотипа rs238406*GG была незначительно выше в группе здоровых доноров (39,53%), чем в группе пациенток со спорадическим РЯ и клиническими признаками НРЯ (34,62% и 35,82%, соответственно). Гомозиготный по минорному аллелю генотип rs238406*TT был обнаружен с одинаковой частотой (17,91% и 17,05%) среди больных с клиническими признаками НРЯ и здоровых доноров. Однако при сравнении частоты генотипа rs238406*TT между группами больных спорадическим РЯ и контроля была отмечена тенденция к преобладанию данного генотипа в контрольной группе (OR=1,56; 95% CI:(1,03-2,38); p=0,048) (таблица 24) (Валова и др., 2022). Наблюдаемое распределение частот генотипов для женщин в постменопаузальном статусе не соответствовало ожидаемым из уравнения Харди-Вайнберга, поэтому они были исключены из расчетов (таблица 25).

Таблица 24 – Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного варианта rs238406 гена *ERCC2* в группах больных спорадическим РЯ и с клиническими признаками НРЯ и индивидов контрольной группы

Генотип, аллель		Больные РЯ (спорадические)	Контроль (в целом)	Больные РЯ (с признаками НРЯ)	Контроль (в целом)
1	2	3	4	5	6
GG	n_i	63	102	24	102
	$p_i \pm s_p$ CI %	34,62±3,53 (27,73-42,01)	39,53±3,04 (33,53-45,79)	35,82±5,86 (24,47-48,47)	39,53±3,04 (33,53-45,79)
	χ^2	0,90		0,17	
	p	0,343		0,678	
	OR (CI)	0,81 (0,55-1,2)		0,85 (0,49-1,49)	
GT	n_i	101	112	31	112
	$p_i \pm s_p$ CI %	55,49±3,68 (47,96-62,85)	43,41±3,09 (37,28-49,70)	46,27±6,09 (34,00-58,88)	43,41±3,09 (37,28-49,70)
	χ^2	5,76		0,08	
	p	0,017		0,779	
	OR (CI)	1,63 (1,11-2,38)		1,12 (0,66-1,93)	
TT	n_i	18	44	12	44
	$p_i \pm s_p$ CI %	9,89±2,21 (5,97-15,18)	17,05±2,34 (12,67-22,21)	17,91±4,68 (9,61-29,20)	17,05±2,34 (12,67-22,21)
	χ^2	3,95		0,00	
	p	0,047		0,988	
	OR (CI)	0,53 (0,3-0,96)		1,06 (0,53-2,15)	
G	n_i	227	316	79	316
	$p_i \pm s_p$ CI %	62,36±2,54 (57,16-67,36)	61,24±2,14 (56,89-65,47)	58,96±4,25 (50,13-67,37)	61,24±2,14 (56,89-65,47)
	χ^2	0,071		0,15	
	p	0,79		0,702	
	OR (CI)	1,05 (0,8-1,38)		0,91 (0,62-1,34)	
T	n_i	137	200	55	200
	$p_i \pm s_p$ CI %	37,64±2,54 (32,64-42,84)	38,76±2,14 (34,53-43,11)	41,04±4,25 (32,63-49,87)	38,76±2,14 (34,53-43,11)
	χ^2	0,07		0,15	
	p	0,79		0,702	
	OR (CI)	0,95 (0,72-1,26)		1,1 (0,75-1,62)	

Таблица 25 – Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs238406 в гене *ERCC2* у больных РЯ и здоровых женщин с учетом менопаузального статуса

Генотип, Аллель		Больные РЯ в пременопаузе	Контроль в пременопаузе
1	2	3	4
GG	n _i	23	50
	p _i ±s _p CI %	32,86±5,61 (22,09-45,12)	37,88±4,22 (29,58-46,73)
	χ ²	0,31	
	P	0,58	
	OR(CI)	0,8 (0,44-1,48)	
GT	n _i	38	63
	p _i ±s _p CI %	54,29±5,95 (41,94-66,26)	47,73±4,35 (38,97-56,59)
	χ ²	0,55	
	P	0,46	
	OR(CI)	1,3 (0,73-2,33)	
TT	n _i	9	19
	p _i ±s _p CI %	12,86±4,00 (6,05-23,01)	14,39±3,06 (8,89-21,56)
	χ ²	0,01	
	P	0,93	
	OR(CI)	0,88 (0,37-2,06)	
G	n _i	84	163
	p _i ±s _p CI %	60,00±4,14 (51,39-68,18)	61,74±2,99 (55,58-67,63)
	χ ²	0,06	
	P	0,815	
	OR (CI)	0,93 (0,61-1,42)	
T	n _i	56	101
	p _i ±s _p CI %	40,00±4,14 (31,82-48,61)	38,26±2,99 (32,37-44,42)
	χ ²	0,06	
	P	0,815	
	OR (CI)	1,08 (0,71-1,64)	

При разделении групп по тяжести заболевания была обнаружена тенденция к увеличению частоты гетерозиготного генотипа rs238406*GT в

группе больных РЯ с ранними стадиями заболевания (I-II) по сравнению с группой контроля (OR=1,56; 95% CI:(1,026-2,375); p=0,048) (таблица 26).

Таблица 26 – Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs238406 в гене *ERCC2* у больных РЯ и здоровых женщин с учетом тяжести течения заболевания

Генотип, аллель		Больные РЯ (I-II стадия)	Контроль (в целом)	Больные РЯ (III-IV стадия)	Контроль (в целом)
1	2	3	4	5	6
GG	n_i	46	102	36	102
	$p_i \pm s_p$ CI %	34,33±4,10 (26,35-43,02)	39,53±3,04 (33,53-45,79)	36,36±4,83 (26,93-46,64)	39,53±3,04 (33,53-45,79)
	χ^2	0,81		0,18	
	p	0,39		0,668	
	OR(CI)	0,8 (0,52-1,24)		0,87 (0,54-1,41)	
GT	n_i	73	112	51	112
	$p_i \pm s_p$ CI %	54,48±4,30 (45,65-63,10)	43,41±3,09 (37,28-49,70)	51,52±5,02 (41,25-61,68)	43,41±3,09 (37,28-49,70)
	χ^2	3,9		1,58	
	p	0,048		0,209	
	OR (CI)	1,56 (1,03-2,38)		1,39 (0,87-2,21)	
TT	n_i	15	44	12	44
	$p_i \pm s_p$ CI %	11,19±2,72 (6,40-17,79)	17,05±2,34 (12,67-22,21)	12,12±3,28 (6,42-20,22)	17,05±2,34 (12,67-22,21)
	χ^2	1,933		0,97	
	p	0,165		0,326	
	OR(CI)	0,61 (0,33-1,15)		0,67 (0,34-1,33)	
G	n_i	165	316	123	316
	$p_i \pm s_p$ CI %	61,57±2,97 (55,45-67,42)	61,24±2,14 (56,89-65,47)	62,12±3,45 (54,97-68,90)	61,24±2,14 (56,89-65,47)
	χ^2	0,00		0,02	
	p	0,991		0,897	
	OR (CI)	1,01 (0,75-1,37)		1,04 (0,74-1,46)	
T	n_i	103	200	75	200
	$p_i \pm s_p$ CI %	38,43±2,97 (32,58-44,55)	38,76±2,14 (34,53-43,11)	37,88±3,45 (31,10-45,03)	38,76±2,14 (34,53-43,11)
	χ^2	0,00		0,02	
	p	0,991		0,897	
	OR (CI)	0,99 (0,73-1,34)		0,96 (0,69-1,35)	

При стратификации исследуемых групп по этнической принадлежности статистически значимые различия не выявлены ($p>0,05$) (таблица 27).

Таблица 27 – Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного варианта rs238406 гена *ERCC2* в группе больных и индивидов контрольной группы в зависимости от этнической принадлежности

Генотип, аллель		Больные РЯ русские	Контроль русские	Больные РЯ татары	Контроль татары
1	2	3	4	5	6
GG	n_i	40	40	31	32
	$p_i \pm s_p$ CI %	36,36 \pm 4,59 (27,40-46,08)	38,10 \pm 4,74 (28,79-48,09)	36,90 \pm 5,27 (26,63-48,13)	47,06 \pm 6,05 (34,83-59,55)
	χ^2	0,01		1,21	
	p	0,904		0,273	
	OR(CI)	0,93 (0,53-1,62)		0,66 (0,34-1,26)	
GT	n_i	57	47	38	26
	$p_i \pm s_p$ CI %	51,82 \pm 4,76 (42,09-61,45)	44,76 \pm 4,85 (35,05-54,78)	45,24 \pm 5,43 (34,34-56,48)	38,24 \pm 5,89 (26,71-50,82)
	χ^2	0,81		0,50	
	p	0,370		0,482	
	OR (CI)	1,33 (0,78-2,27)		1,33 (0,7-2,56)	
TT	n_i	13	18	15	10
	$p_i \pm s_p$ CI %	11,82 \pm 3,08 (6,45-19,36)	17,14 \pm 3,68 (10,49-25,73)	17,86 \pm 4,18 (10,35-27,74)	14,71 \pm 4,29 (7,28-25,39)
	χ^2	0,84		0,09	
	p	0,360		0,764	
	OR(CI)	0,65 (0,3-1,4)		1,26 (0,53-3,02)	
G	n_i	137	127	100	90
	$p_i \pm s_p$ CI %	62,27 \pm 3,27 (55,51-68,70)	60,48 \pm 3,37 (53,52-67,14)	59,52 \pm 3,79 (51,69-67,02)	66,18 \pm 4,06 (57,57-74,06)
	χ^2	0,08		1,15	
	p	0,777		0,285	
	OR (CI)	1,08 (0,73-1,59)		0,75 (0,47-1,2)	
T	n_i	83	83	68	46
	$p_i \pm s_p$ CI %	37,73 \pm 3,27 (31,30-44,49)	39,52 \pm 3,37 (32,86-46,48)	40,48 \pm 3,79 (32,98-48,31)	33,82 \pm 4,06 (25,94-42,43)
	χ^2	0,08		1,15	
	p	0,777		0,285	
	OR (CI)	0,93 (0,63-1,37)		1,33 (0,83-2,13)	

Эпидемиологические исследования, опубликованные в зарубежной литературе, носят противоречивый характер относительно роли полиморфного локуса rs238406 в развитии РЯ. Zhao Z. с соавторами установили, что исследуемый вариант гена *ERCC2* связан с повышенным риском развития РЯ в условиях доминантной генетической модели (GT+TT vs GG) (Zhao Z., 2018). Похожие результаты были получены Romanowicz H, где аллель rs238406*T и гомозиготный генотип rs238406*TT оказались ассоциированы, соответственно, с 3- и 2-кратным увеличением риска развития РЯ в польской популяции (Romanowicz et al., 2017). Тогда как недавно проведенный метаанализ не подтвердил данной взаимосвязи (Tian et al. 2020).

Анализ ассоциации полиморфного локуса rs4150407 гена ERCC3 с риском развития рака яичников

Ген *ERCC3* локализован на хромосоме 2q14.3 и состоит из 15 экзонов. Белковый продукт, кодируемый данным геном, представляет собой АТФ-зависимую ДНК-геликазу, которая является субъединицей корового комплекса ТFIIN. Совместно с геликазой *ERCC2*, *ERCC3* участвует в раскручивании и стабилизации цепи ДНК в процессе эксцизионной репарации нуклеотидов (NER), обеспечивая доступ белков эксцизии к поврежденному участку (Ferri et al., 2020). Согласно исследованию Stradella, патогенные варианты в гене *ERCC3* были связаны с повышенным риском развития РЯ, что дает возможность рассматривать его как потенциальный ген-кандидат при данном заболевании (Stradella et al., 2020).

В настоящем исследовании проведен анализ распределения частоты аллелей и генотипов полиморфного варианта rs4150407 гена *ERCC3* в группах больных спорадическим РЯ, с клиническими признаками НРЯ и здоровых индивидов различной этнической принадлежности, проживающих в РБ.

Полиморфный локус rs4150407 (с.471+555A>G) локализован в 3' UTR области гена *ERCC3* и предположительно может влиять на его регуляцию, однако функциональные исследования данного ДНК-локуса не проводились.

При изучении распределения частот генотипов полиморфного локуса rs4150407 гена *ERCC3* было установлено, что в выборках нашего региона чаще встречается гетерозиготный генотип rs4150407*AG, выявленный с частотой 50,73% у больных спорадическими формами РЯ, 47,5% у больных с клиническими признаками наследственного РЯ и 50,17% у здоровых индивидов. В результате сравнительного анализа распределения частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs4150407 гена *ERCC3* в группе больных спорадическим РЯ и здоровых индивидов было показано, что аллель rs4150407*G и образованный им гомозиготный генотип rs4150407*GG достоверно чаще встречались среди лиц контрольной группы, чем среди пациенток – OR=0,73: 95%, CI (0,57-0,94); p=0,017; OR=0,6: 95% CI:(0,39-0,95), p=0,037, соответственно). Тогда как носительство альтернативного аллеля rs4150407*A, напротив, было ассоциировано с повышенным риском развития спорадических форм РЯ (OR=1,38: 95%, CI (1,07-1,77); p=0,017). Однако в группе больных с клиническими признаками НРЯ данных ассоциаций обнаружено не было.

При разделении исследуемой выборки на основе этнической принадлежности было установлено, что генотип rs4150407*GG является протективным маркером развития РЯ для женщин русской этнической принадлежности (OR=0,47; 95% CI:(0,25-0,91), p=0,034). Кроме того, нами была обнаружена тенденция к увеличению частоты аллеля rs4150407*A в группе пациенток русской этнической принадлежности, по сравнению с соответствующей группой здоровых индивидов (OR=1,47; 95% CI:(1,03-2,11); p=0,045) (таблица 31). При разделении испытуемых с учетом менопаузального статуса (таблица 29), а также по тяжести заболевания (таблица 30) не было выявлено различий между исследуемыми группами (p>0,05).

Таблица 28 – Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного варианта rs4150407 гена *ERCC3* в группах больных спорадическим РЯ и с клиническими признаками НРЯ и индивидов контрольной группы

Генотип, Аллель		Больные РЯ (спорадические)	Контроль (в целом)	Больные РЯ (с признаками НРЯ)	Контроль (в целом)
1	2	3	4	5	6
AA	n_i	67	76	20	76
	$p_i \pm s_p$ CI %	32,68±3,28 (26,31-39,56)	25,08±2,49 (20,30-30,36)	25,00±4,84 (15,99-35,94)	25,08±2,49 (20,30-30,36)
	χ^2	3,13		0,02	
	P	0,077		0,898	
	OR (CI)	1,45 (0,98-2,14)		1 (0,56-1,76)	
AG	n_i	104	152	38	152
	$p_i \pm s_p$ CI %	50,73±3,49 (43,68-57,76)	50,17±2,87 (44,39-55,93)	47,50±5,58 (36,21-58,98)	50,17±2,87 (44,39-55,93)
	χ^2	0,00		0,09	
	P	0,973		0,766	
	OR (CI)	1,02 (0,72-1,46)		0,9 (0,55-1,47)	
GG	n_i	34	75	22	75
	$p_i \pm s_p$ CI %	16,59±2,60 (11,77-22,40)	24,75±2,48 (20,00-30,01)	27,50±4,99 (18,10-38,62)	24,75±2,48 (20,00-30,01)
	χ^2	4,37		0,13	
	P	0,037		0,720	
	OR (CI)	0,6 (0,39-0,95)		1,15 (0,66-2,01)	
A	n_i	238	304	78	304
	$p_i \pm s_p$ CI %	58,05±2,44 (53,11-62,87)	50,17±2,03 (46,11-54,22)	48,75±3,95 (40,78-56,77)	50,17±2,03 (46,11-54,22)
	χ^2	5,79		0,05	
	P	0,017		0,819	
	OR (CI)	1,38 (1,07-1,77)		0,95 (0,67-1,34)	
G	n_i	172	302	82	302
	$p_i \pm s_p$ CI %	41,95±2,44 (37,13-46,89)	49,83±2,03 (45,78-53,89)	51,25±3,95 (43,23-59,22)	49,83±2,03 (45,78-53,89)
	χ^2	5,79		0,05	
	P	0,017		0,819	
	OR (CI)	0,73 (0,57-0,94)		1,06 (0,75-1,5)	

Таблица 29 – Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs4150407 гена *ERCC3* у больных РЯ и здоровых женщин с учетом менопаузального статуса

Генотип, Аллель		Больные РЯ в премено- паузе	Контроль в премено- паузе	Больные РЯ в постмено- паузе	Контроль в постмено- паузе
1	2	3	4	5	6
AA	n_i	26	42	48	28
	$p_i \pm s_p$ CI %	31,71 \pm 5,14 (21,87-42,92)	25,93 \pm 3,44 (19,37-33,39)	31,17 \pm 3,73 (23,96-39,12)	23,93 \pm 3,94 (16,53-32,70)
	χ^2	0,64		1,39	
	P	0,424		0,240	
	OR(CI)	1,33 (0,74-2,38)		1,44 (0,84-2,48)	
AG	n_i	44	85	70	57
	$p_i \pm s_p$ CI %	53,66 \pm 5,51 (42,30-64,75)	52,47 \pm 3,92 (44,49-60,36)	45,45 \pm 4,01 (37,42-53,67)	48,72 \pm 4,62 (39,37-58,13)
	χ^2	0,00		0,17	
	P	0,969		0,682	
	OR(CI)	1,05 (0,62-1,79)		0,88 (0,54-1,42)	
GG	n_i	12	35	36	32
	$p_i \pm s_p$ CI %	14,63 \pm 3,90 (7,80-24,17)	21,60 \pm 3,23 (15,53-28,74)	23,38 \pm 3,41 (16,94-30,86)	27,35 \pm 4,12 (19,52-36,36)
	χ^2	1,28		0,37	
	P	0,258		0,545	
	OR(CI)	0,62 (0,3-1,28)		0,81 (0,47-1,41)	
A	n_i	96	169	166	113
	$p_i \pm s_p$ CI %	58,54 \pm 3,85 (50,59-66,16)	52,16 \pm 2,78 (46,57-57,71)	53,90 \pm 2,84 (48,15-59,56)	48,29 \pm 3,27 (41,73-54,89)
	χ^2	1,54		1,46	
	P	0,216		0,228	
	OR (CI)	1,3 (0,89-1,89)		1,25 (0,89-1,76)	
G	n_i	68	155	142	121
	$p_i \pm s_p$ CI %	41,46 \pm 3,85 (33,84-49,41)	47,84 \pm 2,78 (42,29-53,43)	46,10 \pm 2,84 (40,44-51,85)	51,71 \pm 3,27 (45,11-58,27)
	χ^2	1,54		1,46	
	P	0,216		0,228	
	OR (CI)	0,77 (0,53-1,13)		0,8 (0,57-1,12)	

Таблица 30 – Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs4150407 в гене *ERCC3* у больных РЯ и здоровых женщин с учетом тяжести течения заболевания

Генотип, Аллель		Больные РЯ (I-II стадия)	Контроль (в целом)	Больные РЯ (III-IV стадия)	Контроль (в целом)
1	2	3	4	5	6
AA	n_i	29	76	38	76
	$p_i \pm s_p$ CI %	30,85±4,76 (21,73-41,22)	25,08±2,49 (20,30-30,36)	31,15±4,19 (23,07-40,16)	25,08±2,49 (20,30-30,36)
	χ^2	0,95		1,34	
	P	0,331		0,249	
	OR(CI)	1,33 (0,8-2,22)		1,35 (0,85-2,15)	
AG	n_i	47	152	57	152
	$p_i \pm s_p$ CI %	50,00±5,16 (39,51-60,49)	50,17±2,87 (44,39-55,93)	46,72±4,52 (37,64-55,97)	50,17±2,87 (44,39-55,93)
	χ^2	0,01		0,29	
	P	0,929		0,593	
	OR (CI)	0,99 (0,63-1,58)		0,87 (0,57-1,33)	
GG	n_i	18	75	27	75
	$p_i \pm s_p$ CI %	19,15±4,06 (11,76-28,56)	24,75±2,48 (20,00-30,01)	22,13±3,76 (15,12-30,54)	24,75±2,48 (20,00-30,01)
	χ^2	0,96		0,20	
	P	0,327		0,655	
	OR(CI)	0,72 (0,41-1,28)		0,86 (0,52-1,43)	
A	n_i	105	304	133	304
	$p_i \pm s_p$ CI %	55,85±3,62 (48,44-63,07)	50,17±2,03 (46,11-54,22)	54,51±3,19 (48,03-60,87)	50,17±2,03 (46,11-54,22)
	χ^2	1,64		1,15	
	P	0,202		0,285	
	OR (CI)	1,26 (0,91-1,75)		1,19 (0,88-1,6)	
G	n_i	83	302	111	302
	$p_i \pm s_p$ CI %	44,15±3,62 (36,93-51,56)	49,83±2,03 (45,78-53,89)	45,49±3,19 (39,13-51,97)	49,83±2,03 (45,78-53,89)
	χ^2	1,64		1,15	
	P	0,202		0,285	
	OR (CI)	0,8 (0,57-1,11)		0,84 (0,62-1,13)	

Таблица 31 – Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного варианта rs4150407 в гене *ERCC3* в группе больных и индивидов контрольной группы в зависимости от этнической принадлежности

Генотип, Аллель		Больные РЯ русские	Контроль русские	Больные РЯ татары	Контроль татары
1	2	3	4	5	6
AA	n _i	37	32	29	19
	p _i ±s _p CI %	32,46±4,39 (23,99-41,86)	25,40±3,88 (18,07-33,92)	31,87±4,88 (22,49-42,47)	24,36±4,86 (15,35-35,40)
	χ ²	1,13		0,82	
	P	0,288		0,365	
	OR(CI)	1,41 (0,81-2,47)		1,45 (0,74-2,87)	
AG	n _i	60	60	38	44
	p _i ±s _p CI %	52,63±4,68 (43,06-62,06)	47,62±4,45 (38,65-56,70)	41,76±5,17 (31,50-52,57)	56,41±5,61 (44,70-67,61)
	χ ²	0,42		3,05	
	P	0,518		0,081	
	OR (CI)	1,22 (0,74-2,03)		0,55 (0,3-1,02)	
GG	n _i	17	34	24	15
	p _i ±s _p CI %	14,91±3,34 (8,93-22,80)	26,98±3,95 (19,47-35,62)	26,37±4,62 (17,69-36,65)	19,23±4,46 (11,18-29,73)
	χ ²	4,52		0,84	
	P	0,034		0,361	
	OR(CI)	0,47 (0,25-0,91)		1,5 (0,72-3,13)	
A	n _i	134	124	96	82
	p _i ±s _p CI %	58,77±3,26 (52,08-65,23)	49,21±3,15 (42,88-55,55)	52,75±3,70 (45,23-60,18)	52,56±4,00 (44,42-60,60)
	χ ²	4,03		0,01	
	P	0,045		0,941	
	OR (CI)	1,47 (1,03-2,11)		1,01 (0,66-1,55)	
G	n _i	94	128	86	74
	p _i ±s _p CI %	41,23±3,26 (34,77-47,92)	50,79±3,15 (44,45-57,12)	47,25±3,70 (39,82-54,77)	47,44±4,00 (39,40-55,58)
	χ ²	4,03		0,01	
	P	0,045		0,941	
	OR (CI)	0,68 (0,47-0,98)		0,99 (0,65-1,52)	

На сегодняшний день количество опубликованных работ, посвященных изучению роли полиморфного локуса *rs4150407* в гене *ERCC3* в развитии

различных онкопатологий очень ограничено, что подчеркивает актуальность данного направления исследований. В работе Khlifi R была показана ассоциация полиморфного локуса rs4150407 с риском развития полипозного риносинусита в доминантной генетической модели (AG+GG) (Khlifi et al., 2017). В более ранней работе была обнаружена связь данного полиморфного варианта с развитием рака легких у лиц африканского происхождения (Buch et al., 2012). Таким образом, для подтверждения полученных в нашей работе результатов необходимо проведение дальнейших репликативных исследований.

*Анализ ассоциации полиморфного локусу rs861539 гена XRCC3 с
риском развития рака яичников*

Ген XRCC3 локализован на коротком плече 14 хромосомы 14q32.33 и содержит 11 экзонов. Белковый продукт данного гена является одним из основных участников в гомологичной рекомбинационной репарации (HRR) двухцепочечных разрывов ДНК и поддержании целостности генома. Наиболее изученным полиморфным вариантом в данном гене является замена цитозина на тимин в позиции 18607 кДНК в 7 экзоне (rs861539). На аминокислотном уровне данное изменение приводит к замене треонина на метионин в 241 кодоне белка XRCC3, что может повлиять на функцию фермента и/или его взаимодействие с другими белками, участвующими в репарации повреждений ДНК. В нескольких работах сообщалось, что носительство генотипа Met/Met было ассоциировано с относительно низкой способностью к репарации ДНК, что проявлялось в более высоких уровнях аддуктов ДНК и увеличению числа микроядер в лимфоцитах (Matullo et al., 2001; Aka et al., 2004). В многочисленных литературных источниках сообщалось о связи данного варианта с повышенным риском развития опухолей различных локализаций, таких как РМЖ (Taruna et al., 2022; Weiqing et al., 2021), рак щитовидной

железы (Weiqing et al., 2021), рак кожи (Jinghua et al., 2015) и рак легких (Hung-Jen C et al., 2015).

Анализ полиморфного локуса rs861539 гена *XRCC3* показал, что среди пациенток со спорадическим РЯ и пациенток с клиническими признаками НРЯ наиболее часто встречался гомозиготный генотип GG (52,07% и 52,7%, соответственно), тогда как в контрольной группе данный генотип был выявлен лишь у 44,7% женщин. Гетерозиготный генотип rs861539*CT с одинаковой частотой встречался в группе больных спорадическим РЯ (47,47%) и контроля (47,73%) и чуть реже в группе больных с клиническими признаками НРЯ (44,59%). В результате сравнения частоты минорного аллеля и образованного им генотипа полиморфного варианта rs861539 гена *XRCC3* в группе больных спорадическим РЯ и здоровых доноров было установлено, что аллель rs861539*T и генотип rs861539*TT являются маркерами пониженного риска развития спорадического РЯ (OR=0,7; 95% CI:(0,52-0,93), p=0,016; OR=0,06; 95% CI:(0,01-0,43), p=0,001). Кроме того, было обнаружено, что аллель rs861539*C достоверно чаще встречался в группе больных спорадическим РЯ по сравнению с группой контроля (OR=1,44; 95% CI:(0,08-1,91), p=0,016). Однако в группе больных с клиническими признаками НРЯ данных ассоциаций не обнаружено (таблица 32).

При разделении испытуемых с учетом менопаузального статуса не было выявлено различий между исследуемыми группами (p>0,05) (таблица 33).

Носительство генотипа rs861539*TT в данном исследовании также было ассоциировано с пониженным риском развития РЯ для женщин как с ранними (I-II), так и запущенными (III-IV) стадиями рака (OR=0,01: 95%, CI (0-4,1); p=0,002; OR=0,21: 95%, CI (0,05-0,93); p=0,043, соответственно). Кроме того, для женщин с ранними стадиями РЯ аллель rs861539*C оказался маркером повышенного риска развития РЯ (OR=1,57; 95% CI:(1,14-2,16), p=0,008), тогда как альтернативный аллель rs861539*T – протективным маркером развития заболевания (OR=0,64; 95% CI:(0,46-0,88), p=0,008) (таблица 34).

При разделении общей выборки больных РЯ на основе этнической принадлежности была установлена ассоциация аллеля rs861539*С исследуемого полиморфного локуса с повышенным риском развития РЯ для женщин татарской этнической принадлежности (OR=1,76; 95% CI:(1,06-2,93), p=0,04), тогда как альтернативный аллель rs861539*Т оказался маркером пониженного риска развития РЯ для представительниц данной этнической группы (OR=0,57; 95% CI:(0,34-0,95), p=0,04) (таблица 35).

