

Анализ мутаций гена *PIK3CA* у пациентов с клиническими проявлениями спектра PROS

Ю.С. Жарнакова¹, А.С. Мартыанов¹, Е.Н. Суспицын^{1,2}, А.С. Васильева², А.С. Абузова², Г.В. Кондратьев², А.М. Сулейманова³, Г.Б. Сагоян³, Р.В. Гарбузов^{4,5}, С.Н. Алексахина¹, Е.Н. Имянитов^{1,2}

¹Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова, Санкт-Петербург, Россия

²Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия

³Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина, Москва, Россия

⁴Российская детская клиническая больница, Москва, Россия

⁵Российский государственный медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Спектр синдромов избыточного роста, связанных с мутациями в гене *PIK3CA* (PIK3CA-Related Overgrowth Spectrum, PROS), объединяет редкие врожденные заболевания, характеризующиеся аномальным развитием и избыточным разрастанием отдельных тканей. Эти состояния обусловлены постзиготными соматическими мутациями, возникающими в раннем эмбриональном периоде. Дефекты *PIK3CA* приводят к активации фосфоинозитид-3-киназного пути (PI3K/AKT/mTOR), который является ключевым сигнальным механизмом, регулирующим апоптоз, рост и пролиферацию клеток. Гиперактивация этого сигнального каскада может способствовать развитию опухолей, сосудистых мальформаций и избыточного роста тканей. Генетические повреждения часто носят мозаичный характер, что создает трудности для молекулярной диагностики. Выявление патогенных вариантов *PIK3CA* приобретает особую практическую важность в связи с появлением эффективной таргетной терапии ингибиторами PI3K.

Цель. Провести анализ спектра и частоты мутаций гена *PIK3CA* у пациентов с клиническими проявлениями PROS и разработать эффективный пошаговый алгоритм молекулярно-генетической диагностики этой группы заболеваний.

Материалы и методы. Материалом для исследования послужила ДНК, выделенная из патоморфологических образцов пораженной ткани 116 пациентов с клиническими проявлениями спектра PROS. Генетический анализ выполнялся с использованием комплекса методов: аллель-дискриминантной полимеразной цепной реакции (ПЦР), цифровой капельной ПЦР и таргетного высокопроизводительного секвенирования.

Результаты. Мутации *PIK3CA* были выявлены у 56 пациентов (48,3%). Следует отметить, что более 80% выявленных вариантов были представлены распространенными миссенс-заменами (p.E542K, p.E545K, p.H1047R и p.H1047L).

Выводы. Полученные данные подтверждают высокую частоту вовлечения гена *PIK3CA* в патогенез синдромов избыточного роста. Разработан пошаговый алгоритм ДНК-диагностики, основанный на последовательном применении нескольких молекулярно-генетических подходов. На первом этапе целесообразно исключение частых миссенс-мутаций с помощью ПЦР с TaqMan-зондами. Применение цифровой капельной ПЦР (ddPCR) дает возможность детекции низкоуровневого мозаицизма в отношении вышеупомянутых частых вариантов, а включение таргетного высокопроизводительного секвенирования (NGS) в качестве завершающего этапа позволяет идентифицировать редкие варианты *PIK3CA*, не определяемые другими методами. Предложенный алгоритм может быть рекомендован для рутинной диагностики PROS.

Ключевые слова: PROS, *PIK3CA*, мутация, спектр синдромов избыточного роста, сосудистые мальформации

Как цитировать

Жарнакова Ю.С., Мартыанов А.С., Суспицын Е.Н., Васильева А.С., Абузова А.С., Кондратьев Г.В., Сулейманова А.М., Сагоян Г.Б., Гарбузов Р.В., Алексахина С.Н., Имянитов Е.Н. Анализ мутаций гена *PIK3CA* у пациентов с клиническими проявлениями спектра PROS. *Педиатр.* 2026;17(1):52–63. <https://doi.org/10.56871/PED.2026.29.86.006>.

Molecular analysis of *PIK3CA* mutations in patients with clinical features of the *PIK3CA*-related overgrowth spectrum (PROS)

Yuliya S. Zharnakova¹, Aleksandr S. Martyanov¹, Evgeny N. Suspitsin^{1,2}, Anna S. Vasilyeva², Anastasia S. Abuzova², Gleb V. Kondratiev², Amina M. Suleymanova³, Garik B. Sagoyan³, Roman V. Garbuzov^{4,5}, Svetlana N. Aleksakhina¹, Evgeny N. Imyanitov^{1,2}

¹N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, Saint-Petersburg, Russia

²Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, Saint-Petersburg, Russia

³N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology, Moscow, Russia

⁴Russian Children's Clinical Hospital, Moscow, Russia

⁵Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

ABSTRACT

Background. *PIK3CA*-Related Overgrowth Spectrum (PROS) comprises rare congenital conditions characterised by abnormal development and overgrowth of certain tissues. These conditions are caused by postzygotic somatic mutations occurring during early embryogenesis. Defects in *PIK3CA* lead to activation of the phosphoinositide-3-kinase pathway (PI3K/AKT/mTOR), which is a key signaling mechanism regulating apoptosis, cell growth and proliferation. Hyperactivation of this signaling cascade can contribute to the development of tumors, vascular malformations and tissue overgrowth. Genetic lesions are often mosaic in nature, posing challenges for molecular diagnosis. Identification of pathogenic variants of *PIK3CA* is of particular importance due to the advent of effective targeted therapy with PI3K inhibitors.

Aim — to analyze the spectrum and frequency of mutations of the *PIK3CA* gene in patients with clinical manifestations of PROS and develop an effective step-by-step algorithm for the molecular genetic diagnosis of this group of diseases.

Material and methods. The material for the study was DNA isolated from pathomorphological samples of affected tissues from 116 patients. Genetic analysis was performed using a complex of methods: allele-discriminant PCR, digital droplet PCR and targeted next-generation sequencing (NGS).

Results. *PIK3CA* mutations were detected in 56 patients (48.3%). It should be noted that more than 80% of the identified variants were represented by common missense substitutions (p.E542K, p.E545K, p.H1047R and p.H1047L).

Conclusions. The obtained data confirm a high frequency of *PIK3CA* gene involvement in the pathogenesis of overgrowth syndromes. A stepwise DNA diagnostic algorithm based on the sequential application of several molecular genetic approaches has been developed. At the first stage, screening for common missense mutations using PCR with TaqMan probes is recommended. The use of digital droplet PCR (ddPCR) enables the detection of low-level mosaicism for these frequent variants, while the inclusion of targeted next-generation sequencing (NGS) as a final step allows the identification of rare *PIK3CA* variants not detectable by other methods. The proposed algorithm can be recommended for routine PROS diagnostics.

Keywords: PROS, *PIK3CA*, mutation, segmental overgrowth, vascular malformations

To cite this article

Zharnakova Yu.S., Martyanov A.S., Suspitsin E.N., Vasilyeva A.S., Abuzova A.S., Kondratiev G.V., Suleymanova A.M., Sagoyan G.B., Garbuzov R.V., Aleksakhina S.N., Imyanitov E.N. Molecular analysis of *PIK3CA* mutations in patients with clinical features of the *PIK3CA*-related overgrowth spectrum (PROS). *Pediatrician (St. Petersburg)*. 2026;17(1):52–63. (In Russ.). <https://doi.org/10.56871/PED.2026.29.86.006>.

ВВЕДЕНИЕ

PIK3CA-Related Overgrowth Spectrum (PROS; спектр синдромов избыточного роста, обусловленных мутациями в гене *PIK3CA*) — комплекс редких генетических синдромов, характеризующихся избыточным разрастанием тканей, сосудистыми аномалиями и различными скелетными и кожными изменениями.

