

# Генетическая диагностика анемии Фанкони. Обзор литературы

А.В. Панферова, Н.М. Тимофеева, Ю.В. Ольшанская

ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева»  
Минздрава России; Россия, 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1

Контакты: Агнеса Владимировна Панферова a.panfyorova@gmail.com

В обзоре литературы представлена информация по генетической диагностике анемии Фанкони: описаны применяемые в настоящее время методы генетического анализа, приведены спектр мутаций и частота их распространения, в том числе относительно различных популяций, описаны схема и порядок проведения молекулярно-генетических методик исследования. В статье обозначены проблемы генетической диагностики анемии Фанкони в мире и в частности в Российской Федерации.

**Ключевые слова:** анемия Фанкони, методы генетического анализа, мутации, молекулярно-генетические методики исследования

DOI: 10.17650/1818-8346-2016-11-3-76-85

## Genetic diagnosis of Fanconi anemia. Literature review

A.V. Panferova, N.M. Timofeeva, Yu. V. Ol'shanskaya

Federal Research Institute of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology named after Dmitry Rogachev; 1 Samory Mashela St.,  
Moscow, 117997, Russia

The literature review provides information on genetic diagnosis of Fanconi anemia: currently used methods of genetic analysis, spectrum and frequency of mutations, including in different populations, and order of molecular genetic methods are described. Problems of genetic diagnosis of Fanconi anemia in the world and in particular in the Russian Federation are also presented.

**Key words:** Fanconi anemia, methods of genetic analysis, mutations, molecular genetic methods

Анемия Фанкони (АФ) является синдромом нестабильности генома, это наследственное аутосомно-рецессивное заболевание с вариабельной пенетрантностью и генетической гетерогенностью. К настоящему моменту описано более 2 тыс. случаев АФ. Частота гетерозиготного носительства существенно различается в разных популяциях. Традиционно указывалась цифра 1:300, по последним данным североамериканского регистра она составляет 1:181, в Израиле — 1:93 [1–3].

Описан ряд генов, мутации в которых могут приводить к развитию АФ или схожих состояний (см. таблицу) [4, 5]. Мутации в генах выявляют как в случаях с характерными аномалиями развития и симптомами костномозговой недостаточности, так и в случаях без анемии или каких-либо пороков развития. Выраженность последних может значительно различаться даже в пределах одной семьи, около 6 % больных вообще не имеют никаких аномалий развития. Следует дифференцировать АФ и ряд клинически схожих врожденных состояний: врожденный дискератоз, анемию Даймонда–Блекфена, синдром Швахмана–Даймонда, синдром VACTERL, синдром CHARGE, синдром TAR и ряд других [6–9]. Этнически закрепленные мутации, в основе распространения которых лежит «эффект основателя» — потеря генетической вариабельности в результате формирования популяции небольшим

числом предков, свойственны относительно небольшим популяциям. Такие мутации описаны у евреев ашкенази, испанских цыган, голландцев, выходцев с Канарских островов, а также у жителей Южной Африки и Кореи [10–14]. В некоторых из этих популяций частота носительства этнически закрепленных мутаций довольно высока и оценена приблизительно как 1:100 [12–14].

Частота встречаемости тех или иных мутаций в российской популяции не изучена.

### Генетические группы

В настоящее время известно 19 генов, связанных с развитием АФ. Один из них — *FANCB* — находится на X-хромосоме, остальные — на аутосомах. Каждый из этих генов отвечает за синтез определенного протеина, так или иначе участвующего в процессе репарации ДНК.

Генетические подгруппы АФ, связанные с наличием мутаций в одном и том же гене, принято называть группами комплементации. Определение групп комплементации основано на возможности клеточных линий, полученных от пациентов с мутациями в разных генах АФ, функционально дополнять друг друга: происходит преодоление остановки клеточного цикла в фазе G2/M при слиянии или существенное снижение числа характерных поломок в тесте с алкилирую-

Гены, мутации в которых могут приводить к развитию анемии Фанкони, основные подходы при молекулярно-генетическом анализе, частота встречаемости, клинические и демографические особенности заболевания

№	Ген	Частота встречаемости мутаций, %	Исследование	Функция	Особенности	Ссылки
1	<i>FANCA</i>	60–70	MLPA, секвенирование	Core complex моноубиквитинирование ID complex	Вариабельность выраженности клинических проявлений. Большое разнообразие мутаций, около 40 % составляют крупные делеции. Есть этнически ассоциированные мутации	[10, 22, 23, 25, 26]
2	<i>FANCB</i>	~2	MLPA, секвенирование	Core complex моноубиквитинирование ID complex	X-связанное наследование, гетерозиготы	[39]
3	<i>FANCC</i>	~14	ПЦР, ПЦР в РВ, MLPA, секвенирование	Core complex моноубиквитинирование ID complex	90 % случаев представлено двумя мутациями с.711+4A>T (ассоциирована с тяжелыми клиническими проявлениями у евреев ашкенази) и delG332 (сравнительно легкое течение, 50 % случаев анемии Фанкони у голландцев)	[32–35]
4	<i>FANCD1/BRCA2</i>	~3	Секвенирование	Эффекторные протеины, гомологичная рекомбинация	Раннее и частое развитие опухолей/лейкоза. Гетерозиготное носительство ассоциировано с развитием рака молочной железы и яичников	[45, 68]
5	<i>FANCD2</i>	~3	Секвенирование	ID complex, передача сигнала эффекторным протеинам		[40]
6	<i>FANCE</i>	~3	Секвенирование	Core complex моноубиквитинирование ID complex		[36]
7	<i>FANCF</i>	~2	Секвенирование	Core complex моноубиквитинирование ID complex		[36]
8	<i>FANCG/YRCC9</i>	~10	Секвенирование	Core complex	Раннее развитие миелодисплазии/лейкоза	[12, 36–38]
9	<i>FANCI</i>	~1	Секвенирование	ID complex передача сигнала эффекторным протеинам		[20, 21, 68]
10	<i>FANCI/BRIP1</i> или <i>BACH1</i>	~2	секвенирование	Downstream proteins Гомологичная рекомбинация		[72]
11	<i>FANCL/POG</i>	~0,2	Секвенирование	Core complex моноубиквитинирование ID complex		[41]
12	<i>FANCM</i>	~0,2	Секвенирование	Core complex моноубиквитинирование ID complex		[42]
13	<i>FANCN/PALB2</i>	~0,7	MLPA, секвенирование	Downstream proteins Гомологичная рекомбинация	Раннее и частое развитие опухолей/лейкоза	[43]
14	<i>FANCO/RAD51C</i>	Единичные случаи	MLPA, секвенирование	Downstream proteins Гомологичная рекомбинация	Гетерозиготное носительство ассоциировано с развитием рака молочной железы и яичников	[70]
15	<i>FANCP/SLX4</i>	~0,2	Секвенирование	Downstream proteins Нуклеазный комплекс, эксцизия нуклеотидов		[71]
16	<i>FANCO/ERCC4</i>	~0,2	Секвенирование	Downstream proteins Нуклеазный комплекс, эксцизия нуклеотидов		[73]
17	<i>FANCR/RAD51</i>	Единичные случаи	Секвенирование	Downstream proteins Гомологичная рекомбинация		[74]
18	<i>FANCS/BRCA1</i>	Единичные случаи	Секвенирование	Downstream proteins Гомологичная рекомбинация	Гетерозиготное носительство ассоциировано с развитием рака молочной железы и яичников	[75]
19	<i>FANCT (UBE2T)</i>	Единичные случаи	Секвенирование	Взаимодействие с core complex		[4]

**Примечание.** MLPA – мультиплексная амплификация лигазосвязанных проб; ПЦР в РВ – полимеразная цепная реакция в режиме реального времени.