Таблица 32 – Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs861539 гена XRCC3 в группах больных спорадическим РЯ и с клиническими признаками НРЯ и индивидов контрольной группы

Генотип, Аллель		Больные РЯ (спорадические)	Контроль (в целом)	Больные РЯ (с признаками НРЯ)	Контроль (в целом)
1	2	3	4	5	6
СС	n_i	113	118	39	118
	$p_i \pm s_p$ CI %	52,07±3,39 (45,21-58,88)	44,70±3,06 (38,60-50,91)	52,70±5,80 (40,75-64,43)	44,70±3,06 (38,60-50,91)
	χ^2	2,31		1,18	
	P	0,129		0,277	
	OR (CI)	1,34 (0,94-1,93)		1,38 (0,82-2,31)	
СТ	n_i	103	126	33	126
	$p_i \pm s_p$ CI %	47,47±3,39 (40,67-54,34)	47,73±3,07 (41,57-53,94)	44,59±5,78 (33,02-56,61)	47,73±3,07 (41,57-53,94)
	χ^2	0,00		0,12	
	P	0,973		0,730	
	OR (CI)	0,99 (0,69-1,42)		0,88 (0,53-1,48)	
ТТ	n_i	1	20	2	20
	$p_i \pm s_p$ CI %	0,46±0,46 (0,01-2,54)	7,58±1,63 (4,69-11,46)	2,70±1,89 (0,33-9,42)	7,58±1,63 (4,69-11,46)
	χ^2	12,79		1,53	
	P	0,001		0,218	
	OR (CI)	0,06 (0,01-0,43)		0,34 (0,08-1,49)	
С	n_i	329	362	111	362
	$p_i \pm s_p$ CI %	75,81±2,06 (71,49-79,76)	68,56±2,02 (64,41-72,50)	75,00±3,56 (67,22-81,75)	68,56±2,02 (64,41-72,50)
	χ^2	5,83		1,99	
	P	0,016		0,159	
	OR (CI)	1,44 (1,08-1,91)		1,38 (0,91-2,08)	
Т	n_i	105	166	37	166
	$p_i \pm s_p$ CI %	24,19±2,06 (20,24-28,51)	31,44±2,02 (27,50-35,59)	25,00±3,56 (18,25-32,78)	31,44±2,02 (27,50-35,59)
	χ^2	5,83		1,99	
	P	0,016		0,159	
	OR (CI)	0,7 (0,52-0,93)		0,73 (0,48-1,1)	

Таблица 33 – Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs861539 гена XRCC3 в группе больных РЯ и контроля с учетом менопаузального статуса

Генотип, Аллель		Больные РЯ в премено- паузе	Контроль в премено- паузе	Больные РЯ в постмено- паузе	Контроль в постмено- паузе
1	2	3	4	5	6
СС	n_i	41	63	80	48
	$p_i \pm s_p$ CI %	48,81 \pm 5,45 (37,74-59,96)	45,00 \pm 4,20 (36,59-53,63)	54,79 \pm 4,12 (46,35-63,04)	44,44 \pm 4,78 (34,88-54,32)
	χ^2	0,17		2,26	
	P	0,678		0,133	
	OR(CI)	1,17 (0,68-2,01)		1,52 (0,92-2,5)	
СТ	n_i	42	66	64	53
	$p_i \pm s_p$ CI %	50,00 \pm 5,46 (38,89-61,11)	47,14 \pm 4,22 (38,66-55,75)	43,84 \pm 4,11 (35,64-52,28)	49,07 \pm 4,81 (39,33-58,87)
	χ^2	0,08		0,49	
	P	0,783		0,484	
	OR(CI)	1,12 (0,65-1,93)		0,81 (0,49-1,34)	
ТТ	n_i	1	11	2	7
	$p_i \pm s_p$ CI %	1,19 \pm 1,18 (0,03-6,46)	7,86 \pm 2,27 (3,99-13,62)	1,37 \pm 0,96 (0,17-4,86)	6,48 \pm 2,37 (2,65-12,90)
	χ^2	3,38		3,37	
	P	0,066		0,067	
	OR(CI)	0,14 (0,02-1,12)		0,2 (0,04-0,99)	
С	n_i	124	192	224	149
	$p_i \pm s_p$ CI %	73,81 \pm 3,39 (66,48-80,28)	68,57 \pm 2,77 (62,78-73,97)	76,71 \pm 2,47 (71,44-81,44)	68,98 \pm 3,15 (62,35-75,08)
	χ^2	1,15		3,42	
	P	0,285		0,065	
	OR (CI)	1,29 (0,84-1,98)		1,48 (1-2,2)	
Т	n_i	44	88	68	67
	$p_i \pm s_p$ CI %	26,19 \pm 3,39 (19,72-33,52)	31,43 \pm 2,77 (26,03-37,22)	23,29 \pm 2,47 (18,56-28,56)	31,02 \pm 3,15 (24,92-37,65)
	χ^2	1,15		3,42	
	P	0,285		0,065	
	OR (CI)	0,77 (0,51-1,19)		0,68 (0,46-1)	

Таблица 34 – Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs861539 гена *XRCC3* у больных РЯ и здоровых женщин с учетом тяжести течения заболевания

Генотип, Аллель		Больные РЯ (I-II стадия)		Контроль (в целом)		Больные РЯ (III-IV стадия)		Контроль (в целом)	
1	2	3		4		5		6	
CC	n_i	87		118		59		118	
	$p_i \pm s_p$ CI %	54,72 \pm 3,95 (46,64-62,61)		44,70 \pm 3,06 (38,60-50,91)		50,43 \pm 4,62 (41,03-59,80)		44,70 \pm 3,06 (38,60-50,91)	
	χ^2	3,60				0,85			
	P	0,058				0,357			
	OR(CI)	1,5 (1,01-2,22)				1,26 (0,81-1,95)			
CT	n_i	72		126		56		126	
	$p_i \pm s_p$ CI %	45,28 \pm 3,95 (37,39-53,36)		47,73 \pm 3,07 (41,57-53,94)		47,86 \pm 4,62 (38,54-57,29)		47,73 \pm 3,07 (41,57-53,94)	
	χ^2	0,15				0,01			
	P	0,699				0,932			
	OR (CI)	0,91 (0,61-1,35)				1,01 (0,65-1,56)			
TT	n_i	0		20		2		20	
	$p_i \pm s_p$ CI %	0,00		7,58 \pm 1,63 (4,69-11,46)		1,71 \pm 1,20 (0,21-6,04)		7,58 \pm 1,63 (4,69-11,46)	
	χ^2	11,02				4,11			
	P	0,002				0,043			
	OR(CI)	0,01 (0-4,1)				0,21 (0,05-0,93)			
C	n_i	246		362		174		362	
	$p_i \pm s_p$ CI %	77,36 \pm 2,35 (72,36-81,84)		68,56 \pm 2,02 (64,41-72,50)		74,36 \pm 2,85 (68,26-79,83)		68,56 \pm 2,02 (64,41-72,50)	
	χ^2	7,17				2,34			
	P	0,01				0,126			
	OR (CI)	1,57 (1,14-2,16)				1,33 (0,94-1,88)			
T	n_i	72		166		60		166	
	$p_i \pm s_p$ CI %	22,64 \pm 2,35 (18,16-27,64)		31,44 \pm 2,02 (27,50-35,59)		25,64 \pm 2,85 (20,17-31,74)		31,44 \pm 2,02 (27,50-35,59)	
	χ^2	7,17				2,34			
	P	0,01				0,126			
	OR (CI)	0,64 (0,46-0,88)				0,75 (0,53-1,06)			

Таблица 35 – Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs861539 гена XRCC3 в группах больных РЯ и контроля в зависимости от этнической принадлежности

Генотип, Аллель		Больные РЯ русские	Контроль русские	Больные РЯ татары	Контроль Татары
1	2	3	4	5	6
CC	n_i	65	55	50	27
	$p_i \pm s_p$ CI %	54,62±4,56 (45,24-63,77)	44,72±4,48 (35,75-53,94)	56,82±5,28 (45,82-67,34)	42,86±6,23 (30,46-55,95)
	χ^2	1,99		2,33	
	p	0,158		0,127	
	OR (CI)	1,49 (0,9-2,47)		1,75 (0,91-3,37)	
CT	n_i	53	60	36	29
	$p_i \pm s_p$ CI %	44,54±4,56 (35,43-53,93)	48,78±4,51 (39,67-57,95)	40,91±5,24 (30,54-51,91)	46,03±6,28 (33,39-59,06)
	χ^2	0,28		0,21	
	p	0,594		0,645	
	OR (CI)	0,84 (0,51-1,4)		0,81 (0,42-1,56)	
TT	n_i	1	8	2	7
	$p_i \pm s_p$ CI %	0,84±0,84 (0,02-4,59)	6,50±2,22 (2,85-12,41)	2,27±1,59 (0,28-7,97)	11,11±3,96 (4,59-21,56)
	χ^2	3,95		3,66	
	p	0,047		0,056	
	OR(CI)	0,12 (0,02-0,99)		0,19 (0,04-0,93)	
C	n_i	183	170	136	83
	$p_i \pm s_p$ CI %	76,89±2,73 (71,01-82,09)	69,11±2,95 (62,92-74,82)	77,27±3,16 (70,36-83,24)	65,87±4,22 (56,90-74,08)
	χ^2	3,33		4,23	
	p	0,068		0,04	
	OR (CI)	1,49 (0,99-2,23)		1,76 (1,06-2,93)	
T	n_i	55	76	40	43
	$p_i \pm s_p$ CI %	23,11±2,73 (17,91-28,99)	30,89±2,95 (25,18-37,08)	22,73±3,16 (16,76-29,64)	34,13±4,22 (25,92-43,10)
	χ^2	3,33		4,23	
	p	0,068		0,04	
	OR (CI)	0,67 (0,45-1,01)		0,57 (0,34-0,95)	

В нескольких работах зарубежных ученых также проводилось исследование роли полиморфного локуса rs861539 гена XRCC3 в патогенезе

РЯ, однако результаты носят противоречивый характер. В недавно опубликованном метаанализе, включающем в общей сложности 4634 пациенток и 7381 здоровых индивидов из 12 исследований типа «случай-контроль», авторы обнаружили связь между полиморфным вариантом rs861539 и пониженным риском развития РЯ в двух генетических моделях (GA vs GG: OR = 0,88, 95% CI = 0,81-0,96, p = 0,003; GG vs GA+AA: OR = 0,89, 95% CI = 0,82–0,96, p = 0,004). При разделении групп по этнической принадлежности авторы выявили статистически значимые различия для пациентов, относящихся к европеоидной популяции, на основе гетерозиготной (GA vs GG: OR = 0,88, 95% CI = 0,81-0,96, p = 0,004) и доминирующей модели (GG vs GA + AA: OR = 0,88, 95% CI = 0,81–0,96, p = 0,004). При анализе исследований, выполненных методом ПДРФ, данный полиморфный вариант был связан с повышенным риском развития РЯ в гомозиготной модели (GG vs AA: OR= 1,31, 95% CI= 1,06–1,62, p = 0,013) (Hu et al., 2022). Michalska с коллегами в своей работе пришли к выводу, что аллель rs861539*A и гомозиготный генотип rs861539*AA достоверно чаще встречались среди польских женщин с РЯ высокой степени дифференцировки (G1) (OR = 2.59; 95% CI = 2.08–3.22; p <0,0001; OR = 17.00; 95% CI = 8.42–34.28; p <0,0001). Интересно отметить, что в исследовании, проведенном Smolarz, аллель rs861539*A, напротив, выступал в качестве протективного маркера развития РЯ в польской популяции (OR= 0,85, 95%CI 0.72–0.99, p < 0,045) (Smolarz et al., 2019).

*Анализ ассоциации полиморфного локуса rs3218536 гена XRCC2 с
риском развития рака яичников*

Ген XRCC2 локализован на коротком плече 7 хромосомы 7q36.1 и кодирует белок, играющий важную роль в репарации двухцепочечных разрывов ДНК путем гомологичной рекомбинации. В своей работе Johnson и др. продемонстрировали более чем 100-кратное снижение эффективности

HRR в клетках с дефицитом XRCC2 по сравнению с клеточной линией, экспрессирующей исследуемый ген (Johnson et al., 1999).

Полиморфный локус с. 563 G>A (rs3218536) картирован в 3 экзоне гена XRCC2 и на аминокислотном уровне приводит к замене аргинина на гистидин в 188 кодоне. В ряде исследований изучалась взаимосвязь данного полиморфного варианта с развитием злокачественных новообразований различных локализаций таких как РЯ (Kamali et al., 2017; Yuan et al., 2020; Zhang and Zhang et al., 2016), РМЖ (Adolf et al., 2023), рак шейки матки (Ivy et al., 2021) и колоректальный рак (Balkan et al., 2020). Однако результаты этих исследований по-прежнему остаются противоречивыми.

В проведённом нами исследовании гомозиготный по минорному аллелю генотип rs3218536*TT не был обнаружен ни в группе больных РЯ, ни в группе контроля. Частота встречаемости гетерозиготного генотипа оказалась чуть выше в группе пациенток со спорадическими формами РЯ (9,79%), чем в группе здоровых доноров (8,71%), однако различия оказались статистически незначимы ($p>0,05$) (таблица 36).

При разделении исследуемой выборки с учетом менопаузального статуса (таблица 37), тяжести заболевания (таблица 38) и этнической принадлежности (таблица 39) мы также не выявили статистически значимых различий в распределении аллелей и генотипов полиморфного локуса rs3218536 гена XRCC2 в сравниваемых выборках.

Таблица 36 – Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs3218536 гена XRCC2 в группах больных спорадическим РЯ и с клиническими признаками НРЯ и индивидов контрольной группы

Генотип, аллель		Больные (спорадические)	Контроль (в целом)	Больные (с признаками НРЯ)	Контроль (в целом)
1	2	3	4	5	6
СС	n_i	175	283	68	283
	$p_i \pm s_p$ CI %	90,21 \pm 2,13 (85,13-94,00)	91,29 \pm 1,60 (87,58-94,18)	94,44 \pm 2,70 (86,38-98,47)	91,29 \pm 1,60 (87,58-94,18)
	χ^2	0,06		0,41	
	p	0,801		0,520	
	OR (CI)	0,88 (0,48-1,63)		1,62 (0,55-4,79)	
СТ	n_i	19	27	4	27
	$p_i \pm s_p$ CI %	9,79 \pm 2,13 (6,00-14,87)	8,71 \pm 1,60 (5,82-12,42)	5,56 \pm 2,70 (1,53-13,62)	8,71 \pm 1,60 (5,82-12,42)
	χ^2	0,06		0,41	
	p	0,801		0,520	
	OR (CI)	1,14 (0,62-2,11)		0,62 (0,21-1,82)	
С	n_i	369	593	140	593
	$p_i \pm s_p$ CI %	95,10 \pm 1,10 (92,46-97,03)	95,65 \pm 0,82 (93,73-97,11)	97,22 \pm 1,37 (93,04-99,24)	95,65 \pm 0,82 (93,73-97,11)
	χ^2	0,06		0,4	
	p	0,806		0,529	
	OR (CI)	0,88 (0,49-1,61)		1,59 (0,55-4,63)	
Т	n_i	19	27	4	27
	$p_i \pm s_p$ CI %	4,90 \pm 1,10 (2,97-7,54)	4,35 \pm 0,82 (2,89-6,27)	2,78 \pm 1,37 (0,76-6,96)	4,35 \pm 0,82 (2,89-6,27)
	χ^2	0,06		0,4	
	p	0,806		0,529	
	OR (CI)	1,13 (0,62-2,06)		0,63 (0,22-1,82)	

Таблица 37 – Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs3218536 гена *XRCC2* в группе больных РЯ и контроля с учетом менопаузального статуса

Генотип, аллель		Больные РЯ в премено- паузе	Контроль в премено- паузе	Больные РЯ в постмено- паузе	Контроль в постмено- паузе
1	2	3	4	5	6
СС	n_i	68	141	131	121
	$p_i \pm s_p$ CI %	89,47±3,52 (80,31-95,34)	89,24±2,47 (83,33-93,61)	92,91±2,16 (87,34-96,55)	93,08±2,23 (87,26-96,79)
	χ^2	0,03		0,03	
	p	0,864		0,855	
	OR(CI)	1,03 (0,42-2,49)		0,97 (0,38-2,48)	
СТ	n_i	8	17	10	9
	$p_i \pm s_p$ CI %	10,53±3,52 (4,66-19,69)	10,76±2,47 (6,39-16,67)	7,09±2,16 (3,45-12,66)	6,92±2,23 (3,21-12,74)
	χ^2	0,03		0,03	
	p	0,864		0,855	
	OR(CI)	0,98 (0,4-2,37)		1,03 (0,4-2,61)	
С	n_i	144	299	272	251
	$p_i \pm s_p$ CI %	94,74±1,81 (89,89-97,70)	94,62±1,27 (91,53-96,84)	96,45±1,10 (93,58-98,29)	96,54±1,13 (93,53-98,41)
	χ^2	0,03		0,03	
	p	0,868		0,858	
	OR (CI)	1,02 (0,43-2,43)		0,98 (0,39-2,44)	
Т	n_i	8	17	10	9
	$p_i \pm s_p$ CI %	5,26±1,81 (2,30-10,11)	5,38±1,27 (3,16-8,47)	3,55±1,10 (1,71-6,42)	3,46±1,13 (1,59-6,47)
	χ^2	0,03		0,03	
	p	0,868		0,858	
	OR (CI)	0,98 (0,41-2,32)		1,03 (0,41-2,57)	

Таблица 38 – Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs3218536 гена *XRCC2* у больных РЯ и здоровых женщин с учетом тяжести течения заболевания

Генотип, аллель		Больные РЯ (I-II стадия)	Контроль (в целом)	Больные РЯ (III-IV стадия)	Контроль (в целом)
1	2	3	4	5	6
CC	n_i	81	283	102	283
	$p_i \pm s_p$ CI %	92,05±2,88 (84,30-96,74)	91,29±1,60 (87,58-94,18)	91,89±2,59 (85,17-96,23)	91,29±1,60 (87,58-94,18)
	χ^2	0,00		0,00	
	p	0,995		0,998	
	OR (CI)	1,1 (0,46-2,63)		1,08 (0,49-2,38)	
CT	n_i	7	27	9	27
	$p_i \pm s_p$ CI %	7,95±2,88 (3,26-15,70)	8,71±1,60 (5,82-12,42)	8,11±2,59 (3,77-14,83)	8,71±1,60 (5,82-12,42)
	χ^2	0,00		0,00	
	p	0,995		0,998	
	OR (CI)	0,91 (0,38-2,16)		0,93 (0,42-2,03)	
C	n_i	169	593	213	593
	$p_i \pm s_p$ CI %	96,02±1,47 (91,98-98,39)	95,65±0,82 (93,73-97,11)	95,95±1,32 (92,44-98,13)	95,65±0,82 (93,73-97,11)
	χ^2	0,00		0,00	
	p	0,995		0,998	
	OR (CI)	1,1 (0,47-2,57)		1,08 (0,5-2,33)	
T	n_i	7	27	9	27
	$p_i \pm s_p$ CI %	3,98±1,47 (1,61-8,02)	4,35±0,82 (2,89-6,27)	4,05±1,32 (1,87-7,56)	4,35±0,82 (2,89-6,27)
	χ^2	0,00		0,00	
	p	0,995		0,998	
	OR (CI)	0,91 (0,39-2,13)		0,93 (0,43-2,01)	

Таблица 39 – Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs3218536 гена *XRCC2* в группах больных РЯ и контроля в зависимости от этнической принадлежности

Генотип, аллель		Больные РЯ русские	Контроль русские	Больные РЯ татары	Контроль татары
1	2	3	4	5	6
CC	n_i	94	113	76	73
	$p_i \pm s_p$ CI %	90,38±2,89 (83,03-95,29)	87,60±2,90 (80,64-92,74)	95,00±2,44 (87,69-98,62)	92,41±2,98 (84,20-97,16)
	χ^2	0,21		0,12	
	p	0,644		0,729	
	OR (CI)	1,33 (0,58-3,07)		1,56 (0,42-5,76)	
CT	n_i	10	16	4	6
	$p_i \pm s_p$ CI %	9,62±2,89 (4,71-16,97)	12,40±2,90 (7,26-19,36)	5,00±2,44 (1,38-12,31)	7,59±2,98 (2,84-15,80)
	χ^2	0,21		0,12	
	p	0,644		0,729	
	OR (CI)	0,75 (0,33-1,74)		0,64 (0,17-2,36)	
C	n_i	198	242	156	152
	$p_i \pm s_p$ CI %	95,19±1,48 (91,34-97,67)	93,80±1,50 (90,12-96,41)	97,50±1,23 (93,72-99,31)	96,82±1,40 (92,72-98,96)
	χ^2	0,20		0,12	
	p	0,654		0,733	
	OR (CI)	1,31 (0,58-2,95)		1,54 (0,43-5,57)	
T	n_i	10	16	4	5
	$p_i \pm s_p$ CI %	4,81±1,48 (2,33-8,66)	6,20±1,50 (3,59-9,88)	2,50±1,23 (0,69-6,28)	3,18±1,40 (1,04-7,28)
	χ^2	0,20		0,12	
	p	0,654		0,733	
	OR (CI)	0,76 (0,34-1,72)		0,65 (0,18-2,35)	

В ряду зарубежных исследований также проводилась оценка роли полиморфного локуса rs3218536 гена *XRCC2* в патогенезе РЯ, однако результаты носят противоречивый характер. В метаанализах, проведенных в разное время тремя исследовательскими группами, минорный аллель был ассоциирован с пониженным риском развития РЯ в различных генетических моделях (Kamali et al., 2017; Yuan et al., 2020; Zhang and Zhang, 2016).

Напротив, в недавно опубликованной работе Gowtham Kumar с коллегами выявили значительную связь минорного аллеля rs3218536*T, а также генотипов rs3218536*CT и rs3218536*TT с повышенным риском развития РЯ в Южной Индии (OR=2.30, $p < 0,001$; OR= 2,23, $p < 0,001$, OR= 4,68, $p=0,011$, соответственно) (Gowtham Kumar et al., 2021). Тогда как в работе Smolarz ученые не обнаружили статистически значимых различий в распределении аллелей и генотипов полиморфного локуса rs3218536 гена *XRCC2* в группе больных РЯ и здоровых доноров из Польши (Smolarz et al., 2019). Описанные противоречия можно объяснить существенными межэтническими различиями изученных популяций. По этой причине для установления роли полиморфного локуса в формировании РЯ у женщин из Республики Башкортостан необходимо проведение дальнейших репликативных исследований с учетом этнической принадлежности участниц исследования.

3.7 Построение предсказательных моделей на основе алгоритмов машинного обучения

Построение предсказательных моделей риска развития заболевания и прогноза рецидива осуществлялось с применением алгоритма градиентный бустинг. Данный алгоритм показал наилучшие показатели специфичности и чувствительности построенных моделей. На сегодняшний день градиентный бустинг считается одним из наиболее продвинутых алгоритмов машинного обучения, применяемых для решения задач классификации и регрессии. Бустинг улучшает точность прогнозирования и производительность моделей путем преобразования слабых классификаторов в единую сильную модель обучения.

На первом этапе была построена модель, предсказывающая риск развития СРЯ и НРЯ на основе 5 полиморфных локусов генов системы репарации. Набор исходных данных включал в себя результаты

генотипирования 189 больных спорадическим РЯ, 87 больных с клиническими признаками НРЯ и 317 женщин из контрольной группы. Вся выборка была разделена на 2 группы: тренировочная (группа, на которой модель проходит обучение) и тестовая (группа для определения точности предсказания модели).

В качестве предикторов для построения первой модели были использованы следующие данные: генотипы полиморфных локусов rs238406/*ERCC2*, rs13181/*ERCC2*, rs4150407/*ERCC3*, rs861539/*XRCC3* и rs3218536/*XRCC2*, менопаузальный статус и этническая принадлежность.

В процессе разработки модели данные больных с клиническими признаками НРЯ были исключены, поскольку вносили большую вероятность ошибки.

Итоговая модель обладала следующими показателями: площадь под ROC кривой составила 0,69 (специфичность – 65%, чувствительность – 59%), что соответствует средней предсказательной способности данной модели (рисунок 33).

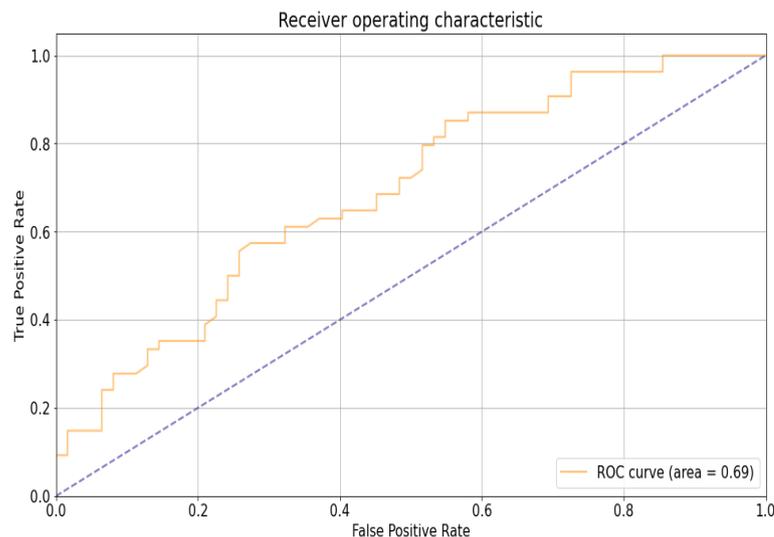


Рисунок 33 – ROC-кривая, характеризующая зависимость риска развития СРЯ в зависимости от менопаузального статуса, национальности и молекулярно-генетических особенностей

Кроме того, были определены предикторы, вносящие больший вклад в предсказательную способность модели. В данном случае таковыми оказались: менопаузальный статус, этническая принадлежность, полиморфные локусы rs861539, rs3218536 и rs13181. Вклад каждого используемого предиктора представлен в таблице 40, а также в виде графического изображения (рисунок 34).

Таблица 40 – Вклад каждого из предикторов в предсказательную способность модели, выраженный в процентах

Предиктор	Вклад (%)
Менопаузальный статус	24.063744
rs861539_C	23.362973
rs3218536_C	9.851556
rs13181_A	8.975727
Этническая принадлежность	8.742103
rs238406_G	6.128281
rs4150407_G	4.773626
rs4150407_A	4.150599
rs13181_C	3.056550
rs238406_T	2.802529
rs3218536_T	2.238678
rs86153_T	1.853634

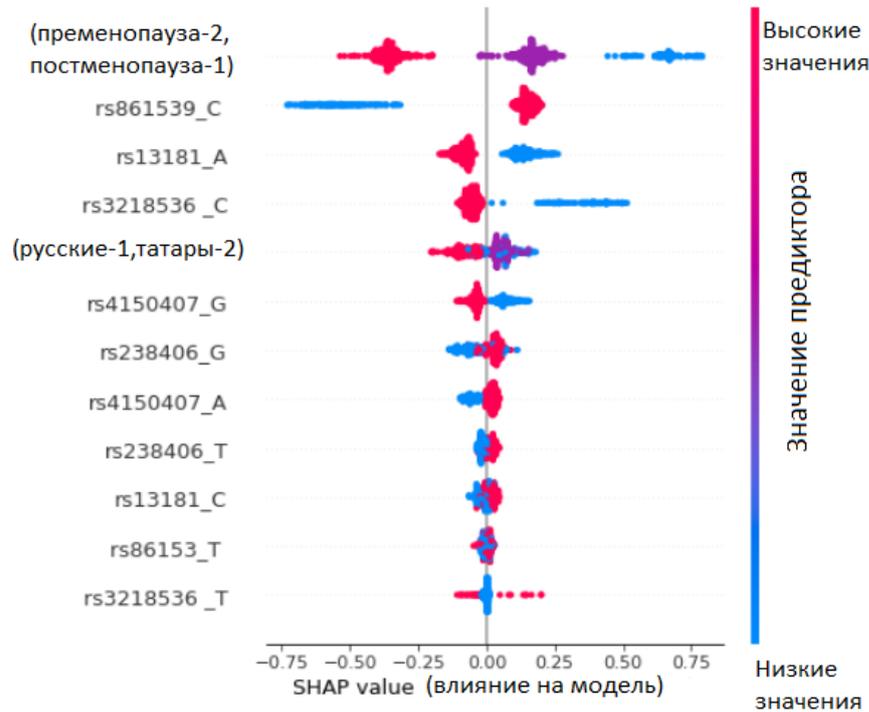


Рисунок 34 – График, отображающий вклад каждого из предикторов в предсказательную способность модели

На следующем этапе была построена модель, предсказывающая риск развития СРЯ у женщин русской этнической принадлежности на основе 12 генетических маркеров. Набор исходных данных включал в себя результаты генотипирования 86 больных спорадическим РЯ и 145 женщин из контрольной группы. Больные с клиническими признаками НРЯ не были включены в исследование по причине небольшого количества данных. Вся выборка была разделена на 2 группы: тренировочная и тестовая группа.