Этиология данной патологии связана с постзиготной мутацией в гене *PIK3CA*, возникающей в популяции соматических клеток на ранних этапах эмбрионального развития. Таким образом, в некоторых тканях отмечается присутствие двух или более генетически различных клеточных линий. Мозаичные мутации в соматических клетках обычно возникают спорадически и не наследуются от родителей.

Несмотря на многообразие клинических симптомов, можно выделить характерные проявления расстройств спектра PROS [10]. К ним относятся:

- избыточный рост жировой, мышечной, нервной или костной тканей, приводящий к макросомии, диспропорциональному росту конечностей и другим признакам избыточного развития тканей;
- сосудистые мальформации (капиллярные, венозные и др.); эти аномалии могут проявляться в виде кожных пороков, гемангиом, ангиом и др.;
- эпидермальные невусы и гиперпигментированные пятна, а также другие признаки, не связанные с аномалиями сосудов (макродактилия, увеличение размеров головного мозга, пороки развития почек и т.д.).

Изменения носят врожденный характер или возникают в раннем постнатальном периоде.

Сигнальный путь PI3K/AKT/mTOR имеет ключевое значение для процессов пролиферации, ангиогенеза, выживания клеток и метаболизма [9]. Чрезмерная активация этого каскада вызывает серьезные нарушения нормальных клеточных функций, что, в свою очередь, приводит к конкурентному росту, метаболическому преимуществу и усиленному ангиогенезу [9, 16]. Мозаичные мутации в генах, активирующих путь PI3K/AKT/mTOR, в настоящее время обнаружены при различных нарушениях тканевого роста [18].

Фосфоинозитид-3-киназы (PI3K) преобразуют фосфатидилинозитол 4,5-бисфосфат (PIP2) в фосфатидилинозитол 3,4,5-трифосфат (PIP3), который затем взаимодействует с белком AKT на клеточной мембране, где последний подвергается фосфорилированию и активации. Ген *PIK3CA* экспрессируется во всех клетках, кодирует каталитическую субъединицу p110 альфа PI3K и включает пять доменов: адаптер-связывающий (ABD), Ras-связывающий (RBD), C2, спиральный (helical) и киназный. Мутации усиливают активность PI3K, что ведет к увеличению сигналов AKT и mTOR [14], в результате чего происходит аномальный рост пораженных тканей. Дефекты *PIK3CA* относятся к наиболее частым генетическим повреждениям, выявляемым в злокачественных опухолях человека [8]. У пациентов с PROS, как и в случае онкологических заболеваний, наиболее часто затрагиваются киназный и спиральный домены [6].

Молекулярно-генетическое тестирование играет ключевую роль в диагностике пациентов с PROS. Мутации в гене *PIK3CA* возникают на ранних стадиях эмбриогенеза; очень часто они присутствуют лишь в небольшом проценте клеток, что затрудняет молекулярную диагностику. Эффективность детекции мутации зависит не только от ее характера, но и от распределения в тканях [13]. Таким образом, для точной диагностики PROS требуется применение высокочувствительных методов анализа, способных выявлять даже незначительные фракции мутантной ДНК.

На протяжении длительного времени одним из основных методов лечения пациентов с PROS было хирургическое вмешательство, помогающее устранить симптомы, связанные с различными формами PROS и улучшающее внешний вид пациента. Хирургические методы включают коррекционные операции, удаление избыточных тканей и ампутации. Эти процедуры могут сочетаться с интервенционными методами, такими как эмболизация сосудистых мальформаций, для достижения наилучших результатов [2].

Развитие молекулярной биологии, биохимии и фармакологии способствовало открытию ингибиторов сигнального пути PI3K/Akt/mTOR. Ингибиторы mTOR, такие как рапамицин и его аналоги (эверолимус, сиролимус), блокируют активацию мишени рапамицина (mTOR), что приводит к снижению клеточного роста и пролиферации. В некоторых исследованиях доказана эффективность применения сиролимуса для пациентов с PROS [7, 15, 17].

Терапевтический потенциал ингибиторов PI3K при PROS был изначально продемонстрирован на мышиных моделях и небольших группах пациентов [19]. Лечение селективным ингибитором PI3K, аллелисибом, приводит к значительному регрессу гипертрофированных участков тела и улучшению качества жизни пациентов при хорошей переносимости [3, 5, 12]; согласно российскому консенсусу аллелисиб рекомендован в качестве препарата выбора для системной терапии PROS [1].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Целью настоящего исследования является анализ частоты мутаций *PIK3CA* у пациентов с клиническими проявлениями спектра PROS, а также апробация пошагового алгоритма ДНК-диагностики.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Всего в исследование включено 116 пациентов, из них 72 женского и 44 мужского пола. Критериями включения в исследование служили: наличие подозрения на PROS, которое подразумевает разрастание тканей (врожденное или начавшееся в раннем детстве) и выполнение хотя бы одного из следующих условий: 1) наличие ≥ 2 из следующих признаков — разрастание жировой, мышечной, нервной или костной ткани; сосудистые мальформации (капиллярные, артериовенозные, лимфатические); эпидермальный невус; 2) наличие ≥ 1 из следующих симптомов — макродактилия, разрастание тканей конечностей, абдоминальной жировой

ткани, крупные лимфатические мальформации, гемимегалэнцефалия, диспластическая мегалэнцефалия, фокальная кортикальная дисплазия, эпидермальный невус.

Средний возраст больных составил 8 лет (2,5 месяцев — 29 лет). По возрасту на момент обследования были выделены следующие группы пациентов: младше 1 года (n=18), от 1 года до 10 лет (n=57) и старше 10 лет (n=41).

На основании характерных клинических признаков, включая гемигипертрофию и различные локализации лимфангиом, к группе синдромов избыточного роста тканей были отнесены 34 пациента. В исследование также включен 41 пациент с сосудистыми мальформациями, являющимися частью PIK3CA-ассоциированного спектра заболеваний. У 10 пациентов наблюдалось сочетание синдрома избыточного роста и сосудистых мальформаций. У 14 пациентов клиническая информация отсутствовала.

В исследование также вошли 17 пациентов с синдромами Клиппеля–Треноне (n=10), CLOVES (Congenital Lipomatous Overgrowth-Vascular malformation-Epidermal nevi-Skeletal anomalies) (n=4), гематогенной тромбофилией (n=1), системным васкулитом (n=1) и врожденной флебэктазией (n=1).