щими агентами [15, 16]. При наличии мутаций в одном и том же гене этого не происходит. Такой подход позволяет лишь выявить ген, в котором произошла мутация, без ее точного определения. По этому принципу выделены основные группы – группы комплементарности: FA-A, -B, -C, -D1, -D2, -E, -F, -G, -I, -J, -L, -M, -N, -O. Для некоторых крайне редких вариантов они пока не обозначены. Клеточные линии для такого анализа получают путем культивирования лимфоцитов больного АФ с известной мутацией либо преимущественно генно-инженерным путем – трансфекцией ретровирусного вектора, экспрессирующего соответствующую форму протеина [16, 17].

### Патогенез

Нарушение структуры ДНК является результатом воздействия как внешних, так и внутренних факторов. В клетке спонтанно происходит повреждение ДНК (распад оснований) в результате дезаминирования (гуанина, цитозина и аденина) или потеря пуриновых оснований – депуринизация. Кроме того, в процессах микросомального окисления и тканевого дыхания, а также в различных ферментативных реакциях образуются и могут накапливаться активные формы кислорода, кислородные радикалы и пероксиды – наиболее распространенные и хорошо изученные молекулы, повреждающие ДНК. Другим классом веществ, представляющих внутреннюю угрозу, являются эндогенные альдегиды, образующиеся в процессе перекисного окисления липидов, реакциях гликозилирования и при окислении радикалов некоторых свободных аминокислот. Особенно опасно для ДНК накопление формальдегида. К внешним факторам повреждения ДНК относятся ионизирующее и ультрафиолетовое облучение, воздействие химических мутагенов [18].

При воздействии как внутренних, так и внешних факторов повреждение ДНК происходит в результате алкилирования, окисления, восстановления, связывания с формальдегидными группами оснований. В итоге происходят изменения одного или нескольких оснований, вставки и делеции, образование тиминовых димеров, одно- и двухцепочечные разрывы ДНК, образование поперечных связей (сшивок) между основаниями одной цепи или комплементарными цепями ДНК, между ДНК и белковыми молекулами [19].

Несмотря на это, в целом геном остается свободным от «ошибок», так как клетка имеет механизмы детекции и репарации поврежденной ДНК. Поврежденное основание может быть восстановлено непосредственно его заменой или обратной химической реакцией (direct repair), в других случаях необходимы более сложные процессы, обеспечивающие удаление поврежденного участка ДНК и достраивание правильной последовательности с использованием комплементарной цепи, редко – гомологичной хромосомы. Такая репарация ДНК – сложный многоступенчатый процесс взаимодействия нескольких каскадных путей.

Одни механизмы могут быть задействованы при исправлении различных повреждений, и сам процесс репарации так или иначе происходит на разных этапах клеточного цикла [19].

При АФ нарушается способность клетки исправлять определенный тип повреждений ДНК – поперечные межхроматидные сшивки (DNA interstrand cross-link), которые препятствуют работе репликационной вилки. Поперечные межхроматидные сшивки формируются как под воздействием продуктов естественного метаболизма клетки (в первую очередь эндогенных альдегидов, но также и активных форм кислорода), так и под воздействием химических веществ, в частности химиотерапевтических препаратов. К такому типу химических веществ относятся алкилирующие соединения, имеющие в своем составе 2 активные (в результате свободной валентности) алкильные группы, обеспечивающие им активное связывание с определенными основаниями. Это такие вещества, как цисплатин, митомицин С, азотистый иприт, псорален, диэпоксидбутан, мелфалан, циклофосфамид, мустарген, стрептозоцин и другие препараты этих групп. Они существенно различаются по химическому строению и повреждающему потенциалу. Алкилирующие агенты вызывают и другие повреждения ДНК, и поперечные межхроматидные сшивки составляют лишь небольшую их часть. Описаны алкилирующие агенты со специфичностью к определенным сайтам ДНК [20].

Протеины, функция которых нарушается при АФ, задействованы во всех этапах репарации межхроматидной поперечной сшивки. Этот сложный многоступенчатый процесс получил название FA-pathway, а протеины, задействованные в нем, – АФ-протеины [20, 77].

Ключевую роль в этом процессе играет моноубиквитинирование гена *FANCD2*, который координирует процессы вырезки поврежденных нуклеотидов, прямое достраивание поврежденного участка и гомологичную рекомбинацию [21]. Этот процесс схематично представлен на рис. 1–6.

При АФ клетка неспособна адекватно исправлять повреждения ДНК, накопление поломок которой может приводить к недостаточности кроветворения, аномалиям развития и предрасположенности к развитию опухолей.

### Спектр мутаций

**FA/CA.** Мутации в гене *FANCA* самые распространенные и встречаются в 60–70 % случаев АФ [5, 25, 26]. Их разнообразие очень высоко относительно небольшого числа пациентов. Известно более 100 мутаций, из которых около трети приходится на точковые, еще треть представляют микроделеции, и около 40 % представлены крупными делециями [27–29]. Описаны также и малые дупликации [30].

По действию мутации в гене *FANCA* могут быть гипоморфными – т. е. приводить к частичной потере

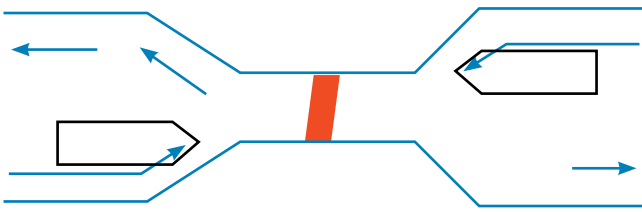


Рис. 1. Две репликационные вилки сходятся в месте образования межхроматидной поперечной сшивки

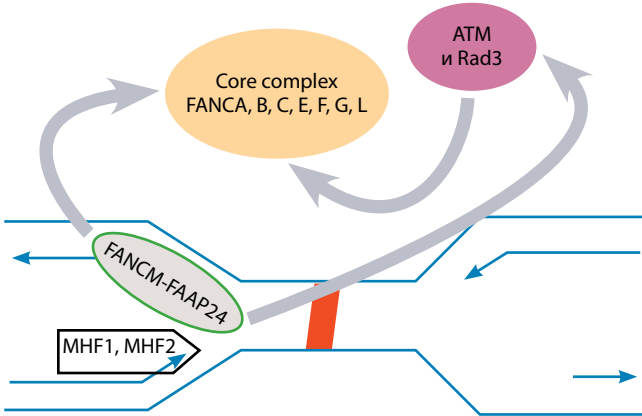


Рис. 2. Протеин FANCM подходит к месту повреждения и, образуя димер с FAAP24 (FA-associated protein 24 kDa), инициирует процесс репарации. Он привлекает к поврежденному участку комплекс факторов для стабилизации репликационной вилки (histone fold proteins 1 and 2, MHF1, MHF2); активирует сборку core complex; активирует ATR-опосредованный сигнальный путь, запускающий фосфорилирование протеинов, участвующих в развитии анемии Фанкони (АФ-протеинов), и контролирующей ход клеточного цикла (ATM и Rad3-mediated check-point signaling) [22, 23]. АФ-протеины образуют так называемый core complex (FANCA, B, C, E, F, G, L), в котором субъединица FANCL представляет собой убиквитинлигазу E3, которая катализирует процесс моноубиквитинирования (присоединение одной молекулы убиквитина) белков FANCD2 и FANCI

