

<https://doi.org/10.25557/2073-7998.2024.12.3-15>

Спектр синдромов избыточного роста, ассоциированных с мутацией PIK3CA: молекулярный механизм, особенности диагностики и терапии

Бычкова Е.В.¹, Семенова Н.А.¹, Сагоян Г.Б.², Гусева Д.М.¹, Стрельников В.В.¹

1 – ФГБНУ Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова
115522, г. Москва, ул. Москворечье, д. 1

2 – ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина
Министерства здравоохранения Российской Федерации
115522, г. Москва, Каширское шоссе, д. 23

Постзиготические соматические варианты в генах, ассоциированных с развитием опухолей, лежат в основе ряда синдромов, проявляющихся избыточным ростом и сосудистыми мальформациями. Одним из ключевых заболеваний этой группы является спектр синдромов избыточного роста, ассоциированный с *PIK3CA* (PROS – *PIK3CA*-related overgrowth spectrum), объединяющий более 20 состояний, характеризующихся асимметричным избыточным ростом и сосудистыми мальформациями. Ген *PIK3CA* кодирует каталитическую субъединицу p110 α фосфатидилинозитол-3-киназы и подвергается мутациям при различных видах рака. Мутационные события при PROS происходят на этапе эмбрионального развития, приводя к мозаичному распределению мутаций. Разнообразию и тяжести клинических проявлений PROS определяют комбинацией ряда факторов, включая степень активации PI3K конкретным вариантом, тип пораженной ткани, момент появления мутации и влияние дополнительных факторов. Высокая фенотипическая вариабельность PROS, сходство с другими синдромами избыточного роста и сосудистых мальформаций и особенности молекулярно-генетической диагностики мозаичных вариантов затрудняют диагностику синдрома. В данном обзоре обобщены имеющиеся знания о молекулярном механизме PROS, участии регуляторной субъединицы в патогенезе PROS, а также обсуждены особенности диагностики и терапии этого заболевания.

Ключевые слова: PROS, *PIK3CA*, *PIK3R1*, PI3K, парциальный гигантизм, сосудистые мальформации.

Для цитирования: Бычкова Е.В., Семенова Н.А., Сагоян Г.Б., Гусева Д.М., Стрельников В.В. Спектр синдромов избыточного роста, ассоциированных с мутацией *PIK3CA*: молекулярный механизм, особенности диагностики и терапии. *Медицинская генетика* 2024; 23(12): 3-15.

Автор для корреспонденции: Бычкова Екатерина Владимировна; e-mail: ktrn.bychkova@gmail.com

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России для ФГБНУ МГНЦ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 03.12.2024

***PIK3CA*-related overgrowth spectrum: molecular mechanism, diagnostic and therapy features**

Bychkova E.V.¹, Semenova N.A.¹, Sagoyan G.B.², Guseva D.M.¹, Strelnikov V.V.¹

1 – Research Centre for Medical Genetics
1, Moskvorechie st., Moscow, 115522, Russian Federation

2 – National Medical Research Center of Oncology named after N.N. Blokhin of the Ministry of Health of the Russian Federation
23, Kashirskoe shosse, Moscow, 115522, Russian Federation

Postzygotic somatic variants in cancer-associated genes underlie a range of overgrowth and vascular malformations syndromes. *PIK3CA*-related overgrowth spectrum (PROS) is one of the key diseases in this group, which encompasses more than 20 conditions marked by asymmetric overgrowth and vascular malformations. The *PIK3CA* gene encodes the catalytic subunit p110 α of phosphatidylinositol-3-kinase and is mutated in various types of cancer. The mutational events in PROS occur during embryonic development, resulting in a mosaic distribution of mutations. The diversity and severity of PROS clinical manifestations are determined by a combination of factors, including the degree of PI3K activation by specific variants, the type of affected tissue, the timing of mutation occurrence, and the influence of additional factors. The high phenotypic variability of PROS, its similarity to other overgrowth vascular syndromes, as well as the challenges of molecular genetic diagnosis of mosaic variants, complicate the diagnosis of PROS. In this work, we summarize the current knowledge about the molecular mechanisms of PROS, the involvement of the regulatory subunit in the pathogenesis of PROS, and discuss the diagnostic and therapeutic features of this condition.

Keywords: PROS, *PIK3CA*, *PIK3R1*, PI3K, segmental overgrowth, vascular malformations.

For citation: Bychkova E.V., Semenova N.A., Sagoyan G.B., Guseva D.M., Strelnikov V.V. PIK3CA-related overgrowth spectrum: molecular mechanism, diagnostic and therapy features. *Medical genetics [Medicinskaya genetika]*. 2024; 23(12): 3-15. (In Russian).

Corresponding author: Ekaterina V. Bychkova; **e-mail:** ktrn.bychkova@gmail.com

Funding. The study was carried out according to the state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation for the Research Centre for Medical Genetics.

Conflict of Interest. The authors declare no conflict of interest.

Accepted: 03.12.2024

Введение

Широкое распространение секвенирования следующего поколения (NGS) в последние несколько лет позволило продвинуться в изучении расстройств, связанных с соматическим мозаицизмом. При таких заболеваниях генетические варианты возникают постзиготически и, в отличие от герминальных вариантов, присутствуют только в пораженных клетках организма и не наследуются. Примером расстройств, ассоциированных с соматическим мозаицизмом, является спектр синдромов избыточного роста, связанный с вариантами в гене *PIK3CA* (PROS - *PIK3CA*-related overgrowth spectrum). Молекулярной основой PROS являются активирующие постзиготические варианты в гене *PIK3CA*, кодирующем каталитическую субъединицу p110 α фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K) – фермента, участвующего в регуляции роста, пролиферации и выживания. Термин PROS был предложен в 2013 году для объединения клинических проявлений, ассоциированных с вариантами в *PIK3CA*, включая как ранее описанные синдромы, так и новые фенотипы. Основные проявления PROS включают врожденный или возникающий в раннем детстве избыточный рост тканей и сосудистые мальформации [1]. Фенотипическая гетерогенность и особенности молекулярно-генетической диагностики PROS затрудняют оценку частоты этого заболевания. По последним данным, распространенность PROS составляет 1:22000 человек, однако реальная частота, вероятно, намного выше, поскольку исследование не включало легкие и несиндромальные формы [2].

Выявление клинически значимых вариантов при PROS может быть затруднительным из-за их соматической природы и низкой частоты в пораженной области. Использование NGS с высокой глубиной покрытия всей кодирующей последовательности *PIK3CA* позволило выявить более 80 уникальных вариантов этого гена у пациентов с PROS [3, 4]. Установление молекулярной причины заболевания открыло возможность применения таргетной терапии PROS. Недавние исследования продемонстрировали эффективность ин-

гибирования PI3K α у пациентов с доброкачественным избыточным ростом. Ингибитор PI3K α алпелисиб (Vijoice), применяемый для терапии рака молочной железы, на настоящий момент является единственным одобренным FDA (Food and Drug Administration) препаратом системной терапии PROS [5].

Строение PI3K класса IA

Фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K) являются семейством ферментов, осуществляющих фосфорилирование 3'-гидроксильной группы фосфатидилинозитола липидных мембран. В зависимости от субстратной специфичности и функции в клетке различают три класса PI3K. PI3K класса I фосфорилируют фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат (PIP2) с образованием фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфата (PIP3) – вторичного посредника, передающего сигналы от мембранных рецепторов внутрь клетки. Повышение PIP3 приводит к активации эффекторных белков, содержащих PH-домен (pleckstrin-homology), включая фосфоинозитид-зависимую киназу (PDK1) и протеинкиназу B (АКТ). АКТ фосфорилирует множество мишеней, положительно регулируя клеточный цикл. В частности, АКТ инактивирует комплекс туберозного склероза TSC1-TSC2-TBC1D7 – негативный регулятор киназы mTOR (mammalian target of rapamycin), способствующей росту и пролиферации. PTEN (phosphatase and tensin homolog) обладает противоположным PI3K эффектом – дефосфорилирует PIP3 до PIP2, осуществляя негативную регуляцию сигнального пути PI3K-АКТ-mTOR. Компоненты этого пути тесно взаимодействуют с другим важнейшим путем канцерогенеза Ras/Raf/MEK/ERK [6] (рис. 1).

PI3K класса IA представляют собой гетеродимеры, состоящие из каталитической и регуляторной субъединиц. Каталитическая субъединица катализирует образование PIP3 из PIP2 и может быть представлена одной из трех изоформ – p110 α , p110 β или p110 δ , кодируемых генами *PIK3CA*, *PIK3CB* и *PIK3CD*, соответ-

ственно [7]. p110 α , p110 β представлены повсеместно, в то время как экспрессия p110 δ ограничена, в основном, иммунными клетками [8]. Регуляторные субъединицы стабилизируют каталитические субъединицы, ингибируют их активность в норме и позволяют активироваться в ответ на вышележащие сигналы. Различают пять изоформ регуляторной субъединицы – p85 α , p55 α и p50 α (сплайс-варианты гена *PIK3R1*), p85 β (кодируется *PIK3R2*) and p55 γ (кодируется *PIK3R3*) [7].