Гистологические материалы пациентов направлены врачами различных лечебно-профилактических учреждений (ЛПУ) России: Национальный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) онкологии им. Н.Н. Блохина, Санкт-Петербургский государственный педиатрический

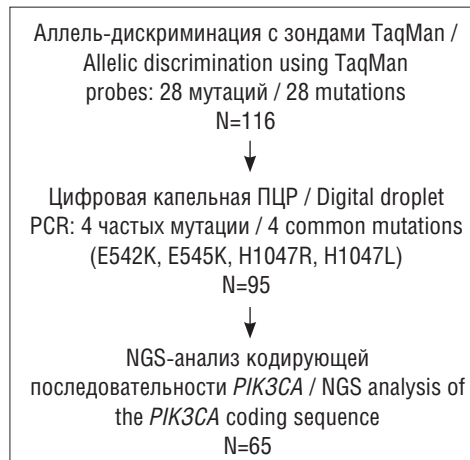


Рис. 1. Алгоритм молекулярно-генетической диагностики мутаций *PIK3CA* (рисунок создан на основании собственных данных авторов статьи)

Fig. 1. Algorithm for molecular genetic diagnostics of *PIK3CA* mutations (the figure was created based on the authors' own data)

медицинский университет (СПбГПМУ), НМИЦ им. В.А. Алмазова, Российская детская клиническая больница (РДКБ) им. Н.Н. Пирогова. Материалом для молекулярно-генетического исследования служили архивные блоки формалин-фиксированных тканей, резецированных в ходе хирургических операций. Выделение ДНК проводилось с помощью коммерческого набора QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit

Таблица 1. Последовательности праймеров и TaqMan-зондов для аллель-дискриминации

Table 1. Sequences of primers and TaqMan probes for allele discrimination

Исследуемый участок/ Target region	Праймер/Primer TaqMan зонд/ TaqMan probes	Последовательность / Sequence
Экзон 2_1 / Exon 2_1	Прямой / Forward	5'-TCCGTGAGGCTACATTA-3'
	Обратный / Reverse	5'-GTTGCCTACTGGTTCAAT-3'
R88Q	Зонд «wt» / Probe «wt»	[FAM]CAAGACGACTTTGTGACC[BHQ1]
	Зонд «mut» / Probe «mut»	[HEX]ACAAGACAACCTTTGTGACC[BHQ1]
E81K	Зонд «mut» / Probe «mut»	[ROX]CAGAAAGGGAAAAATTTTTTGAG[BHQ2]
Экзон 2_2/ Exon 2_2	Прямой / Forward	5'-TCGGCTTTTTCAACCC-3'
	Обратный / Reverse	5'-AGAAAGGGACAACAGTTAAG-3'
R108H	Зонд «wt» / Probe «wt»	[FAM]TAGGCAACCGTGAAGAAA[BHQ1]
	Зонд «mut» / Probe «mut»	[R6G]TAGGCAACCATGAAGAAAAG[BHQ1]
E110del	Зонд «mut» / Probe «mut»	[ROX]CAACCGTGAAAAGATCCTCA[BHQ2]
K111E	Зонд «mut» / Probe «mut»	[CY5]ACCGTGAAGAAGAGATCC[BHQ2]
K111del	Зонд «mut» / Probe «mut»	[CY5.5]CAACCGTGAAGAAATCCTCA[BHQ3]
Экзон 3/ Exon 3	Прямой / Forward	5'-GCTGTGTATGTAATAGAATGTT-3'
	Обратный / Reverse	5'-TTAACCATATCAAATTCACACAC-3'
G118D	Зонд «wt» / Probe «wt»	[FAM]TAAAGGTTTTGCTATCGGC[BHQ1]
	Зонд «mut» / Probe «mut»	[HEX]TAAAGATTTTGCTATCGGCA[BHQ1]
Экзон 5 / Exon 5	Прямой / Forward	5'-TATAAATAGTCACTCAGAATAAA-3'
	Обратный / Reverse	5'-ATCAGCATTTGACCTTACCT-3'

Окончание табл. 1 / Ending of the Table 1

Исследуемый участок/ Target region	Праймер/Primer TaqMan зонд/ TaqMan probes	Последовательность / Sequence
N345K	Зонд «wt» / Probe «wt»	[FAM]CCTACGTGAATGTAAATATTCG[BHQ1]
	Зонд «mut» / Probe «mut»	[HEX]CCTACGTGAAAGTAAATATTCG[BHQ1]
Экзон 7_1 / Exon 7_1	Прямой / Forward	5'-AGACTAGTGAATATTTTCTTTGT-3'
	Обратный / Reverse	5'-ACTGGCCAAAGATTCAAAG-3'
C420R	Зонд «wt» / Probe «wt»	[FAM]ACACTGTCCATTGGCA[BHQ1]
	Зонд «mut» / Probe «mut»	[HEX]ACACCGTCCATTGGC[BHQ1]
Экзон 7_2/ Exon 7_2	Прямой / Forward	5'-ACACTGTCCATTGGCA-3'
	Обратный / Reverse	5'-CCAGTAACACCAATAGGGT-3'
E453K	Зонд «wt» / Probe «wt»	[FAM]TCATGGATTAGAAGATTGCTG[BHQ1]
	Зонд «mut» / Probe «mut»	[HEX]TCATGGATTAAAAGATTGCTGA[BHQ1]
E453Q	Зонд «mut» / Probe «mut»	[ROX]TCATGGATTACAAGATTGCTG[BHQ2]
Экзон 10/ Exon 10	Прямой / Forward	5'-CTAGAGACAATGAATTAAGGGAA-3'
	Обратный / Reverse	5'-CATTTTAGCACTTACCTGTGAC-3'
E542K	Зонд «wt» / Probe «wt»	[FAM]TCCTCTCTCTGAAATCACTGAGC[BHQ1]
	Зонд «mut» / Probe «mut»	[HEX]TCCTCTCTCTAAAATCACTGAGCA[BHQ1]
E545K	Зонд «wt» / Probe «wt»	[FAM]CTGAAATCACTGAGCAGGAGAGAAA[BHQ1]
	Зонд «mut» / Probe «mut»	[HEX]CTGAAATCACTAAGCAGGAGAGAAA[BHQ1]
E545A	Зонд «mut» / Probe «mut»	[ROX]AAATCACTGCGCAGGAGAGAAAG[BHQ2]
E545G	Зонд «mut» / Probe «mut»	[CY5]TGAAATCACTGGGCAGGAGAGAAA[BHQ2]
E545D	Зонд «mut» / Probe «mut»	[CY5.5]TCTGAAATCACTGACCAGGAGA[BHQ3]
Q546K	Зонд «wt» / Probe «wt»	[FAM]AAATCACTGAGCAGGAGAGAAAGAT[BHQ1]
	Зонд «mut» / Probe «mut»	[HEX]TGAAATCACTGAGAAGGAGAGAAA[BHQ1]
Q546P	Зонд «mut» / Probe «mut»	[CY5]AAATCACTGAGCCGGAGAGAAAGAT[BHQ2]
Q546R	Зонд «mut» / Probe «mut»	[ROX]AAATCACTGAGCGGGAGAGAAAGAT[BHQ2]
Q546E	Зонд «mut» / Probe «mut»	[CY5.5]GAAATCACTGAGGAGGAGAGAAAG[BHQ3]
Экзон 13/ Exon 13	Прямой / Forward	5'-TCATTAACCTTAACGACATTCTC-3'
	Обратный / Reverse	5'-TGAAAAGAGTCTCAAACACAA-3'
E726K	Зонд «wt» / Probe «wt»	[FAM]AGAAGAAGGATGAAACACAAAA[BHQ1]
	Зонд «mut» / Probe «mut»	[HEX]AGAAGAAGGATAAAACACAAAA[BHQ1]
Экзон 20/ Exon 20	Прямой / Forward	5'-TTGCATACATTCGAAAGACCC-3'
	Обратный / Reverse	5'-TGCTGTTTAATTGTGTGGAAGA-3'
H1047R	Зонд «wt» / Probe «wt»	[FAM]ATGCACATCATGGTGGCT[BHQ1]
	Зонд «mut» / Probe «mut»	[HEX]ATGCACGTCATGGTGGCT[BHQ1]
H1047L	Зонд «mut» / Probe «mut»	[ROX]ATGCACCTCATGGTGGCT[BHQ1]
M1043I	Зонд «wt» / Probe «wt»	[FAM]TCATGAAACAAATGAATGATGCA[BHQ1]
	Зонд «mut» / Probe «mut»	[HEX]TCATGAAACAAATTAATGATGCA[BHQ1]
M1043V	Зонд «mut» / Probe «mut»	[ROX]TCATGAAACAAGTGAATGATGCA[BHQ2]
N1044K	Зонд «mut» / Probe «mut»	[CY5]TCATGAAACAAATGAAAGATGCA[BHQ2]
N1044Y	Зонд «mut» / Probe «mut»	[CY5.5]TCATGAAACAAATGTATGATGCA[BHQ3]
G1049R	Зонд «wt» / Probe «wt»	[FAM]GCACATCATGGTGGCTGG[BHQ1]
	Зонд «mut» / Probe «mut»	[HEX]GCACATCATCGTGGCTGG[BHQ1]