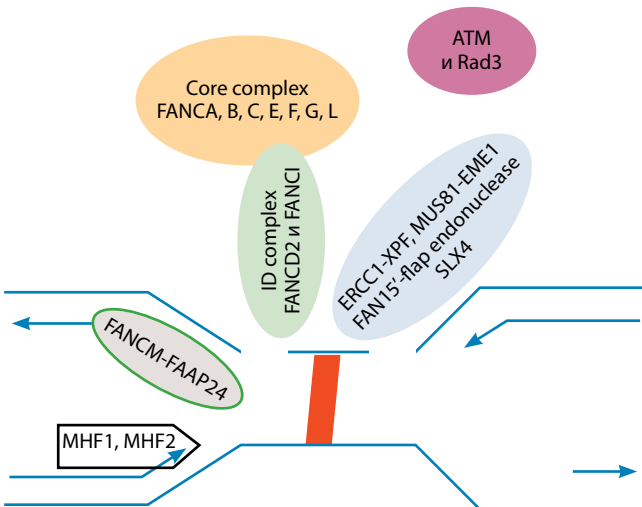


Рис. 3. Эксицизия (вырезание) нуклеотидов. Протеины FANCD2 и FANCI образуют гетеродимерный комплекс (ID-комплекс), моноубиквитинирование которого обеспечивает его перемещение к участку поврежденной ДНК [20, 21]. ID-комплекс непосредственно координирует эксизицию нуклеотидов поперечной сшивки из цепей ДНК, взаимодействуя с целым комплексом эндонуклеаз (ERCC1-XPF, MUS81-EME1, FAN1 5' flap endonuclease) и недавно открытым протеином FANCP (SLX4)

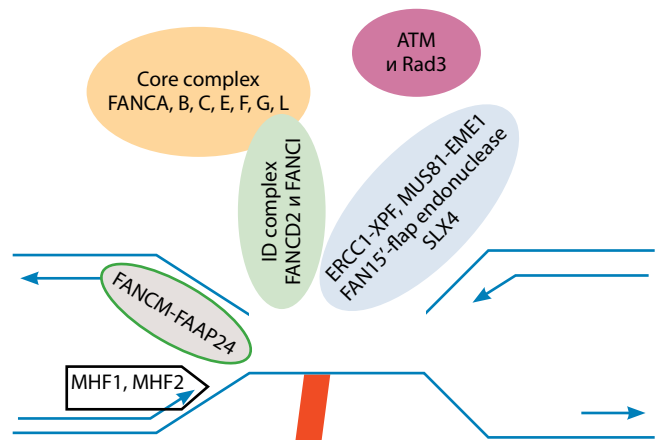


Рис. 4. В результате эксизиции на первой нити ДНК образуется двухцепочечный разрыв, на второй целой нити остается незакрепленный участок ДНК с поперечной сшивкой

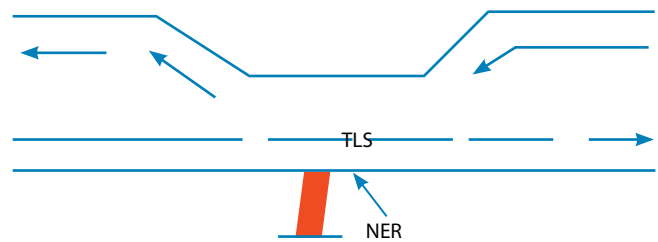
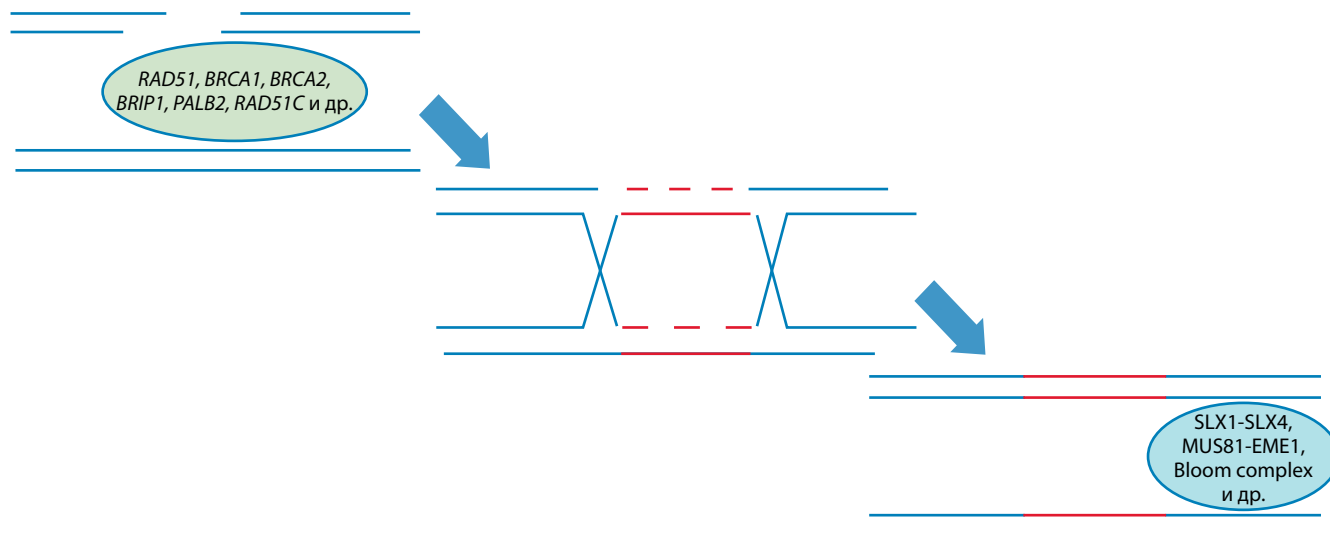


Рис. 5. На второй нити процесс репликации может продолжаться и последовательность достраивается (заполняется) комплементарно противоположной цепи путем прямого достраивания (translesion DNA synthesis, TLS). Незакрепленный участок ДНК с поперечной сшивкой затем удаляется с помощью механизма репарационной эксизиции нуклеотидов (NER)

функции белка, они характеризуются более мягкими клиническими проявлениями, однако большая часть мутаций вызывает полную потерю функции.

Ряд мутаций в гене *FANCA* имеет повышенную частоту распространения. Так, микроделеция в 38-м экзоне с.3788\_3790delTCT – самая распространенная мутация при АФ в мире (20,7 % всех аллелей с мутацией). При этом она встречается у 80 % пациентов с АФ с Канарских островов, где частота встречаемости АФ достигает 1:16000 новорожденных. Кроме того, эта мутация встречается в 51 % случаев АФ в Бразилии. Для подтверждения «эффекта основателя» для данной мутации был проведен анализ гаплотипа пациентов путем изучения варибельных tandemных повторов и однонуклеотидных полиморфизмов гена *FANCA* у 28 пациентов с мутацией с.3788\_3790delTCT из различных частей света. Все, за исключением 1 пациента, имели общего предка. По всей видимости, Канарские острова послужили местом происхождения и распространения заболевания из Европы в Америку, так как несколько веков назад практически все суда из Испании в Америку шли через Канарские острова [10]. Однако, учитывая, что эта мутация тем не менее составляет 2–5 % всех *FANCA*-мутаций, существует также и мнение, что она связана с явлением существования определенных участков генома с повышенной мута-



**Рис. 6.** Гомологичная рекомбинация. Образовавшийся на первой нити двухцепочечный разрыв исправляется путем гомологичной рекомбинации, ключевую роль в которой играют *RAD51*, *BRCA1*, *FANCD1 (BRCA2)*, *BRCA1*, взаимодействуя с другими протеинами – *FANCI (BRIP1 или BACH1)*, *FANCN (PALB2)*, *FANCP (SLX4)*, *FANCO (RAD51C)* [20, 21]. В качестве матрицы для восстановления последовательности может использоваться уже достроенная гомологичная цепь. При этом АФ-протеины тормозят процесс негомологичной рекомбинации, при которой двухцепочечные разрывы сшиваются с негомологичной последовательностью, приводя к дальнейшему накоплению ошибок

ционной способностью, так называемым hotspot [31]. Другой пример «эффекта основателя» – мутация с.295C>T, которую выявляют почти во всех случаях АФ у испанских цыган. При этом носительство этой мутации среди испанских цыган определено как 1:67 [10].

