

На правах рукописи

ВАЛОВА ЯНА ВАЛЕРЬЕВНА

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

1.5.7. Генетика (биологические науки)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Уфа – 2023

Работа выполнена на кафедре генетики и фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет», в соответствии с приказом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации от 08.07.2022 № 644 ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий», совместно с лабораторией молекулярной генетики человека Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения ФГБНУ Уфимского федерального исследовательского центра РАН

Научный руководитель: Заведующая кафедрой генетики и фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий»
Хуснутдинова Эльза Камилевна
доктор биологических наук,
профессор, член-корр. РАО

Официальные оппоненты:

Любченко Людмила Николаевна
Доктор медицинских наук,
профессор

Заведующая отделом молекулярной генетики и клеточных технологий Федерального государственного бюджетного учреждения «Национального медицинского исследовательского центра Радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Глотов Андрей Сергеевич
Доктор биологических наук

Руководитель отдела геномной медицины Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта»

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», г. Москва

Защита диссертации состоится «27» сентября 2023г. в «13.00» часов на заседании диссертационного совета 24.1.218.01 при Уфимском федеральном исследовательском центре Российской академии наук по адресу: 450054, г. Уфа, пр. Октября, 71, конференц-зал ИБГ УФИЦ РАН (ком. № 406). С диссертацией можно ознакомиться на сайтах ВАК РФ (<https://vak.minobrnauki.gov.ru>) и УФИЦ РАН (<http://ufaras.ru>).

Автореферат разослан «__» _____ 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
24.1.218.01 доктор биологических наук, доцент

Гульназ Фаритовна Корытина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Среди опухолей женской репродуктивной системы рак яичников (РЯ) является одним из самых агрессивных и тяжело поддающихся лечению онкологических заболеваний. 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).

РЯ является многофакторным заболеванием, в развитии которого важнейшая роль отводится генетическим факторам. Высокий риск развития данной патологии в первую очередь связан с мутациями в генах-супрессорах опухолевого роста *BRCA1* и *BRCA2* (Любченко, 2009; Батенева и др., 2013; Прокофьева, 2013; Бермишева и др., 2018). 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). В связи с необходимостью разработки персонализированных подходов лечения онкологических заболеваний, в частности РЯ, все большую актуальность приобретает более глубокое понимание механизмов и наследственной основы канцерогенеза яичников. На основании вышеизложенного были сформулированы цель и задачи исследования.

Цель:

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

Задачи:

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 клиничко-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.

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 анализ ассоциаций 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.

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 быть использованы 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.

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.

б. Построены предсказательные модели риска развития РЯ: для женщин различной этнической принадлежности (AUC=0,69) и для женщин русской этнической принадлежности (AUC=0,66).

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), «Международный конгресс по репродуктивной медицине» (г. Москва, 2019, 2022, 2023), «Всероссийская конференция по молекулярной онкологии» (г. Москва, 2019, 2021, 2022), «IX Международная школа молодых ученых по молекулярной генетике «Геномика 21 века – от исследования геномов к генетическим технологиям» (г. Москва, 2021), XIII International Multiconference «Bioinformatics of Genome Regulation and Structure/Systems Biology» (г. Новосибирск 2022), Всероссийская научная конференция с международным участием «Геномика и биотехнология для медицины и сельского хозяйства» (г. Уфа, 2022).

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%.

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

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертационная работа «Исследование молекулярно-генетических основ наследственного и sporадического рака яичников» соответствует формуле специальности 1.5.7 Генетика. В работе проведено исследование генетических основ риска развития sporадических 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 таблицу и 4 приложения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материал исследования. Материалом для проведения таргетного NGS секвенирования послужили образцы ДНК 48 пациенток с установленным диагнозом «рак яичников» с подозрением на наследственный характер заболевания. Скрининг отобранных по результатам таргетного секвенирования вариантов был проведен на расширенной выборке, включавшей 219 образцов ДНК больных спорадическим РЯ (СРЯ), 94 образца ДНК больных с клиническими признаками НРЯ (НРЯ) и 317 образцов ДНК здоровых женщин различного этнического происхождения. Для проведения ассоциативных исследований из выборки больных РЯ были исключены образцы ДНК пациенток с неэпителиальным РЯ.

Методы исследования. Выделение ДНК из периферической крови проводили стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции по Мэтью (Mathew, 1984). В работе применялись следующие молекулярно-генетические методы: таргетное NGS-секвенирование на платформе Illumina MiSeq System (США), секвенирование по Сэнгеру на приборе Seq Studio Genetic Analyzer (Applied Biosystems), полимеразная цепная реакция (ПЦР); анализ полиморфизма длин рестриционных фрагментов (ПДРФ); аллель-специфичная ПЦР; электрофорез; анализ кривых плавления с высокой разрешающей способностью (HRM), высокопроизводительная ПЦР в режиме реального времени по технологии Fluidigm BioMark HD.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ: MS Office Excel 2016 (Microsoft); попарное сравнение частот аллелей и генотипов в группах больных и контроля – с помощью критерия (p) для таблиц сопряженности 2x2 с поправкой Йэтса на непрерывность; анализ силы ассоциаций – с помощью значений показателя соотношения шансов Odds Ratio (OR) (Schlesselman et al., 1982). Оценку общей и безрецидивной выживаемости проводили методом Каплана-Мейера в онлайн сервисе Kaplan Meier and Log Rank (statskingdom.com). Построение предсказательных моделей риска развития РЯ проводили в редакторе исходного кода visual studio code v.1.77.00, команды прописывали на языке программирования Python v.3.9. Обнаруженные в результате таргетного секвенирования изменения аннотировались с использованием сервисов Illumina Variant Interpreter, ANNOVAR и SNPeff. Анализ

функциональной значимости выявленных в ходе исследования изменений осуществляли с использованием пакета аналитических программ (SIFT, PolyPhen-2, FATHMM, Mutation Assessor, MutTaster, CADD). Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