С-конец регуляторной субъединицы p85 состоит из двух SH2-доменов (n-SH2 и c-SH2), разделенных iSH2-доменом. При активации рецепторной тирозинкиназы (РТК) факторами роста домены nSH2 и cSH2 регуляторной субъединицы связываются с фосфотирозин-содержащим мотивом pYXXM РТК, рекрутируют p110 к клеточной мембране, где располагаются липидные субстраты PI3K. В результате конформационных изменений исчезают ингибирующие контакты между p85 и p110, что приводит к активации фермента. Субъединица p110 α состоит из пяти доменов: N-концевой адаптор-связывающий домен, через который p85 ста-

билизирует p110, RAS-связывающий домен, который опосредует дополнительную активацию PI3K мембраносвязанными малыми ГТФазами, С2-домен, связанный с p85, спиральный домен и каталитический домен. Взаимодействие iSH2-домена p85 с С2-доменом p110 способствуют сближению nSH2-домена p85 и спирального домена p110, вследствие чего осуществляется аллостерическое ингибирование каталитической функции p110 [9]. При раке наиболее часто встречаются патогенные варианты в iSH2-домене, которые нарушают контакты с С2-доменом p110 [7, 10].

Регуляторные субъединицы находятся в клетке в избытке по сравнению с каталитическими субъединицами и формируют N-концевые или С-концевые гомодимеры, что стабилизирует белок и защищает его от протеасомной деградации. p55 α , p50 α и p50 γ не образуют N-концевые димеры, так как лишены N-концевых доменов. Свободные регуляторные субъединицы также участвуют в регуляции активности сигнального пути PI3K-АКТ-mTOR, конкурируя с комплексом p85-p110 за связывание с РТК. Свободные p85 обла-

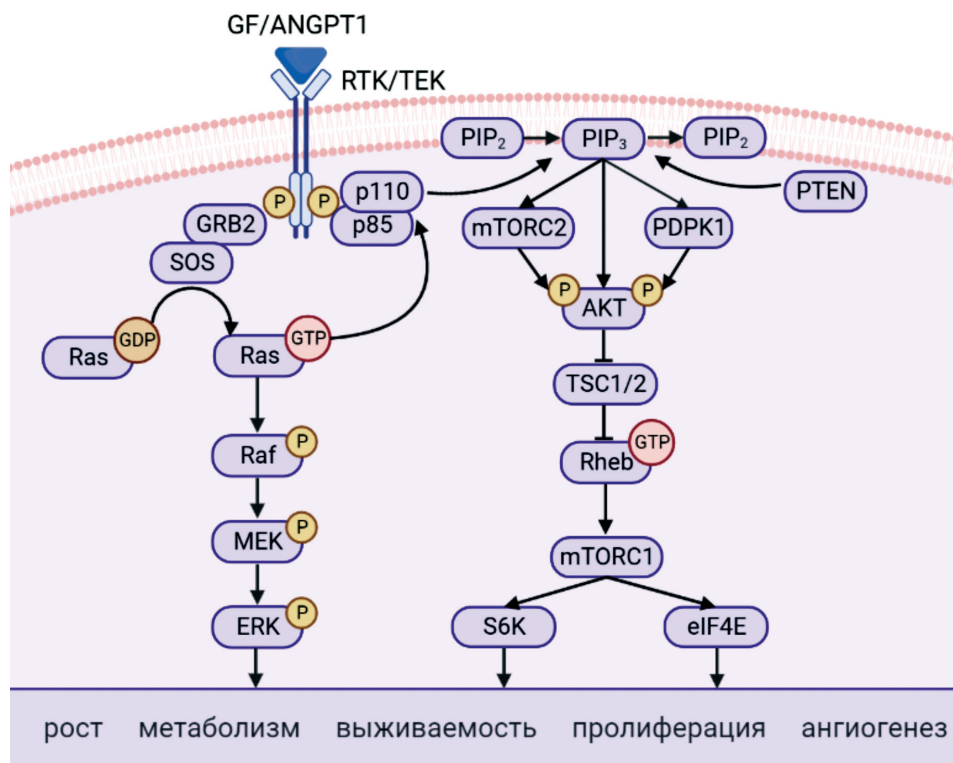


Рис. 1. Сигнальные пути PI3K-АКТ-mTOR и Ras-Raf-MEK-ERK. GF – growth factor (фактор роста), RTK – receptor tyrosine kinase (рецепторная тирозинкиназа).

Fig. 1. PI3K-AKT-mTOR and Ras-Raf-MEK-ERK signaling pathways. GF – growth factor, RTK – receptor tyrosine kinase.

дают более высокой аффинностью к фосфотирозин-овым остаткам РТК, чем комплекс p85-p110, поэтому они играют роль в установлении порогового уровня для активации PI3K. Кроме того, N-концевые домены свободного гомодимера p85α связываются с опухолевым супрессором PTEN, стабилизируя его локализацию у мембраны и фосфатазную активность. Патогенные варианты в этих доменах снижают уровень PTEN. Поддержание мономерно-димерного соотношения p85 является важной частью регуляции активности сигнального пути PI3K-AKT-mTOR [7].

PI3K и избыточный рост

Сигнальный путь PI3K-AKT-mTOR является одним из важнейших сигнальных путей, регулирующих такие ключевые процессы, как рост, пролиферация, выживаемость и апоптоз. В норме активация этого пути происходит при связывании факторов роста с рецепторными тирозинкиназами. Соматические варианты в *PIK3CA* приводят к устойчивой гиперактивации этого пути и встречаются при многих онкологических заболеваниях, включая рак молочной железы, эндометрия, мочевого пузыря, кишечника, злокачественные опухоли головы и шеи [11]. Чрезмерная активация сигнального пути PI3K-AKT-mTOR в эмбриогенезе приводит к гипертрофии и гиперпролиферации клеток [12]. В 2013 году был введен термин PROS, объединяющий группу заболеваний, характеризующихся избыточным ростом и обусловленных соматическими постзиготическими активирующими вариантами в гене *PIK3CA* [1]. Избыточный рост при PROS проявляется с рождения и может прогрессировать в течение жизни. Активирующие мутации *PIK3CA* возникают постзиготически в период эмбрионального развития, приводя к случайному мозаичному распределению мутации в организме, и не наследуются, в отличие от герминальных вариантов. К настоящему времени не выявлено индивидуальных и средовых факторов риска возникновения вариантов *PIK3CA* в эмбриогенезе [12]. Мозаичная природа PROS проявляется в виде сегментарных поражений подверженных мутации частей тела. В большей степени поражаются жировая ткань и сосуды, также фенотипические изменения происходят в мышечной, костной, нервной тканях, эпидермисе и дерме. В большинстве случаев PROS избыточный рост сопровождается сосудистыми мальформациями, которые представляют собой аномально развившиеся в эмбриогенезе сосуды. Степень тяжести сосудистых мальформаций в зависимости от вида и локализации варьирует от мягких

поражений, не доставляющих серьезных сложностей, до серьезных случаев, вызывающих отек, боль, тромбоз, кровотечения, а также влияющих на прилежащие области. В некоторых случаях сосудистые мальформации не проявляются, пока их рост не будет вызван внешними факторами (травмой, усиленным темпом роста) [13].

Вовлеченность разных типов тканей при PROS зависит от момента возникновения мутации в период эмбриогенеза. Варианты, возникающие на более ранних стадиях, приводят к более обширному поражению, в то время как более поздние варианты проявляются изолированно [11, 13]. В настоящее время PROS включает множество синдромальных форм, таких как синдром CLOVES (врожденное липоматозное асимметричное разрастание туловища с сосудистыми мальформациями, эпидермальными невусами, сколиозом/скелетными и спинальными аномалиями), синдром CLAPO (капиллярная мальформация нижней губы, лимфатическая мальформация с преобладанием на лице и шее, асимметрия и частичный или генерализованный избыточный рост), синдром MCAP (мегалэнцефалия и капиллярная мальформация), DCMO (диффузная капиллярная мальформация с избыточным ростом), гемигиперплазия-множественный липоматоз, фиброадипозная сосудистая аномалия, синдром Клиппеля-Треноне и др. К изолированным поражениям относят макродактилию, разрастание отдельной конечности, туловищный избыточный рост, диспластическую мегалэнцефалию, гемимегалэнцефалию и *PIK3CA*-ассоциированные сосудистые мальформации (венозные, лимфатические, капиллярные и комбинированные). Также выделяют группу *PIK3CA*-ассоциированных поражений, которые не проявляются избыточным ростом или сосудистыми мальформациями. В нее входят поражения кожи (эпидермальный невус, доброкачественный лихеноидный кератоз, себорейный кератоз) и фокальная кортикальная дисплазия 2 типа [1, 14].

Основные осложнения, с которыми сталкиваются пациенты с PROS, связаны с анатомическим расположением поражений и функциональными изменениями пораженных тканей. Например, чрезмерный рост может привести к сдавливанию прилежащих жизненно важных органов, таких как спинной мозг. Венозные мальформации увеличивают риск тромбозов и кровотечений [15]. Мегалэнцефалия и фокальная кортикальная дисплазия характеризуются дезорганизацией архитектуры коры головного мозга и появлением атипичных нейронов и сопряжены с эпилепсией. Кроме

того у пациентов с PROS могут возникать отеки, боль, трудности с передвижением в связи с асимметрией конечностей [12].