Функционально и фенотипически варианты мутаций в гене *FANCA* проявляются одинаково – в отличие от мутаций, например, в гене *FANCC*, когда клинические проявления при одном варианте мутации могут сильно различаться даже у сиблингов.

***FANCC*.** Мутации в гене *FANCC* встречаются в 10–15 % случаев АФ, почти 90 % случаев представлено двумя мутациями – с.711+4A>T и delG332 [32]. Самая частая мутация в гене *FANCC* – с.711+4A>T, ее выявляют в гомозиготном состоянии в 80 % случаев АФ у евреев ашкенази, и она проявляется сравнительно тяжелым фенотипом. Частота гетерозиготного носительства этой мутации среди евреев ашкенази достигает 40 % [33]. При этом встречаются и случаи спорадических вариантов.

Генотип *FANCC* с.711+4A>T также распространен среди больных АФ в Японии, однако имеет менее тяжелые фенотипические проявления [34]. В Нидерландах более чем 50 % случаев АФ – это гомозиготные носители мутации с.67delG (также известна как delG332), приводящей к сдвигу рамки считывания в гене *FANCC*. Фенотип, ассоциированный с этой мутацией, как и в случае других мутаций в экзоне 1 гена *FANCC*, имеет относительно легкие проявления. Эти пациенты редко имеют скелетные изменения, а недостаточность костного мозга проявляется в относительно позднем возрасте [35].

***FANCG*.** *FANCG* задействован в 10 % случаев АФ, встречаются практически все типы мутаций, за исключением крупных делеций [36, 37]. Клинически эти

случаи характеризуются более частым и быстрым развитием миелодисплазии или лейкоза [38]. Встречаются как спорадические случаи, так и этнически ассоциированный вариант – около 80 % случаев АФ у чернокожих южноафриканцев (Bantu-speakers) (Южная Африка, Свазиленд, Малави и Мозамбик) имеют мутацию 637\_643delTACCGCC. Заболевание характеризуется частыми нарушениями пигментации кожи, слабовыраженными аномалиями развития и сравнительно поздними, но тяжелыми гематологическими проявлениями, обусловленными в том числе и поздним обращением к врачу [12].

Мутации остальных генов встречаются довольно редко, их спектр приведен в таблице.

**Мутации в генах предрасположенности к раку молочной железы (PMЖ).** В редких случаях АФ и АФ-подобных синдромов выявляют биаллельные мутации в генах, известных как гены предрасположенности к развитию PMЖ, – *FANCD1/BRCA2*, *FANCI/BRIP1*, *FANCN/PALB2*, *FANCO/RAD51C* и *FANCS/BRCA1*. Они осуществляют процесс гомологичной рекомбинации (наряду с другими генами) в ходе репарации двухцепочечных разрывов ДНК (FA/BRCA-pathway). В литературе описаны 35 случаев АФ с мутациями в *FANCD1/BRCA2* и 8 случаев – с мутациями в *FANCN/PALB2* [5, 43]. Особенностью заболевания с мутациями в генах *FANCD1/BRCA2* и *FANCN/PALB2* является развитие в раннем возрасте (медиана 2,2 года) опухолей мозга (медуллобластома), нефробластом, острого миелобластного лейкоза (ОМЛ) [43–45]. Мутации в других генах описаны у крайне небольшого числа пациентов.

Имеют ли повышенный риск развития рака носители мутаций в генах АФ, является важным вопросом и направлением современных эпидемиологических исследований. Хорошо известно, что носительство

определенных гетерозиготных мутаций в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *SLX4*, *XPE*, *PALB2* в той или иной степени ассоциировано с повышенным риском развития РМЖ, рака яичников, пищевода и ряда других [46]. В исследовании М. Verwick и соавт. (2007) было показано повышение частоты заболеваемости РМЖ у пожилых женщин с гетерозиготным носительством *FANCC* с.711+4A>Т мутации (эти пациентки являлись бабушками больных АФ), при том что в общей группе повышенного риска развития РМЖ выявлено не было [47]. Описаны единичные семейные случаи раннего развития РМЖ с мутациями в гене *BACH/BRIP/FANCI* [48].

При диагностике АФ и дальнейшем генетическом консультировании семьи необходимо точно выяснять семейный онкологический анамнез, особое внимание уделяя необычно раннему развитию ряда опухолей, двустороннему раку молочной железы, множественным опухолям.

### Нарушение гемопоэза

Развитие костномозговой недостаточности связывают с повышенным апоптозом гемопоэтических клеток, однако истинные патогенетические механизмы костномозговой недостаточности при АФ мало изучены из-за сложности получения адекватной биологической модели развития заболевания. Последние исследования на ксенографтных моделях и *in vitro* показали, что в ответ на накопление нерепарированных поврежденных ДНК происходит активация p53 проапоптотического пути и запуск поздней p21(Cdkn1a)-зависимой блокировки клеточного цикла в фазе G0/G1 с последующей элиминацией ранних гемопоэтических предшественников из костного мозга [49]. Этот механизм начинает действовать в пренатальном периоде на этапе формирования пула стволовых клеток и ранних клеток-предшественников гемопоэза, что приводит к его значительному снижению. Накопление дефектов ДНК после рождения в результате различных физико-химических воздействий усугубляет нарушение гемопоэза. Кроме выраженного апоптоза ранних гематологических предшественников происходит нарушение базовых свойств стволовых кроветворных клеток — способности к самоподдержанию, пролиферации и дифференцировке в различные линии гемопоэза [50–52]. Генетическая нестабильность при АФ реализуется в повышенной частоте развития ряда опухолей, наиболее частые — ОМЛ/миелодисплазия и плоскоклеточный рак головы и шеи, слизистых оболочек рта и мочевого тракта — тканей, характеризующихся высокой пролиферативной активностью. Кумулятивная частота возникновения гематологических и негематологических опухолей к 40 годам составляет 33 и 28 % соответственно [1]. Для некоторых генетических вариантов (биаллельные мутации в гене *BRCA2*) характерно более частое и раннее развитие неоплазий (90 % развивают острый лейкоз к 7 годам) [45].

