

Кожанова Т.В.^{1,2}, Жилина С.С.^{1,2}, Мещерякова Т.И.^{1,2}, Абрамов А.А.¹, Айвазян С.О.¹, Заваденко Н.Н.²

Полноэкзомное секвенирование — молекулярно-генетическое тестирование первой линии при энцефалопатиях развития и эпилептических

¹ГБУЗ «Научно-практический центр специализированной медицинской помощи детям имени В.Ф. Войно-Ясенецкого Департамента здравоохранения города Москвы», 119620, Москва, Россия;

²ФГАУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 117997, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Энцефалопатия развития и эпилептическая — тяжёлые нарушения развития нервной системы, характеризующиеся рецидивирующими эпилептическими приступами, начавшимися в период новорождённости или в детстве, сопровождающиеся задержкой психомоторного и интеллектуального развития. Массовое параллельное секвенирование — это технология, используемая для определения полной нуклеотидной последовательности ДНК или РНК. Технология характеризуется высокой производительностью и скоростью, положила начало золотому веку генетики, позволяет быстро и качественно секвенировать большие объёмы ДНК с меньшими затратами.

Целью настоящего исследования является оценка эффективности применения полноэкзомного секвенирования (whole exome sequencing — WES) в качестве генетического теста первой линии у пациентов с энцефалопатией развития и эпилептической, и определения структуры выявленных вариантов в российской популяции.

Материалы и методы. Пациентам с фармакорезистентными судорогами, с дебютом в неонатальном и раннем детском возрасте, госпитализированным в психоневрологическое отделение в 2017–2023 гг., проведены клинко-генеалогический анализ, видеоэлектроэнцефалограмма, магнитно-резонансная томография головного мозга, WES.

Результаты. Основным результатом, полученным в ходе исследования анализа пациентов, которым был выполнен WES за 2017–2023 гг., является показатель выявляемости вариантов в генах, ассоциированных с энцефалопатией развития и эпилептической (21,7%; 71/331). Их них у 35/71 (49,3%) были выявлены патогенные и вероятно патогенные варианты нуклеотидной последовательности. На основании полученных результатов WES пациентам проведён подбор наиболее эффективных таргетных антиэпилептических препаратов.

Заключение. Показана высокая эффективность использования WES в качестве молекулярно-генетического теста первой линии у пациентов с энцефалопатией развития и эпилептической. Постановка точного генетического диагноза является фундаментальной предпосылкой прецизионной терапии. Персонализированная медицина, т. е. попытка персонализировать профилактику, диагностику и лечение, насколько это возможно, в соответствии с характеристиками и потребностями пациента, должна быть основной целью клинических исследований и новым направлением современной медицины.

Ключевые слова: энцефалопатия развития и эпилептическая; судороги; задержка развития; полноэкзомное секвенирование

Соблюдение этических стандартов. Ведение пациентов осуществлялось согласно принципам Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2013 г.). От родителей пациентов получено информированное согласие на проведение генетического исследования (WES).

Для цитирования: Кожанова Т.В., Жилина С.С., Мещерякова Т.И., Абрамов А.А., Айвазян С.О., Заваденко Н.Н. Полноэкзомное секвенирование — молекулярно-генетическое тестирование первой линии при энцефалопатиях развития и эпилептических. *Неврологический журнал им. Л.О. Бадаляна*. 2024; 5(2): 90–98 <https://doi.org/10.46563/2686-8997-2024-5-2-90-98>
<https://elibrary.ru/xkrxty>

Для корреспонденции: Кожанова Татьяна Викторовна, к.м.н., ведущий научный сотрудник, врач-лабораторный генетик ГБУЗ «НПЦ специализированной медицинской помощи детям ДЗМ»; доцент кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики имени Л.О. Бадаляна ПФ ФГАУ ВО «РНИМУ имени Н.И. Пирогова» МЗ РФ, 119620 Москва. E-mail: vkozhanov@bk.ru

Участие авторов:

Кожанова Т.В. концепция, написание текста;
Жилина С.С. концепция, редактирование текста;
Мещерякова Т.И. редактирование текста;
Абрамов А.А. редактирование текста;
Айвазян С.О. редактирование текста;
Заваденко Н.Н. редактирование текста.