В настоящее время список заболеваний, ассоциированных с соматической постзиготической мутацией *PIK3CA*, продолжает пополняться новыми фенотипами. Например, была описана серия пациентов-носителей вариантов в *PIK3CA* с сегментарным отставанием в росте и сосудистыми мальформациями – фенотипом, ранее не обсуждавшимся в контексте PROS [16]. Также было обнаружено, что при спорадических кавернозных мальформациях часто выявляются соматические варианты *PIK3CA*. Эти мальформации характеризуются субклиническим течением, однако могут приводить к судорогам и геморрагическому инсульту со значительными неврологическими последствиями [17]. Недавно у нескольких пациентов с капиллярными мальформациями с расширенными венами были выявлены варианты в генах *PIK3CA* и *PIK3R1*, приводящие к гиперактивации сигнального пути PI3K-AKT-mTOR [18].

Кроме того, ряд пациентов с клиническими признаками PROS, но без выявленного варианта в *PIK3CA*, имеет варианты в гене *PIK3R1* [10, 19, 20]. Эти данные свидетельствуют о важной роли PI3K в патогенезе избыточного роста и сосудистых мальформаций, а также о потенциальном значении вариантов в генах, кодирующих субъединицы PI3K, в развитии подобных состояний с неясной этиологией. Это подчеркивает необходимость дальнейших исследований для более глубокого понимания этого спектра патологий и эффективного использования таргетной терапии.

Факторы варибельности течения PROS

Значительная вариативность симптомов и степени тяжести PROS вызывает вопрос о том, какие факторы определяют формирование конкретного фенотипа. Считается, что каждый фенотип формируется под воздействием уникальной комбинации следующих факторов: 1) тканеспецифичность поражения; 2) момент возникновения мутации в эмбриогенезе; 3) степень активации PI3K; 4) анатомическая локализация поражения; 5) внешние факторы [13, 21].

Определение конкретной клеточной линии, в которой произошло мутационное событие, является сложной задачей, поскольку для молекулярно-генетической диагностики PROS используют биоптат разрастания, в котором содержатся несколько типов клеток, в том числе не пораженных мутацией. Исследования с культивированием определенных клеточных линий из по-

раженных тканей пациентов с PROS позволили определить, что мутации *PIK3CA* обнаруживаются в кератиноцитах, эндотелии кровеносных и лимфатических сосудов, фибробластах, предшественниках адипоцитов и зрелых адипоцитах [11, 13]. Клеточные линии, поражающиеся при PROS, являются производными мезодермы (эндотелий сосудов, жировая ткань, мышцы и скелет) и/или эктодермы (нервная ткань, эпидермис, соединительная ткань) [11]. Производные эктодермы не поражаются при PROS, однако причины этого до конца не изучены. Существуют предположения, что мезодерма и эктодерма более чувствительны к активности PI3K в период эмбриогенеза, в то время как мутации в клетках эктодермы недостаточно для возникновения патологических изменений [13]. Чем раньше возникает мутация во время развития плода, тем больше клеточных линий вовлечены в патологический процесс, однако обширность поражения не коррелирует со степенью тяжести PROS. Поражение может затрагивать множество тканей, но протекать мягко, или же наоборот, изолированное разрастание может иметь критическое расположение и активно прогрессировать, затрагивая близлежащие органы [12]. Таким образом, анатомическая локализация и степень активации PI3K, обусловленная действием конкретного варианта *PIK3CA* на активность PI3K, являются основными факторами в оценке тяжести заболевания.

В период эмбрионального и раннего постнатального развития высока концентрация факторов роста, поскольку большинство клеток организма интенсивно растет и пролиферирует. Жировая ткань и эндотелий сосудов являются пластичными тканями и легко приспособляются к микроокружению, поэтому они наиболее активно поражаются при PROS [13]. Исследование на эндотелиоцитах мышцы показало, что влияние активирующей мутации *PIK3CA* в условиях высокой концентрации факторов роста способствовало более активной пролиферации клеток. Действительно, разрастания и сосудистые мальформации при PROS, активно прогрессируют в раннем детстве и замедляются во взрослом возрасте, когда снижается уровень факторов роста. Кроме того, это объясняет рецидивы роста после хирургических вмешательств или в ответ на травмы и гормональные изменения [22].

При секвенировании ДНК, выделенной из ткани разрастания или сосудистой мальформации, вариант в большинстве случаев обнаруживается менее, чем в ожидаемых при аутосомно-доминантном типе наследования 50% клеток. Кроме того, тяжесть заболевания не зависит от степени мозаицизма при PROS: у пациентов с тяжело

протекающими поражениями наблюдалась низкая VAF (variant allele frequency – частота альтернативного аллеля) <3% [4]. Это позволяет предположить наличие передачи сигнала от мутантных клеток к близлежащим клеткам дикого типа посредством паракринных факторов, межклеточных взаимодействий или экзосом [11, 23]. Например, было показано, что клетки с мутацией *PIK3CA* привлекали иммунные клетки, в частности, макрофаги, продуцирующие фактор ангиогенеза VEGF-C (vascular endothelial growth factor C). При этом ингибирование VEGF-C в сочетании с ингибированием сигнального пути PI3K-AKT-mTOR рапамицином способствовало подавлению роста и регрессии лимфатических мальформаций в мышечной модели PROS [24]. Таким образом, влияние на паракринную передачу сигнала, формируемую микроокружением, также, как и ингибирование PI3K, может иметь терапевтический эффект.

Спектр генетических вариантов *PIK3CA* при PROS

Варианты, усиливающие жестко ограниченную активность PI3K, приводят к неконтролируемому росту и пролиферации клеток. Не менее 80% всех онкогенных вариантов *PIK3CA* при раке составляют варианты горячих точек, приводящие к заменам p.Glu542Lys, Glu545Lys в спиральном домене и His1047Arg в каталитическом домене [11]. Активное внедрение NGS в диагностическую практику позволило выявить множество вариантов *PIK3CA* во всей последовательности гена. Подавляющее большинство является миссенс-вариантами, приводящими к усилению функции, однако описаны инделы и варианты, изменяющие сплайсинг, у пациентов с PROS [3, 25, 26]. Варианты горячих точек обладают наиболее сильным активирующим и онкогенным потенциалом, в то время как редкие варианты приводят к промежуточной или слабой активации PI3K [27]. Малая представленность менее активирующих вариантов при раке, вероятно, обусловлена тем, что такие варианты не обладают достаточным потенциалом для развития злокачественных новообразований, в то время как при возникновении в период эмбрионального развития эти варианты проявляются фенотипом PROS. Варианты горячих точек так же, как и при раке, являются наиболее частыми при PROS, но встречаются менее чем у половины пациентов [4, 25, 26]. Кроме того, представленность этих вариантов может быть завышена, так как, во-первых, пациенты с более легким фенотипом, потенциально имеющие менее активирующие варианты, зачастую не доходят до этапа молекулярно-генети-

ческой диагностики, во-вторых, некоторые лаборатории используют в качестве метода диагностики ПЦР горячих точек, в связи с чем не обнаруживают другие варианты. Большинство исследований, посвященных функциональному анализу вариантов *PIK3CA*, фокусируются на вариантах горячих точек из-за их высокой частоты при раке, а исследований редких вариантов проводилось значительно меньше. Программы-предсказатели *in silico* для оценки миссенс-вариантов зачастую дают противоречивые результаты, что подчеркивает важность функциональных исследований редких вариантов.

В систематическом анализе A. Mussa с соавт. сообщается о 81 варианте *PIK3CA* при PROS, среди которых приведены 8 частых вариантов вне горячих точек: p.Cys378Tyr, p.Cys420Arg, p.Glu453Lys, p.Glu726Lys, p.Gly914Arg, p.Met1043Val, p.His1047Leu и p.His1047Tyr. Эти варианты вместе с вариантами горячих точек встречаются в 70% случаев PROS [4]. Варианты в C2-доме (p.Cys378Tyr, p.Cys420Arg, p.Glu453Lys) встречаются при PROS значительно чаще, чем при раке, и составляют по разным данным от 15% до 31%, что подчеркивает важность изучения этого домена в контексте PROS [25, 26]. Патогенные варианты в C2-доме p110 α нарушают его взаимодействие с p85 α , в результате чего происходит снижение ингибирования p110 α регуляторной субъединицей и гиперактивация PI3K. У некоторых пациентов с клиническими признаками PROS выявлены соматические инделы, однако функциональное значение данных вариантов не выяснено [26]. Варианты в RBD-доме *PIK3CA* при PROS, как и при раке, описаны в единичных случаях [4].

