

Анализ встречаемости повторяющихся мутаций в генах BRCA1, CHEK2, NBS1, CFTR, PАН и CX26 у здоровых жительниц Санкт-Петербурга

Н.Ю. Цыбакова^{1,2}, А.П. Соколенко^{1,3}, А.Г. Иевлева^{1,3}, Е.Н. Суспицын^{1,3},
Е.Н. Имянитов^{1,3,4}

¹Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия, 194100,
Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2.

²Российский НИИ гематологии и трансфузиологии, 191024, Санкт-Петербург, ул. 2-я
Советская, д. 16.

³НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова, 197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул.
Ленинградская, д. 68.

⁴Медицинская академия последипломного образования, 191015, Санкт-Петербург, ул.
Кирочная, д. 41.

e-mail: nc23397@mail.ru

Резюме:

У 400 здоровых жительниц Санкт-Петербурга проанализирована встречаемость повторяющихся мутаций, ассоциированных с наиболее частыми наследственными заболеваниями (BRCA1 5382insC, CHEK2 1100delC, NBS1 657del5, CFTR del508F, PАН R408W и CX26 35delG). Гетерозиготные мутации были обнаружены у 20 (5%) обследованных женщин: CFTR delF508 - в 9 (2,25%) случаях, CX26 35delG – в 6 (1,5%), PАН R408W – в 3 (0,75%), NBS1 657del5 – в 2 (0,5%), CHEK21100delC – в одном случае (0,25%). У одной из женщин было обнаружено сочетанное присутствие мутаций CFTR delF508 и PАН R408W. Мутация 5382insC в гене BRCA1 не была выявлена ни в одном из проанализированных случаев. Полученные данные свидетельствуют о перспективности массового скрининга в отношении некоторых частых мутаций, ассоциированных с муковисцидозом (CFTR del508F), фенилкетонурией (PАН R408W), тугоухостью (CX26 35delG), синдромом Неймеген (NBS1 657del5), в то время как тестирование генов наследственного рака молочной железы (BRCA1 5382insC, CHEK2 1100delC) целесообразно ограничивать группами риска.

Ключевые слова: гетерозиготное носительство, фенилкетонурия, муковисцидоз, наследственный рак молочной железы, наследственный рак яичников, несиндромальная тугоухость, синдром Неймеген.

BRCA1, CHEK2, NBS1, CFTR, PAH and CX26 founder mutations in healthy female residents of St. Petersburg

N.Y. Tsybakova^{1,2}, A.P. Sokolenko^{1,3}, A.G. Iyevleva^{1,3}, E.N. Suspitsin^{1,3}, E.N. Imyanitov^{1,3,4}.

¹St.-Petersburg pediatric medical academy, St.-Petersburg, Russia

²Russian Research Institute for Hematology and Transfusiology, St.-Petersburg, Russia

³N.N. Petrov Institute of Oncology, St.-Petersburg, Russia

⁴St.-Petersburg Medical Academy for Postgraduate Studies, St.-Petersburg, Russia

nc23397@mail.ru

Summary:

400 healthy female residents of St. Petersburg were analyzed for the presence of frequent founder mutations (BRCA1 5382insC, CHEK2 1100delC, NBS1 657del5, CFTR del508F, PAH R408W and CX26 35delG). Inherited gene defects were detected in 20 (5%) women. BRCA1 5382insC allele was not detected in this sample. CFTR del508F mutation was identified in 9/400 (2,25%) cases, CX26 35delG in 6/400 (1,5%), PAH R408W in 3/400 (0,75%), NBS1 657del5 in 2/400 (0,5%), and CHEK2 1100delC in 1/400 (0,25%). These results may warrant screening for recurrent mutations for cystic fibrosis (CFTR del508F), phenylketonuria (PAH R408W), non-syndromic hearing loss (CX26 35delG), Nijmegen breakage syndrome (NBS1 657del5), while the testing for hereditary breast cancer genes (BRCA1 5382insC, CHEK2 1100delC) can be restricted by women at-risk.

Key words: heterozygous carriers, phenylketonuria, cystic fibrosis, hereditary breast cancer, hereditary ovarian cancer, non-syndromic hearing loss, Nijmegen breakage syndrome.