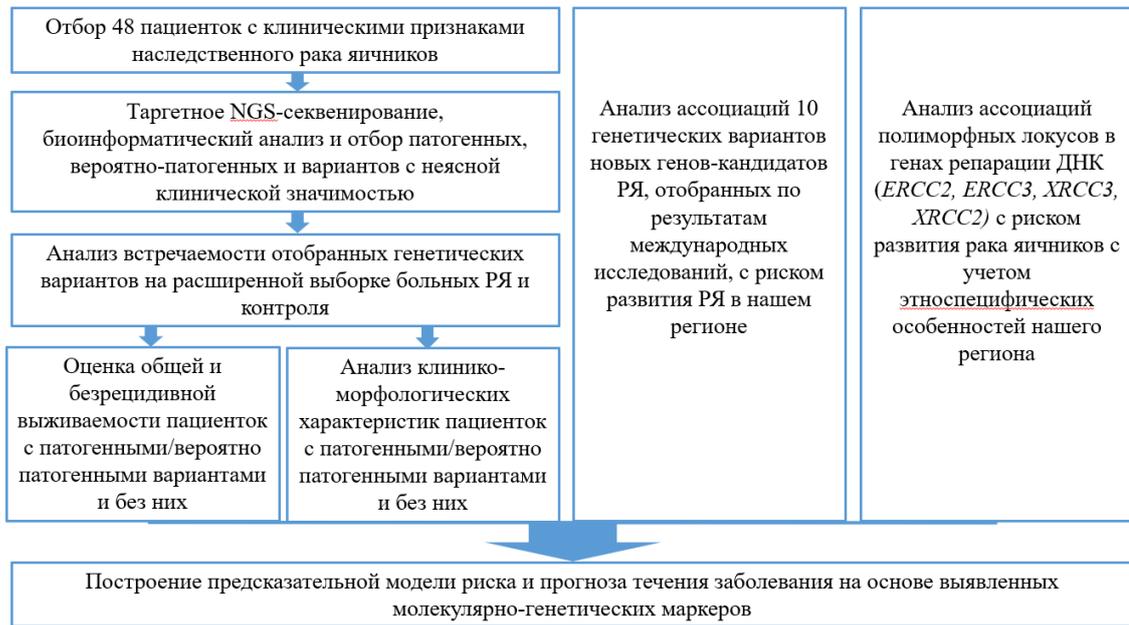


Рисунок 1 – Схема дизайна исследования

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Таргетное секвенирование образцов ДНК больных с клиническими признаками наследственного рака яичников

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). Спектр выявленных изменений включал 11 различных вариантов, приводящих к потере функции белка (рисунок 2).

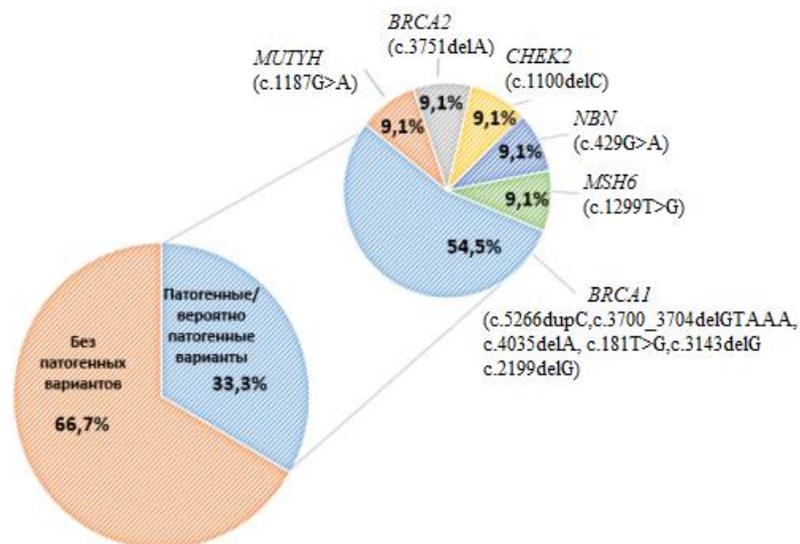


Рисунок 2 – Распределение пациенток с патогенными/ вероятно патогенными вариантами и без них и спектр этих вариантов в генах-кандидатах РЯ

Наиболее часто мутировавший ген был *BRCA1*, в котором обнаружены: мутация c.5266dupC в 7 изученных образцах, а также варианты нуклеотидной последовательности c.3143delG, c.4035delA, c.2199delG, c.3700_3704delGTAAA, c.181T>G в единичном случае каждый. В гене *CHEK2* нами идентифицирована мутация c.1100delC. В одном случае выявлен миссенс вариант в гене *MUTYH* (c.1187G>A). В гене *BRCA2* мы обнаружили один патогенный вариант (c.3751dupA). В гене *NBN* обнаружен новый нонсенс вариант (c.429G>A). Кроме того, был выявлен вариант нуклеотидной последовательности, приводящий к образованию преждевременного стоп-кодона в гене *MSH6* (c.1299T>G).

Варианты неопределенного значения

Кроме того, нами были идентифицированы 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 1).