Таблица создана на основании собственных данных авторов статьи / The table was created based on the authors' own data

Таблица 2. Последовательности праймеров и зондов**Table 2.** Sequences of primers and probes

Исследуемый участок/ Target region	Праймер / Primer TaqMan зонд / TaqMan probes	Последовательность / Sequence
Экзон 10/ Exon 10	Прямой / Forward	5'-CTAGAGACAATGAATTAAGGG-3'
	Обратный / Reverse	5'-CATTTTAGCACTTACCTGTGAC-3'
E542K	Зонд «wt» / Probe «wt»	[FAM]TCCTCTCTCT G AAATCACTGAG[BHQ1]
	Зонд «mut» / Probe «mut»	[HEX]TCCTCTCTCT A AAATCACTGAGC[BHQ1]
E545K	Зонд «wt» / Probe «wt»	[FAM]AAATCACT G AGCAGGAGAAAGA[BHQ1]
	Зонд «mut» / Probe «mut»	[HEX]TGAAATCACT A AGCAGGAGAAAGA[BHQ1]
Экзон 20/ Exon 20	Прямой / Forward	5'-GCATACATTCGAAAGACC-3'
	Обратный / Reverse	5'-GCTGTTTAATTGTGTGGAA-3'
H1047L	Зонд «wt» / Probe «wt»	[FAM]GATGCACATCATGGTGGC[BHQ1]
	Зонд «mut» / Probe «mut»	[HEX]TGATGCACCTTCATGGTGGC[BHQ1]
H1047R	Зонд «wt» / Probe «wt»	[FAM]GATGCACATCATGGTGGC[BHQ1]
	Зонд «mut» / Probe «mut»	[HEX]GATGCACGTCATGGTGGC[BHQ1]

Примечание: жирным шрифтом выделен заменяющийся нуклеотид.

Note: the replacement nucleotide is highlighted in bold.

Таблица создана на основании собственных данных авторов статьи / The table was created based on the authors' own data

(Qiagen). Алгоритм дальнейшей молекулярно-генетической диагностики мутаций *PIK3CA* у пациентов с PROS представлен на рисунке 1.

На первом этапе в качестве метода детекции мутаций была предложена аллель-дискриминация на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени с использованием TaqMan-проб, специфичных к 28 патогенным вариантам, расположенным в экзонах 2, 3, 5, 7, 8, 9 и 20 гена *PIK3CA* (табл. 1). В состав реакционной смеси (конечный объем 20 мкл) входили: 1х ПЦР буфер (Applied Biosystems GeneAmp, Thermo Fisher Scientific, Austin, TX), 3,5 ммоль $MgCl_2$, 200 мкмоль каждого из дезоксинуклеотидтрифосфатов (дАТФ, дЦТФ, дГТФ, дТТФ), 0,5 мкмоль прямого и обратного праймеров, по 0,5 мкмоль аллель-специфичных флуоресцентно-меченых зондов, 1МЕ Taq M-полимеразы Intifika («Алкор Био», г. Санкт-Петербург) и 1 мкл исследуемой ДНК. ПЦР-амплификация проводилась в течение 35 циклов.

С учетом того, что содержание мутантной ДНК в исследуемой ткани может быть очень незначительным, для точной диагностики требуется использование высокочувствительных методов. Для этого была разработана тест-система, основанная на применении цифровой капельной ПЦР (ddPCR). Для исследования были выбраны четыре миссенс-мутации *PIK3CA*, затрагивающие «горячие точки» мутагенеза: p.E542K и p.E545K в экзоне 10, а также p.H1047R и p.H1047L в экзоне 20.

Для выявления каждой из замен были разработаны праймеры и аллель-специфические флуоресцентно меченные TaqMan-пробы (табл. 2): один зонд комплементарен аллелю дикого типа, а второй — мутантному варианту.

Цифровая капельная ПЦР проводилась с помощью системы QX200™ (Bio-Rad). Исходный образец ДНК смешивался

с ПЦР-реагентами и интеркалирующим красителем или флуоресцентно меченными зондами, после чего смесь эмульгировалась с минеральным маслом и помещалась в термоциклер. После завершения ПЦР производилось измерение флуоресценции каждой индивидуальной реакции. Капли, в которых произошла амплификация редкого аллеля, демонстрировали флуоресцентный сигнал, соответствующий флуорофору мутантного зонда (HEX), а капли, содержащие аллель дикого типа, оценивались в другом спектральном диапазоне (канал FAM). Результаты анализировались с использованием встроенного программного обеспечения.

В случае негативного результата предыдущих этапов диагностики проводился анализ полной кодирующей последовательности гена *PIK3CA* (транскрипт NM_006218.4) методом таргетного высокопроизводительного секвенирования. Подготовка ДНК-библиотек осуществлялась по протоколу Кара HyperPlus Kit (Roche). Для мультиплексирования использовали уникальные двойные индексы. Обогащение по целевым последовательностям (экзонам, экзон-интронным границам и 5'- и 3'-нетранслируемым областям *PIK3CA*) проводили методом двойной гибридизации с кастомными биотинилированными зондами (НПК «Синтол», Россия). Готовые библиотеки секвенировали на приборе GenoLab M (GeneMind, Китай) с использованием проточной ячейки FCM по 150 циклов в обе стороны. Средняя глубина покрытия составляла 500X, с 99,9% оснований, прочитанных не менее 100 раз. Биоинформатическая обработка включала в себя формирование файлов FASTQ, оценку качества и выравнивание прочтений на геном hg19 с использованием алгоритма BWA. Картированные прочтения исследовались на наличие однонуклеотидных полиморфизмов и небольших инсерций/делеций с помощью инструмента HaploTypeCaller

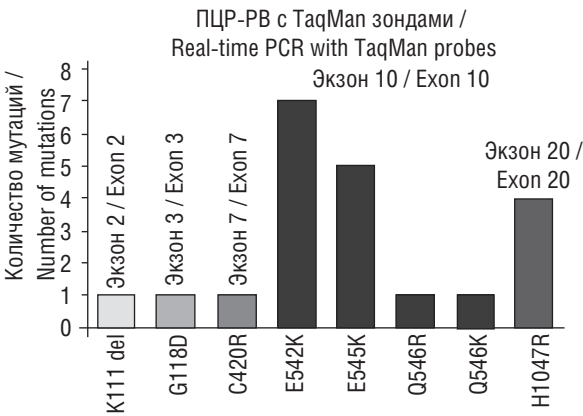


Рис. 2. Спектр мутаций, обнаруженных на этапе ПЦР-РВ с TaqMan зондами (рисунок создан на основании собственных данных авторов статьи)

Fig. 2. The spectrum of mutations detected at the stage of Real-time PCR with TaqMan probes (the figure was created based on the authors' own data)