В качестве предикторов для построения второй модели были использованы следующие данные: генотипы полиморфных локусов rs238406/*ERCC2*, rs13181/*ERCC2*, rs4150407/*ERCC3*, rs861539/*XRCC3*, rs3218536/*XRCC2*, rs117230607/*ATP23*, rs144292904/*ADPRH*, rs147006695/*PON3*, rs17850034/*USP45*, rs17879749/*MMP1*, rs36007488/*TBRG4* и rs61757718/*PIK3C2G*.

Полученная модель обладала следующими показателями: AUC= 0,66, чувствительность – 68%, специфичность – 61% и так же обладала средней предсказательной способностью (рисунок 35).

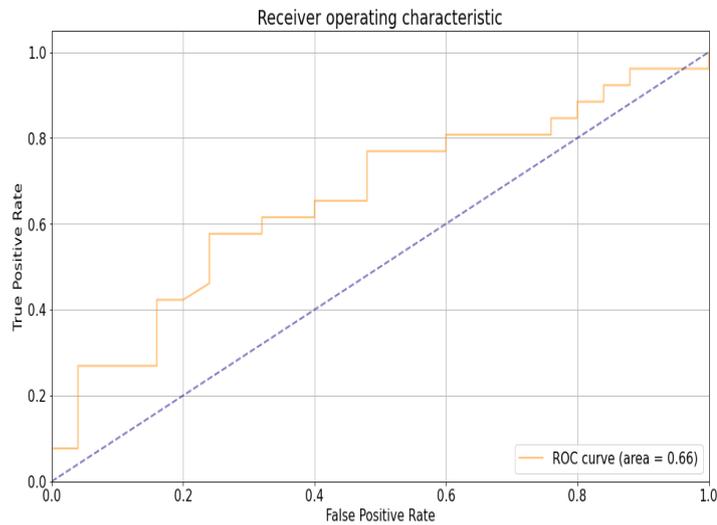


Рисунок 35 – ROC-кривая, характеризующая зависимость риска развития спорадического РЯ у женщин русской этнической принадлежности в зависимости от молекулярно-генетических особенностей

Предикторами, вносящими наибольший вклад в предсказательную способность модели в данном случае, оказались: полиморфные локусы генов системы репарации rs238406, rs13181, rs3218536 и rs4150407. Вклад каждого из использованных предикторов представлен в таблице 41, а также в виде графического изображения (рисунок 36).

Таблица 41 – Вклад каждого из предикторов в предсказательную способность модели, выраженный в процентах

Предиктор	Вклад (%)
rs238406_T	15.840035
rs13181_A	14.292044
rs238406_G	13.922660

Продолжение таблицы 41

rs3218536_C	12.068087
rs4150407_A	9.851489
rs861539_C	8.594068
rs4150407_G	6.945770
rs13181_C	4.637699
rs861539_T	3.511686
rs3218536_T	2.703993
rs17879749_AA	2.229340
rs61757718_C	2.058338
rs147006695_A	1.170231
rs17850034_G	0.956774
rs36007488_delG	0.845767
rs117230607_T	0.288487
rs144292904_A	0.083531

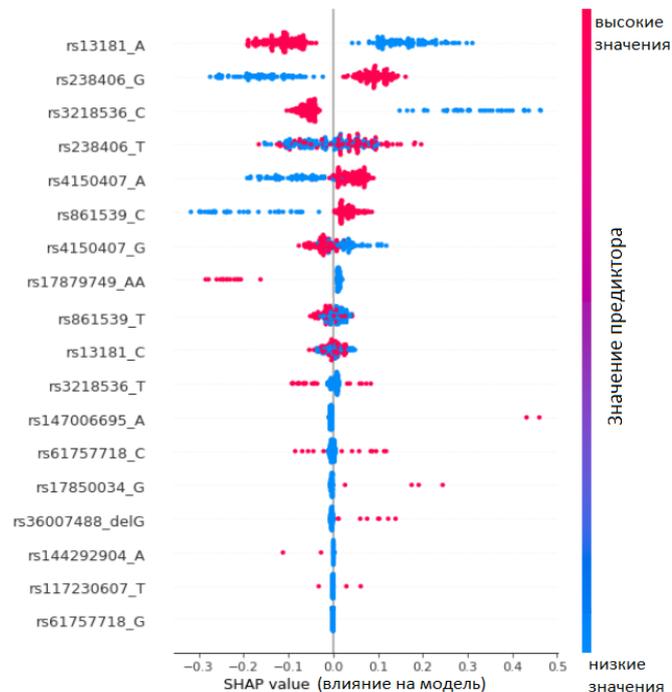


Рисунок 36 – График, отображающий вклад каждого из предикторов в предсказательную способность модели

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Злокачественные новообразования яичников составляют около 25% от всех злокачественных опухолей женских половых органов, при этом являются главной причиной смертности онкогинекологических больных во многих странах мира, включая Россию. Важнейшая роль в формировании данной онкопатологии отводится генетическим факторам. Наследственные формы РЯ составляют более одной пятой (около 23%) случаев ЗНО яичников. В последние годы знания о молекулярных механизмах опухолеобразования яичников существенно расширились, однако многие детали этого процесса остаются не до конца ясными. Изучение генетических и этноспецифических особенностей семейных форм заболевания является на сегодняшний день перспективной областью исследований, результаты которых позволят повысить эффективность диагностики и лечения данной группы злокачественных новообразований и приблизить человечество к прецизионной медицине.

Данная диссертационная работа направлена на изучение молекулярно-генетических основ спорадического и наследственного рака яичников у женщин из Республики Башкортостан.

С этой целью было сформировано несколько направлений исследования:

1. Проведение таргетного NGS-секвенирования кодирующей области 21 гена-кандидата РЯ в образцах с клиническими признаками наследственных форм заболевания с последующим биоинформатическим анализом, верификацией выявленных изменений методом прямого секвенирования по Сэнгеру и отбором клинически-значимых вариантов для скрининга на расширенной выборке больных РЯ и здоровых доноров.

2. Анализ распределения частот аллелей и генотипов 10 полиморфных локусов и редких генетических вариантов новых

потенциальных генов-кандидатов РЯ, отобранных по результатам международных исследований.

3. Анализ ассоциации ряда полиморфных локусов генов репарации ДНК с риском развития РЯ с учетом этноспецифических особенностей нашего региона.

4. Построение предсказательной модели риска развития заболевания на основе выявленных молекулярно-генетических маркеров с использованием алгоритмов машинного обучения.

На первом этапе нами проведено таргетное NGS-секвенирование 48 герминальных образцов ДНК, выделенных из венозной крови больных РЯ с клиническими признаками наследственной формы заболевания из Республики Башкортостан. В результате последующей биоинформатической обработки данных патогенные и вероятно-патогенные варианты в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *NBN*, *MSH6* и *MUTYH* выявлены у 16/48 пациенток (33,3%). Кроме того были обнаружены 13 редких вариантов неопределенного значения, включая 6 вариантов с неясной клинической значимостью (VUS), 3 – с противоречивыми данными о патогенности и 4 – ранее не описанных в литературе или базах данных, локализованные в генах *BRCA2* (3), *PALB2* (2), *ATM* (1), *NBN* (2), *MRE11* (2), *MSH6* (1), *MUTYH* (1), *CHEK2* (1) и *BARD1* (1). Все отобранные варианты были подтверждены посредством секвенирования по Сэнгеру.

Проведен анализ клиничко-морфологических особенностей течения заболевания у пациенток с выявленными клинически значимыми изменениями в исследованных генах и без них. Установлено, что в анамнезе у пациенток с герминальными мутациями достоверно чаще встречаются родственники 1 и 2 степени родства, страдающие онкологическими заболеваниями ($70,59 \pm 11,05\%$), по сравнению с больными РЯ без клинически значимых изменений в исследованных генах ($70,59 \pm 11,05\%$ vs $32,26 \pm 8,40\%$, $p=0,024$). Кроме того, у больных с идентифицированными

патогенными/вероятно патогенными вариантами достоверно чаще диагностировали низкодифференцированную серозную аденокарциному по сравнению с женщинами без клинически значимых изменений в изученных генах – $87,50 \pm 8,27$ vs $50,00 \pm 8,84$, $p=0,022$. Проведенный анализ показателей выживаемости у пациенток с выявленными патогенными/вероятно патогенными вариантами и без них не выявил достоверных различий в сравниваемых группах. Однако у пациенток с герминальными мутациями отмечался более длительный период общей выживаемости в группе больных с первичным и рецидивным РЯ, а также безрецидивной выживаемости у больных рецидивным РЯ.

Проведен скрининг отобранных по результатам таргетного секвенирования вероятно патогенных вариантов *c.3143delG/BRCA1*, *c.3700_3704delGTAAA/BRCA1*, *c.2199delG/BRCA1*, *c.3751dupA/BRCA2*, *c.1187G>A/MUTYH*, *c.429G>A/NBN*, а также вариантов неясной клинической значимости *c.5624A>C/BRCA2*, *c.3968A>G/BRCA2*, *c.1492G>A/MRE11*, *c.1480G>A/MRE11*, *c.985G>A/MUTYH*, *c.2149C>T/ATM*, *c.315G>C/PALB2*, *c.1912T>C/NBN* и *1967_1969dupGTC/BARD1* среди больных раком яичников и здоровых доноров из РБ. В результате скрининга нами не было выявлено других носительниц вероятно патогенных вариантов *c.3143delG/BRCA1*, *c.2199delG/BRCA1*, *c.3751dupA/BRCA2*, *c.1187G>A/MUTYH*, *c.429G>A/NBN* и вариантов неясной клинической значимости *c.5624A>C/BRCA2*, *c.3968A>G/BRCA2*, *c.1492G>A/MRE11*, *c.1480G>A/MRE11*, *c.985G>A/MUTYH*, *c.2149C>T/ATM*, *c.315G>C/PALB2*, *c.1912T>C/NBN* и *1967_1969dupGTC/BARD1* кроме носительниц, обнаруженных в ходе таргетного секвенирования. Мутация *c.3700_3704delGTAAA* в гене *BRCA1* обнаружена в общей выборке больных РЯ с частотой 0,64%. Вариант *c.1187G>A* в гене *MUTYH* был идентифицирован у 2 женщин в общей выборке больных РЯ (0,64%) и у 2 женщин из контрольной группы (0,63%). При

сравнительном анализе распределения частот аллелей и генотипов изученных локусов достоверных различий между выборками не выявлено ($p > 0,05$).

Еще одним направлением нашей работы был анализ встречаемости частот редких аллелей 10 генетических вариантов потенциальных генов-кандидатов РЯ среди больных РЯ и здоровых женщин русской этнической принадлежности. В результате исследования редкие аллели ДНК-локусов rs73052628 /*NRIP2* и rs201755391/*PARP14* не были выявлены в выборках больных РЯ, НРЯ и здоровых индивидов нашего региона. Минорные аллели 6-и полиморфных локусов потенциальных генов-кандидатов рака яичников (*ATP23*, *ADPRH*, *USP45*, *MMP1*, *TBRG4*, *PIK3C2G*) встречались с частотой 1,17–6,9% среди пациенток со спорадическими формами РЯ, с частотой 3,03–12,1% среди пациенток с клиническими признаками НРЯ и с частотой 0,68–8,2% в контрольной группе. Минорный аллель ДНК-локуса rs147006695/*PON3* встречался лишь в группе спорадического РЯ с частотой 1,17%. Тогда как вариант rs763243801 в гене *RGS20* был выявлен лишь у одной женщины из контрольной группы (0,68%). Установлено, что носительство минорного аллеля варианта rs17879749 в гене *MMP1* было ассоциировано с пониженным риском развития спорадических форм РЯ (OR=0,13, $p=0,037$). Ассоциации изученных 9-и полиморфных локусов генов-кандидатов с риском развития рака яичников не выявлено.

В результате проведенного ассоциативного анализа полиморфных локусов rs13181, rs238406, rs4150407, rs861539 и rs3218536 генов системы репарации ДНК (*ERCC2*, *ERCC3*, *XRCC2*, *XRCC3*) с риском развития эпителиального РЯ у женщин из РБ было установлено, что аллель rs13181*С гена *ERCC2* является генетическим маркером повышенного риска развития РЯ у женщин русской этнической принадлежности, аллель rs861539*G гена *XRCC3* – маркером повышенного риска развития РЯ у татар. Была установлена ассоциация аллеля rs861539*С с повышенным риском развития РЯ для женщин татарской этнической принадлежности (OR=1,76; 95%

CI:(1,06-2,93), $p=0,04$), тогда как альтернативный аллель rs861539**T* оказался маркером пониженного риска развития РЯ для представительниц данной этнической группы (OR=0,57; 95% CI:(0,34-0,95), $p=0,04$). Полиморфный локус rs3218536 гена *XRCC2* не ассоциирован с риском развития РЯ в нашем регионе.

На основе молекулярно-генетических маркеров, выявленных в ходе исследования с использованием алгоритмов машинного обучения, было разработано 2 модели, предсказывающих риск развития РЯ. В качестве предикторов для 1 модели были использованы данные генотипирования полиморфных локусов генов репарации ДНК rs238406/*ERCC2*, rs13181/*ERCC2*, rs4150407/*ERCC3*, rs861539/*XRCC3* и rs3218536/*XRCC2*, а также менопаузальный статус и этническая принадлежность. Предикторами для 2 модели служили данные генотипирования полиморфных вариантов rs238406/*ERCC2*, rs13181/*ERCC2*, rs4150407/*ERCC3*, rs861539/*XRCC3*, rs3218536/*XRCC2*, rs117230607/*ATP23*, rs144292904/*ADPRH*, rs147006695/*PON3*, rs17850034/*USP45*, rs17879749/*MMP1*, rs36007488/*TBRG4* и rs61757718/*PIK3C2G*. Обе модели обладали средней предсказательной способностью (AUC=0,69 и AUC=0,66, соответственно).

Таким образом, в ходе проведенных исследований нами получены значимые результаты, обладающие научной новизной и практической значимостью, которые позволили идентифицировать важные молекулярно-генетические маркеры для оценки риска развития рака яичников у женщин нашего региона.

ВЫВОДЫ

1. У 33,3% пациенток с РЯ были идентифицированы патогенные варианты в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *NBN*, *MSH6*, *MUTYH*, *CHEK2*. В 25% случаев молекулярный дефект был обнаружен в гене *BRCA1*.
2. Впервые у пациентки с РЯ идентифицировано сочетанное носительство патогенных вариантов с.2199delG/*BRCA1* и с.1100delC/*CHEK2*. У одной пациентки был обнаружен ранее не описанный нонсенс вариант с.429G>A/*NBN*.
3. Установлена низкая частота встречаемости отобранных в результате таргетного NGS секвенирования вариантов среди больных РЯ (0,31–0,64%) и среди здоровых женщин (0–0,63%) из Республики Башкортостан.
4. У носительниц герминальных патогенных вариантов достоверно чаще диагностировали низкодифференцированную серозную аденокарциному и отягощенный семейный онкологический анамнез ($p<0,05$).
5. Маркером повышенного риска развития РЯ у русских является аллель rs13181*G гена *ERCC2*, маркером повышенного риска развития РЯ у татар является аллель rs861539*C гена *XRCC3*.
6. На основе выявленных молекулярно-генетических маркеров построено две предсказательные модели риска развития РЯ: для женщин различной этнической принадлежности (AUC=0,69) и для женщин русской этнической принадлежности (AUC=0,66).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ДНК	Дезоксирибонуклеиновая кислота
ПЦР	Полимеразная цепная реакция
РЯ	Рак яичников
НРЯ	Наследственный рак яичников
СРЯ	Спорадический рак яичников
РМЖ	Рак молочной железы
СЛ	Синдром Линча
СПЕ	Синдром Пейтца-Егерса
АФ	Анемия Фанкони
СН	Синдром Неймегена
АТ	Атаксия телеангиэктазия
РБ	Республика Башкортостан
HRM	High resolution melting analysis (Анализ кривых плавления с высокой разрешающей способностью)
NGS	Next generation sequencing (секвенирование следующего поколения)
HRR	Репарация путем гомологичной рекомбинации
MMR	Мисмэтч репарация
NER	Экцизионная репарация нуклеотидов
BER	Экцизионная репарация оснований

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Батенева, Е.И. Высокая частота мутаций в генах BRCA1, BRCA2, CHEK2, NBN, BLM у больных раком яичников в российской популяции / Е.И. Батенева, М.Г. Филиппова, А.Р. Тюляндина, и др. //Опухоли женской репродуктивной системы. – 2014. – №. 4. – С. 51-56.
2. Бермишева, М.А. Анализ мутаций a657del5 и p. R215W в гене NBN у больных раком молочной железы в Республике Башкортостан и Ханты-Мансийском автономном округе / М.А. Бермишева, Н.В. Богданова, Г.Ф. Зиннатуллина, и др. //Медицинская генетика. – 2009. – Т. 8. – №. 8. – С. 36-40.
3. Бермишева, М.А. Этнические особенности формирования генетической предрасположенности к развитию рака молочной железы / М.А. Бермишева, Н.В. Богданова, И.Р. Гилязова, и др. //Генетика. – 2018. – Т. 54. – №. 2. – С. 233-242.
4. Богомолова, О.А. Герминальные мутации в генах BRCA1 и BRCA2 у пациенток Юга России с клиническими признаками наследственного рака молочной железы / О.А. Богомолова, Ю.Р. Шатова, М.И. Верескунова, и др. //Современные проблемы науки и образования. – 2017. – №. 5. – С. 114-114.
5. Бровкина, О.И. Гены системы репарации: популяционные различия наследственных типов рака яичников и молочной железы, выявляемые методом секвенирования нового поколения / О.И. Бровкина, М.Г. Гордиев, Р.Ф. Еникеев, и др. //Опухоли женской репродуктивной системы. – 2017. – Т. 13. – №. 2.
6. Валова, Я. В. Роль полиморфных вариантов гена эксцизионной репарации ERCC2 в патогенезе рака яичников у женщин разного этнического происхождения/ Я.В. Валова, Э.Т. Мингажева, Д.С. Прокофьева и др. //Гены и клетки. – 2022. – Т. 17. – №. 2. – С. 56-59.

7. Виллерт, А.Б. Молекулярно-генетические факторы прогноза течения и эффективности лечения рака яичников. 1.5.7.– генетика / А.Б. Виллерт // Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук. – Томск. – 2022. – 361с.
8. Глотов, О.Р. Секвенирование экзозома человека и перспективы предиктивной медицины 1.5.7 – генетика / О.Р. Глотов // Диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук. – Санкт-Петербург. – 2023. – 456 с.
9. Гулян, И.Р. Рак молочной железы: риск-ассоциированные мутации гена BRCA 1 для скрининга жителей Приморья / И.Р. Гулян, Н.Ю. Чернышева, А.М. Стенкова, и др. //Тихоокеанский медицинский журнал. – 2018. – №. 1 (71). – С. 44-47.
10. Журман, В.Н. Влияние молекулярно-генетических характеристик на прогноз впервые выявленного серозного рака яичников high-grade III-IV стадии в зависимости от вариантов лечения/ В.Н. Журман //Поволжский онкологический вестник. – 2022. – Т. 13. – №. 4. – С. 17-25.
11. Каприн, А.Д. Злокачественные новообразования в России в 2021 году (заболеваемость и смертность) / А. Д. Каприн, В. В. Старинский, А. О. Шахзадова // М.: ФГБУ «МНИОИ им. ПА Герцена» Минздрава России. – 2022. – 252 с.
12. Лаптиев, Р.А. Медико-генетическое консультирование при наследственных формах рака молочной железы и рака яичников / Р.А. Лаптиев, М.А. Корженевская, А.П. Соколенко, и др. //Ученые записки СПбГМУ им. ИП Павлова. – 2018. – Т. 25. – №. 2.
13. Любченко, Л.Н. Медико-генетическое консультирование и ДНК-диагностика при наследственной предрасположенности к раку молочной железы и раку яичников / Л. Н. Любченко, Е. И. Батенева // М.: ИГ РОНЦ 2014. – 75 с.
14. Любченко, Л.Н. Наследственный рак молочной железы и/или яичников: ДНК-диагностика, индивидуальный прогноз, лечение и профилактика.

- 14.00.14-онкология. 03.00.15. – генетика / Л.Н.Любченко // Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук. – Москва. – 2009.– 295 с.
15. Миннихметов, И.Р. Поиск патогенных изменений в генах BRCA1/2 у пациентов с раком молочной железы и яичников с использованием технологии массового параллельного секвенирования / И.Р. Миннихметов, Э.М. Кагирова, О.И. Машков, и др. // Вопросы онкологии. – 2022. – Т. 68. – №. 1. – С. 48-54.
16. Набиева, Ф.С. Современные аспекты эпидемиологии, этиологии и диагностики рака яичников (обзор литературы) / Ф.С. Набиева // Биология и интегративная медицина. – 2016. – №. 2. – С. 110-131.
17. Никитин, А.Г. Опыт создания публичной базы данных мутаций oncoBRCA: биоинформационные проблемы и решения / А.Г. Никитин, О.И. Бровкина, Д.Р. Ходырев, и др. // Клиническая практика. – 2020. – Т. 11. – №. 1.
18. Пржедецкий, Ю.В. BRCA-мутации у больных с клиническими признаками наследственного рака молочной железы в Южном федеральном округе / Ю.В. Пржедецкий, Д.И. Водолажский, Ю.Р. Шатова, и др. // Злокачественные опухоли. – 2015. – №. 4-S2. – С. 196-197.
19. Прокофьева, Д.С. Изучение генетических факторов риска развития рака яичников. 03.02.07 – генетика / Д.С.Прокофьева. // Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук. – Уфа. – 2013.– 186 с.
20. Савинова, А.Р. Индивидуальный подход к лечению рака яичников / А.Р. Савинова, И. Гатауллин // Казанский медицинский журнал. – 2016. – Т. 97. – №. 3. – С. 388-393.
21. Фаисханова, Р.Р. Особенности клинического течения и молекулярно-генетическая характеристика наследственного рака яичников. 3.1.6 онкология, лучевая терапия. 1.5.7.– генетика / Р.Р. Фаисханова //

- Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. – Москва. – 2021.– 190 с.
22. Хансон, К.П. Молекулярная генетика рака яичников / К.П. Хансон, Е. Имянитов, Х. 32, Хансон, К.П., //Практическая онкология. – 2000. – Т. 1. – №. 4. – С. 3-6.
23. Adolf, I.C. The interplay between xpg-Asp1104His polymorphism and reproductive risk factors elevates risk of breast cancer in Tanzanian women: A multiple interaction analysis / I.C. Adolf, L.P. Rweyemamu, G. Akan, et al. //Cancer Medicine. – 2023. – V. 12. – №. 1. – P. 472-487.
24. Agarwal, A. Identification of a metalloprotease-chemokine signaling system in the ovarian cancer microenvironment: implications for antiangiogenic therapy / A. Agarwal, S.L. Tressel, R. Kaimal, et al. //Cancer research. – 2010. – V. 70. – №. 14. – P. 5880-5890.
25. Aka, P. Are genetic polymorphisms in OGG1, XRCC1 and XRCC3 genes predictive for the DNA strand break repair phenotype and genotoxicity in workers exposed to low dose ionising radiations? / P. Aka, R. Mateuca, J.P. Buchet, Aka, P., //Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis. – 2004. – V. 556. – №. 1-2. – P. 169-181.
26. Akbari, M.R. Correlation between germline mutations in MMR genes and microsatellite instability in ovarian cancer specimens / M.R. Akbari, S. Zhang, D. Cragun, et al. //Familial cancer. – 2017. – V. 16. – №. 3. – P. 351-355.
27. Allemani, C. Global surveillance of cancer survival 1995–2009: analysis of individual data for 25 676 887 patients from 279 population-based registries in 67 countries (CONCORD-2) / C. Allemani, H. K. Weir, H. Carreira, et al //The Lancet. – 2015. – V. 385. – №. 9972. – P. 977-1010.
28. Al-Sukhni, W. Germline BRCA1 mutations predispose to pancreatic adenocarcinoma / W. Al-Sukhni, H. Rothenmund, B. Eppel, et al. //Human genetics. – 2008. – V. 124. – P. 271-278.

29. Alter, B. P. Fanconi anemia and the development of leukemia / B.P. Alter // Best practice & research Clinical haematology. – 2014. – V. 27. – №. 3-4. – P. 214-221.
30. Ambrose, M. Pathogenesis of ataxia-telangiectasia: the next generation of ATM functions / M. Ambrose, R.A. Gatti // The Journal of the American Society of Hematology. – 2013. – V. 121. – №. 20. – P. 4036-4045.
31. Amin, N. Genetic testing for epithelial ovarian cancer / N. Amin, N. Chaabouni, A. George // Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology. – 2020. – V. 65. – P. 125-138.
32. Amiri, M. Risk of endometrial, ovarian, and breast cancers in women with polycystic ovary syndrome: A systematic review and meta-analysis / M. Amiri, Y. Bidhendi-Yarandi, A. Fallahzadeh, et al. // International Journal of Reproductive BioMedicine (IJRM). – 2022. – P. 893–914-893–914.
33. Amirifar, P. Ataxia-telangiectasia: A review of clinical features and molecular pathology / P. Amirifar, M.R. Ranjouri, R. Yazdani, et al. // Pediatric Allergy and Immunology. – 2019. – V. 30. – №. 3. – P. 277-288.
34. Anderson, D. First genome-wide association study in an Australian aboriginal population provides insights into genetic risk factors for body mass index and type 2 diabetes / D. Anderson, H.J. Cordell, M. Fakiola, et al. // PloS one. – 2015. – V. 10. – №. 3. – P. e0119333.
35. Angeli, D. Predisposition to Breast and Ovarian Cancers: How Many and Which Genes to Test? / D. Angeli, S. Salvi, G. Tedaldi // International journal of molecular sciences. – 2020. – V. 21. – №. 3. – P. 1128.
36. Aretz, S. MUTYH-associated polyposis (MAP): evidence for the origin of the common European mutations p. Tyr179Cys and p. Gly396Asp by founder events / S. Aretz, R. Tricarico, L. Papi, et al. // European Journal of Human Genetics. – 2014. – V. 22. – №. 7. – P. 923-929.
37. Asati, V. PI3K/Akt/mTOR and Ras/Raf/MEK/ERK signaling pathways inhibitors as anticancer agents: Structural and pharmacological perspectives / V.