Таблица 1 – Варианты нуклеотидной последовательности с неясной клинической значимостью, обнаруженные в результате таргетного секвенирования образцов ДНК больных с клиническими признаками НРЯ из РБ

Ген	Локус	Мутации в других генах	Базы данных		
			dbSNP	ClinVar	gnomAD, %
<i>ATM</i>	c. 2149C>T p.(Arg717Trp)	<i>BRCA1</i> c.3700 3704delGTAAA	rs14751538	неясная клиническая значимость	0,00003
<i>BRCA2</i>	c.5624A>C p.(Lys1875Thr)	<i>MSH6</i> c.1299T>G	rs587782583	неясная клиническая значимость	0,00001
<i>PALB2</i>	c.315G>C p.(Glu105Asp)	–	rs515726108	неясная клиническая значимость	0,003
<i>NBN</i>	c.1912T>C p.(Ser638Pro)	–	rs199657566	неясная клиническая значимость	0,003
<i>MRE11</i>	c.1492G>A p.(Asp498Asn)	–	rs564511708	неясная клиническая значимость	0,001
<i>BRCA2</i>	c.3709G>C p.(Ala1237Pro)	–	rs398122770	неясная клиническая значимость	0,00001
<i>MRE11</i>	c.1480G>A p.(Glu494Lys)	–	rs104895016	противоречивые данные о патогенности	0,06
<i>MUTYH</i>	c.985G>A p.(Val329Met)	<i>MSH6</i> c.1299T>G	rs147718169	противоречивые данные о патогенности	0,003
<i>CHEK2</i>	c.470T>C p.(Ile157Thr)	–	rs17879961	противоречивые данные о патогенности	0,01
<i>BRCA2</i>	c.3968A>G p.(Lys1323Arg)	–	–	новый	–
<i>PALB2</i>	c.1486G>C p.(Asp496His)	–	–	новый	–

<i>NBN</i>	c.515T>C p.(Val172Ala)	–	–	новый	–
<i>BARD1</i>	c.1967_1969dup GTC p.(Gly656_Pro6 57insArg)	–	–	новый	–

У носительниц 10 миссенс вариантов не было обнаружено иных патогенных/вероятно патогенных изменений нуклеотидной последовательности в изученных генах. Тогда как у пациентки с вариантами c.985G>A/*MUTYH* и c.5624A>C/*BRCA2*, а также у носительницы варианта c.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* (c.1912T>C), *MRE11* (c.1492G>A) и *BRCA2* (c.3968A>G), что свидетельствует о сложности определения причинного варианта среди редких миссенс вариантов ряда генов репарации ДНК, обнаруженных у одного и того же пациента.

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

Скрининг вариантов c.3143delG, c.3700_3704delGTAAA и c.2199delG в гене BRCA1

Герминальный вариант c.3143delG, расположенный в 9 экзоне гена *BRCA1*, вызывает трансляционный сдвиг рамки считывания, в результате чего формируется альтернативный стоп-кодон (p. G1048Vfs*14). В результате скрининга нами не было выявлено других носительниц варианта c.3143delG в гене *BRCA1* кроме носительницы, обнаруженной в ходе таргетного секвенирования. По этнической принадлежности пациентка с мутацией c.3143delG русская. У женщины с данным изменением установлен диагноз серозный РЯ высокой степени злокачественности. Манифестация заболевания произошла в постменопаузальный период. Женщина также имеет сопутствующий диагноз рак левой молочной железы.

Вариант c.3700_3704delGTAAA (p.Val1234Glnfs) в гене *BRCA1* представляет собой мутацию сдвига рамки считывания, которая по прогнозам, вызывает потерю нормальной функции белка из-за синтеза укороченного полипептида или нонсенс-опосредованного распада мРНК. В результате проведенного нами исследования были обнаружены две носительницы данной мутации – в группе больных СРЯ 1/219 (0,46%) и в группе с НРЯ, выявленной в ходе таргетного секвенирования 1/94 (1,06%). По этнической принадлежности обе женщины русские. Согласно клиническим данным у

обеих пациенток диагностирован серьезный РЯ высокой степени злокачественности. На момент манифестации заболевания у обеих пациенток репродуктивная функция была сохранена. У одной пациентки с изменением с.3700_3704delGТААА установленотягощенный семейный анамнез.

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. 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.5624А>С, с.3751dupА и с.3968А>G в гене BRCA2

Мутация с.3751dupА, расположенная в 11 экзоне гена *BRCA2*, приводит к сдвигу рамки считывания и преждевременной остановке трансляции, в результате чего синтезируется укороченный и предположительно нефункциональный белок. В результате скрининга нами не было выявлено других носительниц варианта с.3751dupА в гене *BRCA2* кроме носительницы, обнаруженной в ходе таргетного секвенирования. По этнической принадлежности носительница варианта татарка. Манифестация заболевания произошла в период постменопаузы. По данным анамнеза женщина имеет родственников с онкологическими заболеваниями.

Замена аденина на цитозин в 5624 положении кДНК на аминокислотном уровне приводит к замене лизина на треонин в позиции 1875 (p.Lys1875Thr). Алгоритмы, разработанные для прогнозирования влияния миссенс изменений на структуру и функцию белка, 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. В результате рестрикционного анализа нами не было выявлено других носительниц варианта с.5624А>С в гене *BRCA2* кроме носительницы, обнаруженной в ходе таргетного секвенирования. У данной пациентки установлен диагноз серьезная аденокарцинома высокой степени злокачественности, а также сопутствующий диагноз рак тела матки. Манифестация заболевания произошла в постменопаузальный период. Кроме того, у женщины установленотягощенный семейный анамнез по РЯ. У данной пациентки также была обнаружена мутация с.1299Т>G в гене *MSH6*, приводящая к преждевременной остановке трансляции.

Миссенс вариант с.3968A>G/*BRCA2* 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. 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 и контроля 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 носительницей 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. Три из шести алгоритмов, предсказывающих влияние миссенс-вариантов на структуру и функцию белка, прогнозируют вероятно патогенный характер данного изменения. Скрининг варианта с.1492G>A на расширенной выборке больных РЯ и контроля не выявил дополнительных носительниц данного изменения. Носительница варианта с.1492G>A, обнаруженная в ходе таргетного секвенирования, по этнической принадлежности татарка. Манифестация заболевания произошла 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 экзоне гена *MRE11*, 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). Скрининг варианта с.1480G>A на расширенной выборке больных РЯ и контроля не выявил дополнительных носительниц данного изменения. Пациентка, у которой в результате таргетного секвенирования обнаружен описываемый вариант, является представительницей татарской этнической группы. 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 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). В результате проведенного нами исследования были обнаружены четыре носительницы данного варианта – в группе больных СРЯ 1/219 (0,45%), в группе с 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>A 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 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 изменения русская. Согласно клиническим данным, у пациентки диагностирована серозная цистаденокарцинома со множественными метастазами. Женщина также является носительницей патогенной мутации с.3700_3704delGTAAA в гене *BRCA1*.