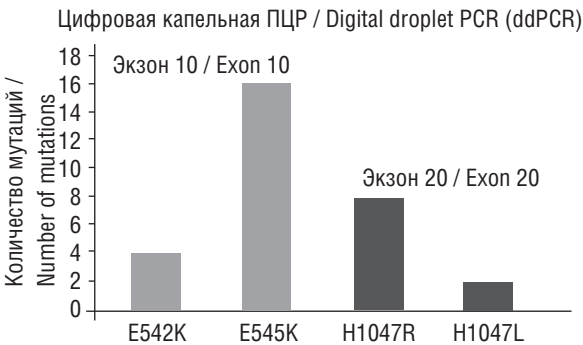


Рис. 3. Спектр мутаций, обнаруженных на этапе ddPCR (рисунок создан на основании собственных данных авторов статьи)

Fig. 3. The spectrum of mutations detected by ddPCR (the figure was created based on the authors' own data)

(GATK4). Для аннотации вариантов и оценки их патогенности использовали инструменты SnpEff, ClinVar, VarSome.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Применение комплекса методов (аллель-дискриминация с TaqMan зондами, цифровая капельная ПЦР, таргетное высокопроизводительное секвенирование) позволило выявить патогенные варианты *PIK3CA* в 56 случаях (48,3%). 46 мутаций (82,2%) представлены четырьмя наиболее распространенными миссенс-заменами (E542K, E545K, H1047R, H1047L).

Использование метода ПЦР-РВ с TaqMan зондами позволило выявить 21 патогенный вариант (рис. 2).

Большинство выявленных мутаций локализовано в 10-м экзоне. Помимо типичных замен (E542K, E545K) были выявлены редкие варианты мутаций — Q546R и Q546K. Кроме того, были обнаружены нечасто встречающиеся мутации во 2-, 3- и 7-м экзонах.

С помощью метода цифровой капельной ПЦР было дополнительно выявлено 30 мутаций (53,6%), причем более

Таблица 3. Спектр патогенных вариантов гена *PIK3CA*, выявленных различными методами

Table 3. The spectrum of pathogenic variants identified by various methods

Экзон / Exon	Мутация / Mutation	Количество / Number	Доля от всех выявленных мутаций / Percentage of all identified mutations
Аллель-дискриминация / Allelic discrimination			
2	K111del	1	21/56 (37,5%)
3	G118D	1	
7	C420R	1	
9	E542K	7	
	E545K	5	
	Q546K	1	
	Q546R	1	
20	H1047R	4	
Цифровая капельная ПЦР / Digital droplet PCR			
9	E542K	4	30/56 (53,6%)
	E545K	16	
20	H1047L	2	
	H1047R	8	
Таргетное секвенирование / Targeted sequencing			
2	G106V	1	5/56 (8,9%)
	N107T	1	
	E109K	1	
6	C378Y	1	
7	C420R	1	

Таблица создана на основании собственных данных авторов статьи / The table was created based on the authors' own data

половины из них представлены часто встречающейся миссенс-заменой E545K в 10-м экзоне (рис. 3).

Средний процент содержания мутантной ДНК в образцах составил 4,1% (0,13–40%).

Наконец, использование таргетного высокопроизводительного секвенирования позволило дополнительно выявить пять мутаций: G106V, N107T и E109K во 2-м экзоне, C378Y в 6-м экзоне и C420R в 7-м экзоне.

Спектр патогенных вариантов, выявленных различными методами, представлен в таблице 3.

Частота выявления мутаций в различных возрастных группах значимо не отличалась, составляя 55% (10/18) у пациентов в возрасте до 1 года, 45,6% (26/57) в группе пациентов 1–10 лет и 48,8% (20/41) среди больных старше 10 лет.

Данные о частоте мутаций у пациентов с разными клиническими фенотипами приведены в таблице 4. Мутации *PIK3CA* выявлены у трех из четырех больных с фенотипом синдрома CLOVES. В группе из 41 пациента с сосудистыми мальформациями 20 человек (48,8%) имели мутации

Таблица 4. Процент выявления мутаций для различных синдромов PROS**Table 4.** Percentage of mutation detection for various PROS syndromes

Клинический фенотип / Clinical phenotype	Доля пациентов с мутациями / Percentage of patients with mutations
Сосудистые мальформации / Vascular malformations	20/41 (48,8%)
Синдром избыточного роста / Overgrowth syndrome	17/34 (50%)
Синдром избыточного роста + сосудистые мальформации / Overgrowth syndrome+Vascular malformations	6/10 (60%)
Синдром Клиппеля–Треноне / Klippel–Treunay syndrome	6/10 (60%)
Синдром CLOVES (Congenital Lipomatous Overgrowth-Vascular malformation-Epidermal nevi-Skeletal anomalies) / CLOVES syndrome	3/4 (75%)
Гематогенная тромбофилия / Hematogenous thrombophilia	0/1
Системный васкулит / Systemic vasculitis	0/1
Врожденная флебэктазия / Congenital phlebectasia	0/1

Таблица создана на основании собственных данных авторов статьи /
The table was created based on the authors' own data

в гене *PIK3CA*. Высокая частота мутаций (50%) выявлена у пациентов с изолированным синдромом избыточного роста. Среди больных, у которых наблюдалось сочетание сосудистых мальформаций и синдрома избыточного роста, мутации были обнаружены в 6 из 10 случаев (60%).

Из 10 пациентов с синдромом Клиппеля–Треноне мутации были выявлены у 6 человек (60%). В то же время среди пациентов с такими клиническими диагнозами, как гематогенная тромбофилия, системный васкулит и врожденная флебэктазия, мутации в гене *PIK3CA* не были выявлены, что может указывать на другие патогенетические механизмы данных заболеваний.

ОБСУЖДЕНИЕ

В представленном исследовании проведен комплексный анализ мутаций гена *PIK3CA* у 116 пациентов с клиническими проявлениями спектра PROS с применением трех взаимодополняющих методик — аллельной дискриминации, цифровой капельной ПЦР и таргетного высокопроизводительного секвенирования. Такой многоуровневый подход позволил выявить патогенные варианты в 48,3% случаев. Полученные результаты согласуются с данными других авторов, согласно которым частота выявления патогенных вариантов составила 46–52% при использовании комбинированных методов анализа [4]. Более высокая эффективность обнаружения мутаций (62–67% случаев) в работе P. Kuentz и соавт. [11], вероятно, связана с тем, что в упомянутом исследовании высокопроизводительное секвенирование

выполнялось с большей глубиной прочтений целевых регионов (1000X); кроме того, различия объясняются неоднородностью исследуемых когорт.

Наиболее часто встречающимися оказались миссенс-замены E542K, E545K, H1047R и H1047L, совокупно составляющие более 80% всех выявленных вариантов. Данные мутации локализованы в спиральном и киназном доменах белка p110α, что соответствует известным «горячим точкам» мутагенеза, описанным как при PROS, так и при онкологических заболеваниях [6, 8, 13]. Их функциональная значимость связана с усилением каталитической активности PI3K и гиперактивацией сигнального пути PI3K/AKT/mTOR, что приводит к повышению клеточной пролиферации, ангиогенезу и аномальному росту тканей [9, 16]. Преобладание данных замен в исследуемой когорте подтверждает ключевую роль этих доменов в патогенезе PROS и обосновывает целесообразность первичного скрининга наиболее частых мутаций.

Использование цифровой капельной ПЦР (ddPCR) позволило существенно повысить чувствительность анализа и выявить низкофракционные варианты, содержание которых в образцах составляло от 0,13 до 40%. Это особенно важно, учитывая мозаичную природу мутаций при PROS. По сравнению с аллель-специфической ПЦР метод ddPCR продемонстрировал более высокую эффективность (53,6% выявленных мутаций), что согласуется с наблюдениями G. Mirzaa и соавт., показавших преимущество высокочувствительных технологий при анализе мозаичных вариантов [13].