- Asati, D.K. Mahapatra, S.K. Bharti //European journal of medicinal chemistry. – 2016. – V. 109. – P. 314-341.
38. Babic, A. Association between breastfeeding and ovarian cancer risk / A. Babic, N. Sasamoto, B. Rosner, et al. //JAMA oncology. – 2020. – V. 6. – №. 6. – P. e200421-e200421.
39. Bahsi, T. Spectrum of BRCA1/BRCA2 variants in 1419 Turkish breast and ovarian cancer patients: a single center study / T. Bahsi, H. Erdem //Turkish Journal of Biochemistry. – 2019. – V. 45. – №. 1. – P. 83-90.
40. Balkan, E. ERCC2 Lys751Gln rs13181 and XRCC2 Arg188His rs3218536 gene polymorphisms contribute to susceptibility of colon, gastric, liver, lung and prostate cancer / E. Balkan, M. Bilici, B. Gundogdu, et al. //Journal Of Buon. – 2020. – V. 25. – №. 1. – P. 574-81.).
41. Bao, Y. Role of common ERCC1 polymorphisms in cisplatin-resistant epithelial ovarian cancer patients: A study in Chinese cohort / Y. Bao, B. Yang, J. Zhao, et al. //International Journal of Immunogenetics. – 2020. – V. 47. – №. 5. – P. 443-453.
42. Barbarulo, A. Poly (ADP-ribose) polymerase family member 14 (PARP14) is a novel effector of the JNK2-dependent pro-survival signal in multiple myeloma / A. Barbarulo, V. Iansante, A. Chaidos, et al. //Oncogene. – 2013. – V. 32. – №. 36. – P. 4231-4242.
43. Baysal, B.E. Analysis of CHEK2 gene for ovarian cancer susceptibility / B.E. Baysal, J. A. DeLoia, J. E. Willett-Brozick, et al. //Gynecologic oncology. – 2004. – V. 95. – №. 1. – P. 62-69.
44. Bera, K. Artificial intelligence in digital pathology—new tools for diagnosis and precision oncology / K. Bera, K.A. Schalper, D. Rimm, et al. //Nature reviews Clinical oncology. – 2019. – V. 16. – №. 11. – P. 703-715.
45. Beral, V. Menopausal hormone use and ovarian cancer risk: individual participant meta-analysis of 52 epidemiological studies / V. Beral, K. Gaitskell, C. Hermon, et al. //The Lancet. – 2015. – V. 385. – №. 9980. – P. 1835-1842.

46. Bermisheva, M.A. Frequency of CHEK2 gene mutations in breast cancer patients from Republic of Bashkortostan / M.A. Bermisheva, Z.R. Takhirova, N. Bogdanova, et al. //Molecular Biology. – 2014. – V. 48. – №. 1. – P. 46.
47. Bogdanova, N. Association of two mutations in the CHEK2 gene with breast cancer / N. Bogdanova, N. Enßen-Dubrowinskaja, S. Feshchenko, et al. //International journal of cancer. – 2005. – V. 116. – №. 2. – P. 263-266.
48. Bogdanova, N. CHEK2 mutation and hereditary breast cancer / N. Bogdanova, S. Feshchenko, C. Cybulski, et al. //Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology. – 2007. – V. 25. – №. 19. – P. e26-e26.
49. Bogdanova, N. NBS1 variant I171V and breast cancer risk / N. Bogdanova, P. Schürmann, R. Waltes, et al. //Breast cancer research and treatment. – 2008. – V. 112. – №. 1. – P. 75-79.
50. Bogdanova, N.V. High frequency and allele-specific differences of BRCA1 founder mutations in breast cancer and ovarian cancer patients from Belarus / N.V. Bogdanova, N.N. Antonenkova, Y.I. Rogov, et al. //Clinical genetics. – 2010. – V. 78. – №. 4. – P. 364-372.
51. Boulikas, T. Xeroderma pigmentosum and molecular cloning of DNA repair genes / T. Boulikas //Anticancer research. – 1996. – V. 16. – №. 2. – P. 693-708.
52. Braccini, L. PI3K-C2 γ is a Rab5 effector selectively controlling endosomal Akt2 activation downstream of insulin signalling / L. Braccini, E. Ciruolo, C.C. Campa, et al. //Nature communications. – 2015. – V. 6. – №. 1. – P. 1-15.
53. Brozek, I. Prevalence of the most frequent BRCA1 mutations in Polish population / I. Brozek, C. Cybulska, M. Ratajska, et al. //Journal of applied genetics. – 2011. – V. 52. – P. 325-330.
54. Buch, S.C. Genetic variability in DNA repair and cell cycle control pathway genes and risk of smoking-related lung cancer / S.C. Buch, B. Diergaard, T. Nukui, et al. //Molecular carcinogenesis. – 2012. – V. 51. – №. S1. – P. E11-E20.

55. Burchett, S. Regulators of G protein signaling: a bestiary of modular protein binding domains / S. Burchett // *Journal of neurochemistry*. – 2000. – V. 75. – №. 4. – P. 1335-1351.
56. Burgess, B.T. DNA repair in hereditary ovarian cancers: Implications for therapy / B.T. Burgess, J. Kolesar // *American Journal of Health-System Pharmacy*. – 2018. – V. 75. – №. 21. – P. 1697-1707.
57. Cabasag, C.J. Ovarian cancer today and tomorrow: A global assessment by world region and Human Development Index using GLOBOCAN 2020 / C.J. Cabasag, P.J. Fagan, J. Ferlay, et al. // *International Journal of Cancer*. – 2022. – V. 151. – №. 9. – P. 1535-1541.
58. Caminsky, N.G. Prioritizing variants in complete hereditary breast and ovarian cancer genes in patients lacking known BRCA mutations / N.G. Caminsky, E.J. Mucaki, A. Perri, et al. // *Human mutation*. – 2016. – V. 37. – №. 7. – P. 640-652.
59. Cantor, S.B. Hereditary breast cancer and the BRCA1-associated FANCI/BACH1/BRIP1 / S.B. Cantor, S. Guillemette // *Future oncology*. – 2011. – V. 7. – №. 2. – P. 253-261.
60. Carrera, P. Exome sequencing and pathway analysis for identification of genetic variability relevant for bronchopulmonary dysplasia (BPD) in preterm newborns: a pilot study / P. Carrera, C. Di Resta, C. Volonteri, et al. // *Clinica chimica acta*. – 2015. – V. 451. – P. 39-45.
61. Castaneda, A. BRIP1 mutation does not confer sensitivity to PARP inhibition / A. Castaneda, C. Moyer, J.L. Gillespie, et al. // *Gynecologic Oncology*. – 2019. – V. 154. – P. 87.
- 62.
63. Castera, L. Landscape of pathogenic variations in a panel of 34 genes and cancer risk estimation from 5131 HBOC families / L. Castera, V. Harter, E. Muller, et al. // *Genetics in Medicine*. – 2018. – V. 20. – №. 12. – P. 1677-1686.
64. Ceccaldi, R. A Unique Subset of Epithelial Ovarian Cancers with Platinum Sensitivity and PARP Inhibitor Resistance Discordance in Platinum and PARPi

- Response in Ovarian Cancer / R. Ceccaldi, K. W. O'Connor, K.W. Mouw, et al. //Cancer research. – 2015. – V. 75. – №. 4. – P. 628-634.
- 65.Chakravarty, D. OncoKB: a precision oncology knowledge base / D. Chakravarty, J. Gao, S. Phillips, et al. //JCO precision oncology. – 2017. – V. 1. – P. 1-16.
- 66.Chang, C. Association of pelvic inflammatory disease (PID) with ovarian cancer: a nationwide population-based retrospective cohort study from Taiwan / C. Chang, K. Lin, C.C. Huang, et al. //BMC Women's Health. – 2021. – V. 21. – №. 1. – P. 1-7.
- 67.Chen, H.J. Contribution of genotype of DNA double-strand break repair gene XRCC3, gender, and smoking behavior to lung cancer risk in Taiwan / H.J. Chen, W.S. Chang, T.C. Hsia, et al. //Anticancer research. – 2015. – V. 35. – №. 7. – P. 3893-3899.
- 68.Cho, M.Y. First report of ovarian dysgerminoma in Cowden syndrome with germline PTEN mutation and PTEN-related 10q loss of tumor heterozygosity / M.Y. Cho, H.S. Kim, C. Eng, et al. //The American journal of surgical pathology. – 2008. – V. 32. – №. 8. – P. 1258-1264.
- 69.Chou, W.C. Genes involved in angiogenesis and mTOR pathways are frequently mutated in Asian patients with pancreatic neuroendocrine tumors / W.C. Chou, P.H. Lin, Y.C. Yeh, et al. //International Journal of Biological Sciences. – 2016. – V. 12. – №. 12. – P. 1523.
- 70.Cleaver, J.E. Disorders of nucleotide excision repair: the genetic and molecular basis of heterogeneity / J.E. Cleaver, E.T. Lam, I. Revet, et al.//Nature Reviews Genetics. – 2009. – V. 10. – №. 11. – P. 756-768.
- 71.Coin, F. Mutations in the XPD helicase gene result in XP and TTD phenotypes, preventing interaction between XPD and the p44 subunit of TFIIH / F. Coin, J.C. Marinoni, C. Rodolfo, et al. //Nature genetics. – 1998. – V. 20. – №. 2. – P. 184-188.

72. Cole, A.J. Assessing mutant p53 in primary high-grade serous ovarian cancer using immunohistochemistry and massively parallel sequencing / A.J. Cole, T. Dwight, A.J. Gill, et al. // *Scientific reports*. – 2016. – V. 6. – №. 1. – P. 26191.
73. Constantinou, P. Genetics of gynaecological cancers / P. Constantinou, M. Tischkowitz // *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*. – 2017. – V. 42. – P. 114-124.
74. Cook, L.S. Adult lifetime alcohol consumption and invasive epithelial ovarian cancer risk in a population-based case–control study / L.S. Cook, A.C. Leung, K. Swenerton, et al. // *Gynecologic oncology*. – 2016. – V. 140. – №. 2. – P. 277-284.
75. Copson, E.R. Germline BRCA mutation and outcome in young-onset breast cancer (POSH): a prospective cohort study / E.R. Copson, T.C. Maishman, W.J. Tapper, et al. // *The lancet oncology*. – 2018. – V. 19. – №. 2. – P. 169-180.
76. Couch, F.J. Inherited mutations in 17 breast cancer susceptibility genes among a large triple-negative breast cancer cohort unselected for family history of breast cancer / F.J. Couch, S.N. Hart, P. Sharma, et al. // *Journal of clinical oncology*. – 2015. – V. 33. – №. 4. – P. 304.
77. Coulet, F. Germline RAD51C mutations in ovarian cancer susceptibility / F. Coulet, A. Fajac, C. Colas, et al. // *Clinical genetics*. – 2013. – V. 83. – №. 4. – P. 332-336.
78. Crosbie, E.J. Assessment of mismatch repair deficiency in ovarian cancer / E.J. Crosbie, N.A. Ryan, V. McVey, et al. // *Journal of Medical Genetics*. – 2021. – V. 58. – №. 10. – P. 687-691.
79. Cybulski, C. A deletion in CHEK2 of 5,395 bp predisposes to breast cancer in Poland / C. Cybulski, D. Wokołorczyk, T. Huzarski, et al. // *Breast cancer research and treatment*. – 2007. – V. 102. – №. 1. – P. 119-122.
80. Cybulski, C. CHEK2 is a multiorgan cancer susceptibility gene / C. Cybulski, B. Gorski, T. Huzarski, et al. // *The American Journal of Human Genetics*. – 2004. – V. 75. – №. 6. – P. 1131-1135.

81. Cybulski, C. Clinical outcomes in women with breast cancer and a PALB2 mutation: a prospective cohort analysis / C. Cybulski, W. Kluźniak, T. Huzarski, et al. //The Lancet Oncology. – 2015. – V. 16. – №. 6. – P. 638-644.
82. Cybulski, C. The spectrum of mutations predisposing to familial breast cancer in Poland / C. Cybulski, W. Kluźniak, T. Huzarski, et al. //International journal of cancer. – 2019. – V. 145. – №. 12. – P. 3311-3320.
83. Daimon, M. Association of the PIK3C2G gene polymorphisms with type 2 DM in a Japanese population / M. Daimon, H. Sato, T. Oizumi, et al. //Biochemical and biophysical research communications. – 2008. – V. 365. – №. 3. – P. 466-471.
84. Dansonka-Mieszkowska, A. A novel germline PALB2 deletion in Polish breast and ovarian cancer patients / A. Dansonka-Mieszkowska, A. Kluska, J. Moes, et al. //BMC medical genetics. – 2010. – V. 11. – №. 1. – P. 1-9.
85. Darelius, A. Risk of epithelial ovarian cancer Type I and II after hysterectomy, salpingectomy and tubal ligation—A nationwide case-control study / A. Darelius, B. Kristjansdottir, P. Dahm-Kähler, et al. //International Journal of Cancer. – 2021. – V. 149. – №. 8. – P. 1544-1552.
86. Dawson, L.M. A dominant RAD51C pathogenic splicing variant predisposes to breast and ovarian cancer in the Newfoundland population due to founder effect / L.M. Dawson, K.N. Smith, S. Werdyani, et al. //Molecular genetics & genomic medicine. – 2020. – V. 8. – №. 2. – P. e1070.
87. De Jong, D. Increased CHEK2 1100delC genotype frequency (also) in unselected breast cancer patients / D. De Jong, G. Vander, I.M. Nolte, et al. //Journal of Clinical Oncology. – 2004. – V. 22. – №. 14_suppl. – P. 9536-9536.
88. De Jong, D. Survival and Chemosensitivity in Advanced High Grade Serous Epithelial Ovarian Cancer Patients with and without a BRCA Germline Mutation: More Evidence for Shifting the Paradigm towards Complete Surgical Cytoreduction / D. De Jong, M. Otify, I. Chen, et al. //Medicina. – 2022. – V. 58. – №. 11. – P. 1611.

89. De Simone, M. Transcriptional landscape of human tissue lymphocytes unveils uniqueness of tumor-infiltrating T regulatory cells / M. De Simone, A. Arrigoni, G. Rossetti, et al. // *Immunity*. – 2016. – V. 45. – №. 5. – P. 1135-1147.
90. DeRycke, M.S. Targeted sequencing of 36 known or putative colorectal cancer susceptibility genes / M.S. DeRycke, S. Gunawardena, J.R. Balcom, et al. // *Molecular genetics & genomic medicine*. – 2017. – V. 5. – №. 5. – P. 553-569.
91. Dhiman, P. Methodological conduct of prognostic prediction models developed using machine learning in oncology: a systematic review / P. Dhiman, J. Ma, N. Andaur, et al. // *BMC medical research methodology*. – 2022. – V. 22. – №. 1. – P. 1-16.
92. Dicks, E. Germline whole exome sequencing and large-scale replication identifies FANCM as a likely high grade serous ovarian cancer susceptibility gene / E. Dicks, H. Song, S. Ramus, et al. // *Oncotarget*. – 2017. – V. 8. – №. 31. – P. 50930.
93. Dines, J.N. Systematic misclassification of missense variants in BRCA1 and BRCA2 «coldspots» / J.N. Dines, B.H. Shirts, T.P. Slavin, et al. // *Genetics in Medicine*. – 2020. – V. 22. – №. 5. – P. 825-830.
94. Dixon, S.C. Adult body mass index and risk of ovarian cancer by subtype: a Mendelian randomization study / S.C. Dixon, C.M. Nagle, A.P. Thrift, et al. // *International journal of epidemiology*. – 2016. – V. 45. – №. 3. – P. 884-895.
95. Dorling, L. Breast cancer risk genes: association analysis in more than 113,000 women / L. Dorling, S. Carvalho, J. Allen, et al. // *New England Journal of Medicine*. – 2021. – V. 384. – №. 5. – P. 428-439.
96. Dorsam, R.T. G-protein-coupled receptors and cancer / R.T. Dorsam, J. Gutkind // *Nature reviews cancer*. – 2007. – V. 7. – №. 2. – P. 79-94.
97. Draganov, D.I. Pharmacogenetics of paraoxonases: a brief review / D.I. Draganov, B.N. La Du // *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*. – 2004. – V. 369. – P. 78-88.

98. Duell, E.J. Polymorphisms in the DNA repair genes XRCC1 and ERCC2 and biomarkers of DNA damage in human blood mononuclear cells / E.J. Duell, J.K. Wiencke, T.J. Cheng, et al. // *Carcinogenesis*. – 2000. – V. 21. – №. 5. – P. 965-971.
99. Dunneram, Y. Diet and risk of breast, endometrial and ovarian cancer: UK Women's Cohort Study / Y. Dunneram, D.C. Greenwood, J. Cade, et al. // *British Journal of Nutrition*. – 2019. – V. 122. – №. 5. – P. 564-574.
100. Egly, J. TFIIH: from transcription to clinic / J. Egly // *FEBS letters*. – 2001. – V. 498. – №. 2-3. – P. 124-128.
101. Elias, K.M. Diagnostic potential for a serum miRNA neural network for detection of ovarian cancer / K.M. Elias, W. Fendler, K. Stawiski, et al. // *Elife*. – 2017. – V. 6. – P. e28932.
102. Elkholi, I.E. Investigating the causal role of MRE11A p. E506* in breast and ovarian cancer / I.E. Elkholi, M. Di Iorio, S. Fahiminiya, et al. // *Scientific Reports*. – 2021. – V. 11. – №. 1. – P. 1-9.
103. Ely, L.K. The role of opportunistic bilateral salpingectomy vs tubal occlusion or ligation for ovarian cancer prophylaxis / L.K. Ely, M. Truong // *Journal of minimally invasive gynecology*. – 2017. – V. 24. – №. 3. – P. 371-378.
104. Engelman, J.A. The evolution of phosphatidylinositol 3-kinases as regulators of growth and metabolism / J.A. Engelman, J. Luo, L. Cantley, et al. // *Nature Reviews Genetics*. – 2006. – V. 7. – №. 8. – P. 606-619.
105. Faber, M.T. Cigarette smoking and risk of ovarian cancer: a pooled analysis of 21 case-control studies / M.T. Faber, S.K. Kjær, C. Dehlendorff, et al. // *Cancer causes & control*. – 2013. – V. 24. – P. 989-1004.
106. Felicio, P.S. Whole-exome sequencing of non-BRCA1/BRCA2 mutation carrier cases at high-risk for hereditary breast/ovarian cancer / P.S. Felicio, R.S. Grasel, N. Campacci, et al. // *Human mutation*. – 2021. – V. 42. – №. 3. – P. 290-299.

107. Ferla, R. Founder mutations in BRCA1 and BRCA2 genes / R. Ferla, V. Calo, S. Cascio, et al. //Annals of Oncology. – 2007. – V. 18. – P. vi93-vi98.
108. Ferreira, A.M. Mononucleotide precedes dinucleotide repeat instability during colorectal tumour development in Lynch syndrome patients / A.M. Ferreira, H. Westers, S. Sousa, et al. //The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland. – 2009. – V. 219. – №. 1. – P. 96-102.
109. Ferri, D. Heterogeneity and overlaps in nucleotide excision repair disorders / D. Ferri, D. Orioli, E. Botta, et al. //Clinical genetics. – 2020. – V. 97. – №. 1. – P. 12-24.
110. Fischer, U. Glioma-amplified sequence KUB3 influences double-strand break repair after ionizing radiation / U. Fischer, S. Rheinheimer, A. Krempler, et al. //International journal of oncology. – 2013. – V. 43. – №. 1. – P. 50-56.
111. Foretova, L. BRCA1 and BRCA2 mutations in women with familial or early-onset breast/ovarian cancer in the Czech Republic / L. Foretova, E. Machackova, M. Navratilova, et al. //Human mutation. – 2004. – V. 23. – №. 4. – P. 397-398.
112. Gabriková, D. Familiar Meniere's disease restricted to 1.48 Mb on chromosome 12p12.3 by allelic and haplotype association / D. Gabriková, C. Frykholm, U. Friberg, et al. //Journal of human genetics. – 2010. – V. 55. – №. 12. – P. 834-837.
113. Gaitskell, K. Histological subtypes of ovarian cancer associated with parity and breastfeeding in the prospective Million Women Study / K. Gaitskell, J. Green, K. Pirie, et al. //International journal of cancer. – 2018. – V. 142. – №. 2. – P. 281-289.
114. Gaitskell, K. Ovarian cancer and smoking: individual participant meta-analysis including 28 114 women with ovarian cancer from 51 epidemiological studies / K. Gaitskell, C. Hermon, K. Moser, et al. //The lancet oncology. – 2012. – V. 13. – №. 9. – P. 946-956.

115. Gaitskell, K. Ovarian cancer and smoking: individual participant meta-analysis including 28 114 women with ovarian cancer from 51 epidemiological studies / K. Gaitskell, C. Hermon, K. Moser, et al. //The lancet oncology. – 2012. – V. 13. – №. 9. – P. 946-956.
116. Gaitskell, K. Tubal ligation and ovarian cancer risk in a large cohort: Substantial variation by histological type / K. Gaitskell, J. Green, K. Pirie, et al. //International Journal of Cancer. – 2016. – V. 138. – №. 5. – P. 1076-1084.
117. Gardner, A.B. Ovarian, uterine, and cervical cancer patients with distant metastases at diagnosis: most common locations and outcomes / A.B. Gardner, L.M. Charo, A.K. Mann, et al. //Clinical & experimental metastasis. – 2020. – V. 37. – P. 107-113.
118. Garziera, M. New challenges in tumor mutation heterogeneity in advanced ovarian cancer by a targeted next-generation sequencing (NGS) approach / M. Garziera, R. Roncato, M. Montico, et al. //Cells. – 2019. – V. 8. – №. 6. – P. 584.
119. Ghadirian, P. The contribution of founder mutations to early-onset breast cancer in French-Canadian women / P. Ghadirian, A. Robidoux, P. Zhang, et al. //Clinical genetics. – 2009. – V. 76. – №. 5. – P. 421-426.
120. Girard, E. Familial breast cancer and DNA repair genes: Insights into known and novel susceptibility genes from the GENESIS study, and implications for multigene panel testing / E. Girard, S. Eon-Marchais, R. Olaso, et al. //International journal of cancer. – 2019. – V. 144. – №. 8. – P. 1962-1974.
121. Goff, B.A. Ovarian cancer national alliance: A report of the 2012 Consensus Conference on Current Challenges in ovarian cancer / B.A. Goff, C. Balas, C. Tenenbaum, et al. //Gynecologic oncology. – 2013. – V. 1. – №. 130. – P. 9-11.
122. Goodman M. T., Tung K. H. Alcohol consumption and the risk of borderline and invasive ovarian cancer/ M.T. Goodman, K.H. Tung //Obstetrics & Gynecology. – 2003. – V. 101. – №. 6. – P. 1221-1228.

123. Gorski, B. Founder mutations in the BRCA1 gene in Polish families with breast-ovarian cancer / B. Gorski, T. Byrski, T. Huzarski, et al. //The American Journal of Human Genetics. – 2000. – V. 66. – №. 6. – P. 1963-1968.
124. Gowtham, K. Association between RAD51, XRCC2 and XRCC3 gene polymorphisms and risk of ovarian cancer: a case control and an in silico study / K. Gowtham, S. Paul, J. Martin, et al. //Molecular Biology Reports. – 2021. – V. 48. – №. 5. – P. 4209-4220.
125. Greidinger, A. Neuroendocrine Tumors Are Enriched in Cowden Syndrome / A. Greidinger, S. Miller-Samuel, V.N. Giri, et al. //JCO Precision Oncology. – 2020. – V. 4.
126. Greiner, E.F. Differential ligand-dependent protein–protein interactions between nuclear receptors and a neuronal-specific cofactor / E.F. Greiner, J. Kirfel, H. Greschik, et al. //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2000. – V. 97. – №. 13. – P. 7160-7165.
127. Gudmundsdottir K., Ashworth A. The roles of BRCA1 and BRCA2 and associated proteins in the maintenance of genomic stability/ K. Gudmundsdottir, A. Ashworth //Oncogene. – 2006. – V. 25. – №. 43. – P. 5864-5874.
128. Guillotin, D. Exploiting DNA mismatch repair deficiency as a therapeutic strategy/ D. Guillotin, S. A. Martin //Experimental cell research. – 2014. – V. 329. – №. 1. – P. 110-115.
129. Gyllensten, U. Next generation plasma proteomics identifies high-precision biomarker candidates for ovarian cancer / U. Gyllensten, J. Hedlund-Lindberg, J. Svensson, et al. //Cancers. – 2022. – V. 14. – №. 7. – P. 1757.
130. Hamel, N. On the origin and diffusion of BRCA1 c. 5266dupC (c.5266dupC) in European populations / N. Hamel, B.J. Feng, L. Foretova, et al. //European Journal of Human Genetics. – 2011. – V. 19. – №. 3. – P. 300-306.
131. Hanawalt, P. The bases for Cockayne syndrome / P. Hanawalt //Nature. – 2000. – V. 405. – №. 6785. – P. 415-415.

132. Harter, P. Prevalence of deleterious germline variants in risk genes including BRCA1/2 in consecutive ovarian cancer patients (AGO-TR-1) / P. Harter, J. Hauke, F. Heitz, et al. //PloS one. – 2017. – V. 12. – №. 10. – P. e0186043.
133. He, B.S. Nucleotide excision repair pathway gene polymorphisms are linked to breast cancer risk in a Chinese population / B.S. He, T. Xu, Y.Q. Pan, et al. //Oncotarget. – 2016. – V. 7. – №. 51. – P. 84872.
134. He, J. Genetic variants in the nucleotide excision repair pathway genes and gastric cancer susceptibility in a southern Chinese population / J. He, Z.J. Zhuo, A. Zhang, et al. //Cancer Management and Research. – 2018. – V. 10. – P. 765.
135. Heikkinen, K. Mutation screening of Mre11 complex genes: indication of RAD50 involvement in breast and ovarian cancer susceptibility / K. Heikkinen, S.M. Karppinen, Y. Soini, et al. //Journal of medical genetics. – 2003. – V. 40. – №. 12. – P. e131-e131.
136. Hellebrand, H. Germline mutations in the PALB2 gene are population specific and occur with low frequencies in familial breast cancer / H. Hellebrand, C. Sutter, E. Honisch, et al. //Human mutation. – 2011. – V. 32. – №. 6. – P. E2176-E2188. DOI: <https://doi.org/10.1002/humu.21478>.
137. Heramb, C. BRCA1 and BRCA2 mutation spectrum—an update on mutation distribution in a large cancer genetics clinic in Norway / C. Heramb, T. Wangensteen, E.M. Grindedal, et al. //Hereditary cancer in clinical practice. – 2018. – V. 16. – №. 1. – P. 1-15.
138. Hermens, M. Incidence of endometrioid and clear-cell ovarian cancer in histological proven endometriosis: the ENOCA population-based cohort study / M. Hermens, A.M. van Altena, T.E. Nieboer, et al. //American journal of obstetrics and gynecology. – 2020. – V. 223. – №. 1. – P. 107. e1-107. e11.
139. Hirai, Y. Molecular epidemiological and mutational analysis of DNA mismatch repair (MMR) genes in endometrial cancer patients with HNPCC-associated familial predisposition to cancer / Y. Hirai, K. Banno, M. Suzuki, et al. //Cancer science. – 2008. – V. 99. – №. 9. – P. 1715-1719.