Все соавторы утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 21.03.2024

Принята к печати 14.06.2024

Опубликована 31.07.2024

Tatyana V. Kozhanova^{1,2}, Svetlana S. Zhilina^{1,2}, Tatyana I. Meshcheryakova^{1,2}, Alexander A. Abramov¹, Sergey O. Ayvasyan¹, Nikolay N. Zavadenko²

Whole-exome sequencing is the molecular-genetic test of the first-line in developmental and epileptic encephalopathies

¹St. Luka's Clinical Research Center for Children, Moscow, 119620, Russian Federation;

²Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, 117997, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Developmental and epileptic encephalopathy are severe developmental disorders of the nervous system, characterized by recurrent epileptic seizures that begin over the neonatal period or childhood, accompanied by psychomotor retardation and intellectual disability. Massively parallel sequencing is a technology used to determine the complete nucleotide sequence of DNA or RNA. The technology is characterized by the high productivity and speed, marking the beginning of the golden age of genetics, allowing large volumes of DNA to be sequenced quickly and efficiently at lower costs. **The aim of this study** is to evaluate the effectiveness of whole-exome sequencing as a first-line genetic test in patients with developmental and epileptic encephalopathy and detect the structure of identified variants in the Russian population.

Materials and methods. Patients with drug-resistant seizures, onset in neonatal and early childhood, hospitalized in the Psychoneurological Department during 2017–2023. All patients underwent clinical and genealogical analysis, video-EEG and MRI of the brain, and whole-exome sequencing.

Results. The main result obtained in the study analysis of patients who underwent whole exome sequencing for the period of 2017–2023 was the detection rate of variants in genes associated with developmental and epileptic encephalopathy (21.7%; 71/331). Of these, 35/71 (49.3%) had pathogenic and probably pathogenic variants of the nucleotide sequence. Based on the results of whole exome sequencing patients were selected for the most effective targeted antiepileptic drugs.

Conclusion. The use of whole-exome sequencing as a first-line molecular genetic test in patients with developmental and epileptic encephalopathy has been shown to be highly effective. Making an accurate genetic diagnosis is a fundamental background for precision therapy. Personalized medicine, that is, the attempt to personalize prevention, diagnosis, and treatment as much as possible according to the characteristics and needs of the patient, should be the main goal of clinical research and a new direction of modern medicine.

Keywords: developmental and epileptic encephalopathy; seizures; developmental delay; whole exome sequencing

Compliance with ethical standards. Patient management was carried out according to the principles of the Declaration of Helsinki of the World Medical Association (2013). Informed consent was obtained from the parents of patients to conduct a genetic study (whole exome sequencing).

For citation: Kozhanova T.V., Zhilina S.S., Meshcheryakova T.I., Abramov A.A., Ayvasyan S.O., Zavadenko N.N. Whole-exome sequencing is the molecular-genetic test of the first-line in developmental and epileptic encephalopathies. *Nevrologicheskiy zhurnal imeni L.O. Badalyana (L.O. Badalyan Neurological Journal)*. 2024; 5(2): 90–98. (In Russ.) <https://doi.org/10.46563/2686-8997-2024-5-2-90-98> <https://elibrary.ru/xkrxty>

For correspondence: Tatyana V. Kozhanova, MD, PhD, Leading Researcher, Laboratory Geneticist, St. Luka's Clinical Research Center for Children, Moscow, 119620, Russian Federation; Associate Professor, Department of Neurology, Neurosurgery and Medical Genetics, Faculty of Pediatrics, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, 117997, Russian Federation. E-mail: vkozhanov@bk.ru

Contribution:

Kozhanova T.V.	concept, writing text;
Zhilina S.S.	concept, editing;
Meshcheryakova T.I.	editing;
Abramov A.A.	editing;
Ayvasyan S.O.	editing;
Zavadenko N.N.	editing;

All co-authors are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of its final version.

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

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

Received: April 23, 2024

Accepted: June 14, 2024

Published July 31, 2024

Введение

В 2022 г. Рабочая группа ILAE (Международная лига по борьбе с эпилепсией) разделила эпилептические синдромы, возникающие у новорождённых и детей грудного возраста, на 2 группы: синдромы эпилепсии, проявляющиеся возрастной спонтанной ремиссией, и энцефалопатии развития и эпилептические (ЭРиЭ), при которых наблюдаются стойкие нарушения развития нервной системы [1].