Применение таргетного высокопроизводительного секвенирования (NGS) позволило дополнительно идентифицировать пять редких замен (G106V, N107T, E109K, C378Y, C420R), не обнаруженных на предыдущих этапах анализа. Таким образом, включение NGS в завершающий этап алгоритма обеспечивает расширение диагностического охвата и возможность детекции нетипичных или новых вариантов [4, 11]. Однако высокая стоимость и трудоемкость делают NGS целесообразным лишь после исключения частых мутаций с помощью более доступных методов.

Анализ взаимосвязи между клиническими фенотипами и генетическими результатами показал, что частота выявления мутаций варьировала от 48,8% при сосудистых мальформациях до 75% при синдроме CLOVES. Более высокая доля положительных результатов при CLOVES- и Клиппель–Треноне-подобных фенотипах может отражать высокую вероятность поражения PI3K-зависимого сигнального пути в данных формах заболевания. Отсутствие мутаций у пациентов с васкулитом и врожденной флебэктазией указывает на генетическую гетерогенность этих состояний и подтверждает необходимость дифференциальной диагностики с другими наследственными и соматическими синдромами избыточного роста.

Интересным наблюдением является сходная частота мутаций во всех возрастных группах (45–55%), что подтверждает врожденный постзиготный характер мутаций. Этот факт согласуется с предположением о раннем

эмбриональном происхождении большинства случаев PROS [9, 13].

В совокупности результаты исследования демонстрируют, что предложенный пошаговый алгоритм молекулярной диагностики обеспечивает высокую точность при оптимальном соотношении затрат и диагностической информативности. Его применение позволяет повысить эффективность выявления мутаций PIK3CA по сравнению с использованием изолированных методов и может быть рекомендовано для внедрения в клиническую практику.

ВЫВОДЫ

1. В результате молекулярно-генетического анализа патоморфологических образцов 116 пациентов с клиническими проявлениями спектра PROS мутации в гене PIK3CA были выявлены у 56 больных (48,3%), что подтверждает высокую частоту вовлечения данного гена в патогенез синдромов избыточного роста.

2. Наиболее распространенными вариантами оказались миссенс-замены p.E542K, p.E545K, p.H1047R и p.H1047L, совокупно составляющие более 80% всех выявленных мутаций. Их локализация в спиральном и киназном доменах гена PIK3CA подтверждает ключевую роль данных областей в гиперактивации сигнального пути PI3K/AKT/mTOR.

3. Применение цифровой капельной ПЦР (ddPCR) позволило достоверно повысить чувствительность анализа и выявлять мутации при низком содержании мутантного аллеля (до 0,13%), что особенно важно при мозаичных формах PROS.

4. Включение таргетного высокопроизводительного секвенирования (NGS) в завершающий этап алгоритма диагностики позволило идентифицировать редкие варианты PIK3CA (G106V, N107T, E109K, C378Y, C420R), не определяемые другими методами.

5. Разработанный пошаговый алгоритм ДНК-диагностики, основанный на последовательном применении ПЦР с TaqMan-зондами, цифровой капельной ПЦР и таргетного секвенирования, обеспечивает высокую диагностическую эффективность при оптимальном соотношении затрат и информативности и может быть рекомендован для рутинного молекулярно-генетического тестирования пациентов с подозрением на PROS.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Исследование выполнено с финансовой поддержкой компании «Новартис-Фарма».

Информированное согласие на публикацию. Авторы получили письменное согласие пациентов или их законных представителей на публикацию медицинских данных.

ADDITIONAL INFORMATION

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the study, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the article, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the study.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Funding. The study was carried out with financial support from "Novartis Pharma".

Consent for publication. The authors obtained written consent from patients or their legal representatives for the publication of medical data.

ЛИТЕРАТУРА

- Сагоян Г.Б., Жуков Н.В., Стрельников В.В., Хагуров Р.А., Сулейманова А.М., Мареева Ю.М. и др. Консенсус по диагностике и лечению PROS (спектр синдромов избыточного роста, ассоциированных с мутацией PIK3CA). *Российский журнал детской гематологии и онкологии (РЖДГуО)*. 2023;10(2):117–130. <https://doi.org/10.21682/2311-1267-2023-10-2-117-123>.
- Сагоян Г.Б., Клецкая И.С., Имянитов Е.Н., Мареева Ю.М., Жуков Н.В., Хагуров Р.А., Сулейманова А.М. Спектр синдромов избыточного роста, связанных с мутацией PIK3CA. Обзор литературы. *Российский журнал детской гематологии и онкологии (РЖДГуО)*. 2022;9(1):29–44. <https://doi.org/10.21682/2311-1267-2022-9-1-29-44>.
- Canaud G., Lopez Gutierrez J.C., Irvine A.D., Vabres P., Hansford J.R., Ankrah N. et al. Alpelisib for treatment of patients with PIK3CA-related overgrowth spectrum (PROS). *Genet Med*. 2023;25(12):100969. <https://doi.org/10.1016/j.gim.2023.100969>.
- Coubes C., Delobel B., Edery P., Chehadeh S.E., Francannet C., Geneviève D. et al. Molecular diagnosis of PIK3CA-related overgrowth spectrum (PROS) in 162 patients and recommendations for genetic testing. *Genet Med*. 2017;19(9):989–997. <https://doi.org/10.1038/gim.2016.220>.
- Fontelles G.G., Pastor J.P., Morello C.G. Alpelisib to treat CLOVES syndrome, a member of the PIK3CA-related overgrowth syndrome spectrum. *Br J Clin Pharmacol*. 2022;88(8):3891–3895. <https://doi.org/10.1111/bcp.15270>.
- Gripp K.W., Baker L., Kandula V., Conard K., Scavina M., Napoli J.A. et al. Nephroblastomatosis or Wilms tumor in a fourth patient with a somatic PIK3CA mutation. *Am J Med Genet A*. 2016;170:2559–2569. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.37758>.
- Hillmann P., Fabbro D. PI3K/mTOR pathway inhibition: opportunities in oncology and rare genetic diseases. *Int J Mol Sci*. 2019;20(22):5792. <https://doi.org/10.3390/ijms20225792>.