140. Hodgson, A. Pathology of hereditary breast and ovarian cancer / A. Hodgson, G. Turashvili //Frontiers in Oncology. – 2020. – V. 10. – P. 531790.
141. Hou, S.M. The XPD variant alleles are associated with increased aromatic DNA adduct level and lung cancer risk / S.M. Hou, S. Falt, S. Angelini, et al. //carcinogenesis. – 2002. – V. 23. – №. 4. – P. 599-603.
142. Hu, C. Association between inherited germline mutations in cancer predisposition genes and risk of pancreatic cancer / C. Hu, S.N. Hart, E.C. Polley, et al. //Jama. – 2018. – V. 319. – №. 23. – P. 2401-2409.
143. Hu, S. Association between XRCC3 rs861539 Polymorphism and the Risk of Ovarian Cancer: Meta-Analysis and Trial Sequential Analysis / S. Hu, Y. Jing, F. Liu, Hu, S., //BioMed Research International. – 2022. – V. 2022.
144. Hua, X. Association among dietary flavonoids, flavonoid subclasses and ovarian cancer risk: a meta-analysis / X. Hua, L. Yu, R. You, et al. //PLoS One. – 2016. – V. 11. – №. 3. – P. e0151134.
145. Huang, F. Knockdown of TBRG4 suppresses proliferation, invasion and promotes apoptosis of osteosarcoma cells by downregulating TGF- β 1 expression and PI3K/AKT signaling pathway / F. Huang, P. Zhou, Z. Wang, et al. //Archives of biochemistry and biophysics. – 2020. – V. 686. – P. 108351.
146. Huang, G. XL. lncRNA NEAT1 promotes cell proliferation and invasion by regulating miR-365/RGS20 in oral squamous cell carcinoma / G. Huang, X. He, X.L. Wei, et al. //Oncology reports. – 2018. – V. 39. – №. 4. – P. 1948-1956.
147. Huang, J.Y. Different Influences of Endometriosis and Pelvic Inflammatory Disease on the Occurrence of Ovarian Cancer / J.Y. Huang, S.F. Yang, P.J. Wu, et al. //International Journal of Environmental Research and Public Health. – 2021. – V. 18. – №. 16. – P. 8754.
148. Huo, X. Hysterectomy and risk of ovarian cancer: a systematic review and meta-analysis / X. Huo, L. Yao, X. Han, et al. //Archives of Gynecology and Obstetrics. – 2019. – V. 299. – P. 599-607.

149. Hurst, J.H. Regulator of G-protein signaling (RGS) proteins in cancer biology / J.H. Hurst, S. Hooks //Biochemical pharmacology. – 2009. – V. 78. – №. 10. – P. 1289-1297.
150. Hurst, J.H. Regulator of G-protein signalling expression and function in ovarian cancer cell lines / J.H. Hurst, N. Mendpara, S. Hooks, et al. //Cellular & molecular biology letters. – 2009. – V. 14. – P. 153-174.
151. Hutchcraft, M. L. MUTYH as an emerging predictive biomarker in ovarian cancer/ M. L. Hutchcraft, H. H. Gallion, J. M. Kolesar //Diagnostics. – 2021. – T. 11. – №. 1. – C. 84.
152. Iansante, V. PARP14 promotes the Warburg effect in hepatocellular carcinoma by inhibiting JNK1-dependent PKM2 phosphorylation and activation / V. Iansante, P.M. Choy, S.W. Fung, et al. //Nature communications. – 2015. – V. 6. – №. 1. – P. 1-15.
153. Ili, C. Landscape of genome-wide DNA methylation of colorectal cancer metastasis / C. Ili, K. Buchegger, H. Demond, et al. //Cancers. – 2020. – V. 12. – №. 9. – P. 2710.
154. Ishibashi, M. Tyrosine kinase receptor TIE-1 mediates platinum resistance by promoting nucleotide excision repair in ovarian cancer / M. Ishibashi, M. Toyoshima, X. Zhang, et al. //Scientific reports. – 2018. – V. 8. – №. 1. – P. 13207.
155. Ishiwata-Endo, H. ARH1 in Health and Disease / H. Ishiwata-Endo, J. Kato, L.A. Stevens, et al. //Cancers. – 2020. – V. 12. – №. 2. – P. 479.
156. Ivy, S.C. Association of RAD51 and XRCC2 Gene Polymorphisms with Cervical Cancer Risk in the Bangladeshi Women / S.C. Ivy, S. Shabnaz, M. Shahriar, et al. //Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP. – 2021. – V. 22. – №. 7. – P. 2099.
157. James, M.A. RGS17, an overexpressed gene in human lung and prostate cancer, induces tumor cell proliferation through the cyclic AMP-PKA-CREB

- pathway / M.A. James, Y. Lu, Y. Liu, et al. //Cancer research. – 2009. – V. 69. – №. 5. – P. 2108-2116.
158. Janatova, M. The PALB2 gene is a strong candidate for clinical testing in BRCA1-and BRCA2-negative hereditary breast cancer / M. Janatova, Z. Kleibl, J. Stribrna, et al. //Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers. – 2013. – V. 22. – №. 12. – P. 2323-2332.
159. Jerzak, K.J. Ataxia–telangiectasia gene (ATM) mutation heterozygosity in breast cancer: a narrative review / K.J. Jerzak, T. Mancuso, A. Eisen, et al. //Current Oncology. – 2018. – V. 25. – №. 2. – P. 176-180.
160. Jiang, Y.T. Infertility and ovarian cancer risk: Evidence from nine prospective cohort studies / Y.T. Jiang, T.T. Gong, J.Y. Zhang, et al. //International Journal of Cancer. – 2020. – V. 147. – №. 8. – P. 2121-2130.
161. Jinghua, F. XRCC3 T241M polymorphism and melanoma skin cancer risk: A meta-analysis / F. Jinghua, F. Yuhua, K. Xiaoxiao, et al. //Oncology Letters. – 2015. – V. 9. – №. 5. – P. 2425-2429.
162. Johnson, R.D. XRCC2 promotes the repair of DNA double-strand breaks by homologous recombination / R.D. Johnson, N. Liu, M. Jasin, et al. //Nature. – 1999. – V. 401. – №. 6751. – P. 397-399.
163. Juncker-Jensen, A. Tumor MMP-1 activates endothelial PAR1 to facilitate vascular intravasation and metastatic dissemination / A. Juncker-Jensen, E.I. Deryugina, I. Rimann, et al. //Cancer research. – 2013. – V. 73. – №. 14. – P. 4196-4211.
164. Kamali, M. Association of XRCC2 rs3218536 polymorphism with susceptibility of breast and ovarian cancer: A systematic review and meta-analysis / M. Kamali, S. Hamadani, H. Neamatzadeh, et al. //Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP. – 2017. – V. 18. – №. 7. – P. 1743.
165. Kamps, R. Next-generation sequencing in oncology: genetic diagnosis, risk prediction and cancer classification / R. Kamps, R.D. Brandão, B. vanden, et al. //International journal of molecular sciences. – 2017. – V. 18. – №. 2. – P. 308.

166. Kandimalla, R. OCaMIR—A Noninvasive, Diagnostic Signature for Early-Stage Ovarian Cancer: A Multi-cohort Retrospective and Prospective Study OCaMIR: A Diagnostic Signature for Ovarian Cancer / R. Kandimalla, W. Wang, F. Yu, et al. // *Clinical Cancer Research*. – 2021. – V. 27. – №. 15. – P. 4277-4286.
167. Kaneyasu, T. Prevalence of disease-causing genes in Japanese patients with BRCA1/2-wildtype hereditary breast and ovarian cancer syndrome / T. Kaneyasu, S. Mori, H. Yamauchi, et al. // *NPJ Breast Cancer*. – 2020. – V. 6. – №. 1. – P. 25.
168. Karam, A. MMPs in ovarian cancer as therapeutic targets / A. Karam, O. Dorigo // *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*. – 2012. – V. 12. – №. 7. – P. 764-772.
169. Karlsson, T. Time-dependent effects of oral contraceptive use on breast, ovarian, and endometrial cancers / T. Karlsson, T. Johansson, J. Höglund, et al. // *Cancer Research*. – 2021. – V. 81. – №. 4. – P. 1153-1162.
170. Karnezis, A.N. The disparate origins of ovarian cancers: pathogenesis and prevention strategies / A.N. Karnezis, K.R. Cho, C.B. Gilks, et al. // *Nature Reviews Cancer*. – 2017. – V. 17. – №. 1. – P. 65-74. 10.1038/nrc.2016.113.
171. Kato, J. ADP-ribosylarginine hydrolase regulates cell proliferation and tumorigenesis / J. Kato, J. Zhu, C. Liu, et al. // *Cancer research*. – 2011. – V. 71. – №. 15. – P. 5327-5335.
172. Kechin, A. A spectrum of BRCA1 and BRCA2 germline deleterious variants in ovarian cancer in Russia / A. Kechin, U. Boyarskikh, A. Barinov, et al. // *Breast Cancer Research and Treatment*. – 2023. – V. 197. – №. 2. – P. 387-395.
173. Kelemen, L.E. Recent alcohol consumption and risk of incident ovarian carcinoma: a pooled analysis of 5,342 cases and 10,358 controls from the Ovarian Cancer Association Consortium / L.E. Kelemen, E.V. Bandera, K.L. Terry, et al. // *BMC cancer*. – 2013. – V. 13. – №. 1. – P. 1-12.].

174. Kemp, M.G. PostExcision events in human nucleotide excision repair / M.G. Kemp, J. Hu //Photochemistry and photobiology. – 2017. – V. 93. – №. 1. – P. 178-191.
175. Kentwell, M. Mainstreaming cancer genetics: A model integrating germline BRCA testing into routine ovarian cancer clinics/ M. Kentwell, E. Dow, Y. Antill, et al. // Gynecologic Oncology. –2017. – Vol. 145. – № 1. – P. 130–136.
176. Kessenbrock, K. Matrix metalloproteinases: regulators of the tumor microenvironment / K. Kessenbrock, V. Plaks, Z. Werb, et al. //Cell. – 2010. – V. 141. – №. 1. – P. 52-67.
177. Kessous, R. The risk of female malignancies after fertility treatments: a cohort study with 25-year follow-up / R. Kessous, E. Davidson, M. Meirovitz, et al. //Journal of cancer research and clinical oncology. – 2016. – V. 142. – P. 287-293.
178. Khlifi, R. Gene–environment interactions between ERCC2, ERCC3, XRCC1 and cadmium exposure in nasal polyposis disease / R. Khlifi, P. Olmedo, F. Gil, et al. //Journal of applied genetics. – 2017. – V. 58. – P. 221-229.
179. Kidambi, T.D. Novel variant of unknown significance in MUTYH in a patient with MUTYH-associated polyposis: a case to reclassify / T.D. Kidambi, D. Goldberg, R. Nussbaum, et al. //Clinical journal of gastroenterology. – 2018. – V. 11. – P. 457-460.
180. Kilpivaara, O. CHEK2 variant I157T may be associated with increased breast cancer risk / O. Kilpivaara, P. Vahteristo, J. Falck, et al. //International journal of cancer. – 2004. – V. 111. – №. 4. – P. 543-547.
181. Kim, H. T-blocker: a simple and robust probe-free quantitative PCR assay to detect somatic mutations down to 0.1% frequency / H. Kim, A.E. Ruby, H.G. Shandilya, et al. //Biotechniques. – 2018. – V. 65. – №. 4. – P. 205-210.
182. Kim, S.J. Epidemiologic factors that predict long-term survival following a diagnosis of epithelial ovarian cancer / S.J. Kim, B. Rosen, I. Fan, et al. //British journal of cancer. – 2017. – V. 116. – №. 7. – P. 964-971.

183. Kim, S.J. Epidemiologic factors that predict long-term survival following a diagnosis of epithelial ovarian cancer / S.J. Kim, B. Rosen, I. Fan, et al. //British journal of cancer. – 2017. – V. 116. – №. 7. – P. 964-971.
184. Kluz, T. Frequency of BRCA1 and BRCA2 causative founder variants in ovarian cancer patients in South-East Poland / T. Kluz, A. Jasiewicz, E. Marczyk, et al. //Hereditary Cancer in Clinical Practice. – 2018. – V. 16. – №. 1. – P. 1-4.
185. Koczkowska, M. Spectrum and prevalence of pathogenic variants in ovarian cancer susceptibility genes in a group of 333 patients / M. Koczkowska, N. Krawczynska, M. Stukan, et al. //Cancers. – 2018. – V. 10. – №. 11. – P. 442.
186. Kolasa, I.K. PTEN mutation, expression and LOH at its locus in ovarian carcinomas. Relation to TP53, K-RAS and BRCA1 mutations / I.K. Kolasa, A. Rembiszewska, A. Janiec-Jankowska, et al. //Gynecologic oncology. – 2006. – V. 103. – №. 2. – P. 692-697.
187. Konstantopoulou, I. High prevalence of BRCA1 founder mutations in Greek breast/ovarian families / I. Konstantopoulou, M. Tsitlaidou, F. Fostira, et al. //Clinical Genetics. – 2014. – V. 85. – №. 1. – P. 36-42.
188. Koshiyama, M. The effects of the dietary and nutrient intake on gynecologic cancers / M. Koshiyama //Healthcare. – 2019. – V. 7. – №. 3. – P. 88.
189. Kostovska, I.M. The highest frequency of BRCA1 c. 3700_3704del detected among Albanians from Kosovo / I.M. Kostovska, S. Jakovchevska, M.J. Özdemir, et al. //reports of practical Oncology and radiotherapy. – 2022. – V. 27. – №. 2. – P. 303-309.
190. Krivokuca, A. Germline mutations in cancer susceptibility genes in high grade serous ovarian cancer in Serbia / A. Krivokuca, I. Boljevic, S. Jovandic, et al. //Journal of human genetics. – 2019. – V. 64. – №. 4. – P. 281-290.
191. Krylova, N.Y. CHEK2 1100delC mutation in Russian ovarian cancer patients / N.Y. Krylova, D.N. Ponomariova, N.Y. Sherina, et al. //Hereditary Cancer in Clinical Practice. – 2007. – V. 5. – №. 3. – P. 1-4.

192. Kuchenbaecker, K.B. Risks of breast, ovarian, and contralateral breast cancer for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers / K.B. Kuchenbaecker, J.L. Hopper, D.R. Barnes, et al. //Jama. – 2017. – V. 317. – №. 23. – P. 2402-2416.
193. Kurian, A.W. Breast and ovarian cancer penetrance estimates derived from germline multiple-gene sequencing results in women / A.W. Kurian, E. Hughes, E.A. Handorf, et al. //JCO Precision Oncology. – 2017. – V. 1. – P. 1-12.
194. Kurian, A.W. Genetic testing and results in a population-based cohort of breast cancer patients and ovarian cancer patients / A.W. Kurian, K.C. Ward, E.N. Howlader, et al. //Journal of Clinical Oncology. – 2019. – V. 37. – №. 15. – P. 1305.
195. Kurman, R.J. Origin and pathogenesis of epithelial ovarian cancer-a proposed unifying theory / R.J. Kurman, I. Shih //The American journal of surgical pathology. – 2010. – V. 34. – №. 3. – P. 433.
196. Kurman, R.J. The dualistic model of ovarian carcinogenesis: revisited, revised, and expanded / R.J. Kurman, I. Shih //The American journal of pathology. – 2016. – V. 186. – №. 4. – P. 733-747.
197. Laine, J.P. Common XPD (ERCC2) polymorphisms have no measurable effect on nucleotide excision repair and basal transcription / J.P. Laine, V. Mocquet, M. Bonfanti, et al. //DNA repair. – 2007. – V. 6. – №. 9. – P. 1264-1270.
198. Lawrenson, K. Common variants at the CHEK2 gene locus and risk of epithelial ovarian cancer / K. Lawrenson, E.S. Iversen, J. Tyrer, et al. //Carcinogenesis. – 2015. – V. 36. – №. 11. – P. 1341-1353.
199. Lecarpentier, J. Variation in breast cancer risk associated with factors related to pregnancies according to truncating mutation location, in the French National BRCA1 and BRCA2 mutations carrier cohort (GENEPSO) / J. Lecarpentier, C. Noguès, E. Mouret-Fourme, et al. //Breast Cancer Research. – 2012. – V. 14. – №. 4. – P. 1-13.

200. Lee, A.W. Association between menopausal estrogen-only therapy and ovarian carcinoma risk / A.W. Lee, R.B. Ness, L.D. Roman, et al. //Obstetrics and gynecology. – 2016. – V. 127. – №. 5. – P. 828.
201. Lerner-Ellis, J. Multigene panel testing for hereditary breast and ovarian cancer in the province of Ontario / J. Lerner-Ellis, C. Mighton, C. Lazaro, et al. //Journal of Cancer Research and Clinical Oncology. – 2021. – V. 147. – P. 871-879.
202. Lhotova, K. Multigene panel germline testing of 1333 Czech patients with ovarian cancer / K. Lhotova, L. Stolarova, P. Zemankova, et al. //Cancers. – 2020. – V. 12. – №. 4. – P. 956.
203. Lhotova, K. Multigene panel germline testing of 1333 Czech patients with ovarian cancer / K. Lhotova, L. Stolarova, P. Zemankova, et al. //Cancers. – 2020. – V. 12. – №. 4. – P. 956.
204. Li, A. PIK3C2G copy number is associated with clinical outcomes of colorectal cancer patients treated with oxaliplatin / A. Li, H. Chen, M. Lin, et al. //International Journal of Clinical and Experimental Medicine. – 2015. – V. 8. – №. 1. – P. 1137.
205. Li, F.P. Soft-tissue sarcomas, breast cancer, and other neoplasms: a familial syndrome? / F.P. Li, J. Fraumeni //Annals of internal medicine. – 1969. – V. 71. – №. 4. – P. 747-752.
206. Li, G. Regulator of G protein signaling 20 promotes proliferation and migration in bladder cancer via NF- κ B signaling / G. Li, M. Wang, L. Ren, et al. //Biomedicine & Pharmacotherapy. – 2019. – V. 117. – P. 109112.
207. Li, J. Association between ERCC2 rs13181 polymorphism and ovarian cancer risk: an updated meta-analysis with 4024 subjects / J. Li, L. Pan, X. Qin, et al. //Archives of Gynecology and Obstetrics. – 2017. – V. 296. – P. 551-558.
208. Li, J. Impact of endometriosis on risk of ovarian, endometrial and cervical cancers: a meta-analysis / J. Li, R. Liu, S. Tang, et al. //Archives of gynecology and obstetrics. – 2019. – V. 299. – P. 35-46.

209. Li, N. Clinical characterization and mutation spectrum in patients with familial adenomatous polyposis in China / N. Li, Q. Kang, L. Yang, et al. //Journal of Gastroenterology and Hepatology. – 2019. – V. 34. – №. 9. – P. 1497-1503.
210. Li, Q. Regulator of G protein signaling 20 correlates with clinicopathological features and prognosis in triple-negative breast cancer / Q. Li, W. Jin, Y. Cai, et al. //Biochemical and biophysical research communications. – 2017. – V. 485. – №. 3. – P. 693-697.
211. Li, W. Germline and somatic mutations of multi-gene panel in Chinese patients with epithelial ovarian cancer: a prospective cohort study / W. Li, D. Shao, L. Li, et al. //Journal of ovarian research. – 2019. – V. 12. – №. 1. – P. 1-9.
212. Li, Z. Identification of prognostic stemness biomarkers in colon adenocarcinoma drug resistance / Z. Li, J. Chen, D. Zhu, et al. //BMC Genomic Data. – 2022. – V. 23. – №. 1. – P. 1-14.
213. Li, Z. Polycystic ovary syndrome and the risk of endometrial, ovarian and breast cancer: An updated meta-analysis / Z. Li, Y.H. Wang, L.L. Wang, et al. //Scottish Medical Journal. – 2022. – V. 67. – №. 3. – P. 109-120.
214. Liang, M. Association between CHEK2*1100delC and breast cancer: a systematic review and meta-analysis / M. Liang, Y. Zhang, C. Sun, et al. //Molecular Diagnosis & Therapy. – 2018. – V. 22. – P. 397-407.
215. Licaj, I. Smoking and risk of ovarian cancer by histological subtypes: an analysis among 300 000 Norwegian women / I. Licaj, B.K. Jacobsen, R.M. Selmer, et al. //British journal of cancer. – 2017. – V. 116. – №. 2. – P. 270-276.
216. Lilyquist, J. Frequency of mutations in a large series of clinically ascertained ovarian cancer cases tested on multi-gene panels compared to reference controls / J. Lilyquist, H. LaDuca, E. Polley, et al. //Gynecologic oncology. – 2017. – V. 147. – №. 2. – P. 375-380.

217. Lins, S. Clinical variability and expression of the NBN c. 657del5 allele in Nijmegen Breakage Syndrome / S. Lins, R. Kim, L. Krüger, et al. //Gene. – 2009. – V. 447. – №. 1. – P. 12-17.
218. Lisio, M.A. High-grade serous ovarian cancer: basic sciences, clinical and therapeutic standpoints / M.A. Lisio, L. Fu, A. Goyeneche, et al. //International journal of molecular sciences. – 2019. – V. 20. – №. 4. – P. 952.
219. Liu, L. Correlation between family history and characteristics of breast cancer / L. Liu, X. Hao, Z. Song, et al. //Scientific Reports. – 2021. – V. 11. – №. 1. – P. 1-12.
220. Liu, Y. Menopausal hormone replacement therapy and the risk of ovarian cancer: a meta-analysis / Y. Liu, L. Ma, X. Yang, et al. //Frontiers in endocrinology. – 2019. – V. 10. – P. 801.
221. London, T.B. FANCD1 is a structure-specific DNA helicase associated with the maintenance of genomic G/C tracts / T.B. London, L.J. Barber, G. Mosedale, et al. //Journal of Biological Chemistry. – 2008. – V. 283. – №. 52. – P. 36132-36139.
222. Loveday, C. Germline mutations in RAD51D confer susceptibility to ovarian cancer / C. Loveday, C. Turnbull, E. Ramsay, et al. //Nature genetics. – 2011. – V. 43. – №. 9. – P. 879-882. DOI: <https://doi.org/10.1038/ng.893>.
223. Lu, H.M. Association of breast and ovarian cancers with predisposition genes identified by large-scale sequencing / H.M. Lu, S. Li, M.H. Black, et al. //JAMA oncology. – 2019. – V. 5. – №. 1. – P. 51-57.
224. Lu, T.P. Developing a prognostic gene panel of epithelial ovarian cancer patients by a machine learning model / T.P. Lu, K.T. Kuo, C.H. Chen, et al. //Cancers. – 2019. – V. 11. – №. 2. – P. 270.
225. Łukomska, A. Recurrent mutations in BRCA1, BRCA2, RAD51C, PALB2 and CHEK2 in Polish patients with ovarian cancer / A. Łukomska, J. Menkiszak, J. Gronwald, et al. //Cancers. – 2021. – V. 13. – №. 4. – P. 849.

226. Lundberg, F.E. Assisted reproductive technology and risk of ovarian cancer and borderline tumors in parous women: a population-based cohort study / F.E. Lundberg, A.L. Johansson, K. Rodriguez-Wallberg, et al. //European Journal of Epidemiology. – 2019. – V. 34. – №. 11. – P. 1093-1101.
227. Machackova, E. Spectrum and characterisation of BRCA1 and BRCA2 deleterious mutations in high-risk Czech patients with breast and/or ovarian cancer / E. Machackova, L. Foretova, M. Lukesova, et al. //BMC cancer. – 2008. – V. 8. – №. 1. – P. 1-11.
228. Mamrak, N.E. Recent discoveries in the molecular pathogenesis of the inherited bone marrow failure syndrome Fanconi anemia / N.E. Mamrak, A. Shimamura, N. Howlett, Mamrak, N.E., //Blood reviews. – 2017. – V. 31. – №. 3. – P. 93-99.
229. Martín-Cameán, M. The role of surgery in advanced epithelial ovarian cancer / M. Martín-Cameán, E. Delgado-Sánchez, A. Piñera et al. // Gynaecol. Oncol. – 2019. – N. 10. – P. 10-11.
230. Martinez, J.S. BRCA2 regulates DMC1-mediated recombination through the BRC repeats / J.S. Martinez, C. Von Nicolai, T. Kim, et al. //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2016. – V. 113. – №. 13. – P. 3515-3520.
231. Masciari, S. Breast cancer phenotype in women with TP53 germline mutations: a Li-Fraumeni syndrome consortium effort / S. Masciari, D.A. Dillon, M. Rath, et al. //Breast cancer research and treatment. – 2012. – V. 133. – P. 1125-1130.
232. Matullo, G. XRCC1, XRCC3, XPD gene polymorphisms, smoking and 32 P-DNA adducts in a sample of healthy subjects / G. Matullo, D. Palli, M. Peluso, et al. //Carcinogenesis. – 2001. – V. 22. – №. 9. – P. 1437-1445.
233. McManus, H. Usual cruciferous vegetable consumption and ovarian cancer: a case-control study / H. McManus, K.B. Moysich, L. Tang, et al. //Nutrition and cancer. – 2018. – V. 70. – №. 4. – P. 678-683.

234. McNeil, E. M. DNA repair endonuclease ERCC1–XPF as a novel therapeutic target to overcome chemoresistance in cancer therapy / E. M. McNeil, D. Melton //Nucleic acids research. – 2012. – V. 40. – №. 20. – P. 9990-10004.
235. Meindl, A. Germline mutations in breast and ovarian cancer pedigrees establish RAD51C as a human cancer susceptibility gene / A. Meindl, H. Hellebrand, C. Wiek, et al. //Nature genetics. – 2010. – V. 42. – №. 5. – P. 410-414.
236. Mester, J. Cowden syndrome: Recognizing and managing a not-so-rare hereditary cancer syndrome / J. Mester, C. Eng //Journal of surgical oncology. – 2015. – V. 111. – №. 1. – P. 125-130.
237. Michalska, M.M. An association between single nucleotide polymorphisms of Lys751Gln ERCC2 gene and ovarian cancer in Polish women / M.M. Michalska, D. Samulak, H. Romanowicz, et al. //Advances in medicine. – 2015. – V. 2015.
238. Michels, K.A. Modification of the associations between duration of oral contraceptive use and ovarian, endometrial, breast, and colorectal cancers / K.A. Michels, R.M. Pfeiffer, L.A. Brinton, et al. //JAMA oncology. – 2018. – V. 4. – №. 4. – P. 516-521.
239. Miki, Y. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1 / Y. Miki, J. Swensen, D. Shattuck-Eidens, et al. //Science. – 1994. – V. 266. – №. 5182. – P. 66-71.
240. Minion, L.E. Hereditary predisposition to ovarian cancer, looking beyond BRCA1/BRCA2 / L.E. Minion, J.S. Dolinsky, D.M. Chase, et al. //Gynecologic oncology. – 2015. – V. 137. – №. 1. – P. 86-92.
241. Mittal, A. Spectrum and management of breast cancer patients with variant of uncertain significance mutations at a tertiary care centre in North India/ A. Mittal, S. V. S. Deo, A. Gogia, et al.// Ecancer medical science. – 2022. – V. 1 –№16. – P. 1434 doi: 10.3332/ecancer.2022.1434

242. Modugno, F. Alcohol consumption and the risk of mucinous and nonmucinous epithelial ovarian cancer / F. Modugno, R.B. Ness, G. Allen, et al. //Obstetrics & Gynecology. – 2003. – V. 102. – №. 6. – P. 1336-1343.
243. Modugno, F. Breastfeeding factors and risk of epithelial ovarian cancer / F. Modugno, S.L. Goughnour, D. Wallack, et al. //Gynecologic oncology. – 2019. – V. 153. – №. 1. – P. 116-122.
244. Mogensen, J.B. Endometriosis and risks for ovarian, endometrial and breast cancers: a nationwide cohort study / J.B. Mogensen, S.K. Kjær, L. Mellemkjær, et al. //Gynecologic oncology. – 2016. – V. 143. – №. 1. – P. 87-92.
245. Momozawa, Y. Germline pathogenic variants of 11 breast cancer genes in 7,051 Japanese patients and 11,241 controls / Y. Momozawa, Y. Iwasaki, M.T. Parsons, et al. //Nature communications. – 2018. – V. 9. – №. 1. – P. 4083.
246. Moore, K. Maintenance olaparib in patients with newly diagnosed advanced ovarian cancer / K. Moore, N. Colombo, G. Scambia, et al. //New England Journal of Medicine. – 2018. – V. 379. – №. 26. – P. 2495-2505.
247. Moorman, P.G. Oral contraceptives and risk of ovarian cancer and breast cancer among high-risk women: a systematic review and meta-analysis / P.G. Moorman, L.J. Havrilesky, J.M. Gierisch, et al. //Journal of Clinical Oncology. – 2013. – V. 31. – №. 33. – P. 4188-4198.
248. Mosele, F. Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with metastatic cancers: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group / F. Mosele, J. Remon, J. Mateo, et al. //Annals of Oncology. – 2020. – V. 31. – №. 11. – P. 1491-1505.
249. Munnur, D. Reversible ADP-ribosylation of RNA / D. Munnur, E. Bartlett, P. Mikolčević, et al. //Nucleic acids research. – 2019. – V. 47. – №. 11. – P. 5658-5669.
250. Narod, S.A. BRCA1 and BRCA2: 1994 and beyond / S.A. Narod, W. Foulkes //Nature Reviews Cancer. – 2004. – V. 4. – №. 9. – P. 665-676.