Скрининг варианта с.315G>C в гене PALB2

Миссенс вариант с.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. 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 в период постменопаузы диагностирован эндометриоидный РЯ.

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. В результате скрининга нами не было выявлено других носительниц варианта с.429G>A в гене *NBN* кроме носительницы, обнаруженной в ходе таргетного секвенирования. Согласно клиническим данным, у пациентки диагностирована серозная аденокарцинома высокой степени злокачественности на III стадии опухолевого процесса.

Миссенс вариант с.1912T>C (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 внутривнутрипеченочной холангиокарциноме. Было высказано предположение, что данное изменение может нарушать связывание

MRE11 с NBN и таким образом изменять функцию комплекса MRN (Wang et al., 2013). В результате скрининга нами не было выявлено других носительниц варианта с.1912T>C/NBN кроме носительницы, обнаруженной в ходе таргетного секвенирования. По этнической принадлежности носительница описываемого изменения татарка. Манифестация заболевания произошла в период постменопаузы. Женщина имеет сопутствующий диагноз рак Педжета левой молочной железы. Наряду с описанным вариантом пациентка также является носительницей 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 р. (Gly656_Pro657insArg). В результате скрининга нами не было выявлено других носительниц варианта с.1967_1969dupGTC в гене *BARD1* кроме носительницы, обнаруженной в ходе таргетного секвенирования. Носительница описываемого изменения по этнической принадлежности является татаркой. Согласно клиническим данным, у женщины в период пременопаузы диагностирована низкодифференцированная цистаденокарцинома яичника.

Клинико-морфологическая картина наследственного рака яичников

На следующем этапе нами проведен анализ клинико-морфологических характеристик, а также показателей выживаемости у пациенток с идентифицированными патогенными вариантами и без них. 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 2).

Таблица 2 – 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±12,40 (29,88-80,25)	2	12,50±8,27 (1,55-38,35)	0,03
без герминальных PVs\LPVs	8	25,00±7,65 (11,46-43,40)	2	6,25±4,28 (0,77-20,81)	

В настоящем исследовании низкодифференцированная серозная аденокарцинома была диагностирована у 30/48 ($62,50 \pm 6,99\%$) пациенток. При этом, данный

гистологический тип достоверно чаще диагностировали у пациенток с герминальными мутациями по сравнению с женщинами без патогенных/вероятно патогенных вариантов – $87,50 \pm 8,27$ vs $50,00 \pm 8,84$, $p=0,022$ (рисунок 3).

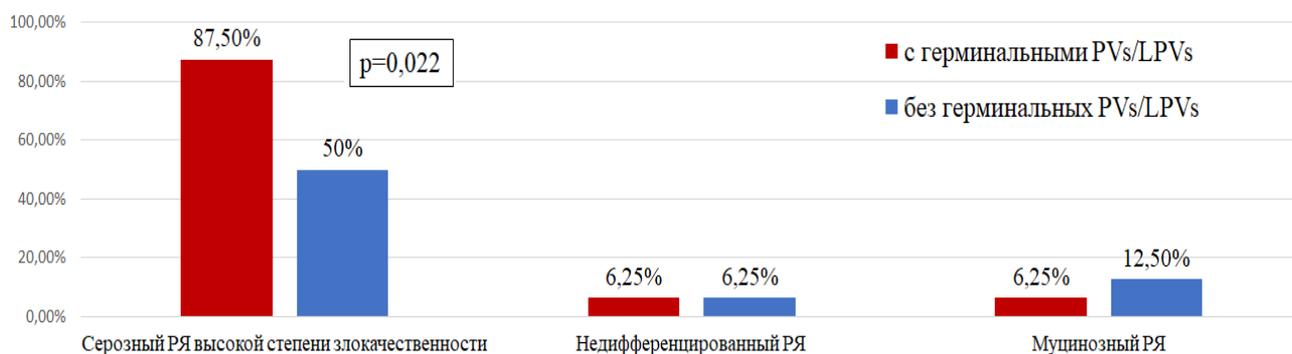


Рисунок 3 – Распределение исследуемой группы пациенток по гистологическим типам

При сравнении таких характеристик как стадия заболевания, степень дифференцировки опухоли, возраст манифестации заболевания, наличие полинеоплазий и характер метастазирования статистически значимых различий между группами не выявлено ($p>0,05$).

Анализ показателей выживаемости у пациенток с идентифицированными патогенными вариантами

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 ($p=0,12$). Общая выживаемость пациенток с герминальными мутациями в генах *BRCA1/2* и в генах *MSH6*, *NBN* и *MUTYH* была незначительно выше, чем в группе женщин без клинически значимых вариантов, однако различия также оказались статистически не значимы ($p=0,49$) (Таблица 3).

Таблица 3 – Общая и безрецидивная выживаемость исследованных пациенток

Пациентки с раком яичников	Безрецидивная выживаемость, мес., N=48	Общая выживаемость, мес., N=48
с герминальными PVs/LPVs	$57,2 \pm 13,8$	$124 \pm 20,1$
с герминальными PVs/LPVs в генах <i>BRCA1/2</i>	$56,9 \pm 16,1$	$121 \pm 24,4$
с герминальными PVs/LPVs в генах <i>MSH6</i> , <i>NBN</i> и <i>MUTYH</i>	$73,0 \pm 26,5$	$141 \pm 0,0$
без герминальных PVs/LPVs	$58,9 \pm 6,4$	$79,1 \pm 18,07$

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 герминальными PVs/LPVs в изученных генах и без них ($p>0,05$). 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 *MSH6*, *NBN* и *MUTYH* ($141,0\pm 0,0$ 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). Наиболее высокие показатели безрецидивной выживаемости у женщин с рецидивным РЯ отмечены у носительниц герминальных PVs и LPVs в генах *MSH6*, *NBN* и *MUTYH* ($61,5\pm 34,5$ месяцев) (Таблица 4).