Введение

Практические достижения в области молекулярной диагностики позволяют осуществлять скрининг мутаций, ассоциированных с наиболее частыми наследственными

патологиями. Жители Российской Федерации представляются удачным объектом для оценки целесообразности подобных профилактических программ, так как они демонстрируют удивительную генетическую гомогенность [1-4]. Действительно, для населения Российской Федерации характерна исключительно высокая частота повторяющихся мутаций, обусловленная, так называемым «эффектом основателя». Например, единственная мутация в гене BRCA1 – 5382insC – составляет около 90% всех наследственных повреждений этого гена, что значительно упрощает процесс диагностики [4-7].

Синдром семейного рака молочной железы (РМЖ) и рака яичников (РЯ) является наиболее частой наследственной патологией. На его долю приходится примерно 5-10% всех случаев РМЖ и 10-15% случаев РЯ. Это заболевание наследуется по аутосомно-доминантному типу и может вызываться мутациями в нескольких генах, участвующих в процессах репарации ДНК – BRCA1, BRCA2, CHEK2, NBS1, PALB2, RAD50, BLM, BRIP1 и т.д. У российских пациенток наиболее часто наблюдаются мутации BRCA1 5382insC, CHEK2 1100delC, NBS1 657del5 [4, 5, 8, 9], при этом поражение яичников практически исключительно связано с повреждением BRCA1 [6].

Муковисцидоз – частое наследственное моногенное заболевание, обусловленное мутацией гена CFTR, которое характеризуется системным поражением экзокринных желез и полиорганной манифестацией. В России частота заболевания составляет в среднем 1 на 9000 новорожденных, при этом она значительно различается по регионам (от 1:2370 до 1:12000) [10, 11]. На сегодняшний день описано более 1700 мутаций в гене CFTR (CFTR mutation database, <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>). Наиболее распространенной мутацией у больных европеоидной расы является F508del. Так, у пациентов Европейской части России, ее относительная частота составляет от 43% до 53%, а популяционная встречаемость варьирует от 0,5% до 0,8% [12-15].

Другим классическим примером частой наследственной патологии является фенилкетонурия. Это заболевание наследуется по аутосомно-рецессивному типу. Оно обусловлено нарушением аминокислотного обмена вследствие мутации в гене фенилаланингидроксилазы (PAH) и характеризуется преимущественным поражением ЦНС. В базе данных консорциума по изучению фенилкетонурии (<http://www.pahdb.mcgill.ca>) описано более 530 мутаций в гене PAH. Для европейских популяций мажорной мутацией является R408W. Ее частота у российских больных составляет около 60%, а встречаемость среди здорового населения достигает 0,7% [15,16].

Распространенность врожденной глухоты составляет приблизительно 1 на 1000 новорожденных. Более 50% случаев заболевания в развитых странах обусловлены генетическими причинами [17]. В России 52% случаев врожденной и доречевой двусторонней тугоухости вызваны мутацией 35delG в гене GJB2 (CX26), частота ее гетерозиготного носительства составляет 3,2%-5,9% [15,18,19].

Синдром Неймеген (Nijmegen Breakage Syndrome, NBS), названный в честь небольшого голландского города, встречается преимущественно у славян. У 90% больных с этим синдромом выявлена делеция 5 пар оснований в экзоне 6 гена NBS1 [20]. Гомозиготное носительство мутации в этом гене приводит к микроцефалии, комбинированному первичному иммунодефициту, повышенной чувствительностью к радиоактивному излучению и высоким риском развития лимфоидных опухолей [20,21]. Гетерозиготное носительство NBS1 657del5 также ассоциировано с повышенной чувствительностью к облучению и предрасположенностью к развитию злокачественных новообразований [22-27].

В данной работе мы оценили встречаемость гетерозиготного носительства перечисленных мутаций у здоровых жительниц Санкт-Петербурга.

Материалы и методы:

Материалом для исследования являлась ДНК, выделенная из лейкоцитов периферической крови 400 здоровых женщин (средний возраст: 39 лет; возрастной диапазон: 18-55лет). Выделение ДНК из лейкоцитов проводилось с помощью модифицированного соль-хлороформного метода [28].