8. Kandoth C., McLellan M.D., Vandin F., Ye K., Niu B., Lu C. et al. Mutational landscape and significance across 12 major cancer types. *Nature*. 2013;502(7471):333–339. <https://doi.org/10.1038/nature12634>.
9. Keppler-Noreuil K.M., Parker V.E., Darling T.N., Martinez-Agosto J.A. Somatic overgrowth disorders of the PI3K/AKT/mTOR pathway & therapeutic strategies. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2016;172(4):402–421. <https://doi.org/10.1002/ajmg.c.31531>.
10. Keppler-Noreuil K.M., Rios J.J., Parker V.E.R., Semple R.K., Lindhurst M.J., Sapp J.C. et al. PIK3CA-related overgrowth spectrum (PROS): diagnostic and testing eligibility criteria, differential diagnosis, and evaluation. *Am J Med Genet A*. 2015;167A(2):287–295. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.36836>.
11. Kuentz P., St-Onge J., Duffourd Y., Courcet J.B., Carmignac V., Jouan T. et al. Genotypes and phenotypes heterogeneity in PIK3CA-related overgrowth spectrum and overlapping conditions: 150 novel patients and systematic review of 1007 patients with PIK3CA pathogenetic variants. *J Med Genet*. 2023 ;60(2):163–173. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2021-108093>.
12. Madsen R.R., Semple R.K. PIK3CA-related overgrowth: silver bullets from the cancer arsenal? *Trends Mol Med*. 2022;28(4):255–257. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2022.02.009>.
13. Mirzaa G., Timms A.E., Conti V., Boyle E.A., Girisha K.M., Martin B. et al. PIK3CA-associated developmental disorders exhibit distinct classes of mutations with variable expression and tissue distribution. *JCI Insight*. 2016;1(9):e87623. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.87623>.
14. Mirzaa G.M., Conway R.L., Gripp K.W., Lerman-Sagie T., Siegel D.H., de Vries L.S. et al. Megalencephaly-capillary malformation (MCAP) and megalencephaly-polydactyly-polymicrogyria-hydrocephalus (MPPH) syndromes: two closely related disorders of brain overgrowth and abnormal brain and body morphogenesis. *Am J Med Genet A*. 2012;158A(2):269–291. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.34402>.
15. Parker V.E.R., Keppler-Noreuil K.M., Faivre L., Luu M., Oden N.L., De Silva L., et al. Safety and efficacy of low-dose sirolimus in the PIK3CA-related overgrowth spectrum. *Genet Med*. 2019;21(5):1189–1198. <https://doi.org/10.1038/s41436-018-0297-9>.
16. Porta C., Paglino C., Mosca A. Targeting PI3K/Akt/mTOR signaling in cancer. *Front Oncol*. 2014;4:64. <https://doi.org/10.3389/fonc.2014.00064>.
17. Sandbank S., Molho-Pessach V., Farkas A., Barzilai A., Greenberger S. Oral and topical sirolimus for vascular anomalies: a multicentre study and review. *Acta Derm Venereol*. 2019;99(11):990–996. <https://doi.org/10.2340/00015555-3262>.
18. Vanhaesebroeck B., Stephens L., Hawkins P. PI3K signalling: the path to discovery and understanding. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2012;13(3):195–203. <https://doi.org/10.1038/nrm3290>.
19. Venot Q., Blanc T., Rabia S.H., Berteloot L., Ladraa S., Duong J.P. et al. Targeted therapy in patients with PIK3CA-related overgrowth syndrome. *Nature*. 2018;558(7711):540–546. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0217-9>.

REFERENCES

1. Sagoyan G.B., Zhukov N.V., Strelnikov V.V., Khagurov R.A., Suleymanova A.M., Mareeva Yu.M. et al. Consensus on the diagnosis and treatment of PROS (PIK3CA-related overgrowth spectrum). Russian version. *Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology*. 2023;10(2):117–130. (In Russ.). <https://doi.org/10.21682/2311-1267-2023-10-2-117-123>.
2. Sagoyan G.B., Kletskaia I.S., Imyanitov E.N., Mareeva Yu.M., Zhukov N.V., Khagurov R.A., Suleymanova A.M. A spectrum of overgrowth syndromes associated with the PIK3CA mutation. Literature review. *Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology*. 2022;9(1):29–44. (In Russ.). <https://doi.org/10.21682/2311-1267-2022-9-1-29-44>.
3. Canaud G., Lopez Gutierrez J.C., Irvine A.D., Vabres P., Hansford J.R., Ankrah N. et al. Alpelisib for treatment of patients with PIK3CA-related overgrowth spectrum (PROS). *Genet Med*. 2023;25(12):100969. <https://doi.org/10.1016/j.gim.2023.100969>.
4. Coubes C., Delobel B., Ederly P., Chehadeh S.E., Francannet C., Geneviève D. et al. Molecular diagnosis of PIK3CA-related overgrowth spectrum (PROS) in 162 patients and recommendations for genetic testing. *Genet Med*. 2017;19(9):989–997. <https://doi.org/10.1038/gim.2016.220>.
5. Fontelles G.G., Pastor J.P., Moreillo C.G. Alpelisib to treat CLOVES syndrome, a member of the PIK3CA-related overgrowth syndrome spectrum. *Br J Clin Pharmacol*. 2022;88(8):3891–3895. <https://doi.org/10.1111/bcp.15270>.
6. Gripp K.W., Baker L., Kandula V., Conard K., Scavina M., Napoli J.A. et al. Nephroblastomatosis or Wilms tumor in a fourth patient with a somatic PIK3CA mutation. *Am J Med Genet A*. 2016;170:2559–2569. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.37758>.
7. Hillmann P., Fabbro D. PI3K/mTOR pathway inhibition: opportunities in oncology and rare genetic diseases. *Int J Mol Sci*. 2019;20(22):5792. <https://doi.org/10.3390/ijms20225792>.
8. Kandoth C., McLellan M.D., Vandin F., Ye K., Niu B., Lu C. et al. Mutational landscape and significance across 12 major cancer types. *Nature*. 2013;502(7471):333–339. <https://doi.org/10.1038/nature12634>.
9. Keppler-Noreuil K.M., Parker V.E., Darling T.N., Martinez-Agosto J.A. Somatic overgrowth disorders of the PI3K/AKT/mTOR pathway & therapeutic strategies. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2016;172(4):402–421. <https://doi.org/10.1002/ajmg.c.31531>.
10. Keppler-Noreuil K.M., Rios J.J., Parker V.E.R., Semple R.K., Lindhurst M.J., Sapp J.C. et al. PIK3CA-related overgrowth spectrum (PROS): diagnostic and testing eligibility criteria, differential diagnosis, and evaluation. *Am J Med Genet A*. 2015;167A(2):287–295. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.36836>.
11. Kuentz P., St-Onge J., Duffourd Y., Courcet J.B., Carmignac V., Jouan T. et al. Genotypes and phenotypes heterogeneity in PIK3CA-related overgrowth spectrum and overlapping conditions: 150 novel patients and systematic review of 1007 patients with

- PIK3CA pathogenetic variants. *J Med Genet.* 2023 ;60(2):163–173. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2021-108093>.
12. Madsen R.R., Semple R.K. PIK3CA-related overgrowth: silver bullets from the cancer arsenal? *Trends Mol Med.* 2022;28(4):255–257. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2022.02.009>.
 13. Mirzaa G., Timms A.E., Conti V., Boyle E.A., Girisha K.M., Martin B. et al. PIK3CA-associated developmental disorders exhibit distinct classes of mutations with variable expression and tissue distribution. *JCI Insight.* 2016;1(9):e87623. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.87623>.
 14. Mirzaa G.M., Conway R.L., Gripp K.W., Lerman-Sagie T., Siegel D.H., de Vries L.S. et al. Megalencephaly-capillary malformation (MCAP) and megalencephaly-polydactyly-polymicrogyria-hydrocephalus (MPPH) syndromes: two closely related disorders of brain overgrowth and abnormal brain and body morphogenesis. *Am J Med Genet A.* 2012;158A(2):269–291. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.34402>.
 15. Parker V.E.R., Keppler-Noreuil K.M., Faivre L., Luu M., Oden N.L., De Silva L., et al. Safety and efficacy of low-dose sirolimus in the PIK3CA-related overgrowth spectrum. *Genet Med.* 2019;21(5):1189–1198. <https://doi.org/10.1038/s41436-018-0297-9>.
 16. Porta C., Paglino C., Mosca A. Targeting PI3K/Akt/mTOR signaling in cancer. *Front Oncol.* 2014;4:64. <https://doi.org/10.3389/fonc.2014.00064>.
 17. Sandbank S., Molho-Pessach V., Farkas A., Barzilai A., Greenberger S. Oral and topical sirolimus for vascular anomalies: a multicentre study and review. *Acta Derm Venereol.* 2019;99(11):990–996. <https://doi.org/10.2340/00015555-3262>.
 18. Vanhaesebroeck B., Stephens L., Hawkins P. PI3K signalling: the path to discovery and understanding. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2012;13(3):195–203. <https://doi.org/10.1038/nrm3290>.
 19. Venot Q., Blanc T., Rabia S.H., Berteloot L., Ladraa S., Duong J.P. et al. Targeted therapy in patients with PIK3CA-related overgrowth syndrome. *Nature.* 2018;558(7711):540–546. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0217-9>.