251. Negri, E. Family history of cancer and risk of ovarian cancer / E. Negri, C. Pelucchi, S. Franceschi, et al. //European Journal of Cancer. – 2003. – V. 39. – №. 4. – P. 505-510.
252. Neto, N. Do hereditary syndrome-related gynecologic cancers have any specific features? / N. Neto, T. Cunha //Insights into imaging. – 2015. – V. 6. – №. 5. – P. 545-552.
253. Niraj, J. Fanconi anemia pathway in cancer / J. Niraj, A. Färkkilä, A. D. D'Andrea //Annual review of cancer biology. – 2019. – V. 3. – P. 457-478.
254. Norquist, B.M. Inherited mutations in women with ovarian carcinoma / B.M. Norquist, M.I. Harrell, M.F. Brady, et al. //JAMA oncology. – 2016. – V. 2. – №. 4. – P. 482-490.
255. Noskowicz, M. Prevalence of PALB2 mutation c. 509_510delGA in unselected breast cancer patients from Central and Eastern Europe / M. Noskowicz, N. Bogdanova, M. Bermisheva, et al. //Familial cancer. – 2014. – V. 13. – №. 2. – P. 137-142.
256. Nowak, J. Heterozygous carriers of the I171V mutation of the NBS1 gene have a significantly increased risk of solid malignant tumours / J. Nowak, M. Mosor, I. Ziółkowska, et al. //European Journal of Cancer. – 2008. – V. 44. – №. 4. – P. 627-630.
257. Nunn, C. RGS17/RGSZ2 and the RZ/A family of regulators of G-protein signaling / C. Nunn, H. Mao, P. Chidiac, et al. //Seminars in cell & developmental biology. – Academic Press, 2006. – V. 17. – №. 3. – P. 390-399.
258. O'Connor M. J. PARP14 regulates cyclin D1 expression to promote cell-cycle progression / M. J. O'Connor, M. J., Thakar, C.M. Nicolae, et al. //Oncogene. – 2021. – V. 40. – №. 30. – P. 4872-4883.
259. Olsen, C.M. Obesity and risk of ovarian cancer subtypes: evidence from the Ovarian Cancer Association Consortium / C.M. Olsen, C.M. Nagle, D.C. Whiteman, et al. //Endocrine-related cancer. – 2013. – V. 20. – №. 2.

260. Ong, J.S. Evaluating the role of alcohol consumption in breast and ovarian cancer susceptibility using population-based cohort studies and two-sample Mendelian randomization analyses / J.S. Ong, E.M. Derks, M. Eriksson, et al. //International Journal of Cancer. – 2021. – V. 148. – №. 6. – P. 1338-1350.
261. Oros, K.K. Application of BRCA1 and BRCA2 mutation carrier prediction models in breast and/or ovarian cancer families of French Canadian descent / K.K. Oros, P. Ghadirian, C.M. Maugard, et al. //Clinical genetics. – 2006. – V. 70. – №. 4. – P. 320-329.
262. Ow, G.S. Identification of two poorly prognosed ovarian carcinoma subtypes associated with CHEK2 germ-line mutation and non-CHEK2 somatic mutation gene signatures / G.S. Ow, A.V. Ivshina, I. Fuentesetal, et al. //Cell cycle. – 2014. – V. 13. – №. 14. – P. 2262-2280.
263. Pal, T. Frequency of mutations in mismatch repair genes in a population-based study of women with ovarian cancer / T. Pal, M.R. Akbari, P. Sun, et al. //British journal of cancer. – 2012. – V. 107. – №. 10. – P. 1783-1790.
264. Palazzo, L. ADP-ribosylation signalling and human disease / L. Palazzo, P. Mikolčević, A. Mikoč, et al. //Open biology. – 2019. – V. 9. – №. 4. – P. 190041.
265. Paluch- Shimon, S. Prevention and screening in BRCA mutation carriers and other breast/ovarian hereditary cancer syndromes: ESMO Clinical Practice Guidelines for cancer prevention and screening / S. Paluch- Shimon, F. Cardoso, C. Sessa, et al. //Annals of Oncology. – 2016. – V. 27. – P. v103-v110.
266. Parker, A.R. Cells with pathogenic biallelic mutations in the human MUTYH gene are defective in DNA damage binding and repair / A.R. Parker, O.M. Sieber, C. Shi, et al. //Carcinogenesis. – 2005. – V. 26. – №. 11. – P. 2010-2018.
267. Patch, A.M. Whole-genome characterization of chemoresistant ovarian cancer / A.M. Patch, E.L. Christie, D. Etemadmoghadam, et al. //Nature. – 2015. – V. 521. – №. 7553. – P. 489-494.
268. Peker Eyüboğlu, İ. Next-generation sequencing identifies BRCA1 and/or BRCA2 mutations in women at high hereditary risk for breast cancer with shorter

- telomere length / İ. Peker Eyüboğlu, G. Yenmiş, E.N. Bingöl, et al. //OMICS: A Journal of Integrative Biology. – 2020. – V. 24. – №. 1. – P. 5-15.
269. Pelttari, L.M. A Finnish founder mutation in RAD51D: analysis in breast, ovarian, prostate, and colorectal cancer / L.M. Pelttari, J. Kiiski, R. Nurminen, et al. //Journal of medical genetics. – 2012. – V. 49. – №. 7. – P. 429-432.
270. Pennington, K.P. Germline and somatic mutations in homologous recombination genes predict platinum response and survival in ovarian, fallopian tube, and peritoneal carcinomas / K.P. Pennington, T. Walsh, M.I. Harrell, et al. //Clinical Cancer Research. – 2014. – V. 20. – №. 3. – P. 764-775.
271. Peres, L.C. Dietary inflammatory index and risk of epithelial ovarian cancer in African American women / L.C. Peres, E.V. Bandera, B. Qin, et al. //International journal of cancer. – 2017. – V. 140. – №. 3. – P. 535-543.
272. Perez-Oliva, A.B. USP 45 deubiquitylase controls ERCC 1–XPF endonuclease-mediated DNA damage responses / A.B. Perez-Oliva, C. Lachaud, P. Szyniarowski, et al. //The EMBO journal. – 2015. – V. 34. – №. 3. – P. 326-343.
273. Piao, J. Association between pelvic inflammatory disease and risk of ovarian cancer: An updated meta-analysis / J. Piao, E.J. Lee, M. Lee, et al. //Gynecologic Oncology. – 2020. – V. 157. – №. 2. – P. 542-548.
274. Pietragalla, A. Ovarian cancer predisposition beyond BRCA1 and BRCA2 genes / A. Pietragalla, M. Arcieri, C. Marchetti, et al. //International Journal of Gynecologic Cancer. – 2020. – V. 30. – №. 11.
275. Plotz, G. MUTYH gene expression and alternative splicing in controls and polyposis patients / G. Plotz, M. Casper, J. Raedle, et al. //Human mutation. – 2012. – V. 33. – №. 7. – P. 1067-1074.
276. Podralska, M.J. Ten new ATM alterations in Polish patients with ataxia-telangiectasia / M.J. Podralska, A. Stembalska, R. Ślęzak, et al. //Molecular genetics & genomic medicine. – 2014. – V. 2. – №. 6. – P. 504-511.

277. Poole, E.M. Endometriosis and risk of ovarian and endometrial cancers in a large prospective cohort of US nurses / E.M. Poole, W.T. Lin, M. Kvaskoff, et al. //Cancer causes & control. – 2017. – V. 28. – P. 437-445.
278. Poole, E.M. Prognostic implications of reproductive and lifestyle factors in ovarian cancer / E.M. Poole, P.A. Konstantinopoulos, K. Terry, et al.//Gynecologic oncology. – 2016. – V. 142. – №. 3. – P. 574-587.
279. Praestegaard, C. Cigarette smoking is associated with adverse survival among women with ovarian cancer: Results from a pooled analysis of 19 studies / C. Praestegaard, A. Jensen, S.M. Jensen, et al. //International journal of cancer. – 2017. – V. 140. – №. 11. – P. 2422-2435.
280. Prokofyeva, D. Rare occurrence of PALB2 mutations in ovarian cancer patients from the Volga-Ural region / D. Prokofyeva, N. Bogdanova, M. Bermisheva, et al. //Clinical genetics. – 2012. – V. 82. – №. 1. – P. 100-101.
281. Qian, F. Mendelian randomisation study of height and body mass index as modifiers of ovarian cancer risk in 22,588 BRCA1 and BRCA2 mutation carriers / F. Qian, M.A. Rookus, G. Leslie, et al. //British journal of cancer. – 2019. – V. 121. – №. 2. – P. 180-192.
282. Quazi, S. Artificial intelligence and machine learning in precision and genomic medicine / S. Quazi //Medical Oncology. – 2022. – V. 39. – №. 8. – P. 120.
283. Raetz, A.G. Cancer-associated variants and a common polymorphism of MUTYH exhibit reduced repair of oxidative DNA damage using a GFP-based assay in mammalian cells / A.G. Raetz, Y. Xie, S. Kundu, et al. //Carcinogenesis. – 2012. – V. 33. – №. 11. – P. 2301-2309.
284. Ramus, S.J. Analysis of BRCA1 and BRCA2 mutations in Hungarian families with breast or breast-ovarian cancer / S.J. Ramus, Z. Kote-Jarai, L.S. Friedman, et al. //American journal of human genetics. – 1997. – V. 60. – №. 5. – P. 1242.
285. Ramus, S.J. Germline mutations in the BRIP1, BARD1, PALB2, and NBN genes in women with ovarian cancer / S.J. Ramus, H. Song, E. Dicks, Ramus,

- S.J., //Journal of the National Cancer Institute. – 2015. – V. 107. – №. 11. – P. djv214.
286. Rebbeck, T.R. Mutational spectrum in a worldwide study of 29,700 families with BRCA1 or BRCA2 mutations / T.R. Rebbeck, T.M. Friebel, E. Friedman, et al. //Human mutation. – 2018. – V. 39. – №. 5. – P. 593-620.,.
287. Reigstad, M.M. Cancer risk in women treated with fertility drugs according to parity status—a registry-based cohort study / M.M. Reigstad, R. Storeng, T.Å. Myklebust, et al. //Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention. – 2017. – V. 26. – №. 6. – P. 953-962.
288. Rein, H.L. RAD51 paralog function in replicative DNA damage and tolerance / H.L. Rein, K.A. Bernstein, R. Baldock //Current Opinion in Genetics & Development. – 2021. – V. 71. – P. 86-91. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gde.2021.06.010>.
289. Rennert, G. MutYH mutation carriers have increased breast cancer risk / G. Rennert, F. Lejbkowicz, I. Cohen, et al. //Cancer. – 2012. – V. 118. – №. 8. – P. 1989-1993.
290. Resta, N. Cancer risk associated with STK11/LKB1 germline mutations in Peutz–Jeghers syndrome patients: Results of an Italian multicenter study / N. Resta, D. Pierannunzio, G.M. Lenato, et al. //Digestive and Liver Disease. – 2013. – V. 45. – №. 7. – P. 606-611. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.dld.2012.12.018>.
291. Ricci, M.T. Type and frequency of MUTYH variants in Italian patients with suspected MAP: a retrospective multicenter study / M.T. Ricci, S. Miccoli, D. Turchetti, et al. //Journal of human genetics. – 2017. – V. 62. – №. 2. – P. 309-315.
292. Rice, M.S. Tubal ligation, hysterectomy, unilateral oophorectomy, and risk of ovarian cancer in the Nurses' Health Studies / M.S. Rice, S.E. Hankinson, S. Tworoger //Fertility and sterility. – 2014. – V. 102. – №. 1. – P. 192-198. e3.

293. Rojas, V. Molecular characterization of epithelial ovarian cancer: implications for diagnosis and treatment / V. Rojas, K.M. Hirshfield, S. Ganesan, et al. //International journal of molecular sciences. – 2016. – V. 17. – №. 12. – P. 2113.
294. Romanowicz, H. Association of R156R single nucleotide polymorphism of the ERCC2 gene with the susceptibility to ovarian cancer / H. Romanowicz, M.M. Michalska, D. Samulak, et al. //European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology. – 2017. – V. 208. – P. 36-40.
295. Rosenberg, P.S. How high are carrier frequencies of rare recessive syndromes? Contemporary estimates for Fanconi Anemia in the United States and Israel / P.S. Rosenberg, H. Tamary, B.P. Alter //American journal of medical genetics Part A. – 2011. – V. 155. – №. 8. – P. 1877-1883. DOI: <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.34087>.
296. Rosenthal, A.N. Evidence of stage shift in women diagnosed with ovarian cancer during phase II of the United Kingdom Familial Ovarian Cancer Screening Study / A.N. Rosenthal, L.S. Fraser, S. Philpott, et al. //Journal of Clinical Oncology. – 2017. – V. 35. – №. 13. – P. 1411.
297. Roźnowski, K. I171V germline mutation in the NBS1 gene significantly increases risk of breast cancer / K. Roźnowski, D. Januszkiewicz-Lewandowska, M. Mosor, et al. //Breast cancer research and treatment. – 2008. – V. 110. – P. 343-348. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10549-007-9734-1>.
298. Rozonova, O.A. Activation of the PI3K-AKT-mTOR cascade in uterine leiomyosarcoma: a retrospective study of 31 patients / O.A. Rozonova, E.V. Artamonova, N.A. Kozlov, et al. //Journal of Modern Oncology. – 2021. – V. 23. – №. 4. – P. 660-665.
299. Ruggieri, V. Loss of MUTYH function in human cells leads to accumulation of oxidative damage and genetic instability / V. Ruggieri, E. Pin, M.T. Russo, et al. //Oncogene. – 2013. – V. 32. – №. 38. – P. 4500-4508.

300. Rupnik, A. MRN and the race to the break / A. Rupnik, N.F. Lowndes, M. Grenon // *Chromosoma*. – 2010. – V. 119. – P. 115-135. DOI: 10.1007/s00412-009-0242-4.
301. Rutter, J.L. Mutational analysis of the BRCA1-interacting genes ZNF350/ZBRK1 and BRIP1/BACH1 among BRCA1 and BRCA2-negative probands from breast-ovarian cancer families and among early-onset breast cancer cases and reference individuals / J.L. Rutter, A.M. Smith, M.R. Dávila, et al. // *Human mutation*. – 2003. – V. 22. – №. 2. – P. 121-128. DOI: <https://doi.org/10.1002/humu.10238>.
302. Ruzzenente, A. Cholangiocarcinoma heterogeneity revealed by multigene mutational profiling: clinical and prognostic relevance in surgically resected patients / A. Ruzzenente, M. Fassan, S. Conci, et al. // *Annals of surgical oncology*. – 2016. – V. 23. – №. 5. – P. 1699-1707.
303. Saeed, M. Locus and gene-based GWAS meta-analysis identifies new diabetic nephropathy genes / M. Saeed // *Immunogenetics*. – 2018. – V. 70. – №. 6. – P. 347-353.
304. Salimzadeh, H. Association of DNA repair gene variants with colorectal cancer: risk, toxicity, and survival / H. Salimzadeh, E.B. Lindskog, B. Gustavsson, et al. // *BMC cancer*. – 2020. – V. 20. – №. 1. – P. 1-10.
305. Sanne, W. Cancer risks for PMS2-associated Lynch syndrome / W. Sanne, H.M. van der Klift, C.M. Tops, et al. // *Journal of Clinical Oncology*. – 2018. – V. 36. – №. 29. – P. 2961. doi: 10.1200/JCO.2018.78.4777.
306. Santucci, C. Dose–risk relationships between cigarette smoking and ovarian cancer histotypes: a comprehensive meta-analysis / C. Santucci, C. Bosetti, G. Peveri, et al. // *Cancer Causes & Control*. – 2019. – V. 30. – P. 1023-1032.
307. Sasamoto, N. Lifetime ovulatory years and ovarian cancer gene expression profiles / N. Sasamoto, P.A. Stewart, T. Wang, et al. // *Journal of Ovarian Research*. – 2022. – V. 15. – №. 1. – P. 1-11.

308. Sathipati, S.Y. Identification of the miRNA signature associated with survival in patients with ovarian cancer / S.Y. Sathipati, S. Y. Ho // *Aging (Albany NY)*. – 2021. – V. 13. – №. 9. – P. 12660.
309. Sato, N. Loss of heterozygosity on 10q23. 3 and mutation of the tumor suppressor gene PTEN in benign endometrial cyst of the ovary: possible sequence progression from benign endometrial cyst to endometrioid carcinoma and clear cell carcinoma of the ovary / N. Sato, H. Tsunoda, M. Nishida, et al. // *Cancer research*. – 2000. – V. 60. – №. 24. – P. 7052-7056.
310. Schmidt, M.K. Age-and tumor subtype-specific breast cancer risk estimates for CHEK2* 1100delC carriers / M.K. Schmidt, F. Hogervorst, R. Van Hien, et al. // *Journal of clinical oncology*. – 2016. – V. 34. – №. 23. – P. 2750.
311. Schrijver, L.H. Oral contraceptive use and ovarian cancer risk for BRCA1/2 mutation carriers: an international cohort study / L.H. Schrijver, A.C. Antoniou, H. Olsson, et al. // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 2021. – V. 225. – №. 1. – P. 51. e1-51. e17.
312. Schroeder, C. HBOC multi-gene panel testing: comparison of two sequencing centers / C. Schroeder, U. Faust, M. Sturm, et al. // *Breast cancer research and treatment*. – 2015. – V. 152. – P. 129-136.
313. Schweikert, E.M. PON3 is upregulated in cancer tissues and protects against mitochondrial superoxide-mediated cell death / E.M. Schweikert, A. Devarajan, I. Witte, et al. // *Cell Death & Differentiation*. – 2012. – V. 19. – №. 9. – P. 1549-1560.
314. Seemanova, E. The Slavic NBN founder mutation: a role for reproductive fitness? / E. Seemanova, R. Varon, J. Vejvalka, et al. // *PloS one*. – 2016. – V. 11. – №. 12. – P. e0167984. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167984>.
315. Senior, A.E. The molecular mechanism of ATP synthesis by F1F0-ATP synthase / A.E. Senior, S. Nadanaciva, J. Weber // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*. – 2002. – V. 1553. – №. 3. – P. 188-211.

316. Shaag, A. Functional and genomic approaches reveal an ancient CHEK2 allele associated with breast cancer in the Ashkenazi Jewish population / A. Shaag, T. Walsh, P. Renbaum, et al. //Human molecular genetics. – 2005. – V. 14. – №. 4. – P. 555-563.
317. Shahi, R.B. Identification of candidate cancer predisposing variants by performing whole-exome sequencing on index patients from BRCA1 and BRCA2-negative breast cancer families / R.B. Shahi, S. De Brakeleer, B. Caljon, et al. //BMC cancer. – 2019. – V. 19. – №. 1. – P. 1-11.
318. Shao, D. Prevalence of hereditary breast and ovarian cancer (HBOC) predisposition gene mutations among 882 HBOC high-risk Chinese individuals/ D. Shao, S. Cheng, F. Guo, et al //Cancer science. – 2020. – V. 111. – №. 2. – P. 647-657. DOI: <https://doi.org/10.1111/cas.14242>.
319. She, Z.G. The human paraoxonase gene cluster as a target in the treatment of atherosclerosis / Z.G. She, H.Z. Chen, Y. Yan, et al. //Antioxidants & redox signaling. – 2012. – V. 16. – №. 6. – P. 597-632.
320. Shen, C.C. Risk of uterine, ovarian and breast cancer following pelvic inflammatory disease: a nationwide population-based retrospective cohort study / C.C. Shen, L.Y. Hu, A.C. Yang, et al. //BMC cancer. – 2016. – V. 16. – №. 1. – P. 1-6.
321. Shia, W.C. Genetic copy number variants in myocardial infarction patients with hyperlipidemia / W.C. Shia, T.H. Ku, Y.M. Tsao, et al. //BMC genomics. – BioMed Central, 2011. – V. 12. – №. 3. – P. 1-8.
322. Shih, D.M. Decreased obesity and atherosclerosis in human paraoxonase 3 transgenic mice / D.M. Shih, Y.R. Xia, X.P. Wang, et al. //Circulation research. – 2007. – V. 100. – №. 8. – P. 1200-1207.
323. Shivappa, N. Dietary inflammatory index and ovarian cancer risk in a large Italian case–control study / N. Shivappa, J.R. Hébert, V. Rosato, et al. //Cancer

- Causes & Control. – 2016. – V. 27. – P. 897-906. doi: 10.1007/s10552-016-0767-9.
324. Shivappa, N. Dietary inflammatory index and ovarian cancer risk in a New Jersey case–control study / N. Shivappa, J.R. Hébert, L.E. Paddock, et al. //Nutrition. – 2018. – V. 46. – P. 78-82.
325. Sieh, W. Tubal ligation and risk of ovarian cancer subtypes: a pooled analysis of case-control studies / W. Sieh, S. Salvador, V. McGuire, et al. //International journal of epidemiology. – 2013. – V. 42. – №. 2. – P. 579-589.
326. Smolarz, B. Polymorphism of DNA repair genes via homologous recombination (HR) in ovarian cancer / B. Smolarz, M.M. Michalska, D. Samulak, et al. //Pathology & Oncology Research. – 2019. – V. 25. – P. 1607-1614.
327. Sokolenko, A.P. Founder mutations in early-onset, familial and bilateral breast cancer patients from Russia / A.P. Sokolenko, M.E. Rozanov, N.V. Mitiushkina, et al. //Familial cancer. – 2007. – V. 6. – №. 3. – P. 281-286.
328. Sokolenko, A.P. Frequency and spectrum of founder and non-founder BRCA1 and BRCA2 mutations in a large series of Russian breast cancer and ovarian cancer patients / A.P. Sokolenko, T.N. Sokolova, V.I. Ni, et al. //Breast Cancer Research and Treatment. – 2020. – V. 184. – №. 1. – P. 229-235. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10549-020-05827-8>.
329. Solmaz, A.E. BRCA1-BRCA2 mutation analysis results in 910 individuals: Mutation distribution and 8 novel mutations / A.E. Solmaz, H. Onay, L. Yeniay, et al. //Cancer Genetics. – 2020. – V. 241. – P. 20-24.
330. Song, H. Contribution of germline mutations in the RAD51B, RAD51C, and RAD51D genes to ovarian cancer in the population / H. Song, E. Dicks, S.J. Ramus, et al. //Journal of Clinical Oncology. – 2015. – V. 33. – №. 26. – P. 2901.
331. Song, H. Population-based targeted sequencing of 54 candidate genes identifies PALB2 as a susceptibility gene for high-grade serous ovarian cancer / H. Song, E.M. Dicks, J. Tyrer, et al. //Journal of medical genetics. – 2021. – V.

58. – №. 5. – P. 305-313. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/jmedgenet-2019-106739>.
332. Song, H. The contribution of deleterious germline mutations in BRCA1, BRCA2 and the mismatch repair genes to ovarian cancer in the population / H. Song, M.S. Cicek, E. Dicks, et al. //Human molecular genetics. – 2014. – V. 23. – №. 17. – P. 4703-4709. DOI: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddu172>.
333. Southey, M.C. PALB2, CHEK2 and ATM rare variants and cancer risk: data from COGS / M.C. Southey, D.E. Goldgar, R. Winqvist, et al. //Journal of medical genetics. – 2016. – V. 53. – №. 12. – P. 800-811. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/jmedgenet-2016-103839>.
334. Spivak, G. Nucleotide excision repair in humans / G. Spivak //DNA repair. – 2015. – V. 36. – P. 13-18.
335. Stafford, J.L. Reanalysis of BRCA1/2 negative high risk ovarian cancer patients reveals novel germline risk loci and insights into missing heritability / J.L. Stafford, G. Dyson, N.K. Levin, et al. //PloS one. – 2017. – V. 12. – №. 6. – P. e0178450. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178450>.
336. Staninova-Stojovska, M. Molecular basis of inherited colorectal carcinomas in the macedonian population: an update / M. Staninova-Stojovska, N. Matevska-Geskovska, M. Panovski, et al. //Balkan Journal of Medical Genetics. – 2019. – V. 22. – №. 2. – P. 5-16.
337. Stewart, L.M. Risk of high-grade serous ovarian cancer associated with pelvic inflammatory disease, parity and breast cancer / L.M. Stewart, K. Spilsbury, S. Jordan, et al. //Cancer epidemiology. – 2018. – V. 55. – P. 110-116.
338. Stradella, A. ERCC3, a new ovarian cancer susceptibility gene? / A. Stradella, V. Del, P. Rofes, et al. //European Journal of Cancer. – 2020. – V. 141. – P. 1-8.
339. Sunar, V. Frequency of germline BRCA1/2 mutations and association with clinicopathological characteristics in Turkish women with epithelial ovarian cancer / V. Sunar, V. Korkmaz, V. Topcu, et al. //Asia-Pacific Journal of Clinical Oncology. – 2022. – V. 18. – №. 1. – P. 84-92.