Для детекции мутаций в генах CFTR, PАН, СНЕК2 и BRCA1 использовалась аллель-специфическая полимеразная цепная реакция (АС-ПЦР) в режиме реального времени (рисунок 1). ПЦР-амплификация проводилась в объеме 20 мкл. В состав реакционной смеси входили: 1 ед. “hot-start” Taq-полимеразы “Thermostar”, однократный ПЦР буфер, 50 нг ДНК, 1,5 – 3,0 мМ MgCl₂, по 200 мкМ каждого из дезоксинуклеотидтрифосфатов (дАТФ, дЦТФ, дГТФ, дТТФ) и 100 нМ каждого олигонуклеотида. К ПЦР-смеси добавляли интеркалирующий краситель SYBR-Green I в концентрации 0,2x (исходный раствор 10 000x; Molecular Probes). ПЦР в режиме реального времени (“real-time PCR”) проводилась на оборудовании iCycler iQ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad Laboratories, USA) и состояла из 50 циклов (денатурация: 15 сек при 95°C; отжиг: 30 сек при 60°C; синтез: 30 сек при 72°C).

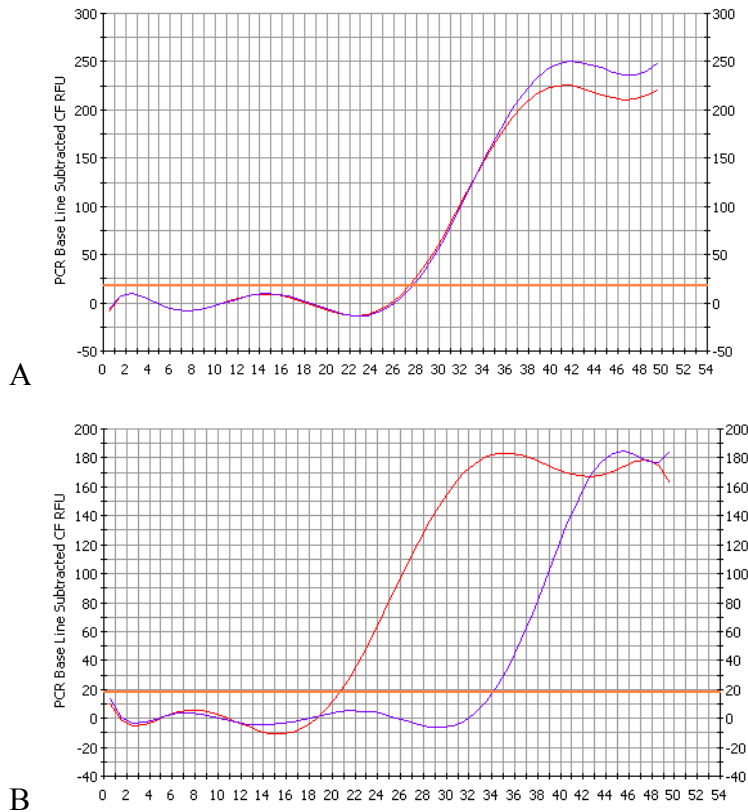


Рисунок 1. Пример детекции мутации BRCA1 5382insC. Красные кривые отражают амплификацию фрагмента с праймерами, специфичными к нормальной последовательности; фиолетовые - амплификацию фрагмента с праймерами, специфичными к мутантной последовательности. В случае гетерозиготы (А) амплификация фрагментов мутантного и нормального аллелей идет с равной эффективностью. В случае нормальной гомозиготы (Б) наблюдается четкое различие в кинетике амплификации между парами праймеров, специфичными к нормальной и мутантной последовательностям.

Мутацию в гене CX26 определяли методом высокоразрешающего плавления ПЦР-фрагментов. К ПЦР-смеси (1 ед. “hot-start” Taq-полимеразы “Thermostar”, однократный ПЦР буфер, 50 нг ДНК, 3,0 mM MgCl₂, по 200 мкМ каждого из дезоксинуклеотидтрифосфатов (дАТФ, дЦТФ, дГТФ, дТТФ) и 100 нМ каждого олигонуклеотида) добавляли интеркалирующий краситель LC Green (Idaho Technology, USA) в концентрации, рекомендованной производителем. Программа высокоразрешающего плавления заключалась в увеличении температуры на 0,1⁰ с каждым циклом (продолжительность 2 с), в интервале 75 - 95⁰. Мутации обнаруживали путем выявления температурного сдвига кривой плавления и/или изменения её формы.