ОБ АВТОРАХ

* **Юлия Сергеевна Жарнакова**, лаборант-исследователь, научная лаборатория молекулярной онкологии, Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова; адрес: Россия, 197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, д. 68; ORCID: 0009-0002-9304-2148; eLibrary SPIN: 4106-1426; e-mail: JuliaZharnakova@yandex.ru

Александр Сергеевич Мартянов, аспирант, научная лаборатория молекулярной онкологии, Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова, Санкт-Петербург, Россия; ORCID: 0000-0002-7690-8328; eLibrary SPIN: 8627-6407; e-mail: aleksandr.martianov@mail.ru

Евгений Николаевич Суспицын, д-р мед. наук, доцент, кафедра медицинской генетики, Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия; старший научный сотрудник научной лаборатории молекулярной онкологии, Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова, Санкт-Петербург, Россия; ORCID: 0000-0001-9764-2090; eLibrary SPIN: 2362-6304; e-mail: suspitsin@hotmail.com

Анна Сергеевна Васильева, ординатор, кафедра медицинской генетики, Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия; ORCID: 0009-0008-1784-4943; e-mail: avasileva@ngc.clinic

Анастасия Сергеевна Абузова, ординатор, кафедра медицинской генетики, Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия; ORCID: 0009-0006-0170-6963; eLibrary SPIN: 4363-6666; e-mail: abuzova.a.s@mail.ru

AUTHORS' INFO

* **Yuliya S. Zharnakova**, Research Laboratory Assistant, Scientific Laboratory of Molecular Oncology, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology; address: 68, Leningradskaia str., Saint Petersburg, Pesochny, 197758, Russia; ORCID: 0009-0002-9304-2148; eLibrary SPIN: 4106-1426; e-mail: JuliaZharnakova@yandex.ru

Aleksandr S. Martianov, Postgraduate Student, Scientific Laboratory of Molecular Oncology, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, Saint Petersburg, Russia; ORCID: 0000-0002-7690-8328; eLibrary SPIN: 8627-6407; e-mail: aleksandr.martianov@mail.ru

Evgeny N. Suspitsin, MD, PhD, Dr Med Sci, Associate Professor, Department of Medical Genetics, Saint Petersburg State Pediatric Medical University Ministry, Saint Petersburg, Russia; Senior Researcher at the Research Laboratory of Molecular Oncology, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, Saint Petersburg, Russia; ORCID: 0000-0001-9764-2090; eLibrary SPIN: 2362-6304; e-mail: suspitsin@hotmail.com

Anna S. Vasilyeva, Resident doctor, Department of Medical Genetics, Saint Petersburg State Pediatric Medical University Ministry, Saint Petersburg, Russia; ORCID: 0009-0008-1784-4943; e-mail: avasileva@ngc.clinic

Anastasia S. Abuzova, Resident doctor, Department of Medical Genetics, Saint Petersburg State Pediatric Medical University Ministry, Saint Petersburg, Russia; ORCID: 0009-0006-0170-6963; eLibrary SPIN: 4363-6666; e-mail: abuzova.a.s@mail.ru

ОБ АВТОРАХ

Глеб Валентинович Кондратьев, ассистент, кафедра онкологии, детской онкологии и лучевой терапии, Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия; ORCID: 0000-0002-1462-6907; eLibrary SPIN: 9092-3185; e-mail: spbgvk@mail.ru

Амина Магомедовна Сулейманова, ст. научн. сотрудник, Научно-исследовательский институт детской онкологии и гематологии, Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина, Москва, Россия; ORCID: 0000-0002-5489-1879; eLibrary SPIN: 8535-1683; e-mail: aminasuleymanova313@yandex.ru

Гарик Барисович Сагоян, ст. научн. сотрудник, Научно-исследовательский институт детской онкологии и гематологии, Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина, Москва, Россия; ORCID: 0000-0002-7846-3473; eLibrary SPIN: 6304-0159; e-mail: sagoyan-garik@mail.ru

Роман Вячеславович Гарбузов, д-р мед. наук, научный сотрудник, Научно-исследовательский институт хирургии детского возраста, Российский государственный медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия; заведующий отделением, врач по рентгенэндоваскулярным диагностике и лечению, заведующий междисциплинарным центром реконструктивно-пластической и сосудистой хирургии, Российская детская клиническая больница, Москва, Россия; ORCID: 0000-0002-5287-7889; eLibrary SPIN: 7590-2400; e-mail: 9369025@mail.ru

Светлана Николаевна Алексахина, канд. биол. наук, ст. научн. сотрудник, научная лаборатория молекулярной онкологии, Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова, Санкт-Петербург, Россия; ORCID: 0000-0002-2149-7728; eLibrary SPIN: 6898-4687; e-mail: aleksahina@niioncologii.ru

Евгений Наумович Имянитов, д-р мед. наук, профессор, заведующий, научный отдел биологии опухолевого роста, Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова, Санкт-Петербург, Россия; заведующий кафедрой общей и молекулярной медицинской генетики, Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия; ORCID: 0000-0003-4529-7891; eLibrary SPIN: 1909-7323; e-mail: evgeny@imyanitov.spb.ru

AUTHORS' INFO

Gleb V. Kondratiev, Assistant Professor, Department of Oncology, Saint Petersburg State Pediatric Medical University Ministry, Saint Petersburg, Russia; ORCID: 0000-0002-1462-6907; eLibrary SPIN: 9092-3185; e-mail: spbgvk@mail.ru

Amina M. Suleymanova, Senior Researcher, Oncology Research Institute of Pediatric Oncology and Hematology, N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology, Moscow, Russia; ORCID: 0000-0002-5489-1879; eLibrary SPIN: 8535-1683; e-mail: aminasuleymanova313@yandex.ru

Garik B. Sagoyan, Senior Researcher, Oncology Research Institute of Pediatric Oncology and Hematology, N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology, Moscow, Russia; ORCID: 0000-0002-7846-3473; eLibrary SPIN: 6304-0159; e-mail: sagoyan-garik@mail.ru

Roman V. Garbuzov, MD, PhD, Dr Med Sci, Researcher, Research Institute of Pediatric Surgery, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia; Head of the Department, physician specializing in X-ray endovascular diagnostics and treatment, head of the interdisciplinary center for reconstructive plastic and vascular surgery, Moscow, Russia; ORCID: 0000-0002-5287-7889; eLibrary SPIN: 7590-2400; e-mail: 9369025@mail.ru

Svetlana N. Aleksakhina, PhD, Senior researcher, Scientific Laboratory of Molecular Oncology, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, Saint Petersburg, Russia; ORCID: 0000-0002-2149-7728; eLibrary SPIN: 6898-4687; e-mail: aleksahina@niioncologii.ru

Evgeny N. Imyanitov, MD, PhD, Dr Med Sci, Professor, Head, Scientific Department of Tumor Growth Biology, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, Saint Petersburg, Russia; Head of the Department of General and Molecular Medical Genetics, Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia; ORCID: 0000-0003-4529-7891; eLibrary SPIN: 1909-7323; e-mail: evgeny@imyanitov.spb.ru

* Автор, ответственный за переписку. / Corresponding author.