340. Sung, P. Human xeroderma pigmentosum group D gene encodes a DNA helicase / P. Sung, V. Bailly, C. Weber, et al. //*nature*. – 1993. – V. 365. – №. 6449. – P. 852-855.
341. Suspitsin, E.N. High frequency of BRCA1, but not CHEK2 or NBS1 (NBN), founder mutations in Russian ovarian cancer patients / E.N. Suspitsin, N.Y. Sherina, D.N. Ponomariova, et al. //*Hereditary Cancer in Clinical Practice*. – 2009. – V. 7. – №. 1. – P. 1-7. DOI: <https://doi.org/10.1186/1897-4287-7-5>.
342. Suszynska, M. Large-scale meta-analysis of mutations identified in panels of breast/ovarian cancer-related genes—Providing evidence of cancer predisposition genes / M. Suszynska, K. Klonowska, A.J. Jasinska, et al. //*Gynecologic oncology*. – 2019. – V. 153. – №. 2. – P. 452-462. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2019.01.027>.
343. Suszynska, M. RAD51C, and RAD51D mutations are associated with high susceptibility to ovarian cancer: Mutation prevalence and precise risk estimates based on a pooled analysis of ~ 30,000 cases / M. Suszynska, M. Ratajska, P. Kozlowski //*Journal of Ovarian Research*. – 2020. – V. 13. – №. 1. – P. 1-11.
344. Sutcliffe, E.G. Multi-gene panel testing confirms phenotypic variability in MUTYH-Associated Polyposis / E.G. Sutcliffe, A. Bartenbaker Thompson, A.R. Stettner, et al. //*Familial Cancer*. – 2019. – V. 18. – P. 203-209.
345. Swift, M. Breast and other cancers in families with ataxia-telangiectasia / M. Swift, P.J. Reitnauer, D. Morrell, et al. //*New England Journal of Medicine*. – 1987. – V. 316. – №. 21. – P. 1289-1294. DOI: [10.1056/NEJM198705213162101](https://doi.org/10.1056/NEJM198705213162101).
346. Synowiec, A. Clinical features and outcomes of germline mutation BRCA1-linked versus sporadic ovarian cancer patients / A. Synowiec, G. Wcisło, L. Bodnar, et al. //*Hereditary Cancer in Clinical Practice*. – 2016. – V. 14. – №. 1. – P. 1-8.
347. Tanha, K. Investigation on factors associated with ovarian cancer: An umbrella review of systematic review and meta-analyses / K. Tanha, A. Mottaghi,

- M. Nojomi, et al. //Journal of ovarian research. – 2021. – V. 14. – №. 1. – P. 1-17.
348. Taruna, R. Homologous recombination DNA repair gene RAD51, XRCC2 & XRCC3 polymorphisms and breast cancer risk in South Indian women / R. Taruna, S. Arun, R. Kumar, et al. //Plos one. – 2022. – V. 17. – №. 1. – P. e0259761.
349. Thompson, E.R. Analysis of RAD51D in ovarian cancer patients and families with a history of ovarian or breast cancer / E.R. Thompson, S.M. Rowley, S. Sawyer, et al. //PloS one. – 2013. – V. 8. – №. 1. – P. e54772. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054772>.
350. Thorlacius, S. A single BRCA2 mutation in male and female breast cancer families from Iceland with varied cancer phenotypes / S. Thorlacius, G. Olafsdottir, L. Tryggvadottir, et al. //Nature genetics. – 1996. – V. 13. – №. 1. – P. 117-119. DOI: <https://doi.org/10.1038/ng0596-117>.
351. Thorstenson, Y.R. Contributions of ATM mutations to familial breast and ovarian cancer / Y.R. Thorstenson, A. Roxas, R. Kroiss, et al. //Cancer research. – 2003. – V. 63. – №. 12. – P. 3325-3333.
352. Tian, Y. Contribution of xeroderma pigmentosum complementation group D gene polymorphisms in breast and ovarian cancer susceptibility: A protocol for systematic review and meta analysis / Y. Tian, X. Lin, F. Yang, et al. //Medicine. – 2020. – V. 99. – №. 21.
353. Tiao, G. Rare germline variants in ATM are associated with chronic lymphocytic leukemia / G. Tiao, M.R. Improgo, S. Kasar, et al. //Leukemia. – 2017. – V. 31. – №. 10. – P. 2244-2247.
354. Tischkowitz, M. Contribution of the PALB2 c. 2323C> T [p. Q775X] founder mutation in well-defined breast and/or ovarian cancer families and unselected ovarian cancer cases of French Canadian descent / M. Tischkowitz, N. Sabbaghian, N. Hamel, et al. //BMC medical genetics. – 2013. – V. 14. – №. 1. – P. 1-7. DOI:<https://doi.org/10.1186/1471-2350-14-5>.

355. Tonin, P.N. Founder BRCA1 and BRCA2 mutations in French Canadian ovarian cancer cases unselected for family history / P.N. Tonin, M. Mes-Masson, S.A. Narod, et al. //Clinical genetics. – 1999. – V. 55. – №. 5. – P. 318-324. DOI: <https://doi.org/10.1034/j.1399-0004.1999.550504.x>.
356. Torre, L.A. Ovarian cancer statistics, 2018 / L.A. Torre, B. Trabert, S. De, et al. //CA: a cancer journal for clinicians. – 2018. – V. 68. – №. 4. – P. 284-296.
357. Toss, A. Hereditary ovarian cancer: not only BRCA 1 and 2 genes / A. Toss, C. Tomasello, E. Razzaboni, et al. //BioMed research international. – 2015. – V. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1155/2015/341723>.
358. Toss, A. Hereditary ovarian cancers: state of the art / A. Toss, E. Molinaro, M. Sammarini, et al. //Minerva medica. – 2019. – V. 110. – №. 4. – P. 301-319. DOI: 10.23736/s0026-4806.19.06091-9.
359. Trabert, B. Ovarian cancer and menopausal hormone therapy in the NIH-AARP diet and health study / B. Trabert, N. Wentzensen, H.P. Yang, et al. //British journal of cancer. – 2012. – V. 107. – №. 7. – P. 1181-1187.
360. Trabert, B. The risk of ovarian cancer increases with an increase in the lifetime number of ovulatory cycles: an analysis from the Ovarian Cancer Cohort Consortium (OC3) / B. Trabert, S.S. Tworoger, K.M. O'Brien, et al. //Cancer research. – 2020. – V. 80. – №. 5. – P. 1210-1218.
361. Tunca, C. Revisiting the complex architecture of ALS in Turkey: Expanding genotypes, shared phenotypes, molecular networks, and a public variant database / C. Tunca, T. Şeker, F. Akcimen, et al. //Human mutation. – 2020. – V. 41. – №. 8. – P. e7-e45.
362. Tung, N. Frequency of germline mutations in 25 cancer susceptibility genes in a sequential series of patients with breast cancer / N. Tung, N.U. Lin, J. Kidd, et al. //Journal of Clinical Oncology. – 2016. – V. 34. – №. 13. – P. 1460.
363. Tung, N. Frequency of mutations in individuals with breast cancer referred for BRCA 1 and BRCA 2 testing using next-generation sequencing with a 25-

- gene panel / N. Tung, C. Battelli, B. Allen, et al. //Cancer. – 2015. – V. 121. – №. 1. – P. 25-33.
364. Van Der Burgt, I. Nijmegen breakage syndrome / I. Van Der Burgt, K.H. Chrzanowska, D. Smeets, et al. //Journal of medical genetics. – 1996. – V. 33. – №. 2. – P. 153-156. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/jmg.33.2.153>.
365. Van Lier, M.G.F. High cancer risk in Peutz–Jeghers syndrome: a systematic review and surveillance recommendations / M.G.F. Van Lier, A. Wagner, E.M.H. Mathus- Vliegen, et al. //Official journal of the American College of Gastroenterology| ACG. – 2010. – V. 105. – №. 6. – P. 1258-1264. DOI: 10.1038/ajg.2009.725.
366. Vander der Looij, M. Prevalence of founder BRCA1 and BRCA2 mutations among breast and ovarian cancer patients in Hungary / M. Vander der Looij, C. Szabo, I. Besznyak, et al. //International Journal of Cancer. – 2000. – V. 86. – №. 5. – P. 737-740.
367. Verret, B. Efficacy of PI3K inhibitors in advanced breast cancer / B. Verret, J. Cortes, T. Bachelot, Verret, B., //Annals of Oncology. – 2019. – V. 30. – P. x12-x20.
368. Villarreal-Garza, C. Significant clinical impact of recurrent BRCA1 and BRCA2 mutations in Mexico / C. Villarreal-Garza, R.M. Alvarez-Gómez, C. Pérez-Plasencia, et al. //Cancer. – 2015. – V. 121. – №. 3. – P. 372-378.
369. Vogt, S. Expanded extracolonic tumor spectrum in MUTYH-associated polyposis/ S. Vogt, N. Jones, D. Christian, et al. //Gastroenterology. – 2009. – T. 137. – №. 6. – C. 1976-1985.
370. Voutsadakis, I. Landscape of BRIP1 molecular lesions in gastrointestinal cancers from published genomic studies / I. Voutsadakis //World journal of gastroenterology. – 2020. – V. 26. – №. 11. – P. 1197.
371. Vuorela, M. Further evidence for the contribution of the RAD51C gene in hereditary breast and ovarian cancer susceptibility / M. Vuorela, K. Pylkäs, J.

- Hartikainen, et al. //Breast cancer research and treatment. – 2011. – V. 130. – №. 3. – P. 1003-1010.
372. Vyas, S. Family-wide analysis of poly (ADP-ribose) polymerase activity / S. Vyas, I. Matic, L. Uchima, et al. //Nature communications. – 2014. – V. 5. – №. 1. – P. 4426.
373. Walsh, T. Mutations in 12 genes for inherited ovarian, fallopian tube, and peritoneal carcinoma identified by massively parallel sequencing / T. Walsh, S. Casadei, M.K. Lee, et al. //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2011. – V. 108. – №. 44. – P. 18032-18037.
374. Walsh, T. Spectrum of mutations in BRCA1, BRCA2, CHEK2, and TP53 in families at high risk of breast cancer / T. Walsh, S. Casadei, K.H. Coats, et al. //Jama. – 2006. – V. 295. – №. 12. – P. 1379-1388.
375. Wang, A. Knockdown of TBRG4 affects tumorigenesis in human H1299 lung cancer cells by regulating DDIT3, CAV1 and RRM2 / A. Wang, C. Zhao, X. Liu, et al. //Oncology letters. – 2018. – V. 15. – №. 1. – P. 121-128.
376. Wang, F. MMP-1-PAR1 axis mediates LPA-induced epithelial ovarian cancer (EOC) invasion / F. Wang, J. Fisher, D.A. Fishman, Wang, F., //Gynecologic oncology. – 2011. – V. 120. – №. 2. – P. 247-255.
377. Wang, J. Germline mutation landscape of Chinese patients with familial breast/ovarian cancer in a panel of 22 susceptibility genes / J. Wang, W. Li, Y. Shi, et al. //Cancer Medicine. – 2019. – V. 8. – №. 5. – P. 2074-2084.
378. Wang, M. Polymorphisms in nucleotide excision repair genes and risk of primary prostate cancer in Chinese Han populations / M. Wang, Q. Li, C. Gu, et al. //Oncotarget. – 2017. – V. 8. – №. 15. – P. 24362.
379. Wang, Y. Mutation inactivation of Nijmegen breakage syndrome gene (NBS1) in hepatocellular carcinoma and intrahepatic cholangiocarcinoma / Y. Wang, Y. Hong, M. Li, et al. //PLoS One. – 2013. – V. 8. – №. 12. – P. e82426.
380. Weber-Lassalle, N. BRIP1 loss-of-function mutations confer high risk for familial ovarian cancer, but not familial breast cancer / LN. Weber-Lassalle, J.

- Hauke, J. Ramser, et al. //Breast Cancer Research. – 2018. – V. 20. – №. 1. – P. 1-6. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13058-018-0935-9>.
381. Weemaes, C.M.R. A new chromosomal instability disorder: the Nijmegen breakage syndrome / C.M.R. Weemaes, T. Hustinx, J. Scheres, et al. //Acta Paediatrica. – 1981. – V. 70. – №. 4. – P. 557-564.
382. Weiqing, L. The association between XRCC3 rs1799794 polymorphism and cancer risk: a meta-analysis of 34 case–control studies / L. Weiqing, M. Shumin, L. Lei, et al. //BMC Medical Genomics. – 2021. – V. 14. – №. 1. – P. 1-12. doi: 10.1186/s12920-021-00965-4.
383. Weischer, M. CHEK2* 1100delC genotyping for clinical assessment of breast cancer risk: meta-analyses of 26,000 patient cases and 27,000 controls / M. Weischer, S.E. Bojesen, C. Ellervik, et al. //Journal of Clinical Oncology. – 2008. – V. 26. – №. 4. – P. 542-548.
384. Wen, J. NBN phosphorylation regulates the accumulation of MRN and ATM at sites of DNA double-strand breaks / J. Wen, K. Cerosaletti, K.J. Schultz, et al. //Oncogene. – 2013. – V. 32. – №. 37. – P. 4448-4456. DOI: <https://doi.org/10.1038/onc.2012.443>.
385. Wen, Z. Up-regulated NRIP2 in colorectal cancer initiating cells modulates the Wnt pathway by targeting ROR β / Z. Wen, T. Pan, S. Yang, et al. //Molecular cancer. – 2017. – V. 16. – №. 1. – P. 1-14.
386. Wentzensen, N. Ovarian cancer risk factors by histologic subtype: an analysis from the Ovarian Cancer Cohort Consortium/ N. Wentzensen, E.M. Poole, B. Trabert, et al.// J Clin Oncol. –2016– V. 34 – №. 24. –P. 2888–98.
387. West, L. Docosahexaenoic acid (DHA), an omega-3 fatty acid, inhibits ovarian cancer growth and adhesion / L. West, S.R. Pierce, Y. Yin, et al. //Gynecologic Oncology. – 2018. – V. 149. – P. 63.
388. Wiechec, E. A fragile site within the HPC1 region at 1q25. 3 affecting RGS16, RGSL1, and RGSL2 in human breast carcinomas / E. Wiechec, J. Overgaard,

- L.L. Hansen //Genes, Chromosomes and Cancer. – 2008. – V. 47. – №. 9. – P. 766-780.
389. Win, A.K. Risk of extracolonic cancers for people with biallelic and monoallelic mutations in MUTYH/ A.K. Win, J.C. Reece, J.G. Dowty, et al. //International journal of cancer. – 2016. – V. 139. – №. 7. – P. 1557-1563.
390. Wojcik, P. Recurrent mutations of BRCA1, BRCA2 and PALB2 in the population of breast and ovarian cancer patients in Southern Poland / P. Wojcik, M. Jasiówka, E. Strycharz, et al. //Hereditary cancer in clinical practice. – 2016. – V. 14. – №. 1. – P. 1-10. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13053-016-0046-5>.
391. Wooster, R. Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2 / R. Wooster, G. Bignell, J. Lancaster, et al. //Nature. – 1995. – V. 378. – №. 6559. – P. 789-792. DOI: <https://doi.org/10.1038/378789a0>.
392. Wu, J. Meta-analysis of excision repair cross complementary gene 1 (ERCC1) expression and platinum chemosensitivity in patients with ovarian cancer / J. Wu, R. Li, X. Chen, et al. //Ann Palliat Med. – 2020. – V. 9. – P. 3428-35.
393. Xia, B. Control of BRCA2 cellular and clinical functions by a nuclear partner, PALB2 / B. Xia, Q. Sheng, K. Nakanishi, et al. //Molecular cell. – 2006. – V. 22. – №. 6. – P. 719-729. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2006.05.022>.
394. Xiao, X. Mismatch repair deficiency in ovarian cancer—molecular characteristics and clinical implications / X. Xiao, D.W. Melton, C. Gourley //Gynecologic oncology. – 2014. – V. 132. – №. 2. – P. 506-512. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2013.12.003>.
395. Xu, B. Possible involvement of loss of heterozygosity in malignant transformation of ovarian endometriosis / B. Xu, S. Hamada, I. Kusuki, et al. //Gynecologic oncology. – 2011. – V. 120. – №. 2. – P. 239-246.
396. Xu, K. Prognostic significance of BRCA mutations in ovarian cancer: an updated systematic review with meta-analysis / K. Xu, S. Yang, Y. Zhao //Oncotarget. – 2017. – V. 8. – №. 1. – P. 285.

397. Xu, X. LKB1 controls human bronchial epithelial morphogenesis through p114RhoGEF-dependent RhoA activation / X. Xu, D. Jin, J. Durgan, et al //Molecular and cellular biology. – 2013. – V. 33. – №. 14. – P. 2671-2682.
398. Yan- Hong, H. Association between alcohol consumption and the risk of ovarian cancer: a meta-analysis of prospective observational studies / H. Yan-Hong, L. Jing, L. Hong, et al. //BMC public health. – 2015. – V. 15. – P. 1-12.
399. Yang, F. Association of excision repair cross-complimentary group 1 gene polymorphisms with breast and ovarian cancer susceptibility / F. Yang, X. Mu, C. Bian, et al. //Journal of Cellular Biochemistry. – 2019. – V. 120. – №. 9. – P. 15635-15647.
400. Yang, J. Targeting PI3K in cancer: mechanisms and advances in clinical trials / J. Yang, J. Nie, X. Ma, et al. //Molecular cancer. – 2019. – V. 18. – №. 1. – P. 1-28.
401. Yang, L. Regulator of G protein signaling 20 enhances cancer cell aggregation, migration, invasion and adhesion / L. Yang, M.M. Lee, M.M. Leung, et al. //Cellular signalling. – 2016. – V. 28. – №. 11. – P. 1663-1672.
402. Yang, X. Cancer risks associated with germline PALB2 pathogenic variants: an international study of 524 families / X. Yang, G. Leslie, A. Doroszuk, et al. //Journal of clinical oncology. – 2020. – V. 38. – №. 7. – P. 674.
403. Yang, X. Ovarian and breast cancer risks associated with pathogenic variants in RAD51C and RAD51D / X. Yang, H. Song, G. Leslie, et al. //JNCI: Journal of the National Cancer Institute. – 2020. – V. 112. – №. 12. – P. 1242-1250.
404. Yao, N. PARP14 promotes the proliferation and gemcitabine chemoresistance of pancreatic cancer cells through activation of NF- κ B pathway / N. Yao, Q. Chen, W. Shi, et al. //Molecular Carcinogenesis. – 2019. – V. 58. – №. 7. – P. 1291-1302.
405. Yao, Q. Mutation landscape of homologous recombination repair genes in epithelial ovarian Cancer in China and its relationship with Clinicopathological

- characteristics / Q. Yao, Y. Liu, L. Zhang, et al. //Frontiers in Oncology. – 2022. – V. 12. – P. 709645.
406. Yarmolinsky, J. Appraising the role of previously reported risk factors in epithelial ovarian cancer risk: a Mendelian randomization analysis / J. Yarmolinsky, C.L. Relton, A. Lophatananon, et al. //PLoS medicine. – 2019. – V. 16. – №. 8. – P. e1002893.
407. Yassaee, V.R. Mutation spectra of BRCA genes in Iranian women with early onset breast Cancer-15 years experience / V.R. Yassaee, Z. Ravesh, Z. Soltani, et al. //Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. – 2016. – V. 17. – №. S3. – P. 149-153.
408. Yazici, H. BRCA1 and BRCA2 mutations in Turkish familial and non-familial ovarian cancer patients: a high incidence of mutations in non-familial cases / H. Yazici, G. Glendon, H. Yazici, et al. //Human mutation. – 2002. – V. 20. – №. 1. – P. 28-34.
409. Young, M.J. The role of ubiquitin-specific peptidases in cancer progression / M.J. Young, K.C. Hsu, T.E. Lin, et al. //Journal of biomedical science. – 2019. – V. 26. – №. 1. – P. 1-14.
410. Yousefi, M. Current insights into the metastasis of epithelial ovarian cancer- hopes and hurdles / M. Yousefi, S. Dehghani, R. Nosrati, et al. //Cellular Oncology. – 2020. – V. 43. – P. 515-538.
411. Yuan, C. Analysis of the association between the XRCC2 rs3218536 polymorphism and ovarian cancer risk / C. Yuan, X. Liu, R. Li, et al. //Archives of Medical Science. – 2020. – V. 16. – №. 3. – P. 682-691.
412. Yurgelun, M.B. Cancer susceptibility gene mutations in individuals with colorectal cancer / M.B. Yurgelun, M.H. Kulke, C.S. Fuchs, et al. //Journal of Clinical Oncology. – 2017. – V. 35. – №. 10. – P. 1086.
413. Yurgelun, M.B. Identification of a variety of mutations in cancer predisposition genes in patients with suspected Lynch syndrome / M.B.

- Yurgelun, B. Allen, R.R. Kaldate, et al. //Gastroenterology. – 2015. – V. 149. – №. 3. – P. 604-613.
414. Zamorano, A.S. Pre-diagnosis body mass index, physical activity and ovarian cancer mortality / A.S. Zamorano, A.R. Hagemann, L. Morrison, et al. //Gynecologic oncology. – 2019. – V. 155. – №. 1. – P. 105-111.
415. Zeleznik, O.A. A Prospective Analysis of Circulating Plasma Metabolites Associated with Ovarian Cancer/ O.A. Zeleznik, A.H. Eliassen, P. Kraft, et al. //Cancer research. – 2020. – V. 80. – №. 6. – P. 1357-1367.
416. Zeng, X. The metalloprotease encoded by ATP23 has a dual function in processing and assembly of subunit 6 of mitochondrial ATPase / X. Zeng, W. Neupert, A. Tzagoloff //Molecular biology of the cell. – 2007. – V. 18. – №. 2. – P. 617-626.
417. Zhang, C. ADPRH is a prognosis-related biomarker and correlates with immune infiltrates in low grade glioma / C. Zhang, L. Wang, H. Liu, et al. //Journal of Cancer. – 2021. – V. 12. – №. 10. – P. 2912.
418. Zhang, F. PALB2 functionally connects the breast cancer susceptibility proteins BRCA1 and BRCA2 / F. Zhang, Q. Fan, K. Ren, et al. //Molecular Cancer Research. – 2009. – V. 7. – №. 7. – P. 1110-1118. DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-09-0123.
419. Zhang, W. Associations between XRCC2 rs3218536 and ERCC2 rs13181 polymorphisms and ovarian cancer / W. Zhang, Z. Zhang //Oncotarget. – 2016. – V. 7. – №. 52. – P. 86621.
420. Zhang, X. Mutations in UVSSA cause UV-sensitive syndrome and destabilize ERCC6 in transcription-coupled DNA repair / X. Zhang, K. Horibata, M. Saijo, et al. //Nature genetics. – 2012. – V. 44. – №. 5. – P. 593-597.. doi: 10.1038/ng.2228.
421. Zhang, X. Nucleotide excision repair: a versatile and smart toolkit / X. Zhang, M. Yin, J. Hu //Acta Biochimica et Biophysica Sinica. – 2022. – V. 54. – №. 6. – P. 807-819.

422. Zhang, Y. ERCC1 rs11615 polymorphism and chemosensitivity to platinum drugs in patients with ovarian cancer: a systematic review and meta-analysis / Y. Zhang, S. Cao, C. Zhuang, et al. //Journal of Ovarian Research. – 2021. – V. 14. – №. 1. – P. 1-11.
423. Zhao, Z. The association of polymorphisms in nucleotide excision repair genes with ovarian cancer susceptibility / Z. Zhao, A. Zhang, Y. Zhao, et al. //Bioscience reports. – 2018. – V. 38. – №. 3.
424. Zhu, J. Alcohol consumption and risk of breast and ovarian cancer: a Mendelian randomization study / J. Zhu, X. Jiang, Z. Niu //Cancer Genetics. – 2020. – V. 245. – P. 35-41.
425. Zhu, L. 3 promotes cell proliferation and metastasis by PI3K/Akt in oral squamous cell carcinoma / L. Zhu, Y. Shen, W. Sun //Biomedicine & Pharmacotherapy. – 2017. – V. 85. – P. 712-717.
426. Zhu, M.L. Potentially functional polymorphisms in the ERCC2 gene and risk of esophageal squamous cell carcinoma in Chinese populations / M.L. Zhu, J. He, M. Wang, et al. //Scientific Reports. – 2014. – V. 4. – №. 1. – P. 6281. doi: 10.1038/srep06281.
427. Zienolddiny, S. Polymorphisms of DNA repair genes and risk of non-small cell lung cancer / S. Zienolddiny, D. Campa, H. Lind, et al. //Carcinogenesis. – 2006. – V. 27. – №. 3. – P. 560-567.

ПРИЛОЖЕНИЯ

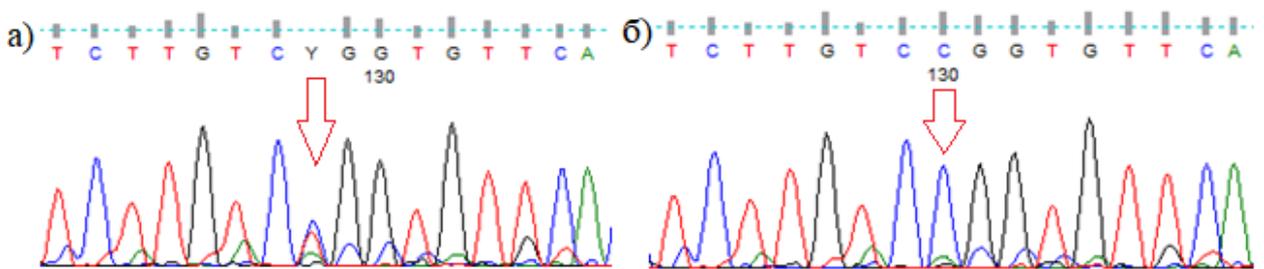
Приложение А

Хроматограммы, подтверждающие наличие изменений нуклеотидной последовательности в генах, отобранных в результате таргетного секвенирования

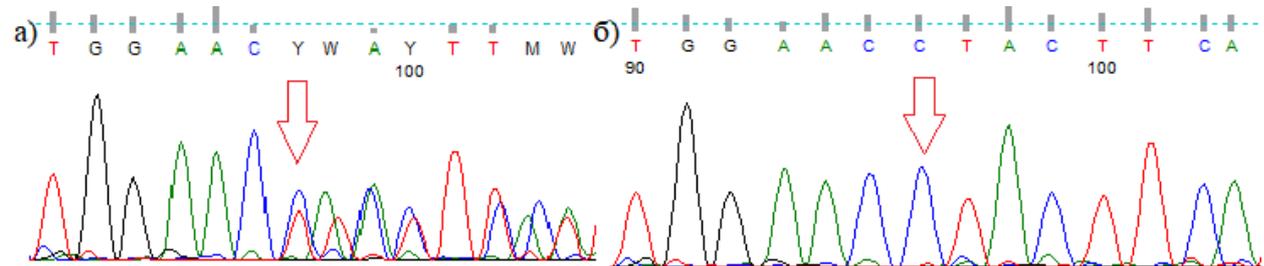
а- вариант с изменением нуклеотидной последовательности

б- в норме

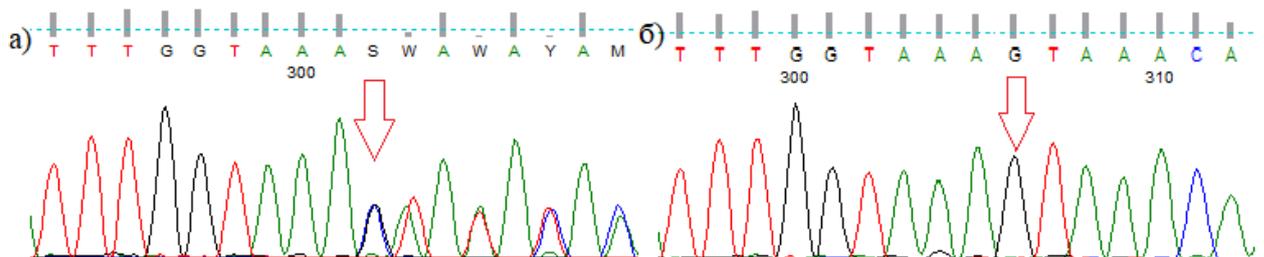
1. c.2149C>T (p.Arg717Trp) в гене *ATM*



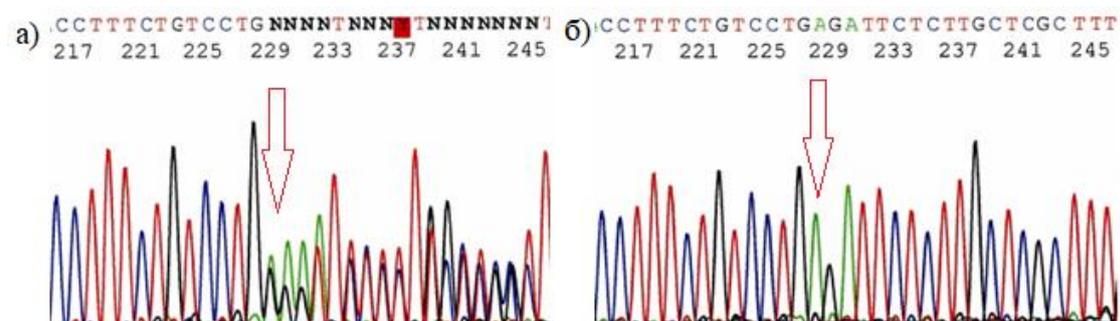
2. c.3143delG (p.Gly1048ValfsTer1) в гене *BRCA1*