Детекция мутации 657del5 в гене NBS1 осуществлялась методом полимеразной цепной реакции. Каждая реакция (суммарный объем 10 мкл) содержала 50 нг ДНК, 0,5 ед. ДНК-полимеразы, 1-кратный ПЦР-буфер (pH 8,3), 2,5 mM MgCl₂, 200 мкМ каждого из нуклеотидтрифосфатов, 0,3 мкМ прямого и обратного праймеров. Для накопления ПЦР-продукта проводилось 45 циклов амплификации (денатурация: 15 с при 95⁰С; отжиг: 30 с при 57⁰С; синтез: 30 с при 72⁰С). Полученный продукт разделяли методом электрофореза в 12% полиакриламидном геле. Аллелю дикого типа соответствовал фрагмент 82 п.о., а в случае делеции наблюдался дополнительный фрагмент 77 п.о. (рисунок 2).

Последовательности всех праймеров были подобраны самостоятельно с помощью интернет-ресурса Gene Bank и программы Gene Runner (таблица 1).

Статистическая обработка полученных данных производилась с использованием пакета прикладных программ "STATISTICA 6.0" (StatSoft) и программного обеспечения MS Office Excel 2007 (Microsoft). При сравнении частот аллелей в популяционной выборке использовался критерий Фишера. Различия считались статистически значимыми при значении $p \leq 0.05$. Определение границ значения частоты мутаций (min-max) определялось точным методом Фишера. Частота идентифицированных мутаций в популяционной выборке рассчитывалась по формуле:

$$p = n/N,$$

где n - число хромосом с мутацией, N - общее число исследованных хромосом.

Частота гетерозиготного носительства мутаций рассчитывалась по формуле:

$$P = m/M,$$

где m - число индивидов с мутацией, M - общее число человек

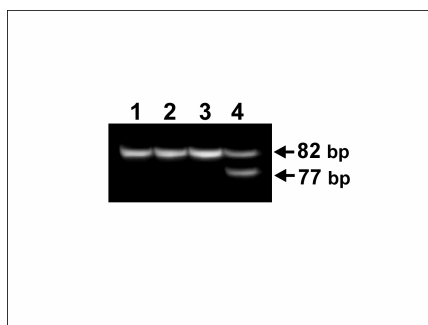


Рисунок 2. Пример детекции мутации NBS1 657del5.

Пробы 1,2,3 – нормальные гомозиготы, 4 – гетерозигота (мутантный аллель представлен фрагментом меньшей длины).

Таблица 1.

Последовательности олигонуклеотидов (праймеров), использованных в ПЦР.

Мутация	Праймер	Последовательность
CFTR del508F	common	5'-TTATGGGAGAАCTGGAGCCT-3'
	wt	5'-TCATCATAGGAAACACCAAAG-3'
	mut	5'-TTCATCATAGGAAACACCGAT-3'
PAH R408W	common	5'-CTCTAGGGAGGTGTCCGTGT-3'
	wt	5'-TAGCGAACTGAGAAGGGCCC-3'
	mut	5'-TAGCGAACTGAGAAGGGCCA-3'
CX26 35delG	forward	ACCGCCCAGAGTAGAAGATG
	reverse	TGAAGAGGACGGTGAGCCAG
NBS1 657del5	forward	5'-TGATCTGTCAGGACGGCAG-3'
	reverse	5'-CATAATTACCTGTTTGGCATTС-3'
CHEK2 1100delC	common	5'-CTGATCTAGCCTACGTGTCT-3'
	wt	5'-TTGGAGTGCCCAAАATCAGT-3'
	mut	5'-CTTGGAGTGCCCAAАATCAT-3'
BRCA1 5382insC	common	5'-AGAACCTGTGTGAAAGTATCTAGCACTG-3'
	wt	5'-AAGCGAGCAAGAGAATTCCAG-3'
	mut	5'-AGCGAGCAAGAGAATTCCCA-3'

Результаты и обсуждение.

В рамках данной работы было выполнено генотипирование 6 мутаций: CFTR delF508, PАН R408W, NBS1 657del5, CX26 35delG, CHEK2 1100delC, BRCA1 5382insC (таблица 2). Чаще других, у 9 из 400 женщин (2,25%), обнаруживалась мутация CFTR delF508. Встречаемость делеции 35delG в гене CX26 составляла 1,5% (6 из 400 женщин), аллеля PАН R408W – 0,75% (3 из 400), NBS1 657del5 – 0,5% (2 из 400), CHEK2 1100delC – 0,25% (1 из 400). Мутация BRCA1 5382insC не была выявлена ни в одном из проанализированных случаев. У 1 из 400 женщин было зарегистрировано одновременно две мутации – CFTR delF508 и PАН R408W. В целом наследственные мутации определялись у 5% (20/400) здоровых жительниц Санкт-Петербурга.