Варианты в *PIK3CA* при PROS, как правило, обнаруживаются в мозаичной форме в пораженных тканях и в некоторых случаях в крови с низкой VAF. В единичных случаях обнаруживается два мозаичных варианта в *PIK3CA* – сочетание варианта горячей точки и другого варианта. Интересно, что в случаях, когда варианты находились недалеко друг от друга в границах одного фрагмента ДНК, секвенируемого методом NGS (p.Glu542Lys/p.Glu546Lys и p.Glu542Lys/p.Thr544Asn), они обнаруживались как в цис-положении, что подразумевает нахождение вариантов в одном клеточном клоне, так и в транс-положении, что допускает их независимое возникновение в разных клеточных клонах [28, 29]. На настоящий момент функциональное и клиническое значение присутствия двух активирующих вариантов у одного пациента не изучено. Герминальные гетерозиготные варианты в *PIK3CA*, приводящие к избыточному росту, встречаются чрезвычайно ред-

ко. На настоящий момент в литературе описан 21 случай. Для таких пациентов характерна более системная клиническая картина, включающая избыточный рост, сосудистые аномалии, макроцефалию, задержку развития и дисморфические черты. Часто, в отличие от мозаичных форм, у пациентов с конститутивными вариантами наблюдаются аномалии почек, сердца и сосудов [30, 31]. Во всех описанных случаях наблюдались мягкие активирующие варианты вне горячих точек, поскольку, вероятно, существует порог активности PI3K, совместимой с жизнью, и сильные варианты приводят к эмбриональной гибели [13].

Кроме вариантов в гене *PIK3CA* у пациентов с клиническими проявлениями PROS встречаются соматические миссенс-варианты и инделы в гене *PIK3R1*, кодирующем регуляторную субъединицу PI3K [10, 19]. Некоторые из этих вариантов (p.Asn564Asp, p.Lys567Glu) являются частыми при раке эндометрия и раке молочной железы. Большинство вариантов располагается в пределах iSH2-домена p85. Конститутивные варианты в *PIK3R1*, затрагивающие iSH2-домен, ассоциированы с синдромом активированной PI3Kδ 2 (APDS2) и проявляются иммунодефицитом. Исследования *in vitro* показали, что варианты в *PIK3R1* при APDS2 вызывают гиперактивацию как p110δ, экспрессирующейся в лимфоцитах, так и p110α, однако p110δ активируется в несколько раз сильнее, чем p110α [10]. Недавно был описан пациент с соматическим вариантом, затрагивающим канонический сайт сплайсинга, в гене *PIK3R1*. У пациента наблюдались обширные сосудистые мальформации и симптомы, характерные для синдрома APDS2 [32]. Проведение функциональных исследований и установление механизмов действия вариантов *PIK3R1* при PROS имеют важное значение для оценки возможности применения таргетной терапии в таких случаях.

Установление корреляций генотип-фенотип является сложной задачей для заболеваний, связанных с соматическим мозаицизмом. Соматические клинически значимые варианты могут возникать в разных клеточных линиях в разные моменты времени, поэтому один и тот же вариант может проявляться разнообразными фенотипами. В результате ряда когортных исследований было выявлено, что пациенты, имеющие поражение головного мозга, в большинстве случаев являются носителями вариантов вне горячих точек [3, 4, 25]. Это можно объяснить тем, что в процессе эмбриогенеза различные клеточные линии проявляют разную степень толерантности к вариантам *PIK3CA* и во время развития ЦНС варианты в горячих точках, обладающие сильным онкогенным потенциалом, могут быть летальными [25].

Показано, что у пациентов с поражением ЦНС уровни VAF были значительно выше в образцах крови и буккального эпителия, чем у пациентов без поражения головного мозга, что указывает на более раннее возникновение мутации у этой группы пациентов [3]. При изолированных поражениях мозга (гемимегалэнцефалия, диспластическая мегалэнцефалия, фокальная кортикальная дисплазия) чаще, чем при синдроме МСАР, наблюдаются варианты горячих точек. Возможно, сильные активирующие варианты менее совместимы с жизнью при возникновении до разделения зародышевых листков, так как при МСАР поражаются производные эктодермы (нейроны и макроглия) и мезодермы (эндотелий сосудов и макроглия) [13]. У пациентов с синдромом МСАР наблюдается широкий спектр вариантов *PIK3CA*, однако варианты p.Glu726Lys и p.Gly914Arg встречаются наиболее часто [4, 21].

Было выявлено, что варианты в спиральном домене больше распространены при фенотипах с сосудистыми мальформациями (CLOVES, CLAPO, фиброадипозная сосудистая аномалия, синдром Клиппеля-Треноне), в то время как варианты в C2-домене чаще встречаются у пациентов с поражением жировой ткани (лицевой инфильтрирующий липоматоз, гипертрофия конечности) [25]. При фенотипе диффузной капиллярной мальформации с разрастанием в большинстве случаев наблюдаются варианты вне горячих точек [25, 33, 34].

Дифференциальная диагностика PROS

Учитывая широкую вариабельность симптомов PROS, особое внимание следует уделить дифференциальной диагностике. PROS следует дифференцировать с рядом заболеваний, ассоциированных с соматическими и герминальными вариантами в генах двух ключевых внутриклеточных сигнальных путей роста и пролиферации – PI3K-AKT-mTOR и RAS-MAPK. Как и ген *PIK3CA*, большинство из этих генов связаны как со злокачественными новообразованиями, так и с врожденными нарушениями: избыточным ростом, сосудистыми мальформациями и поражениями кожи. Важно заметить, что обе группы демонстрируют одни и те же варианты, что позволяет использовать таргетные препараты, применяемые в онкологии, для терапии врожденных мальформаций [35–37]. Проблема дифференциальной диагностики расстройств, связанных с соматическим мозаицизмом, заключается в том, что фенотипические проявления соматических вариантов очень разнообразны и перекрываются между собой, поскольку гены кодируют белки сиг-

нальных путей, осуществляющих схожие функции. В связи с этим генетическое тестирование играет важную роль в постановке молекулярного диагноза, а также в определении терапевтических мишеней.

Варианты в генах сигнального пути PI3K-AKT-mTOR ассоциированы с синдромами избыточного роста. Фенотип PROS в ряде случаев обусловлен вариантами в гене *PIK3R1*, кодирующем регуляторную субъединицу PI3K. Несмотря на основной вклад в мутационный спектр PROS вариантов *PIK3CA*, некоторые авторы предлагают термин «PI3K-ассоциированный спектр синдромов избыточного роста», чтобы объединить *PIK3CA*- и *PIK3R1*-ассоциированные фенотипы в общий спектр [19]. Синдром Протея, ассоциированный с миссенс-вариантом p.Glu17Lys в гене *AKT1*, проявляется быстро прогрессирующим асимметричным избыточным ростом мягких тканей и костей. В ряде случаев у пациентов с предполагаемым диагнозом синдрома Протея обнаруживаются варианты в гене *PIK3CA* [3, 38–40], и наоборот, у пациента с DCMO (диффузная капиллярная мальформация с избыточным ростом), одним из *PIK3CA*-связанных синдромов, был обнаружен вариант в гене *AKT1* [25]. Соматический мозаицизм 2-го типа в гене *PTEN* (сочетание герминального и соматического вариантов в транс-положении) описан у ряда пациентов с признаками сегментарного избыточного роста при *PTEN*-ассоциированном синдроме гамартонных опухолей [41, 42]. Данное заболевание также называют синдромом SOLAMEN (сегментарный избыточный рост, липоматоз, артериовенозная мальформация и эпидермальный невус) [43]. Варианты в *PTEN* были выявлены у пациентов с синдромом Клиппеля-Треноне и синдромом гемигиперплазии-множественного липоматоза [25].

Одним из наиболее частых клинических проявлений PROS являются сосудистые мальформации. Причиной большинства сосудистых мальформаций являются соматические активирующие варианты в генах, кодирующих белки сигнальных путей ангиогенеза и лимфангиогенеза, пролиферации и апоптоза [36]. Наиболее частой причиной унифокальных и мультифокальных венозных мальформаций являются соматические варианты в гене *TEK*, кодирующем эндотелиальную РТК TIE2. Однако более чем в половине венозных мальформаций без выявленного варианта в *TEK* обнаруживаются варианты в *PIK3CA*, причем в обоих случаях наблюдается одинаковый механизм возникновения мальформаций. Фенотипически венозные мальформации, вызванные вариантами *PIK3CA*, отличаются от ТЕК-ассоциированных поражений тем, что не распространяются на поверхность

кожи [44, 45]. Интересно, что ингибитор PI3K α показал терапевтическую эффективность как при *PIK3CA*-, так и при *ТЕК*-ассоциированных венозных мальформациях на мышинной модели и у пациентов [46]. Гены, кодирующие субъединицы G-белков *GNAQ*, *GNA11*, *GNA14*, ассоциированы с развитием изолированных капиллярных мальформаций и синдромом Штурге-Вебера. Капиллярные мальформации могут сопровождаться избыточным ростом при синдромах, входящих в PROS, таких как синдром Клиппеля-Треноне, CLOVES, DCMO. Соматические варианты в *GNAQ* и *GNA11* были обнаружены у пациентов без выявленного варианта в *PIK3CA* при синдроме Клиппеля-Треноне, лицевом инфильтрирующем липоматозе, DCMO и MCAP [4, 25, 34, 40, 47, 48].