Таблица 4 – Общая и безрецидивная выживаемость пациенток с рецидивным раком яичников

Пациентки с рецидивным раком яичников	Безрецидивная выживаемость, мес., N=26	Общая выживаемость, мес., N=26
с герминальными PVs/LPVs	42,4±11,3	116,4±21,4
с герминальными PVs/LPVs в генах <i>BRCA1/2</i>	38,9±12,3	112,7±25,4
с герминальными PVs/LPVs в генах <i>MSH6</i> , <i>NBN</i> и <i>MUTYH</i>	61,5±34,5	141±0,0
Без герминальных PVs/LPVs	28,4±6,1	80,2±19,4

Анализ ассоциации 10 вариантов новых генов-кандидатов рака яичников 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*). С использованием технологии Fluidigm BioMark™ HD нами было проведено генотипирование данных генетических вариантов в группе больных спорадическим РЯ (СРЯ) ($n=86$), пациенток с признаками НРЯ (НРЯ) ($n=33$) и здоровых женщин ($n=146$) русской этнической принадлежности из Республики Башкортостан.

В результате исследования редкие аллели вариантов rs73052628/*NRIP2* и rs201755391/*PARP14* не были выявлены в группах больных СРЯ, НРЯ и здоровых индивидов нашего региона. Минорные аллели 3-х полиморфных локусов потенциальных генов-кандидатов РЯ (*ATP23*, *MMP1*, *PIK3C2G*) встречались с частотой (1,16%, 1,16%, 6,9%, соответственно) среди пациенток со СРЯ, с частотой

(3,03%,12,1%,3,03%, соответственно) среди пациенток с НРЯ и с частотой (1,37%,8,2%,4,1%, соответственно) в контрольной группе. Минорные аллели вариантов rs17850034/*USP*, rs36007488/*TBRG4* обнаружены с частотой (2,33%,3,5%, соответственно) среди пациенток со СРЯ и с частотой (0,68%, 2,05%, соответственно) в контрольной группе. Минорный аллель варианта rs144292904/*ADPRH* встречался с частотой 3,03% среди больных с НРЯ и с частотой 1,37% в группе контроля. Минорный аллель варианта rs147006695/*PON3* встречался лишь в группе СРЯ с частотой 1,17%. Тогда как вариант rs763243801/*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 вариантов потенциальных генов-кандидатов РЯ с риском развития заболевания не выявлено (Таблица 5).

Таблица 5 – Распределение частот встречаемости минорных аллелей 10 вариантов потенциальных генов-кандидатов РЯ среди пациенток с РЯ и здоровых женщин из РБ

Ген	Локус	Частота минорного аллеля (%)		p	Частота минорного аллеля (%)		p
		Больные СРЯ	Контроль		Больные НРЯ	Контроль	
<i>ATP23</i>	c.686C>G (p.Ala229Gly)	1,16	1,37	0,9	3,03	1,37	0,9
<i>ADPRH</i>	c.798G>A (p.Trp266Ter)	–	1,37	–	3,03	1,37	0,9
<i>PON3</i>	c.94C>T (p.Arg32Ter)	1,16	–	–	–	–	–
<i>USP45</i>	c.847T>C (p.Trp283Arg)	2,33	0,68	0,6	–	0,68	–
<i>MMP1</i>	c.573delA (p.Ile191fs)	1,16	8,2	0,037	12,12	8,2	0,9
<i>TBRG4</i>	c.-1delG (p.Met12fs)	3,5	2,05	0,5	–	2,05	–
<i>PIK3C2G</i>	c.4460G>C (p.Ter1487Ser)	6,9	4,1	0,29	3,03	4,1	0,9
<i>RGS20</i>	c.468delC (p.Arg157fs)	–	0,68	–	–	0,68	–
<i>NRIP2</i>	c.226C>T (p.Arg76Ter)	–	–	–	–	–	–
<i>PARP14</i>	c.321+1G>A	–	–	–	–	–	–

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

Нами проведен анализ ассоциаций 5 полиморфных локусов генов системы репарации ДНК rs13181/*ERCC2*, rs238406/*ERCC2*, rs4150407/*ERCC3*, rs861539/*XRCC3* и rs3218536/*XRCC2* с риском развития эпителиального РЯ у женщин из Республики Башкортостан.

В результате сравнительного анализа распределения частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs13181 гена *ERCC2* было установлено, что минорный аллель rs13181*G достоверно чаще встречался среди пациенток с признаками НРЯ по сравнению с контрольной группой (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). При разделении выборки по этнической принадлежности ассоциация аллеля rs13181*G с повышенным риском развития РЯ сохранилась у женщин русской этнической принадлежности, OR=1,55; 95%, CI (1,06-2,27); p=0,032 (рисунок 4).