### Лабораторная диагностика

**Тест на ломкость хромосом.** «Золотым стандартом» скрининга для выявления АФ был и остается тест с диэпоксидом (ДЭБ, DEB, 1,3-butadienediepoхide) и его вариант с митомицином С (MMC) [53, 54]. Еще в начале изучения АФ было отмечено, что фибробласты и лимфоциты больных АФ в культуре клеток демонстрируют спонтанную повышенную ломкость хромосом. Значительные различия в уровне спонтанных аберраций у больных (вплоть до отсутствия таковых) требовали унифицированного и точного метода детекции. Позже была показана повышенная чувствительность клеток больных АФ к действию алкилирующих агентов, вызывающих поперечные сшивки между нуклеотидами, что препятствует образованию нормальной репликативной вилки для запуска процесса репарации ДНК, позже получивших общее название *interstrand cross-link agent*. На основании этого был предложен цитогенетический метод диагностики АФ: после обработки лимфоцитов или фибробластов алкилирующим веществом (в нелетальной для клеток концентрации) определяют частоту и спектр спонтанных и индуцированных *in vitro* хромосомных аберраций [53, 54]. Обычно ставится несколько параллельных клеточных культур стимулированных фитогемагглютинином лимфоцитов периферической крови: без добавления алкилирующего агента (для определения спонтанного уровня аберраций) и с его добавлением в разной концентрации. Затем в метафазных пластинках подсчитывают число хромосомных разрывов. Для АФ характерны разрывы хромосом с образованием радиальных фигур, фрагментов, хромосомных и хроматидных разрывов, а также три- и тетра радиалов (рис. 7). При анализе результатов учитывают число разрывов по отношению к числу проанализированных метафаз, процент клеток с разрывами и ряд других показателей. Необходимо отметить, что значения, при которых тест на ломкость хромосом считается положительным, в различных лабораториях варьируются [55].

Тест не имеет 100 % специфичности. Положительный тест на ломкость хромосом бывает у пациентов с синдромом Ниймегена (мутации в гене *NBS1*), син-

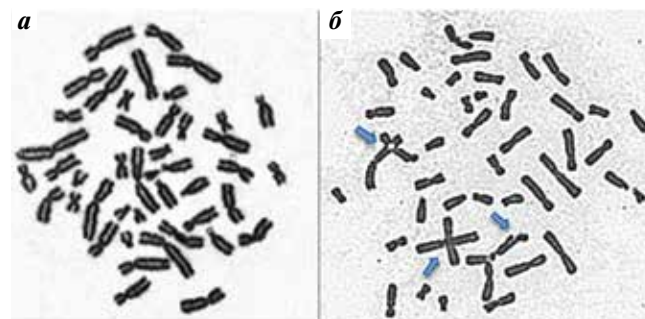


Рис. 7. Тест с диэпоксидом, метафазные пластинки: а — в норме; б — при положительном результате

дромом Робертса (мутации в гене *ESCO2*), Warsaw breakage syndrome (мутации в гене *DDX11*), синдромом Блюма (ген *BLM*), врожденном дискератозе и некоторых других синдромах [6–9]. В тоже время АФ-подобные синдромы могут оказаться действительно АФ с соответствующим генетическим дефектом.

**Мозаицизм.** Примерно у четверти пациентов при проведении теста на ломкость хромосом число клеток с характерными для АФ абберациями – хроматидными обменами с образованием три- и тетрарадиалов и фрагментами – не превышает диагностический порог. При этом клинические проявления могут быть характерными для АФ. Это проявление так называемого соматического мозаицизма – существования 2 популяций клеток: с нормальным фенотипом и с фенотипом АФ. Мозаицизм встречается в 10–30 % случаев, что может приводить к ложноотрицательным результатам анализа хромосомных поломок при высоком проценте нормальных клеток и потребовать проведения дополнительных диагностических тестов [56].

Показано, что к мозаицизму приводит дополнительная новая мутация или спонтанная реверсия врожденной мутации, приводящая к восстановлению пути репарации ДНК. Такие ревертированные клетки могут частично компенсировать костномозговую недостаточность. Реверсия может произойти в клетке-предшественнике гемопоэза или только в лимфоидном предшественнике [57]. Единых критериев определения мозаицизма при АФ нет, около 10 % пациентов имеют менее 50 % абберантных клеток [56, 57].

При подозрении на мозаицизм проводится исследование фибробластов кожи на ломкость хромосом. Если результаты теста по-прежнему неоднозначны, требуется более подробное генетическое тестирование [55].

**Цитогенетическое исследование клеток костного мозга.** При кариотипировании клеток костного мозга могут быть обнаружены клональные хромосомные перестройки уже на стадии гипоплазии кроветворения. При прогрессировании в миелодиспластический синдром (МДС) или лейкоз частота клональных хромосомных поломок увеличивается. Самой частой перестройкой является моносомия 7. Спектр остальных перестроек довольно разнообразен, однако специфичные для ОМЛ транслокации встречаются достаточно редко. Для АФ характерны перестройки: *add1q*, *add3q*, моносомия 7. В редких случаях клональная амплификация *3q26–q29* может быть отмечена до развития МДС или ОМЛ, однако риск прогрессирования в ОМЛ у таких пациентов крайне высок [58, 59].

**Проточная цитофлуориметрия. Блокировка клеточного цикла.** Выявление накопления мононуклеарных клеток периферической крови в фазе G2/M клеточного цикла методом проточной цитофлуориметрии (более 20 %) – дополнительный метод исследования в случае сомнительных результатов теста на ломкость хромосом. Обработка клеток алкилирующими агентами помимо характерных хромосомных поломок инду-

цирует остановку клеточного цикла в фазе G2. В данном тесте фибробласты кожи напрямую экспонируются с ММС, АФ подозревается, когда большая фракция клеток аккумулярована в фазе G2 [15].

**Определение группы комплементации** (см. также выше). Такой анализ возможен в лаборатории, обладающей достаточным опытом и специализацией. Исследование это довольно трудоемкое, а результаты необходимо подтверждать секвенированием гена. Его применяют для определения гена, в котором произошла мутация, и для подтверждения патогенности новых мутаций, по своей сути он больше может быть отнесен к функциональным тестам.

**Секвенирование по Сэнгеру** долгие годы было основным методом определения мутаций при АФ. Учитывая значительные размеры генов, секвенирование каждого из них представляет довольно трудоемкий и дорогостоящий процесс. Его обычно проводили после анализа на группу комплементации, предварительно определив вероятный ген. Анализ нуклеотидной последовательности для всех известных АФ-генов затруднен количеством возможных мутаций в каждом, их разнообразием, в том числе в виде крупных инсерций или делеций (*indel*-мутации). Их длина может варьировать от одного до нескольких сотен и даже тысяч нуклеотидных оснований, что подразумевает использование совершенно разных методов молекулярно-генетического исследования [60].

**Метод MLPA (мультиплексная амплификация лигазносвязанных проб)** предназначен для определения делеций и амплификаций определенных последовательностей гена длиной до нескольких десятков нуклеотидов. Одновременно может быть исследовано до 60 таких последовательностей, что позволяет выявить как сравнительно небольшие делеции, так и делеции отдельных экзонов и целого гена. Метод MLPA используют для инициального скрининга делеции в гене *FANCA*, параллельно ген *FANCA* полностью секвенируют. Если пациент мужского пола – исследуют на наличие делеций ген *FANCB* [60]. Выпущены коммерческие наборы для исследования *FANCA*, *FANCD2*, *PALB*, *RAD50*, *RAD51*. Выявленные делеции желательно подтвердить вторым методом. При этом методы, которые могут быть использованы, требуют индивидуальной разработки в каждом конкретном случае: количественная ПЦР, ПЦР длинных фрагментов (*long range PCR*) и хромосомный микроматричный анализ.