Соматические варианты в генах *KRAS*, *NRAS* и *HRAS*, кодирующих представителей семейства малых ГТФаз Ras, описаны у пациентов с расстройствами, связанными с соматическим мозаицизмом, включая сосудистые мальформации, невусы, сегментарный избыточный рост. В литературе описаны случаи выявления мозаичных вариантов в генах *KRAS*, *NRAS* и *HRAS* у пациентов с предполагаемым диагнозом *PIK3CA*-ассоциированного нарушения (синдром Клиппеля-Треноне, CLOVES, капиллярная мальформация с разрастанием, венозные мальформации) [34, 35, 40, 48–51]. Большинство вариантов в генах RAS при расстройствах, связанных с соматическим мозаицизмом, располагалось в канонических горячих точках Gly12, Gly13 и Gln61. Такие варианты ассоциируются с широким фенотипическим спектром, в то время как редкие варианты, в том числе инделы, ассоциированы с сосудистыми мальформациями [49]. Варианты в гене *RASA1*, кодирующем негативный регулятор Ras, являются причиной синдрома Паркса-Вебера. Клинически этот синдром схож с синдромом Клиппеля-Треноне, в связи с чем эти заболевания часто диагностируются ошибочно [4, 52].

Секвенирование панелей генов, ассоциированных с сосудистыми мальформациями и избыточным ростом, позволило выявить пациентов с PROS, имеющих помимо варианта в *PIK3CA* дополнительный клинически значимый вариант в другом гене – *GNAQ*, *GNA14*, *BRAF*, *KRAS*, *TEK*, *PTEN*, *PIK3R2*, *RASA1*, *STAMBP*, *MAP2K1*, *IDH1* или *MAP3K3* [12, 25, 29, 47, 48]. Интересно, что в таких случаях не было обнаружено характерной клинической картины или осложнения течения заболевания. Это может быть обусловлено тем, что дополнительные генетические варианты при PROS незначительно проявляются клинически, поскольку они влияют на сигнальные пути, которые уже подверглись изменениям под воздействием патогенных вариантов в *PIK3CA*. Кро-

ме того, если эти варианты обнаруживаются в меньшей доле клеток, чем варианты *PIK3CA*, их влияние может быть минимальным. Необходимо отметить, что ни одно из дополнительных мутационных событий не наблюдалось в генах пути PI3K-AKT-mTOR. Можно предположить, что наличие второго клинически значимого варианта в этом сигнальном пути наряду с вариантом *PIK3CA* не совместимо с жизнью.

Риск развития онкологических заболеваний при синдромах избыточного роста

Поскольку генетические варианты при PROS совпадают с теми, что ассоциированы со злокачественными новообразованиями, возникает вопрос о потенциальной предрасположенности пациентов с PROS к развитию злокачественных опухолей. Peterman с соавт. в ретроспективном анализе пациентов с CLOVES установили у данной группы повышенный риск развития опухоли Вильмса – злокачественной эмбриональной опухоли почки [53]. Однако в другом исследовании показано, что у пациентов с синдромом Клиппеля-Треноне риск новообразований, в том числе опухоли Вильмса, не выше общепопуляционного, поэтому дополнительных обследований не показано [54]. Необходимо отметить, что части пациентов, включенных в эти исследования, молекулярно-генетическое тестирование не проводилось. L.Faivre с соавт. проанализировали когорту из 267 пациентов с диагнозом PROS, подтвержденным молекулярно-генетическими исследованиями, на предмет развития рака, а также провели обзор литературы, посвященной новообразованиям при PROS. Среди 483 пациентов с подтвержденным диагнозом PROS было выявлено 6 с опухолью Вильмса или нефробластоматозом, при этом у пяти из них наблюдался вариант *PIK3CA* в аминокислотной позиции 1047. Авторы утверждают, что риск возникновения опухоли Вильмса у пациентов с PROS не является достаточно высоким для проведения скрининга [55].

Среди предполагаемых причин отсутствия злокачественной трансформации разрастаний при PROS выделяют следующие. Во-первых, при PROS и при раке поражаются разные типы тканей. При PROS патологические образования возникают в производных мезодермы и нейроэктодермы, в то время как *PIK3CA*-ассоциированные злокачественные новообразования возникают в эктодермальных и энтодермальных производных [11]. Во-вторых, рак, как правило, предполагает наличие нескольких драйверных мутаций, в то время как при PROS в подавляющем большинстве случаев обнаруживается

единственный вариант [29]. В-третьих, внешние модификаторы в период эмбрионального развития могут способствовать контролируемому организованному росту при PROS [47]. Необходимы дальнейшие исследования зависимости злокачественной трансформации опухоли от момента возникновения и локализации мутаций *PIK3CA*.

Особенности молекулярно-генетической диагностики PROS и таргетная терапия

При молекулярно-генетической диагностике расстройств, связанных с соматическим мозаицизмом, необходимо учитывать особенности распределения генетических вариантов в тканях. Для анализа соматических вариантов следует использовать образцы непосредственно пораженной ткани (биоптат, парафиновые блоки), однако это не всегда представляется возможным. Тестирование других образцов (слюна, буккальный эпителий, биопсия кожи вне поражения) допустимо в качестве альтернативы, однако эффективность диагностики при этом значительно снижается [3, 56]. Анализ нескольких образцов из разных очагов поражения увеличивает эффективность диагностики, так как VAF может варьироваться в разных тканях [4, 57]. В случае обнаружения характерных особенностей PROS по результатам ультразвуковой диагностики плода возможно пренатальное генетическое тестирование культивированных амниоцитов [20, 56, 58]. Метод генетического тестирования PROS должен обладать высокой чувствительностью, поскольку в большом количестве случаев частота варианта в образце составляет менее 10% [12, 26, 40, 59]. Кроме того, учитывая большое число зарегистрированных клинически значимых вариантов *PIK3CA* при PROS, метод должен иметь возможность выявления большого спектра вариантов. ПЦР-системы на частые активирующие варианты обладают низкой диагностической эффективностью, поскольку не позволяют выявлять редкие варианты. Таким образом, наиболее подходящим методом для генетического тестирования PROS является NGS с высокой глубиной покрытия (количество прочтений одного нуклеотида) не менее 1000x [12, 26]. Секвенирование с применением методики гибридизационного захвата является наиболее точным для выявления вариантов с очень низкой VAF, поскольку исключает артефакты амплификации [40, 47, 60]. Новейшие направления в диагностике сосудистых мальформаций включают анализ эндотелиальных клеток, выделенных из хилезной жидкости мальформаций, и внеклеточной ДНК из супернатанта хилезной или кистозной лимфатической жидкости и плазмы крови. Анализ такого ма-

териала должен проводиться крайне высокочувствительными методами (цифровая капельная ПЦР, ультраглубокое секвенирование), так как VAF в большинстве случаев не превышает 1% [60, 61].

Особое внимание стоит обратить на интерпретацию негативных результатов. Случаи, когда вариант не обнаружен, могут быть обусловлены анализом непопавшей ткани или ткани, в которой частота варианта ниже чувствительности метода диагностики. В таком случае следует использовать другой образец пораженной ткани в идеале из другого патологического очага [12]. Также отсутствие варианта в *PIK3CA* может быть связано с альтернативной этиологией фенотипа. Так, варианты могут обнаружены в других генах, кодирующих белки сигнальных путей ангиогенеза и лимфангиогенеза, пролиферации и апоптоза (см. разд. Дифференциальная диагностика). Секвенирование панели генов, ассоциированных с избыточным ростом и сосудистыми мальформациями, представляет собой наиболее информативный метод диагностики расстройств, связанных с соматическим мозаицизмом. Согласно ряду когортных исследований данный метод позволяет выявить молекулярную причину заболевания в 58–75% случаев, что является высоким показателем для этой группы, учитывая ее фенотипическую гетерогенность и трудности диагностики [12, 26, 40, 47]. При отрицательном результате диагноз PROS может быть поставлен по решению междисциплинарной комиссии.

PROS представляет собой спектр сложных клинических проявлений, затрагивающих различные ткани и системы организма, в связи с чем ведение пациентов требует мультидисциплинарного подхода, позволяющего учесть все аспекты заболевания и обеспечить комплексную терапию. Симптоматическое лечение PROS направлено на уменьшение выраженности симптомов, улучшение качества жизни пациентов и предотвращение осложнений. Оно включает резекцию гипертрофированных тканей для коррекции деформаций и устранения функциональных нарушений, лазерную терапию, склеротерапию и эмболизацию сосудистых мальформаций. Эти подходы имеют существенные ограничения, такие как труднодоступность патологического очага, рецидив роста поражений [12, 13]. Основу современной терапии PROS составляет использование таргетных препаратов – ингибиторов сигнального пути PI3K-АКТ-mTOR. В 2022 году ингибитор PI3Kα алпелисиб был одобрен FDA в качестве таргетной терапии PROS для взрослых и детей старше двух лет по результатам ретроспективного одногруппового мультицентрового исследования ЕРК-Р1 и на сегодняшний день

является единственным одобренным препаратом для лечения PROS. Применение алпелисиба способствовало уменьшению объема и изменению цвета сосудистых мальформаций, а также снижению болевого симптома и кровотечений у пациентов с *PIK3CA*- и *ТЕК*-ассоциированными сосудистыми мальформациями [46]. Описаны случаи успешного применения алпелисиба в возрасте до двух лет, включая пациента с фенотипом PROS и вариантом в *PIK3R1* [12, 20, 62]. В настоящее время проходит вторая фаза клинического испытания ЕРК-Р2 (NCT04589650), представляющая многоцентровое рандомизированное плацебо-контролируемое исследование для оценки эффективности, безопасности и фармакокинетики алпелисиба. В Российской Федерации препарат алпелисиб (Пикрэй) рекомендован для терапии гормонозависимого HER2-отрицательного рака молочной железы [63].