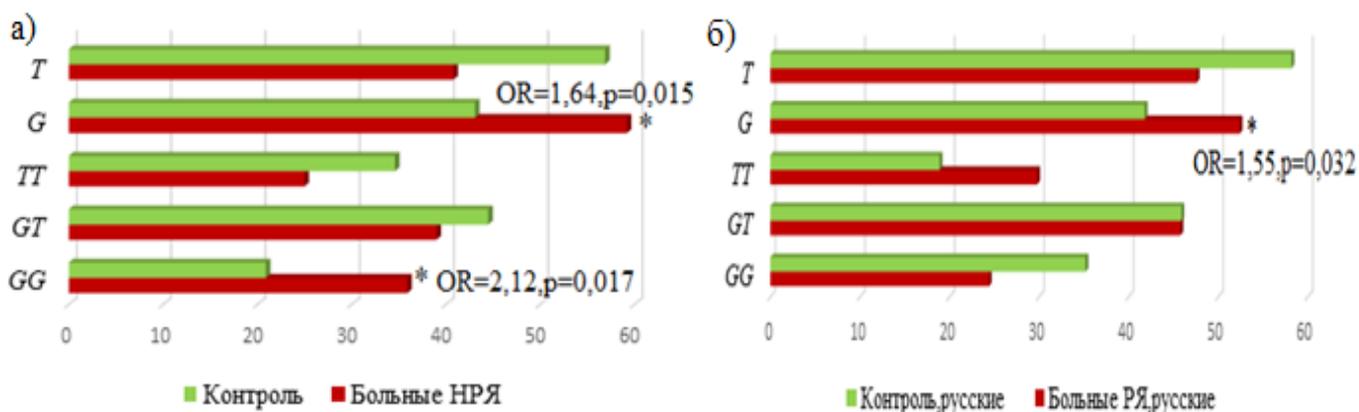


Рисунок 4 – Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs13181 гена *ERCC2* а) в группе больных НРЯ и контроля б) среди больных РЯ и здоровых женщин русской этнической принадлежности

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), 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) (рисунок 5).

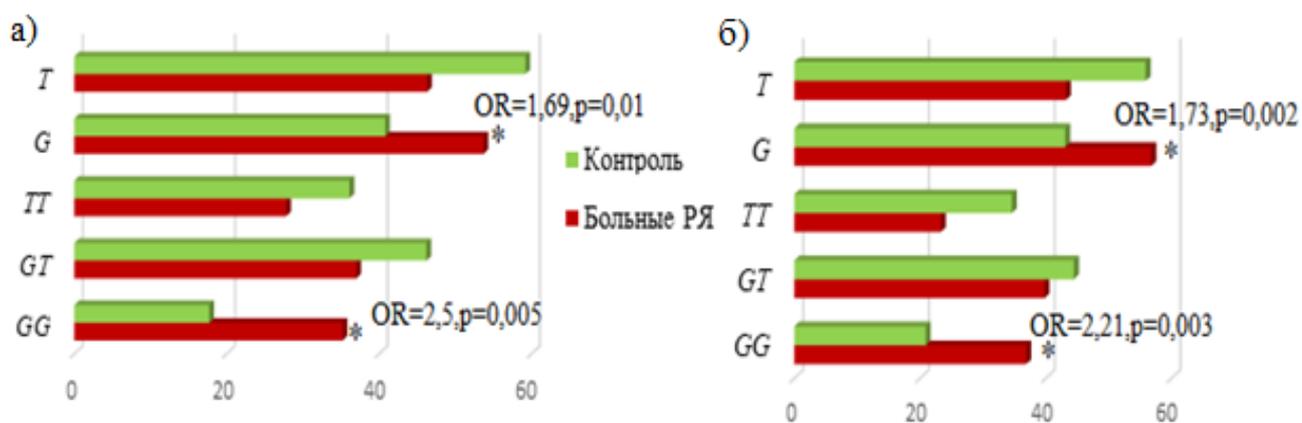


Рисунок 5 – Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs13181 гена *ERCC2*: а) среди больных РЯ и здоровых женщин в постменопаузе; б) среди пациенток с заболеванием, диагностированным на поздних стадиях (III-IV), и женщин из контрольной группы

Сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs238406 гена *ERCC2* показал, что генотип rs238406**GT* достоверно чаще встречался в группе больных СРЯ по сравнению с группой контроля (OR=1,62; 95% CI: (1,1-2,38); $p=0,017$) (рисунок 6). Однако при разделении исследуемой выборки по этнической принадлежности, менопаузальному статусу и тяжести заболевания статистически значимых различий не обнаружено ($p>0,05$).

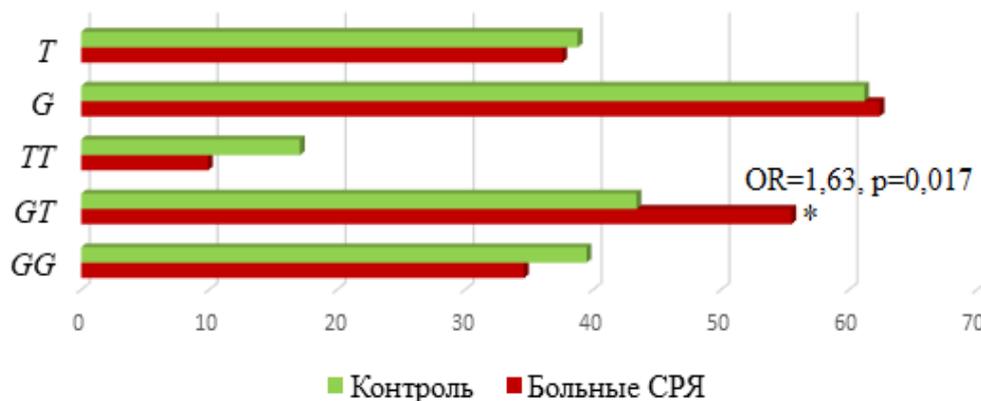


Рисунок 6 – Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs238406 гена *ERCC2* в группе больных СРЯ и женщин из контрольной группы

В результате сравнительного анализа распределения частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs4150407 гена *ERCC3* было установлено, что генотип rs4150407**GG* является маркером пониженного риска развития РЯ для женщин русской этнической принадлежности (OR=0,47; 95% CI:(0,25-0,91), $p=0,034$) (рисунок 7). При разделении испытуемых с учетом менопаузального статуса, а также по тяжести заболевания не было выявлено различий между исследуемыми группами ($p>0,05$).