**Высокопроизводительное секвенирование.** Метод, позволяющий одновременно анализировать от нескольких генов до полного генома, – наиболее подходящий для определения мутаций при АФ. Возможны несколько подходов. Первый – секвенирование экзона, позволяет получить максимальный объем информации [61, 62, 65]. Второй подход подразумевает секвенирование ограниченного числа интересующих и уже описанных в литературе генов (таргетное ресеквенирование), список которых можно дополнять или мо-

делировать в соответствии с потребностями исследования. Современные коммерческие панели генов, как правило, помимо генов АФ включают большое число генов, ответственных за развитие других врожденных синдромов, в том числе и АФ-подобных. Внедрение в практику высокопроизводительного секвенирования позволяет избежать последовательного трудоемкого исследования каждого из известных генов методом секвенирования по Сэнгеру, однако пока не позволяет с должной уверенностью выявить крупные делеции и дупликации (CNV – вариации числа копий генов). Найденные мутации требуют подтверждения одним из подходящих других методов. При обнаружении новых мутаций необходимо подтверждение их патогенности в функциональном тесте и др. [61, 63, 64].

### Стратегия генетического скрининга при диагностике

В соответствии с рекомендациями [3] стратегия молекулярно-генетического исследования на сегодняшний день должна включать следующие этапы.

#### А. Тест на ломкость хромосом положительный

1. Целевой скрининг мутаций для некоторых популяционных групп.
2. Выявление наиболее частых делеций гена *FANCA* методом MLPA.
3. Исследование известных генов АФ методом высокопроизводительного секвенирования.
4. Исследование CNV одним из доступных методов.

#### Б. Тест на ломкость хромосом отрицательный

1. Продолжение молекулярно-генетического поиска только при строгих клинических показаниях.

#### В. Тест на ломкость хромосом неоднозначный

1. Тест на ломкость хромосом в фибробластах кожи.
2. Исследование методом высокопроизводительного секвенирования или другим методом мутаций генов, характерных для других синдромов нестабильности генома со сходным фенотипом.

Если мутации не были обнаружены вышеперечисленными способами, проводят секвенирование полного экзона/генома, что является частью уже научно-исследовательской работы.

Подходы, которые используют для молекулярно-генетического анализа АФ, частота встречаемости,

клинические и демографические особенности представлены в таблице.

### Пренатальная диагностика

Пренатальная и преимплантационная диагностика должна проводиться в первую очередь в семьях, где ранее установлены патогенетические мутации. В этом случае проводится целенаправленный поиск известной мутации. Исследование планируется заранее в специализированной лаборатории. Материалом для диагностики служат клетки плода, получаемые путем биопсии ворсин хориона на 10–12-й неделе беременности. Следует помнить, что генетический анализ занимает определенное время (не менее 2–3 нед). Если нет возможности провести молекулярно-генетическое исследование, возможно выполнение теста на ломкость хромосом клеток ворсин хориона на 10–12-й неделе беременности либо при амниоцентезе (15–18-я неделя). Однако молекулярно-генетическое исследование предпочтительнее. Иногда АФ может быть заподозрена при ультразвуковом исследовании и косвенно подтверждена путем исследования мутаций у родителей [66].

### Заключение

В последние годы АФ является предметом интенсивных исследований, прежде всего в области репарации ДНК. Многие открытия привели к пониманию канонического пути, где все протеины, связанные с развитием АФ, функционируют последовательно в различных комплексах для репарации повреждений межнитевых поперечных сшивок ДНК. Развиваются и исследования детальной архитектуры этих путей. Вопрос о том, как дефектный процесс репарации ДНК приводит к тому или иному фенотипу, пока до конца не решен.

Для оптимизации диагностики АФ все пациенты должны быть направлены на генетическое консультирование совместно с их родителями и родственниками. Анализ на наличие мутаций должен выполняться всем sibлингам пациента, особенно при планировании трансплантации стволовых кроветворных клеток, а также в семьях, планирующих иметь детей. К сожалению, сейчас в России нет регистра пациентов с АФ, обследование пациентов не всегда проводится в соответствии с рекомендованным алгоритмом, генетическая диагностика находится на этапе становления.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Kutler D.I., Singh B., Satagopan J. et al. A 20-year perspective on the International Fanconi Anemia Registry (IFAR). *Blood* 2003;101(4):1249–56. DOI: 10.1182/blood-2002-07-2170.
2. Rosenberg P.S., Tamary H., Alter B.P. How high are carrier frequencies of rare recessive syndromes? Contemporary estimates for Fanconi Anemia in the United States and Israel. *Am J Med Genet A* 2011;155A(8):1877–83. DOI: 10.1002/ajmg.a.34087.
3. Fanconi Anemia: Guidelines for diagnostic and management. Fourth edition 2014 Fanconi Anemia Research Fund, Inc., Eugene, Oregon, 2014.
4. Rickman K.A., Lach F.P., Abhyankar A. et al. Deficiency of UBE2T, the E2 Ubiquitin