Литература

1. Keppler-Noreuil K.M., Rios J.J., Parker V.E.R., 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.
2. Reynolds G., Cardaropoli S., Carli D., et al. Epidemiology of the disorders of the Pik3ca-related overgrowth spectrum (Pros). *Eur J Hum Genet*. 2023;31(11):1333–1336.
3. Kuentz P., St-Onge J., Duffourd Y., 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.
4. Mussa A., Leoni C., Iacoviello M., 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.
5. Singh S., Bradford D., Li X., et al. FDA Approval Summary: Alpelisib for PIK3CA-Related Overgrowth Spectrum. *Clin Cancer Res*. 2024; 30(1): 23–28.
6. Fruman D.A., Chiu H., Hopkins B.D., et al. The PI3K pathway in human disease. *Cell*. 2017 10;170(4):605–635.
7. Fox M., Mott H.R., Owen D. Class IA PI3K regulatory subunits: p110-independent roles and structures. *Biochem Soc Trans*. 2020; 48(4): 1397–1417.
8. Wang S., Wang W., Zhang X., et al. A somatic mutation in PIK3CD unravels a novel candidate gene for lymphatic malformation. *Orphanet J Rare Dis*. 2021;16(1):208.
9. Liu S., Knapp S., Ahmed A.A. The structural basis of PI3K cancer mutations: from mechanism to therapy. *Cancer Res*. 2014;74(3):641–646.
10. Cottrell C.E., Bender N.R., Zimmermann M.T., et al. Somatic PIK3R1 variation as a cause of vascular malformations and overgrowth. *Genet Med*. 2021;23(10):1882–1888.
11. Madsen R.R., Vanhaesebroeck B., Semple R.K. Cancer-Associated PIK3CA Mutations in Overgrowth Disorders. *Trends Mol Med*. 2018;24(10):856–870.
12. Morin G.M., Zerbib L., Kaltenbach S., et al. PIK3CA-Related Disorders: From Disease Mechanism to Evidence-Based Treatments. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2024;25(1):211–237.

13. Angulo-Urarte A., Graupera M. When, where and which PIK3CA mutations are pathogenic in congenital disorders. *Nat Cardiovasc Res.* 2022; 1(8):700-714.
14. Canaud G., Hammill A.M., Adams D., et al. A review of mechanisms of disease across PIK3CA-related disorders with vascular manifestations. *Orphanet J Rare Dis.* 2021;16(1):306.
15. Keppler-Noreuil K.M., Lozier J., Oden N., et al. Thrombotic risk factors in PIK3CA-related overgrowth spectrum and Proteus syndrome. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2019; 181(4): 571–581.
16. Martinez-Glez V., Rodriguez-Laguna L., Viana-Huete V., et al. Segmental undergrowth is associated with pathogenic variants in vascular malformation genes: A retrospective case-series study. *Clin Genet.* 2022;101(3):296–306.
17. Peyre M., Miyagishima D., Bielle F., et al. Somatic PIK3CA mutations in sporadic cerebral cavernous malformations. *N Engl J Med.* 2021;385(11):996–1004.
18. De Bortoli M., Queisser A., Pham V.C., et al. Somatic Loss-of-Function PIK3R1 and Activating Non-hotspot PIK3CA Mutations Associated with Capillary Malformation with Dilated Veins (CMDV). *J Invest Dermatol.* 2024;144(9):2066-2077.
19. Kuentz P., Engel C., Laeng M., et al. Clinical phenotype of the PIK3R1-related vascular overgrowth syndrome. *Br J Dermatol.* 2024;191(2):303–305.
20. Schönewolf-Greulich B., Karstensen H.G., Hjortshøj T.D., et al. Early diagnosis enabling precision medicine treatment in a young boy with PIK3R1-related overgrowth. *Eur J Med Genet.* 2022;65(10):104590.
21. Mirzaa G., Timms A.E., Conti V., et al. PIK3CA-associated developmental disorders exhibit distinct classes of mutations with variable expression and tissue distribution. *JCI Insight.* 2016;1(9).
22. Kobialka P., Sabata H., Vilalta O., et al. The onset of PI3K-related vascular malformations occurs during angiogenesis and is prevented by the AKT inhibitor miransertib. *EMBO Mol Med.* 2022;14(7):e15619.
23. Kurek K.C., Luks V.L., Ayturk U.M., et al. Somatic mosaic activating mutations in PIK3CA cause CLOVES syndrome. *Am J Hum Genet.* 2012;90(6):1108–1115.
24. Martinez-Corral I., Zhang Y., Petkova M., et al. Blockade of VEGF-C signaling inhibits lymphatic malformations driven by oncogenic PIK3CA mutation. *Nat Commun.* 2020;11(1):2869.
25. Chen H., Sun B., Liu H., et al. Delineation of the phenotypes and genotypes of PIK3CA-related overgrowth spectrum in East Asians. *Mol Genet Genomics.* 2024;299(1):66.
26. Mojarad B.A., Hernandez P.V., Evenson M.J., et al. Profiling PIK3CA variants in disorders of somatic mosaicism. *Genetics in Medicine Open.* 2023;1(1):100815.
27. Dogruluk T., Tsang Y.H., Espitia M., et al. Identification of Variant-Specific Functions of PIK3CA by Rapid Phenotyping of Rare Mutations. *Cancer Res.* 2015;75(24):5341–5354.
28. Jansen L.A., Mirzaa G.M., Ishak G.E., et al. PI3K/AKT pathway mutations cause a spectrum of brain malformations from megalencephaly to focal cortical dysplasia. *Brain.* 2015;138(Pt 6):1613–1628.
29. Cao Y., Evenson M.J., Corliss M.M., et al. Co-existence of 2 clinically significant variants causing disorders of somatic mosaicism. *Genetics in Medicine Open.* 2023;1(1):100807.
30. Dewar J., Lomas D., O'Neill C., et al. PA04 Germline activating variants in *PIK3CA* result in a diffuse overgrowth phenotype characterized by macrocephaly, cardiovascular and renal anomalies: recommendations for screening and monitoring. *British Journal of Dermatology.* 2024;191(Supplement_1):i124–i124.
31. Cooley Coleman J.A., Gass J.M., Srikanth S., et al. Clinical and functional characterization of germline PIK3CA variants in patients with PIK3CA-related overgrowth spectrum disorders. *Hum Mol Genet.* 2023;32(9):1457–1465.
32. Wilke M.V.M.B., Schimmenti L., Lopour M.Q.R., et al. A somatic splice-site variant in PIK3R1 in a patient with vascular overgrowth and low immunoglobulin levels: A case report. *Mol Genet Genomic Med.* 2023;11(12):e2271.
33. Goss J.A., Konczyk D.J., Smits P., et al. Diffuse capillary malformation with overgrowth contains somatic PIK3CA variants. *Clin Genet.* 2020;97(5):736–740.
34. Diociaiuti A., Rotunno R., Pisaneschi E., et al. Clinical and Molecular Spectrum of Sporadic Vascular Malformations: A Single-Center Study. *Biomedicines.* 2022;10(6).
35. Al-Olabi L., Polubothu S., Dowsett K., et al. Mosaic RAS/MAPK variants cause sporadic vascular malformations which respond to targeted therapy. *The Journal of Clinical Investigation.* 2018; 128(4):1496-1508.
36. Queisser A., Seront E., Boon L.M., Vikkula M. Genetic basis and therapies for vascular anomalies. *Circ Res.* 2021;129(1):155–173.
37. Venot Q., Blanc T., Rabia S.H., et al. Targeted therapy in patients with PIK3CA-related overgrowth syndrome. *Nature.* 2018;558(7711):540–546.
38. Valentini V., Zelli V., Rizzolo P., et al. PIK3CA c.3140A>G mutation in a patient with suspected Proteus Syndrome: a case report. *Clin Case Rep.* 2018;6(7):1358–1363.
39. Youssefian L., Vahidnezhad H., Baghdadi T., et al. Fibroadipose hyperplasia versus Proteus syndrome: segmental overgrowth with a mosaic mutation in the PIK3CA gene. *J Invest Dermatol.* 2015;135(5):1450–1453.
40. McNulty S.N., Evenson M.J., Corliss M.M., et al. Diagnostic Utility of Next-Generation Sequencing for Disorders of Somatic Mosaicism: A Five-Year Cumulative Cohort. *Am J Hum Genet.* 2019; 105(4): 734–746.
41. Mussa A., Carli D., Cardaropoli S, et al. Lateralized and segmental overgrowth in children. *Cancers (Basel).* 2021;13(24): 6166.
42. Zhou X.P., Marsh D.J., Hampel H., et al. Germline and germline mosaic PTEN mutations associated with a Proteus-like syndrome of hemihypertrophy, lower limb asymmetry, arteriovenous malformations and lipomatosis. *Hum Mol Genet.* 2000;9(5):765–768.
43. Caux F., Plauchu H., Chibon F., et al. Segmental overgrowth, lipomatosis, arteriovenous malformation and epidermal nevus (SOLAMEN) syndrome is related to mosaic PTEN nullizyosity. *Eur J Hum Genet.* 2007;15(7):767–773.
44. Castel P., Carmona F.J., Grego-Bessa J., et al. Somatic PIK3CA mutations as a driver of sporadic venous malformations. *Sci Transl Med.* 2016;8(332):332ra42.
45. Limaye N., Kangas J., Mendola A., et al. Somatic activating PIK3CA mutations cause venous malformation. *Am J Hum Genet.* 2015;97(6):914–921.
46. Zerbib L., Ladraa S., Fraissenon A., et al. Targeted therapy for capillary-venous malformations. *Signal Transduct Target Ther.* 2024;9(1):146.
47. Siegel D.H., Cottrell C.E., Streicher J.L., et al. Analyzing the Genetic Spectrum of Vascular Anomalies with Overgrowth via Cancer Genomics. *J Invest Dermatol.* 2018;138(4):957–967.
48. Ten Broek R.W., Eijkelenboom A., van der Vleuten C.J.M, et al. Comprehensive molecular and clinicopathological analysis of vascular malformations: A study of 319 cases. *Genes Chromosomes Cancer.* 2019;58(8):541–550.
49. Claire Hou Y.-C., Evenson M.J., Corliss M.M., et al. A comparative analysis of RAS variants in patients with disorders of somatic mosaicism. *Genet Med.* 2023;25(3):100348.
50. Chang C.A., Perrier R., Kurek K.C., et al. Novel findings and expansion of phenotype in a mosaic RASopathy caused by somatic KRAS variants. *Am J Med Genet A.* 2021;185(9):2829–2845.
51. Schmidt V.F., Wieland I., Wohlgenuth W.A, et al. Mosaic RASopathy due to KRAS variant G12D with segmental overgrowth and as-