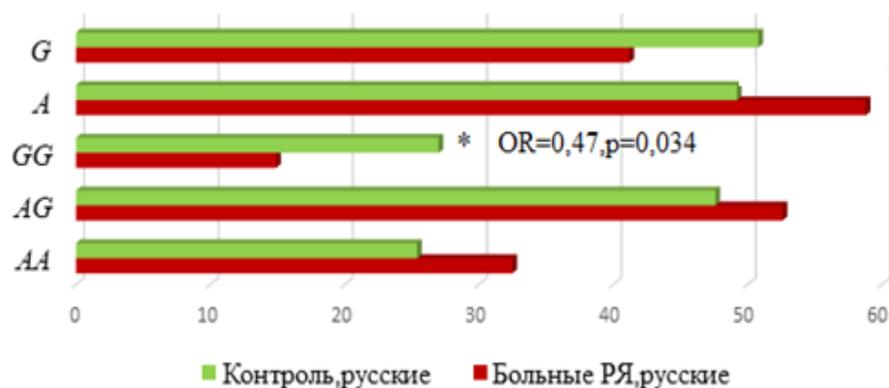


Рисунок 7 – Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs4150407 гена *ERCC3* среди больных РЯ и здоровых женщин русской этнической принадлежности

В результате сравнительного анализа распределения частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs861539 гена *XRCC3* была выявлена 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). Аллель rs861539*С также достоверно чаще встречался в группе пациенток с начальными стадиями заболевания, чем в контрольной группе (OR=1,57; 95% CI:(1,14-2,16), p=0,01) (рисунок 8).

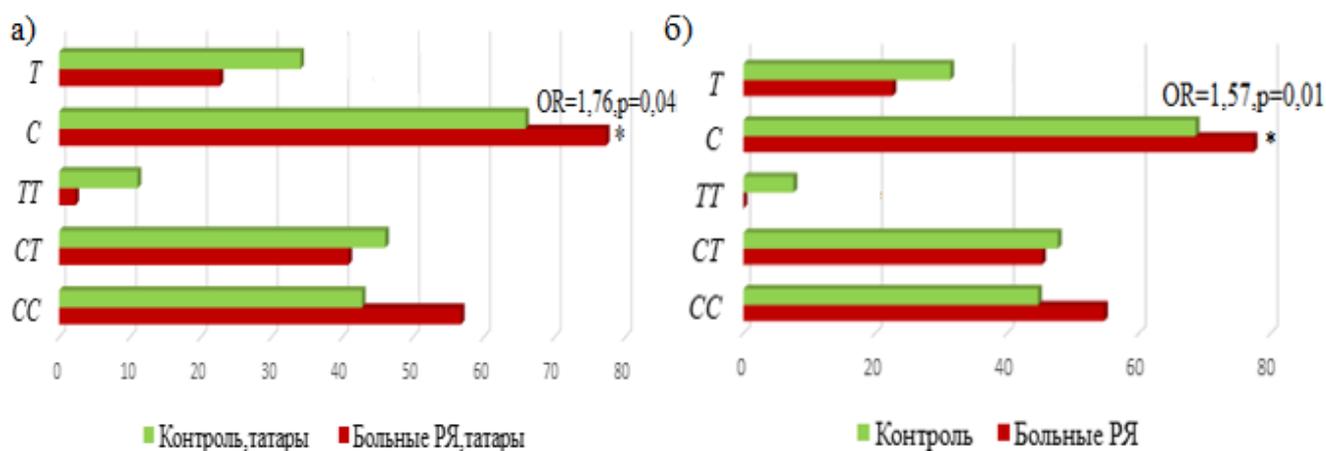


Рисунок 8 – Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs861539 гена *XRCC3*: а) среди больных РЯ и здоровых женщин татарской этнической принадлежности; б) среди пациенток с заболеванием, диагностированным на ранних стадиях (I-II), и женщин из контрольной группы

Сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs3218536 гена *XRCC2* не выявил достоверных различий между больными РЯ и контрольной группой, как при разделении по этнической принадлежности, менопаузальному статусу и тяжести заболевания, так и в общей выборке.

Построение предсказательных моделей на основе алгоритмов машинного обучения

На основе молекулярно-генетических маркеров, выявленных в ходе исследования с использованием алгоритмов машинного обучения, было разработано 2 модели, предсказывающих риск развития СРЯ. 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. Итоговая модель обладала следующими показателями: площадь под ROC кривой составила 0,69 (специфичность – 65%, чувствительность – 59%), что соответствует средней предсказательной способности данной модели. Предикторами, вносящими больший вклад в предсказательную способность модели оказались менопаузальный статус, этническая принадлежность, полиморфные локусы rs861539, rs3218536 и rs13181 (рисунок 9).