- Ligase Necessary for FANCD2 and FANCI Ubiquitination, Causes FA-T Subtype of Fanconi Anemia. *Cell Rep* 2015;12(1):35–41. DOI: 10.1016/j.celrep.2015.06.014.
5. Auerbach A.D. The Rockefeller University Fanconi anemia mutation database, 2015.
6. Gennery A.R., Slatter M.A., Bhattacharya A. et al. The clinical and biological overlap between Nijmegen Breakage Syndrome and Fanconi anemia. *Clin Immunol* 2004;113(2):214–9. DOI: 10.1016/j.clim.2004.03.024.
7. New H.V., Cale C.M., Tischkowitz M. et al. Nijmegen breakage syndrome diagnosed as Fanconi anaemia. *Pediatr Blood Cancer* 2005;44(5):494–9. DOI: 10.1002/pbc.20271.
8. van der Lelij P., Chrzanowska K.H., Godthelp B.C. et al. Warsaw breakage syndrome, a cohesinopathy associated with mutations in the XPD helicase family member DDX11/ChIR1. *Am J Hum Genet* 2010;86(2):262–6. DOI: 10.1016/j.ajhg.2010.01.008.
9. Shimamura A. Inherited bone marrow failure syndromes: molecular features. *Hematol Am Soc Hematol Educ Program* 2006;63–71.
10. Castella M., Pujol R., Callén E. et al. Origin, functional role, and clinical impact of Fanconi anemia FANCA mutations. *Blood* 2011;117(14):3759–69. DOI: 10.1182/blood-2010-08-299917.
11. Kutler D.I., Auerbach A.D. Fanconi anemia in Ashkenazi Jews. *Fam Cancer* 2004;3(3–4):241–8. DOI: 10.1007/s10689-004-9565-8.
12. Morgan N.V., Essop F., Demuth I. et al. A common Fanconi anemia mutation in black populations of sub-Saharan Africa. *Blood* 2005;105(9):3542–4. DOI: 10.1182/blood-2004-10-3968.
13. Callén E., Casado J.A., Tischkowitz M.D. et al. A common founder mutation in FANCA underlies the world's highest prevalence of Fanconi anemia in Gypsy families from Spain. *Blood* 2005;105(5):1946–9. DOI: 10.1182/blood-2004-07-2588.
14. Park J., Kim M., Jang W. et al. Founder haplotype analysis of Fanconi anemia in the Korean population finds common ancestral haplotypes for a FANCG variant. *Ann Hum Genet* 2015;79(3):153–61. DOI: 10.1111/ahg.12097.
15. Pulsipher M., Kupfer G.M., Naf D. et al. Subtyping analysis of Fanconi anemia by immunoblotting and retroviral gene transfer. *Mol Med* 1998;4:468. PMID: 9713825.
16. Fu K.L., Thuss P.C., Fujino T. et al. Retroviral gene transfer for the assignment of Fanconi anemia (FA) patients to a FA complementation group. *Hum Genet* 1998;102(2):166–9. PMID: 9521584.
17. Chandra S., Levran O., Jurickova I. et al. A rapid method for retrovirus-mediated identification of complementation groups in Fanconi anemia patients. *Mol Ther* 2005;12(5):976–84. DOI: 10.1016/j.ymthe.2005.04.021.
18. Taniguchi T., D'Andrea A.D. Molecular pathogenesis of Fanconi anemia: recent progress. *Blood* 2006;107(11):4223–33. DOI: 10.1182/blood-2005-10-4240.
19. Kee Y., D'Andrea A.D. Expanded roles of the Fanconi anemia pathway in preserving genomic stability. *Genes Dev* 2010;24(16):1680–94. DOI: 10.1101/gad.1955310.
20. Kim H., D'Andrea A.D. Regulation of DNA cross-link repair by the Fanconi anemia/BRCA pathway. *Genes Dev* 2012;26(13):1393–408. DOI: 10.1101/gad.195248.112.
21. Sigismund S., Polo S., Di Fiore P.P. Signaling through monoubiquitination. *Curr Top Microbiol Immunol* 2004;286:149–85. PMID: 15645713.
22. Ciccio A., Ling C., Coulthard R. et al. Identification of FAAP24, a Fanconi anemia core complex protein that interacts with FANCM. *Mol Cell* 2007;25(3):331–43. DOI: 10.1016/j.molcel.2007.01.003.
23. Collis S.J., Ciccio A., Deans A.J. et al. FANCM and FAAP24 function in ATR-mediated checkpoint signaling independently of the Fanconi anemia core complex. *Mol Cell* 2008;32:313–24. DOI: 10.1016/j.molcel.2008.10.014.
24. Collis S.J., Boulton S.J. FANCM: fork pause, rewind and play. *EMBO J* 2010;29(4):703–5. DOI: 10.1038/emboj.2009.415.
25. Apostolou S., Whitmore S.A., Crawford J. et al. Fanconi anaemia/Breast cancer consortium. Positional cloning of the Fanconi anaemia group A gene. *Nat Genet* 1996;14:324–8. DOI: 10.1038/ng1196-324.
26. Lo Ten Foe J.R., Rooimans M.A., Bosnoyan-Collins L. et al. Expression cloning of a cDNA for the major Fanconi anaemia gene, FAA. *Nat Genet* 1996;14:320–3. DOI: 10.1038/ng1196-320.
27. Levran O., Erlich T., Magdalena N. et al. Sequence variation in the Fanconi anemia gene FAA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:13051–6. PMID: 9371798.
28. Morgan N.V., Tipping A.J., Joenje H., Mathew C.G. High frequency of large intragenic deletions in the Fanconi anemia group A gene. *Am J Hum Genet* 1999;65:1330–41. DOI: 10.1086/302627.
29. Wijker M., Morgan N.V., Herterich S. et al. Heterogeneous spectrum of mutations in the Fanconi anaemia group A gene. *Eur J Hum Genet* 1999;7:52–9. DOI: 10.1038/sj.ejhg.5200248.
30. Savino M., Ianzano L., Strippoli P. et al. A mutations of the Fanconi anemia group A gene (FAA) in Italian patients. *Am J Hum Genet* 1997;61(6):1246–53. DOI: 10.1086/301632.
31. Auerbach A.D. Fanconi anemia and its diagnosis. *Mutat Res* 2009;668(1–2):4–10. DOI: 10.1016/j.mrfimm.2009.01.013.
32. Strathdee C.A., Gavish H., Shannon W.R., Buchwald M. Cloning of cDNAs for Fanconi's anaemia by functional complementation. *Nature* 1992;356:763–7. DOI: 10.1038/356763a0.
33. Gillio A.P., Verlander P.C., Batish S.D. et al. Phenotypic consequences of mutations in the Fanconi anemia FAC gene: an International Fanconi Anemia Registry study. *Blood* 1997;90:105–10. PMID: 9207444.
34. Futaki M., Yamashita T., Yagasaki H. et al. The IVS4 + 4 A to T mutation of the Fanconi anemia gene FANCC is not associated with a severe phenotype in Japanese patients. *Blood* 2000;95:1493–8. PMID: 10666230.
35. Yamashita T., Wu N., Kupfer G. et al. The Clinical variability of Fanconi Anemia (Type C) results from expression of an amino terminal truncated FAC polypeptide with partial activity. *Blood* 1996;87:4424. PMID: 8639804.
36. de Winter J.P., Rooimans M.A., van Der Weel L. et al. The Fanconi anaemia gene FANCF encodes a novel protein with homology to ROM. *Nat Genet* 2000;24:15–6. DOI: 10.1038/71626.
37. Demuth I., Wlodarski M., Tipping A.J. et al. Spectrum of mutations in the Fanconi anaemia group G gene, FANCG/XRCC9. *Eur J Hum Genet* 2000;8:861–8. DOI: 10.1038/sj.ejhg.5200552.
38. Faivre L., Guardiola P., Lewis C. et al. Association of complementation group and mutation type with clinical outcome in Fanconi anemia. European Fanconi Anemia Research Group. *Blood* 2000;96:4064–70. PMID: 11110674.
39. Meetei A.R., Levitus M., Xue Y. et al. X-linked inheritance of Fanconi anemia complementation group B. *Nat Genet* 2004;36:1219–24. DOI: 10.1038/ng1458.
40. Timmers C., Taniguchi T., Hejna J. et al. Positional cloning of a novel Fanconi Anemia gene, FANCD2. *Mol Cell* 2001;7:241. PMID: 11239453.
41. Meetei A.R., de Winter J.P., Medhurst A.L. et al. A novel ubiquitin ligase is deficient in Fanconi anemia. *Nat Genet* 2003a;35:165–70. DOI: 10.1038/ng1241.
42. Meetei A.R., Medhurst A.L., Ling C. et al. A human ortholog of archaeal DNA repair protein Hef is defective in Fanconi anemia complementation group M. *Nat Genet* 2005;37:958–63. DOI: 10.1038/ng1626.
43. Reid S., Schindler D., Hanenberg H. et al. Biallelic mutations in PALB2 cause Fanconi anemia subtype FA-N and predispose to childhood cancer. *Nat Genet* 2007;39:162–4. DOI: 10.1038/ng1947.
44. Hirsch B., Shimamura A., Moreau L. et al. Association of biallelic BRCA2/FANCD1 mutations with spontaneous chromosomal instability and solid tumors of childhood. *Blood* 2004;103:2554–9. DOI: 10.1182/blood-2003-06-1970.
45. Wagner J.E., Tolar J., Levran O. et al. Germline mutations in BRCA2: shared genetic susceptibility to breast cancer, early onset leukemia, and Fanconi anemia. *Blood* 2004;103:3226–9. DOI: 10.1182/blood-2003-09-3138.
46. Meindl A., Hellebrand H., Wiek C. et al. Germline mutations in breast and ovarian cancer pedigrees establish RAD51C as a hu-