Таблица 2

Встречаемость повторяющихся наследственных мутаций у здоровых жительниц Санкт-Петербурга

Заболевание	Мутация	Частота гетерозиготных носительниц
Муковисцидоз	CFTR delF508	1/44
Фенилкетонурия	PАН R408W	1/133
Нейросенсорная тугоухость	CX26 35delG	1/67
Синдром Неймеген; рак молочной железы	NBS1 657del5	1/200
Рак молочной железы	CHEK2 1100delC	1/400
Рак молочной железы, рак яичников	BRCA1 5382insC	0/400

Частота мутаций PАН R408W и CFTR del508F, установленная в нашей работе, соответствует результатам других исследователей [12, 15]. Аналогичный вывод можно

сделать в отношении мутации CX26 35delG [15], хотя в работе Журавского С.Г. и соавт. [19] были представлены более высокие показатели встречаемости данного генетического дефекта в группе здоровых жителей Северо-Западного региона России.

Значительный интерес представляют результаты, полученные нами при скрининге мутации NBS1 657del5. В гомозиготном состоянии это повреждение приводит к синдрому Неймеген, в то время как у гетерозиготных носительниц данной делеции существенно повышен риск развития рака молочной железы [6, 8]. В нашей работе мутация была обнаружена у 2 (0,5%) из 400 женщин, что соответствует литературным данным по популяционной частоте у славянских народов - в Польше, Чехии, Украине и России [8, 24, 30]. Согласно этим данным, расчетная частота синдрома Неймегена может достигать 1:160000, соответственно, в Санкт-Петербурге должно быть около 20 таких пациентов.

Молекулярно-генетический анализ мутаций BRCA1 5382insC и мутации CHEK2 1100delC в выборке здоровых женщин продемонстрировал их низкую популяционную частоту. Считается, что мутация 5382insC BRCA1 может встречаться в случайной выборке здоровых людей с частотой 0,2-1% [31], однако, в нашем исследовании не было обнаружено ни одного случая такого повреждения. Частота гетерозиготного носительства аллеля CHEK2 1100delC составила всего 1/400 (0,25%), что соответствует ранее полученным данным для здоровых женщин Северо-Запада России [9]. По-видимому, профилактическое тестирование этих мутаций целесообразно ограничить группой женщин, у которых имеются клиничко-анамнестические данные в пользу предрасположенности к раку молочной железы, и, возможно, другим онкологическим заболеваниям.

Таким образом, согласно нашим данным, каждая 20 женщина в Санкт-Петербурге является гетерозиготной носительницей одного из повреждённых аллелей (CFTR delF508, PАН R408W, NBS1 657del5, CX26 35delG), которые в гомозиготном состоянии могут стать причиной тяжелого наследственного заболевания. Столь высокая частота перечисленных мутаций может являться аргументом в пользу профилактического тестирования здоровых индивидуумов; в первую очередь, подобный молекулярно-генетический скрининг должен быть ориентирован на здоровых лиц, вступающих в брак или планирующих репродуктивные решения.

Данная работа выполнена при поддержке грантов РФФИ (№ 10-04-00962-а), Министерства образования и науки Российской Федерации (№ 02.740.11.0780) и Правительства Москвы (№ 15/11-Ген-М).

Список литературы:

1. Balanovsky O., Rootsi S., Pshenichnov A., Kivisild T., Churnosov M., Evseeva I., Pocheshkhova E., Boldyreva M., Yankovsky N., Balanovska E., Villems R. Two sources of the Russian patrilineal heritage in their Eurasian context // *Am. J. Hum. Genet.* – 2008. – Vol. 82. – P.236-50.
2. Ferla R., Calo V., Cascio S., Rinaldi G., Badalamenti G., Carreca I., Surmacz E., Colucci G., Bazan V., Russo A. Founder mutations in BRCA1 and BRCA2 genes // *Ann. Oncol.* – 2007. – Vol.18. (Suppl 6) – P.93-98.
3. Iyevleva A.G., Suspitsin E.N., Kroeze K., Gorodnova T.V., Sokolenko A.P., Buslov K.G., Voskresenskiy D.A., Togo A.V., Kovalenko S.P., Stoep N., Devilee P., Imyanitov E.N. Non-founder BRCA1 mutations in Russian breast cancer patients // *Cancer Lett.* – 2010. – Vol.298. – P.258-63.
4. Sokolenko A.P., Rozanov M.E., Mitiushkina N.V., Sherina N.Y., Iyevleva A.G., Chekmariova E.V., Buslov K.G., Shilov E.S., Togo A.V., Bit-Sava E.M., Voskresenskiy D.A., Chagunava O.L., et al. Founder mutations in early-onset, familial and bilateral breast cancer patients from Russia. // *Fam. Cancer* – 2007. – Vol.6. – P.281-286.
5. Grudinina N.A., Golubkov V.I., Tikhomirova O.S., Brezhneva T.V., Hanson K.P., Vasilyev V.B., Mandelshtam M.Y., Prevalence of widespread BRCA1 gene mutations in patients with familial breast cancer from St. Petersburg // *Russ. J. Genet.* – 2005. – Vol.41. – P.318-322.
6. Suspitsin E.N., Sherina N.Y., Ponomariova D.N., Sokolenko A.P., Iyevleva A.G., Gorodnova T.V., Zaitseva O.A., Yatsuk O.S., Togo A.V., Tkachenko N.N., Shiyanov G.A., Lobeiko O.S., Krylova N.Y., Matsko D.E., Maximov S.Y., Urmancheyeva A.F., Porhanova NV, Imyanitov E.N. High frequency of BRCA1, but not CHEK2 or

- NBS1 (NBN), founder mutations in Russian ovarian cancer patients // *Hered. Cancer. Clin. Pract.* – 2009. – Vol. 7. – P.5.
7. Tereschenko I.V., Basham V.M., Ponder B.A., Pharoah P.D. BRCA1 and BRCA2 mutations in Russian familial breast cancer // *Hum. Mutat.* – 2002. Vol.19. – P.184.
 8. Buslov K.G., Iyevleva A.G., Chekmariova E.V., Suspitsin E.N., Togo A.V., Kuligina E.Sh., Sokolenko A.P., Matsko D.E., Turkevich E.A., Lazareva Y.R., Chagunava O.L., Bit-Sava E.M., Semiglazov V.F., Devilee P., Cornelisse C., Hanson K.P., Imyanitov E.N. NBS1 657del5 mutation may contribute only to a limited fraction of breast cancer cases in Russia // *Int. J. Cancer.* – 2005. – Vol.114. – P.585-589.
 9. Chekmariova E.V., Sokolenko A.P., Buslov K.G., Iyevleva A.G., Ulibina Y.M., Rozanov M.E., Mitiushkina N.V., Togo A.V., Matsko D.E., Voskresenskiy D.A., Chagunava O.L., Devilee P., Cornelisse C., Semiglazov V.F., Imyanitov E.N. CHEK2 1100delC mutation is frequent among Russian breast cancer patients // *Breast. Cancer. Res. Treat.* – 2006. – Vol.100. – P.99-102.
 10. Капранов Н.И., Радионович А.М., Каширская Н.Ю. и др. Муковисцидоз: современные аспекты диагностики и лечения // *Клиницист.* – 2006. – № 4. – С. 42–51.
 11. Толстова В.Д., Каширская Н.Ю., Капранов Н.И. Массовый скрининг новорожденных на муковисцидоз в России // *Фарматека.* – 2008. – №1. – С.1–5.
 12. Потапова О.Ю. Молекулярно-генетический анализ кистозного фиброза в России: автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – С.-Петербург: НИИЭМ РАМН. -1994.-21 с.
 13. Иващенко Т.Э., Баранов В.С. Биохимические и молекулярно-генетические основы патогенеза муковисцидоза. – СПб.: Интермедика, 2002 –256с.
 14. Гурина, И.В. Частота выявления мутации delF508 гена муковисцидоза в популяции города Новосибирска и ее связь с различными видами патологии // *Бюллетень Сибирского отделения РАМН.* – 2006. – Вып.4(122). – С. 141-142.
 15. Зинченко Р.А., Ельчинова Г.И., Галкина В.А. и др. Дифференциация этнических групп России по генам наследственных болезней // *Мед. генетика.* – 2007. – Т. 6, №2 (56). – С. 29–37.
 16. Аничкина А.А., Гаврилюк А.П., Тверская С.М., Поляков А.В. Анализ наиболее часто встречающихся мутаций в гене фенилаланингидроксилазы у больных фенилкетонурией // *Мед. генетика.* – 2003. – Т.2, №4. – С.175-181.
 17. Petersen M., Willems B.P. Non-syndromic, autosomal-recessive deafness // *Clin. Genet.* – 2006. – Vol. 69. – P.371-392.