- sociated peripheral vascular malformations. *Am J Med Genet A*. 2021;185(10):3122–3128.
52. Chagas C.A.A., Pires L.A.S., Babinski M.A., Leite T.F. de O. Klippel-Trenaunay and Parkes-Weber syndromes: two case reports. *J vasc bras*. 2017;16(4):320–324.
 53. Peterman C.M., Fevurly R.D., Alomari A.I., et al. Sonographic screening for Wilms tumor in children with CLOVES syndrome. *Pediatr Blood Cancer*. 2017;64(12).
 54. Blatt J., Finger M., Price V., et al. Cancer Risk in Klippel-Trenaunay Syndrome. *Lymphat Res Biol*. 2019;17(6):630–636.
 55. Faivre L., Crépin J.-C., Réda M., et al. Low risk of embryonic and other cancers in PIK3CA-related overgrowth spectrum: Impact on screening recommendations. *Clin Genet*. 2023;104(5):554–563.
 56. Lalonde E., Ebrahimzadeh J., Rafferty K., et al. Molecular diagnosis of somatic overgrowth conditions: A single-center experience. *Mol Genet Genomic Med*. 2019;7(3):e536.
 57. Piacitelli A.M., Jensen D.M., Brandling-Bennett H., et al. Characterization of a severe case of PIK3CA-related overgrowth at autopsy by droplet digital polymerase chain reaction and report of PIK3CA sequencing in 22 patients. *Am J Med Genet A*. 2018;176(11):2301–2308.
 58. Quinlan-Jones E., Williams D., Bell C., et al. Prenatal Detection of PIK3CA-related Overgrowth Spectrum in Cultured Amniocytes Using Long-range PCR and Next-generation Sequencing. *Pediatr Dev Pathol*. 2017;20(1):54–57.
 59. Pirozzi F., Berkseth M., Shear R., et al. Profiling PI3K-AKT-MTOR variants in focal brain malformations reveals new insights for diagnostic care. *Brain*. 2022 Apr 29;145(3):925–938.
 60. Li D., Sheppard SE., March ME., et al. Genomic profiling informs diagnoses and treatment in vascular anomalies. *Nat Med*. 2023; 29(6): 1530–1539.
 61. Zenner K., Jensen D.M., Cook T.T., et al. Cell-free DNA as a diagnostic analyte for molecular diagnosis of vascular malformations. *Genet Med*. 2021;23(1):123–130.
 62. Cossio M.-L., Rodríguez J., Flores J.C., et al. Four-month-old with severe PIK3CA-related overgrowth spectrum disorder successfully treated with alpelisib. *Pediatr Dermatol*. 2024;41(4):714–717.
 63. Стенина М.Б., Жукова Л.Г., Королева И.А. и др. Практические рекомендации по лекарственному лечению рака молочной железы. Злокачественные опухоли. 2020;10(3s2-1):145–182.
 7. Fox M., Mott H.R., Owen D. Class IA PI3K regulatory subunits: p110-independent roles and structures. *Biochem Soc Trans*. 2020;48(4):1397–1417.
 8. Wang S., Wang W., Zhang X., et al. A somatic mutation in PIK3CD unravels a novel candidate gene for lymphatic malformation. *Orphanet J Rare Dis*. 2021;16(1):208.
 9. Liu S., Knapp S., Ahmed A.A. The structural basis of PI3K cancer mutations: from mechanism to therapy. *Cancer Res*. 2014; 74(3): 641–646.
 10. Cottrell C.E., Bender N.R., Zimmermann M.T., et al. Somatic PIK3R1 variation as a cause of vascular malformations and overgrowth. *Genet Med*. 2021;23(10):1882–1888.
 11. Madsen R.R., Vanhaesebroeck B., Semple R.K. Cancer-Associated PIK3CA Mutations in Overgrowth Disorders. *Trends Mol Med*. 2018;24(10):856–870.
 12. Morin G.M., Zerbib L., Kaltenbach S., et al. PIK3CA-Related Disorders: From Disease Mechanism to Evidence-Based Treatments. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2024;25(1):211–237.
 13. Angulo-Urarte A., Graupera M. When, where and which PIK3CA mutations are pathogenic in congenital disorders. *Nat Cardiovasc Res*. 2022; 1(8):700–714.
 14. Canaud G., Hammill A.M., Adams D., et al. A review of mechanisms of disease across PIK3CA-related disorders with vascular manifestations. *Orphanet J Rare Dis*. 2021;16(1):306.
 15. Keppler-Noreuil K.M., Lozier J., Oden N., et al. Thrombosis risk factors in PIK3CA-related overgrowth spectrum and Proteus syndrome. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2019;181(4):571–581.
 16. Martinez-Glez V., Rodriguez-Laguna L., Viana-Huete V., et al. Segmental undergrowth is associated with pathogenic variants in vascular malformation genes: A retrospective case-series study. *Clin Genet*. 2022;101(3):296–306.
 17. Peyre M., Miyagishima D., Bielle F., et al. Somatic PIK3CA mutations in sporadic cerebral cavernous malformations. *N Engl J Med*. 2021;385(11):996–1004.
 18. De Bortoli M., Queisser A., Pham V.C., et al. Somatic Loss-of-Function PIK3R1 and Activating Non-hotspot PIK3CA Mutations Associated with Capillary Malformation with Dilated Veins (CMDV). *J Invest Dermatol*. 2024;144(9):2066–2077.
 19. Kuentz P., Engel C., Laeng M., et al. Clinical phenotype of the PIK3R1-related vascular overgrowth syndrome. *Br J Dermatol*. 2024;191(2):303–305.
 20. Schönewolf-Greulich B., Karstensen H.G., Hjortshøj T.D., et al. Early diagnosis enabling precision medicine treatment in a young boy with PIK3R1-related overgrowth. *Eur J Med Genet*. 2022;65(10):104590.
 21. Mirzaa G., Timms A.E., Conti V., et al. PIK3CA-associated developmental disorders exhibit distinct classes of mutations with variable expression and tissue distribution. *JCI Insight*. 2016;1(9).
 22. Kobialka P., Sabata H., Vilalta O., et al. The onset of PI3K-related vascular malformations occurs during angiogenesis and is prevented by the AKT inhibitor miransertib. *EMBO Mol Med*. 2022;14(7):e15619.
 23. Kurek K.C., Luks V.L., Ayturk U.M., et al. Somatic mosaic activating mutations in PIK3CA cause CLOVES syndrome. *Am J Hum Genet*. 2012;90(6):1108–1115.
 24. Martinez-Corral I., Zhang Y., Petkova M., et al. Blockade of VEGF-C signaling inhibits lymphatic malformations driven by oncogenic PIK3CA mutation. *Nat Commun*. 2020;11(1):2869.
 25. Chen H., Sun B., Liu H., et al. Delineation of the phenotypes and genotypes of PIK3CA-related overgrowth spectrum in East Asians. *Mol Genet Genomics*. 2024;299(1):66.
 26. Mojarad B.A., Hernandez P.V., Evenson M.J., et al. Profiling PIK3CA variants in disorders of somatic mosaicism. *Genetics in Medicine Open*. 2023;1(1):100815.