- man cancer susceptibility gene. *Nat Genet* 2010;42:410–4. DOI: 10.1038/ng.569.
47. Berwick M., Satagopan J.M., Ben-Porat L. et al. Genetic heterogeneity among Fanconi anemia heterozygotes and risk of cancer. *Cancer Res* 2007;67(19):9591–6. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-1501.
48. Cantor S.B., Bell D.W., Ganesan S. et al. BACH1, a novel helicase-like protein, interacts directly with BRCA1 and contributes to its DNA repair function. *Cell* 2001;105(1):149–60. PMID: 11301010.
49. Ceccaldi R., Parmar K., Mouly E. et al. Bone marrow failure in Fanconi anemia is triggered by an exacerbated p53/p21 DNA damage response that impairs hematopoietic stem and progenitor cells. *Cell Stem Cell* 2012;11(1):36–49. DOI: 10.1016/j.stem.2012.05.013.
50. Vanuytsel K., Cai Q., Nair N. et al. FANCA knockout in human embryonic stem cells causes a severe growth disadvantage. *Stem Cell Res* 2014;13(2):240–50. DOI: 10.1016/j.scr.2014.07.005.
51. Yung S.K., Tilgner K., Ledran M.H. et al. Brief report: human pluripotent stem cell models of fanconi anemia deficiency reveal an important role for fanconi anemia proteins in cellular reprogramming and survival of hematopoietic progenitors. *Stem Cells* 2013;31(5):1022–9. DOI: 10.1002/stem.1308.
52. Kamimae-Lanning A.N., Goloviznina N.A., Kurre P. Fetal origins of hematopoietic failure in a murine model of Fanconi anemia. *Blood* 2013;121(11):2008–12. DOI: 10.1182/blood-2012-06-439679.
53. Auerbach A.D. Fanconi anemia diagnosis and the diepoxybutane (DEB) test. *Exp Hematol* 1993;21:731–3. PMID: 8500573.
54. Cervenka J., Arthur D., Yasis C. Mitomycin C test for diagnostic differentiation of idiopathic aplastic anemia and Fanconi anemia. *Pediatrics* 1981;67:119–27. PMID: 7243420.
55. Short protocols in human genetics, Unit 8.7, 2004, John Wiley and Sons.
56. Lo Ten Foe J.R., Kwee M.L., Roomans M.A. et al. Somatic mosaicism in Fanconi anemia: molecular basis and clinical significance. *Eur J Hum Genet* 1997;5(3):137–48. PMID: 9272737.
57. Gregory J.J. Jr., Wagner J.E., Verlander P.C. et al. Somatic mosaicism in Fanconi anemia: evidence of genotypic reversion in lymphohematopoietic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98(5):2532–7. DOI: 10.1073/pnas.051609898.
58. Tönnies H., Huber S., Kuhl J.S. et al. Clonal chromosomal aberrations in bone marrow cells of Fanconi anemia patients: gains of the chromosomal segment 3q26q29 as an adverse risk factor. *Blood* 2003;101(10):3872–4. DOI: 10.1182/blood-2002-10-3243.
59. Cioc A.M., Wagner J.E., MacMillan M.L. et al. Diagnosis of myelodysplastic syndrome among a cohort of 119 patients with Fanconi anemia: morphologic and cytogenetic characteristics. *Am J Clin Pathol* 2010;133:92–100. DOI: 10.1309/AJCP7W9VMJENZOVG.
60. Gille J.J., Floor K., Kerkhoven L. et al. Diagnosis of Fanconi Anemia: Mutation Analysis by Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification and PCR-Based Sanger Sequencing. *Anemia* 2012;2012:1–14. DOI: 10.1155/2012/603253.
61. Knies K., Schuster B., Ameziane N. et al. Genotyping of fanconi anemia patients by whole exome sequencing: advantages and challenges. *PLoS One* 2012;7(12):e52648. DOI: 10.1371/journal.pone.0052648.
62. Ameziane N., Sie D., Dentre S. et al. Diagnosis of fanconi anemia: mutation analysis by next-generation sequencing. *Anemia* 2012;2012:132856.
63. Rogers K.J., Fu W., Akey J.M., Monnat R.J. Global and disease-associated genetic variation in the human Fanconi anemia gene family. *Hum Mol Genet* 2014;23(25):6815–25. DOI: 10.1093/hmg/ddu400.
64. De Rocco D., Bottega R., Cappelli E. et al. Molecular analysis of Fanconi anemia: the experience of the Bone Marrow Failure Study Group of the Italian Association of Pediatric Onco-Hematology. *Haematologica* 2014;99(6):1022–31. DOI: 10.3324/haematol.2014.104224.
65. Chandrasekharappa S.C., Lach F.P., Kimble D.C. et al. Massively parallel sequencing, aCGH, and RNA-Seq technologies provide a comprehensive molecular diagnosis of Fanconi anemia. *NISC Comparative Sequencing Program. Blood* 2013;121(22):e138–48. DOI: 10.1182/blood-2012-12-474585.
66. Merrill A., Rosenblum-Vos L., Driscoll D.A. et al. Prenatal diagnosis of Fanconi anemia (Group C) subsequent to abnormal sonographic findings. *Prenat Diagn* 2005;25(1):20–2. DOI: 10.1002/pd.1055.
67. Howlett N.G., Taniguchi T., Olson S. et al. Biallelic inactivation of BRCA2 in Fanconi anemia. *Science* 2002;297:606–9. DOI: 10.1126/science.1073834.
68. Dorsman J.C., Levitus M., Rockx D. et al. Identification of the Fanconi anemia complementation group I gene, FANCI. *Cell Oncol* 2007;29:211–8. PMID: 17452773.
69. Smogorzewska A., Matsuoka S., Vinciguerra P. et al. Identification of the FANCI protein, a monoubiquitinated FANCD2 paralog required for DNA repair. *Cell* 2007;129:289–301. DOI: 10.1016/j.cell.2007.03.009.
70. Vaz F., Hanenberg H., Schuster B. et al. Mutation of the RAD51C gene in a Fanconi anemia-like disorder. *Nat Genet* 2010;42:406–9. DOI: 10.1038/ng.570.
71. Kim Y., Lach F.P., Desetty R. et al. Mutations of the SLX4 gene in Fanconi anemia. *Nat Genet* 2011;43:142–6. DOI: 10.1038/ng.750.
72. Seal S., Thompson D., Renwick A. et al. Truncating mutations in the Fanconi anemia J gene BRIP1 are low-penetrance breast cancer susceptibility alleles. *Nat Genet* 2006;38:1239–41. DOI: 10.1038/ng1902.
73. Bogliolo M., Schuster B., Stoepker C. et al. Mutations in ERCC4, encoding the DNA-repair endonuclease XPF, cause Fanconi anemia. *Am J Hum Genet* 2013;92:800–6. DOI: 10.1016/j.ajhg.2013.04.002.
74. Ameziane N., May P., Haitjema A. et al. A novel Fanconi anaemia subtype associated with a dominant-negative mutation in RAD51. *Nat Commun* 2015;6:8829. DOI: 10.1038/ncomms9829.
75. Domchek S.M., Tang J., Stopfer et al. Biallelic deleterious BRCA1 mutations in a woman with early-onset ovarian cancer. *Cancer Discov* 2012;3:399–405. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-12-0421.
76. Lindahl T. Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature* 1993;362(6422):709–15. DOI: 10.1038/362709a0.
77. Muniandy P.A., Liu J., Majumdar A. et al. DNA interstrand crosslink repair in mammalian cells: step by step. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2010;45(1):23–49. DOI: 10.3109/10409230903501819.