18. Гаварткиладзе Г.А., Поляков А.В., Маркова Т.Г., Лалаянц М.Р., Близнец Е.А. генетический скрининг нарушений слуха у новорожденных, сочетанный с аудиологическим скринингом // Вестн. оторинолар. – 2010. – №3. – С.15-18.
19. Журавский С.Г., Тараскина А.Е., Сетхиясиилиани Т.К. и др. Молекулярно-генетические аспекты прелингвальной сенсоневральной тугоухости // Рос. оторинолар. –2004. –Т.4, №11 – С.42-44.
20. The International Nijmegen Breakage Syndrome Study Group // Arch. Dis. Child. – 2000. – Vol. 82(5). – P. 400-406.
21. Varon R., Vissinga C., Platzer M. et al. Nibrin, a novel DNA double-strand break repair protein, is mutated in Nijmegen breakage syndrome // Cell. – 1998. – Vol. 93. – P. 467-476.
22. Hall J., Angèle S. Radiation, DNA damage and cancer // Mol. Med. Today. – 1999. – Vol. 5(4). – P.157-64.
23. Alessandra di Masi and Antonio Antoccia NBS1 Heterozygosity and Cancer Risk // Curr. Genomics. – 2008 – Vol. 9(4) – P. 275-281.
24. Resnick I.B, Kondratenko I., Pashanov E., Maschan A.A., et al. 657del5 Mutation in the Gene for Nijmegen Breakage Syndrome (NBS1) in a Cohort of Russian Children With Lymphoid Tissue Malignancies and Controls // Am. J. Med. Genet. – 2003. – Vol.120A. – P.174-179.
25. Kostyuchenko L., Makuch H., Kitsera N., et al. Nijmegen breakage syndrome in Ukraine: diagnostics and follow-up // Centr. Eur. J. Immunol. – 2009. – Vol. 34 (1) – P.46-52.
26. Cheung V.G., Ewens W.J. Heterozygous carriers of Nijmegen Breakage Syndrome have a distinct gene expression phenotype // Genome Res. – 2006. – Vol. 16 (8). – P. 973-979.
27. Кременецкая О.С., Асеева Е.А., Неверова А.Л., Домрачева Е.В. Генетическая предрасположенность к лейкозам, возникающим после применения противоопухолевой терапии: анализ данных литературы. // Клини. онкогематология – 2011. – №2. – С. 111-119.
28. Müllenbach R., Lagoda P.J., Welter C. An efficient salt-chloroform extraction of DNA from blood and tissues // Trends. Genet. – 1989. – V. 5. – P. 391.
29. Anichkina A., Kulenich T., Zinchenko S. et al. On the origin and frequency of the 35delG allele in GJB2-linked deafness in Europe // Eur. J. Hum. Genet. – 2001. – Vol.9. – P. 151.

30. Varon R., Seemanova E., Chrzanowska K., Hnateyko O., Piekutowska-Abramczuk D., Krajewska-Walasek M., Sykut-Cegielska J., Sperling K., Reis A. Clinical ascertainment of Nijmegen breakage syndrome (NBS) and prevalence of the major mutation, 657del5, in three Slav populations // *Eur. J. Hum. Genet.* – 2000. – Vol. 8(11). – P.900-2.
31. Sokolenko A.P., Voskresenskiy D.A., Iyevleva A.G., Bit-Sava E.M., Gutkina N.I., Anisimenko M.S., Sherina N.Yu., Mitiushkina N.V., Ulibina Y.M., Yatsuk O.S., Zaitseva O.A., Suspitsin E.N., Togo A.V., Pospelov V.A., Kovalenko S.P., Semiglazov V.F., Imyanitov E.N. Large family with both parents affected by distinct BRCA1 mutations: implications for genetic testing // *Hered. Cancer Clin. Pract.* – 2009. – 7(1):2.