References

1. Keppler-Noreuil K.M., Rios J.J., Parker V.E.R., 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.
2. Reynolds G., Cardaropoli S., Carli D., et al. Epidemiology of the disorders of the Pik3ca-related overgrowth spectrum (Pros). *Eur J Hum Genet*. 2023;31(11):1333–1336.
3. Kuentz P., St-Onge J., Duffourd Y., 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.
4. Mussa A., Leoni C., Iacoviello M., 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.
5. Singh S., Bradford D., Li X., et al. FDA Approval Summary: Alpelisib for PIK3CA-Related Overgrowth Spectrum. *Clin Cancer Res*. 2024;30(1):23–28.
6. Fruman D.A., Chiu H., Hopkins B.D., et al. The PI3K pathway in human disease. *Cell*. 2017 10;170(4):605–635.

27. Dogruluk T., Tsang Y.H., Espitia M., et al. Identification of Variant-Specific Functions of PIK3CA by Rapid Phenotyping of Rare Mutations. *Cancer Res.* 2015;75(24):5341–5354.
28. Jansen L.A., Mirzaa G.M., Ishak G.E., et al. PI3K/AKT pathway mutations cause a spectrum of brain malformations from megalencephaly to focal cortical dysplasia. *Brain.* 2015;138(Pt 6): 1613–1628.
29. Cao Y., Evenson M.J., Corliss M.M., et al. Co-existence of 2 clinically significant variants causing disorders of somatic mosaicism. *Genetics in Medicine Open.* 2023;1(1):100807.
30. Dewar J., Lomas D., O'Neill C., et al. PA04 Germline activating variants in *PIK3CA* result in a diffuse overgrowth phenotype characterized by macrocephaly, cardiovascular and renal anomalies: recommendations for screening and monitoring. *British Journal of Dermatology.* 2024;191(Supplement_1):i124–i124.
31. Cooley Coleman J.A., Gass J.M., Srikanth S., et al. Clinical and functional characterization of germline PIK3CA variants in patients with PIK3CA-related overgrowth spectrum disorders. *Hum Mol Genet.* 2023;32(9):1457–1465.
32. Wilke M.V.M.B., Schimmenti L., Lopour M.Q.R., et al. A somatic splice-site variant in *PIK3R1* in a patient with vascular overgrowth and low immunoglobulin levels: A case report. *Mol Genet Genomic Med.* 2023;11(12):e2271.
33. Goss J.A., Konczyk D.J., Smits P., et al. Diffuse capillary malformation with overgrowth contains somatic PIK3CA variants. *Clin Genet.* 2020;97(5):736–740.
34. Diociaiuti A., Rotunno R., Pisaneschi E., et al. Clinical and Molecular Spectrum of Sporadic Vascular Malformations: A Single-Center Study. *Biomedicines.* 2022;10(6).
35. Al-Olabi L., Polubothu S., Dowsett K., et al. Mosaic RAS/MAPK variants cause sporadic vascular malformations which respond to targeted therapy. *The Journal of Clinical Investigation.* 2018; 128(4):1496–1508.
36. Queisser A., Seront E., Boon L.M., Vikkula M. Genetic basis and therapies for vascular anomalies. *Circ Res.* 2021;129(1):155–173.
37. Venot Q., Blanc T., Rabia S.H., et al. Targeted therapy in patients with PIK3CA-related overgrowth syndrome. *Nature.* 2018;558(7711):540–546.
38. Valentini V., Zelli V., Rizzolo P., et al. PIK3CA c.3140A>G mutation in a patient with suspected Proteus Syndrome: a case report. *Clin Case Rep.* 2018;6(7):1358–1363.
39. Youssefian L., Vahidnezhad H., Baghdadi T., et al. Fibroadipose hyperplasia versus Proteus syndrome: segmental overgrowth with a mosaic mutation in the PIK3CA gene. *J Invest Dermatol.* 2015;135(5):1450–1453.
40. McNulty S.N., Evenson M.J., Corliss M.M., et al. Diagnostic Utility of Next-Generation Sequencing for Disorders of Somatic Mosaicism: A Five-Year Cumulative Cohort. *Am J Hum Genet.* 2019; 105(4): 734–746.
41. Mussa A., Carli D., Cardaropoli S, et al. Lateralized and segmental overgrowth in children. *Cancers (Basel).* 2021;13(24): 6166.
42. Zhou X.P., Marsh D.J., Hampel H., et al. Germline and germline mosaic PTEN mutations associated with a Proteus-like syndrome of hemi-hypertrophy, lower limb asymmetry, arteriovenous malformations and lipomatosis. *Hum Mol Genet.* 2000;9(5): 765–768.
43. Caux F., Plauchu H., Chibon F., et al. Segmental overgrowth, lipomatosis, arteriovenous malformation and epidermal nevus (SOLAMEN) syndrome is related to mosaic PTEN nullizygosity. *Eur J Hum Genet.* 2007;15(7):767–773.
44. Castel P., Carmona F.J., Grego-Bessa J., et al. Somatic PIK3CA mutations as a driver of sporadic venous malformations. *Sci Transl Med.* 2016;8(332):332ra42.
45. Limaye N., Kangas J., Mendola A., et al. Somatic activating PIK3CA mutations cause venous malformation. *Am J Hum Genet.* 2015;97(6):914–921.
46. Zerbib L., Ladraa S., Fraissenon A., et al. Targeted therapy for capillary-venous malformations. *Signal Transduct Target Ther.* 2024;9(1):146.
47. Siegel D.H., Cottrell C.E., Streicher J.L., et al. Analyzing the Genetic Spectrum of Vascular Anomalies with Overgrowth via Cancer Genomics. *J Invest Dermatol.* 2018;138(4):957–967.
48. Ten Broek R.W., Eijkelenboom A., van der Vleuten C.J.M, et al. Comprehensive molecular and clinicopathological analysis of vascular malformations: A study of 319 cases. *Genes Chromosomes Cancer.* 2019;58(8):541–550.
49. Claire Hou Y.-C., Evenson M.J., Corliss M.M., et al. A comparative analysis of RAS variants in patients with disorders of somatic mosaicism. *Genet Med.* 2023;25(3):100348.
50. Chang C.A., Perrier R., Kurek K.C., et al. Novel findings and expansion of phenotype in a mosaic RASopathy caused by somatic KRAS variants. *Am J Med Genet A.* 2021;185(9):2829–2845.
51. Schmidt V.F., Wieland I., Wohlgemuth W.A., et al. Mosaic RASopathy due to KRAS variant G12D with segmental overgrowth and associated peripheral vascular malformations. *Am J Med Genet A.* 2021;185(10):3122–3128.
52. Chagas C.A.A., Pires L.A.S., Babinski M.A., Leite T.F. de O. Klippel-Trenaunay and Parkes-Weber syndromes: two case reports. *J vasc bras.* 2017;16(4):320–324.
53. Peterman C.M., Fevurly R.D., Alomari A.I., et al. Sonographic screening for Wilms tumor in children with CLOVES syndrome. *Pediatr Blood Cancer.* 2017;64(12).
54. Blatt J., Finger M., Price V., et al. Cancer Risk in Klippel-Trenaunay Syndrome. *Lymphat Res Biol.* 2019;17(6):630–636.
55. Faivre L., Crépin J.-C., Réda M., et al. Low risk of embryonic and other cancers in PIK3CA-related overgrowth spectrum: Impact on screening recommendations. *Clin Genet.* 2023; 104(5): 554–563.
56. Lalonde E., Ebrahimzadeh J., Rafferty K., et al. Molecular diagnosis of somatic overgrowth conditions: A single-center experience. *Mol Genet Genomic Med.* 2019;7(3):e536.
57. Piacitelli A.M., Jensen D.M., Brandling-Bennett H., et al. Characterization of a severe case of PIK3CA-related overgrowth at autopsy by droplet digital polymerase chain reaction and report of PIK3CA sequencing in 22 patients. *Am J Med Genet A.* 2018;176(11):2301–2308.
58. Quinlan-Jones E., Williams D., Bell C., et al. Prenatal Detection of PIK3CA-related Overgrowth Spectrum in Cultured Amniocytes Using Long-range PCR and Next-generation Sequencing. *Pediatr Dev Pathol.* 2017;20(1):54–57.
59. Pirozzi F., Berkseth M., Shear R., et al. Profiling PI3K-AKT-MTOR variants in focal brain malformations reveals new insights for diagnostic care. *Brain.* 2022 Apr 29;145(3):925–938.
60. Li D, Sheppard SE, March ME, et al. Genomic profiling informs diagnoses and treatment in vascular anomalies. *Nat Med.* 2023;29(6):1530–1539.
61. Zenner K., Jensen D.M., Cook T.T., et al. Cell-free DNA as a diagnostic analyte for molecular diagnosis of vascular malformations. *Genet Med.* 2021;23(1):123–130.
62. Cossio M.-L., Rodríguez J., Flores J.C., et al. Four-month-old with severe PIK3CA-related overgrowth spectrum disorder successfully treated with alpelisb. *Pediatr Dermatol.* 2024;41(4): 714–717.
63. Stenina M.B., Zhukova L.G., Koroleva I.A. et al. Prakticheskiye rekomendatsii po lekarstvennomu lecheniyu raka molochnoy zhelezy [Practical recommendations for drug treatment of breast cancer]. *Zlokachestvennyye opukholy [Malignant tumors].* 2020; 10(3s2-1): 145–182. (In Russ.)