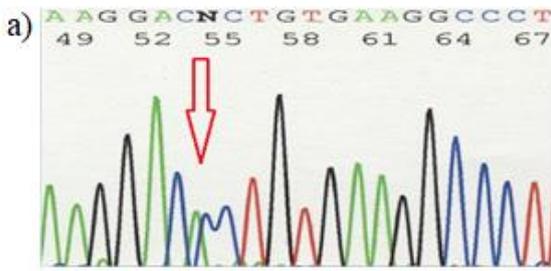
3. c.3700_3704delGTAAA p.(Val1234GlnfsTer8) в гене *BRCA1*



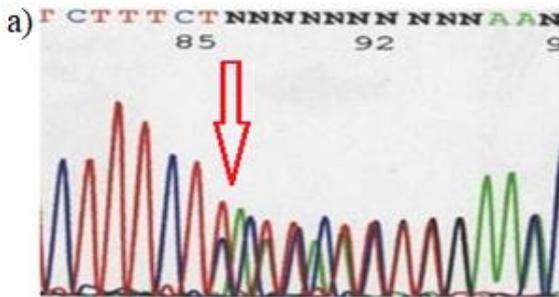
4. c.5266dupC p.(Gln1756ProfsTer7) в гене *BRCA1*



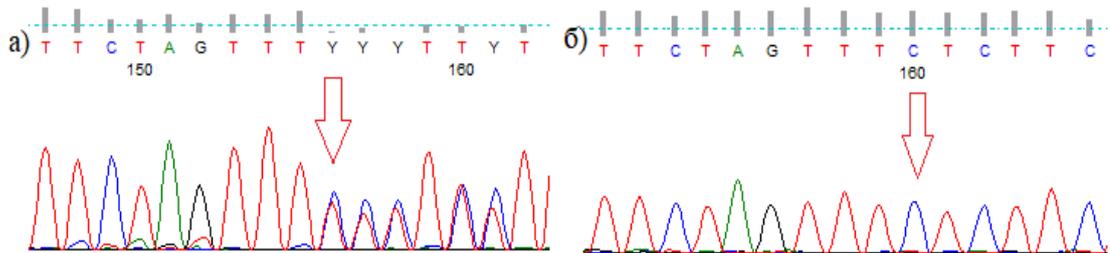
5. c.181T>G p.(Cys61Gly) в гене *BRCA1*



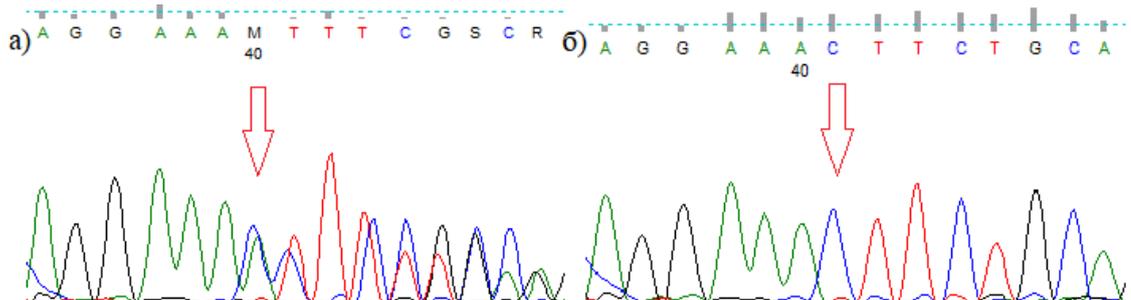
6. c.4034delA p.(Glu1346LysfsTer20) в гене *BRCA1*



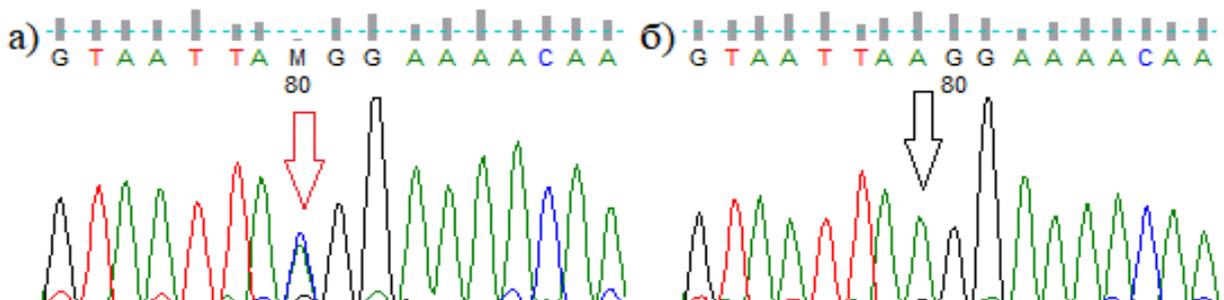
7. c.2199delG (p. Lys734AsnfsTer2) в гене *BRCA1*



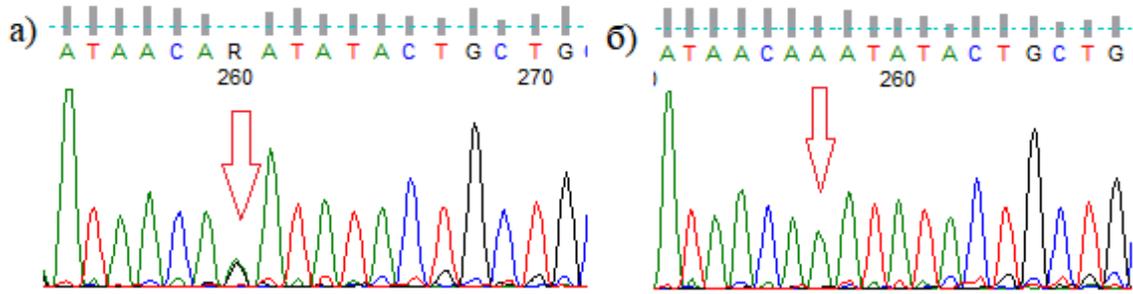
8. c.3751dupA (p. Thr1251AsnfsTer1) в гене *BRCA2*



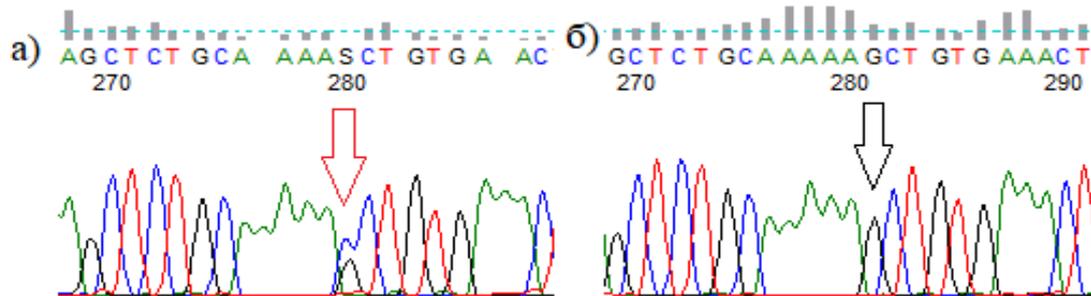
9. c.5624A>C (p. Lys1875Thr) в гене *BRCA2*



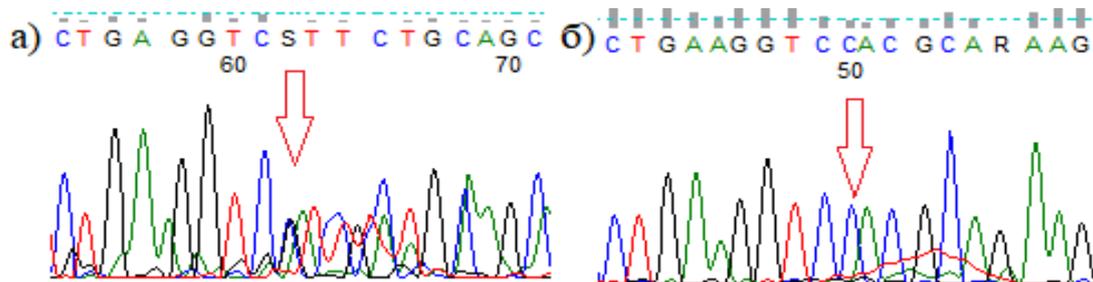
10. с.3968A>G (p. Lys1323Arg) в гене *BRCA2*



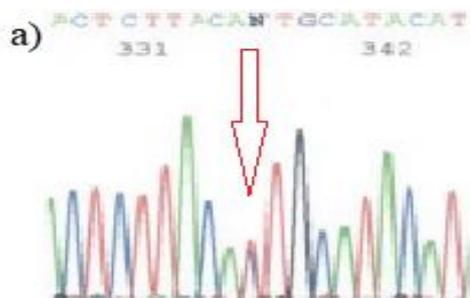
11. с.3709G>C p.(Ala1237Pro) в гене *BRCA2*



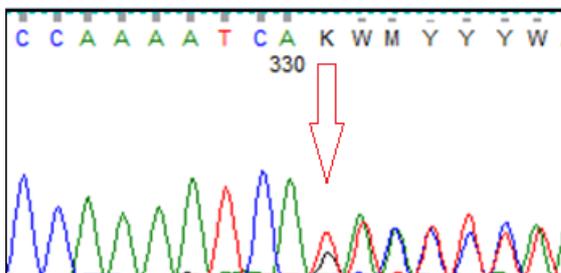
12. с.1967_1969dupGTC (p. Gly656_Pro657insArg) в гене *BARD1*



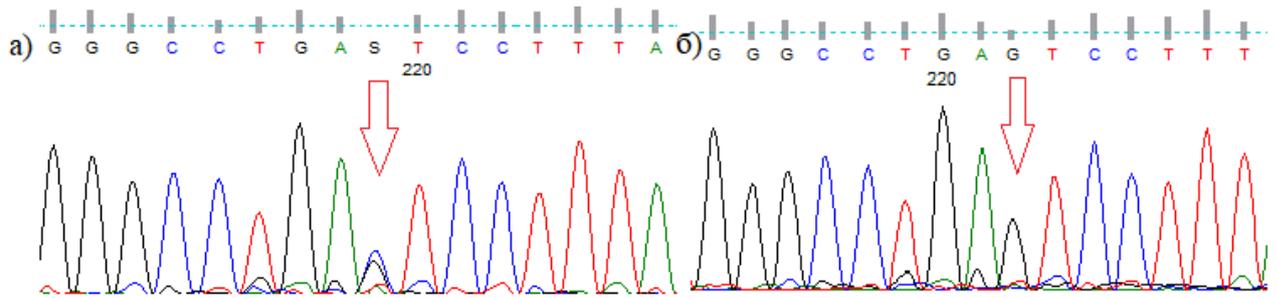
13. с.470T>C в гене *CHEK2*



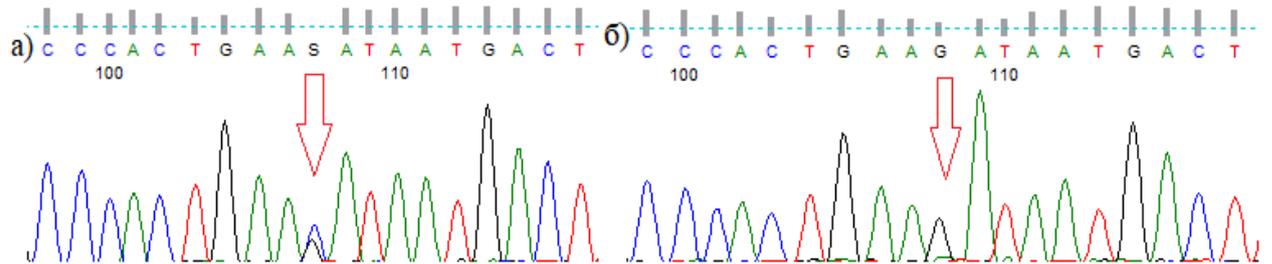
14. с.1100delC в гене *CHEK2*



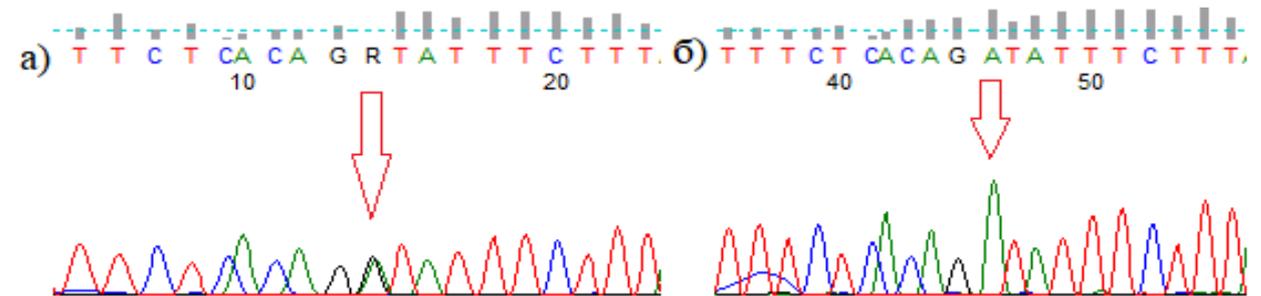
15.с.315G>C (p.Glu105Asp) в гене PALB2



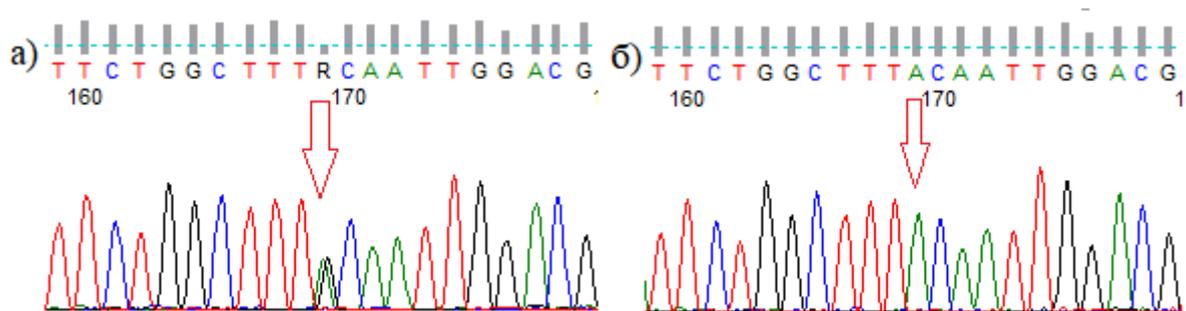
16.с.1486G>C (p. Asp496His) в гене PALB2



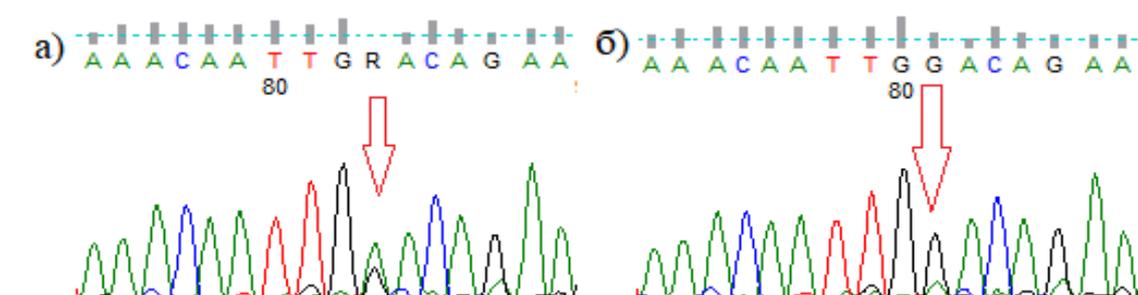
17.с.1912T>C (p.Ser638Pro) в гене NBN



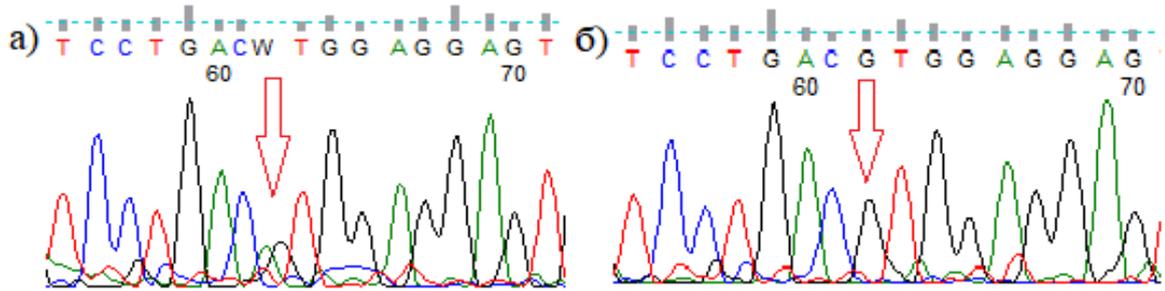
18.с.515T>C (p.Val172Ala) в гене NBN



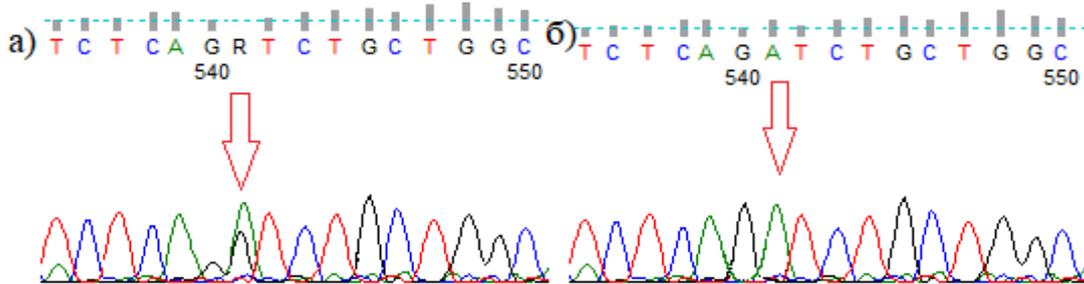
19.с.429G>A (p. Trp143Ter) в гене NBN



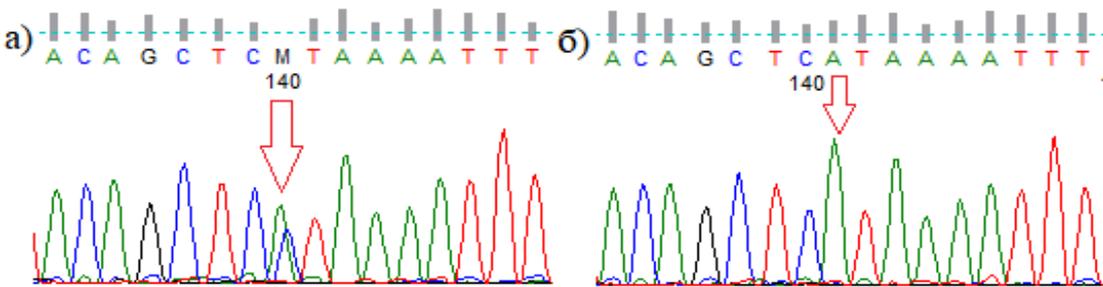
20. с.985G>A (p. Val329Met) в гене *MUTYH*



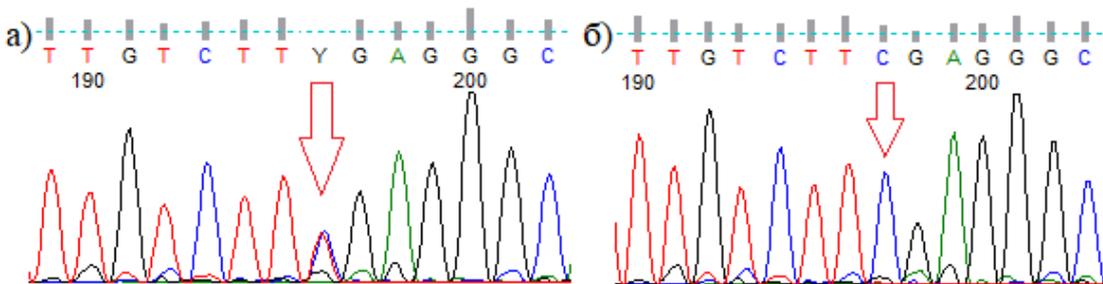
21. с.1187G>A (p.Gly396Asp) в гене *MUTYH*



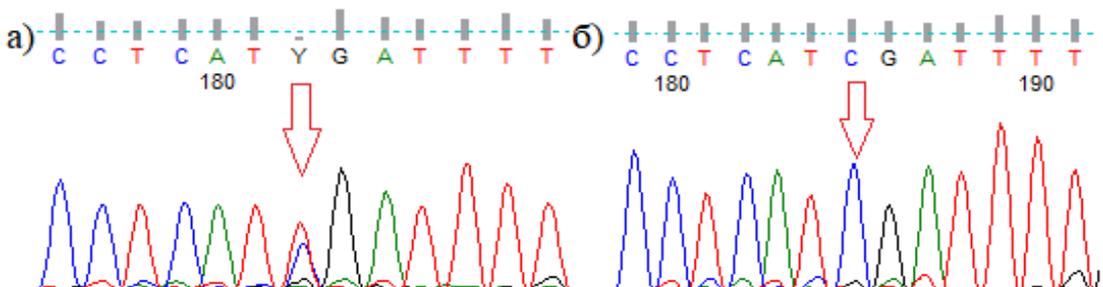
22. с.1299T>G (p. Tyr433Ter) в гене *MSH6*



23. с.1480G>A (p. Glu494Lys) в гене *MRE11*



24. с.1492G>A p.(Asp498Asn) в гене *MRE11*



Приложение Б

Частота редких аллелей полиморфных локусов генов-кандидатов РЯ, обнаруженных в результате таргетного секвенирования

Генетический вариант	РБ (больные спорадическим РЯ)	РБ (больные с клиническими признаками НРЯ)	РБ (контроль)	gnomAD	TOPMed	ExAC	1000 Genomes	ALFA
<i>BRCA1</i> c.3700_3704d elGTAAA	0,46	1,06	–	–	0,000004	–	–	–
<i>BRCA1</i> c.2199delG	–	1,06	–	–	–	–	–	–
<i>BRCA1</i> c.3143delG	–	1,06	–	0,000004	–	–	–	0,0001
<i>BRCA2</i> c.3751dupA	–	1,06	–	0,000004	–	–	–	–
<i>MUTYH</i> c.1187G>A	0,46	1,06	0,63	0,003	0,004	0,003	–	0,005
<i>NBN</i> c.429G>A	–	1,06	–	–	–	–	–	–
<i>BRCA2</i> c.5624A>C	–	1,06	–	0,00001	0,000004	0,00001	–	–
<i>MUTYH</i> c.985G>A	–	1,06	–	0,0001	0,00007	0,00013	0,0006	–

Продолжение приложения Б

<i>BRCA2</i> c.3968A>G	–	1,06	–	–	–	–	–	–
<i>PALB2</i> c.315G>C	–	1,06	–	0,00001	0,00002	–	–	0,00014
<i>ATM</i> c.2149C>T	–	1,06	–	0,00007	0,00004	0,00005	–	–
<i>NBN</i> c.1912T>C	–	1,06	–	0,00001	0,00006	0,00005	–	–
<i>MRE11</i> c.1492G>A	–	1,06	–	0,00001	–	0,00002	0,0002	–
<i>MRE11</i> c.1480G>A	–	1,06	–	0,0005	0,00024	–	0,0002	–
<i>MUTYH</i> c.985G>A	–	1,06	–	0,0001	–	0,0001	0,0006	0,0001
<i>BARD1</i> c.1967_1969dupGTC	–	1,06	–	–	–	–	–	–

Приложение В

Частота встречаемости редких аллелей 10 генетических вариантов потенциальных генов-кандидатов РЯ

Генетический вариант	РБ (больные спорадическим РЯ)	РБ (больные с клиническими признаками НРЯ)	РБ (контроль)	gnomAD	TOPMed	ExAC	1000 Genomes	ALFA
rs117230607/ <i>ATP23</i>	1,16	3,03	1,37	0,0053		0,0053	0,0022	0,007
rs144292904/ <i>ADPRH</i>	–	3,03	1,37	0,003	0,002		0,0006	0,004
rs147006695/ <i>PON3</i>	1,16	–	–	0,002	0,002		0,001	0,002
rs17850034/ <i>USP45</i>	2,33	–	0,68	0,008	0,01	0,0084	0,005	0,013
rs17879749/ <i>MMP1</i>	1,16	12,12	8,2	0,011	0,01	0,0116	0,0052	0,005
rs36007488/ <i>TBRG4</i>	3,5	–	2,05	0,007	0,006	0,008	0,0031	0,008
rs61757718/ <i>PIK3C2G</i>	6,9	3,03	4,1	0,011	0,011	0,012	0,0064	0,016
rs763243801/ <i>RGS20</i>	–	–	0,68	0,0002	0,0002	0,0001		0,0006
rs73052628/ <i>NRIP2</i>	–	–	–	0,0005	0,001	0,0004	0,0006	0,001
rs201755391/ <i>PARP14</i>	–	–	–	0,0008	0,0002	0,0011		0,0004

Приложение Г

Оценка функциональной значимости миссенс вариантов неясного клинического значения

Ген (вариант)	SIFT	Poly Phen2	Mut Assessor	Mut Taster	FATHMM	CADD	SpliceAlpred	dbscSNV
c.1912T>C (p.Ser638Pro) <i>NBN</i>	0,3 B	0 B	2,64 Medium	–	T	0,78	17	2,12
c.515T>C (p.Val172Ala) <i>NBN</i>	0 D	–	2,8 Medium	0,99 D	–	25,8	–	–
c.1492G>A (p.Asp498Asn) <i>MRE11</i>	0,01 D	0,844 D	2,64 Medium	1 D	T	26,8	–	–
c.2149C>T (p.Arg717Trp) <i>ATM</i>	0 D	0,91 D	2,56 Medium	0,87 D	T	24,8	–	–
c.315G>C (p.Glu105Asp) <i>PALB2</i>	0,04 D	0,548 pD	2,6 Medium	1 N	T	3,8	–	–
c.985G>A p.(Val329Met) <i>MUTYH</i>	0,04 D	0,027 B	2,03 Medium	1 N	T	9,08	–	–
c.5624A>C p.(Lys1875Thr) <i>BRCA2</i>	0,01 D	0,6 pD	2,57 Medium	1 N	T	16,46	–	–
c.1480G>A p.(Glu494Lys) <i>MRE11</i>	0,03 D	0,589 pD	2,64 Medium	1 D	T	24	–	–
c.3709G>C p.(Ala1237Pro) <i>BRCA2</i>	0,01 D	0,682 pD	2,74 Medium	0,87 N	–	22,5	–	–
c.1486G>C p.(Asp496His) <i>PALB2</i>	0,03 D	0,787 pD	2,1 Medium	–	–	19,68	–	–
c.3968A>G p.(Lys1323Arg) <i>BRCA2</i>	0,16 T	0,01 B	1,61 Low	–	–	2,4	–	–
c.470T>C p.(Ile157Thr) <i>CHEK2</i>	0 D	0,034 B	0,85 Low	1 D	D	–	–	–

Примечания: Sift: D-disease causing, T- tolerated; PolyPhen2: D-Probably damaging; pD-possibly damaging, B- benign;

MutTaster: D-disease causing, N- neutral; FATHMM: T- tolerated, D- damaging; CADD: <30 - likely benign