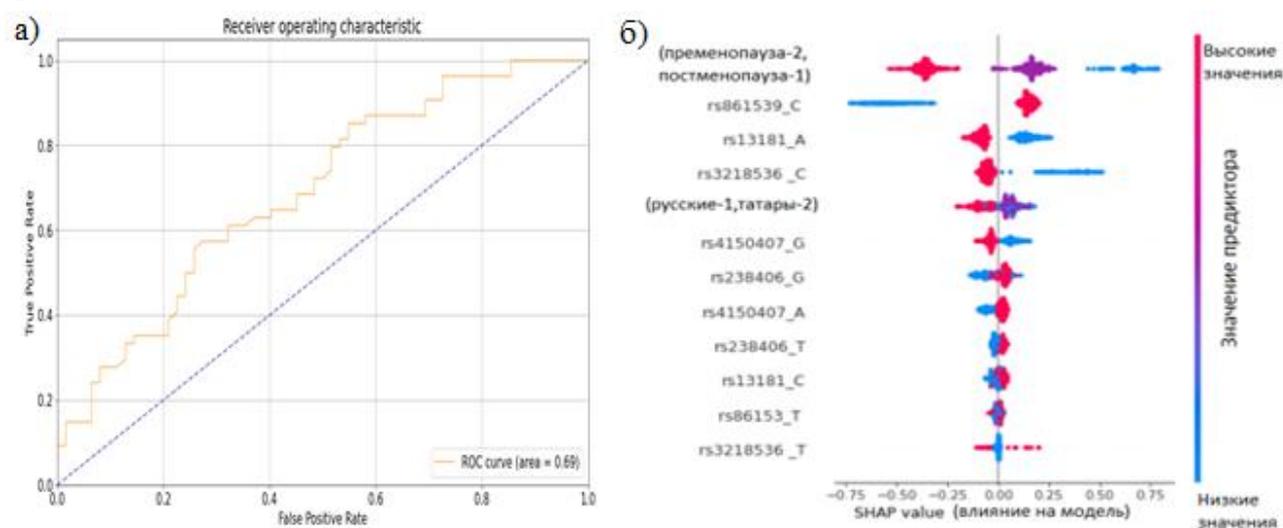


Рисунок 9 – а) ROC-кривая, характеризующая зависимость риска развития СРЯ в зависимости от менопаузального статуса, этнической принадлежности и молекулярно-генетических особенностей б) график, отображающий вклад каждого из предикторов в предсказательную способность модели

Предикторами для 2 модели послужили данные генотипирования генетических 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*. Полученная модель обладала следующими показателями: AUC= 0,66, чувствительность – 68%, специфичность – 61% и так же обладала средней предсказательной способностью. Предикторами, вносящими наибольший вклад в предсказательную способность модели в данном случае, оказались: полиморфные локусы генов системы репарации ДНК rs238406, rs13181, rs3218536 и rs4150407 (рисунок 10).

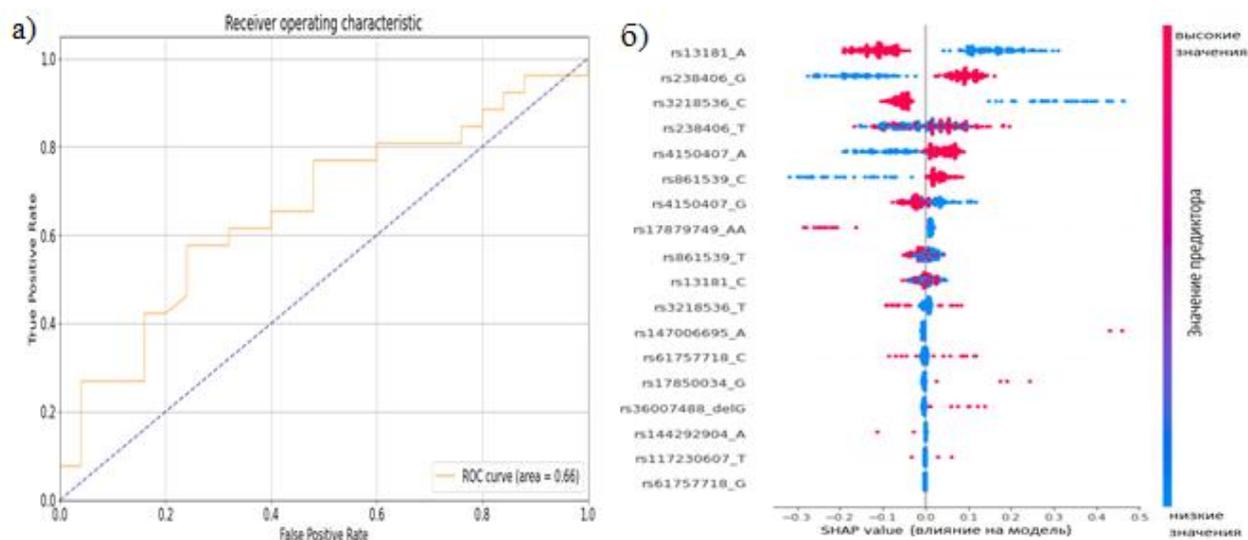


Рисунок 10 – а) ROC-кривая, характеризующая зависимость риска развития СРЯ у женщин русской этнической принадлежности в зависимости от молекулярно-генетических особенностей б) график, отображающий вклад каждого из предикторов в предсказательную способность модели

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 ОСНОВНЫХ ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Prokofyeva D. S., Mingazheva E. T., Valova Y. V., Sakaeva D. D., Faishanova R. R., Nurgalieva A. K., Khusnutdinova E. K. Targeted next-generation sequencing of 21 candidate genes in hereditary ovarian cancer patients from the Republic of Bashkortostan // Journal of Ovarian Research. – 2023. – Т. 16. – №. 1. – С. 1-8. (WoS, Scopus, ВАК, Q1, IF 5,3, глава 3).
2. Валова Я. В., Мингажева Э. Т., Прокофьева Д. С., Валиев Р. Р., Нургалиева А. Х., Хуснутдинова Э. К. Рак яичников в составе наследственных онкологических синдромов (обзор) // Научные результаты биомедицинских исследований. – 2021. – Т. 7. – №. 4. – С. 330-362. (ВАК, Scopus, Q4, IF 1,146, глава 1).
3. Валова Я. В., Мингажева Э. Т., Прокофьева Д.С., Андреева Е.А., Нургалиева А.Х., Екомасова Н.В., Хуснутдинова Э.К. Роль полиморфных вариантов гена эксцизионной репарации ERCC2 в патогенезе рака яичников у женщин разного этнического происхождения // Гены и клетки. – 2022. – Т. 17. – №. 2. – С. 56-59. (ВАК, Scopus, Q4, IF 0,304, глава 3).
4. Богданова Н. В., Валова Я. В., Прокофьева Д. С., Мингажева Э. Т., Хуснутдинова Э. К. Поиск ассоциаций вариантов с. 1492 G> A/MRE11 и с. 1480G> A/MRE11 с риском развития рака яичников у женщин из Республики Башкортостан // Медицина труда и экология человека. – 2021. – №. 2 (26). – С. 93-100. (ВАК, IF 0,289, глава 3).

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
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	Эксцизионная репарация нуклеотидов
BER	Эксцизионная репарация оснований