ЭРиЭ — тяжёлые нарушения развития нервной системы, характеризующиеся рецидивирующими эпи-

лептическими приступами, начавшимися в период новорождённости или в детстве, сопровождающиеся задержкой психомоторного и интеллектуального развития [2]. При ЭРиЭ судороги преимущественно фармакорезистентные. В течение заболевания могут проявляться различные неврологические симптомы, такие как атаксия, двигательные нарушения и расстройства поведения [3]. Нейровизуализация выявляет иногда специфические структурные изменения в головном мозге пациентов с ЭРиЭ [4]. Судороги и специфические изменения на электроэнцефалограмме (ЭЭГ) могут способствовать, по крайней мере

на ранних стадиях, нарушению когнитивного развития [5]. В связи с этим эпилептические энцефалопатии были определены ILAE как «состояние, при котором эпилептическая активность способствует выраженным когнитивным и поведенческим нарушениям» [6].

Однако во многих случаях ЭРиЭ нарушение развития обусловлено не столько эпилептической активностью, но и прямым влиянием мутации в гене на нейроонтогенез. Эти наблюдения привели к расширению используемой терминологии и включению термина «развитие», чтобы подчеркнуть, что оба аспекта (генетическая причина и эпилепсия) играют важную роль в формировании психо-неврологического дефицита [7]. Поэтому в 2017 г. ILAE предложила использование термина ЭРиЭ [8].

Фенотипический и генетический спектр ЭРиЭ чрезвычайно широк и включает в себя множество неврологических симптомов, которые почти всегда ассоциированы с психиатрическими проявлениями и нарушениями поведения [9–11].

На сегодняшний день доступно несколько генетических исследований с возможностью обнаружения как точечных мутаций, так и вариаций числа копий, которые могут прояснить генетическую этиологию ЭРиЭ. Возможный алгоритм предложен ILAE в 2016 г. для генетической диагностики ЭРиЭ: по фенотипическим и электроклиническим данным выделяют 2 группы эпилепсии: определённые или неопределённые эпилептические синдромы. В первом случае предпочтительно массовое параллельное секвенирование панели генов (next-generation sequencing — NGS), связанных с известными эпилептическими синдромами; в дальнейшем возможен поиск хромосомных перестроек методом array-CGH и, наконец, рекомендуется секвенирование всего экзона — полноэкзонное секвенирование (whole exome sequencing — WES). Во втором случае — при неопределённых эпилептических синдромах, если есть ассоциация с развитием интеллектуального дефицита, расстройствами аутистического спектра и/или дисморфическими особенностями — выполняется поиск хромосомных перестроек методом array-CGH с последующим исследованием кариотипа на предмет сложных хромосомных аббераций, и только в последнюю очередь проводится NGS панели генов. При получении отрицательного результата во всех исследованиях выполняется WES [12].

NGS — это технология, используемая для определения полной нуклеотидной последовательности ДНК или РНК. Технология характеризуется высокой производительностью и скоростью, позволяет быстро и качественно секвенировать большие объёмы ДНК с меньшими затратами [13, 14].

Целью настоящего исследования является оценка эффективности применения WES в качестве генетического теста первой линии у пациентов с ЭРиЭ и определения структуры выявленных вариантов в российской популяции.

Материалы и методы

В исследование были включены пациенты с фармакорезистентными судорогами, дебютом в неонатальном и раннем детском возрасте, госпитализированные в психоневрологическое отделение ГБУЗ «НПЦ специализированной медицинской помощи детям ДЗМ» в 2017–2023 гг. У всех пациентов проведён клинико-генеалогический анализ, основанный на данных, полученных у пробанда или его родственников в ходе первичного приёма у врача-генетика. Все пациентам проводились видео-ЭЭГ и магнитно-резонансная томография (МРТ) головного мозга.

Ведение пациентов осуществляли согласно принципам Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2013 г.). От родителей пациентов получено информированное согласие на проведение WES в генетической лаборатории ГБУЗ «НПЦ специализированной медицинской помощи детям ДЗМ». Обработка данных секвенирования проведена с использованием автоматизированного алгоритма, включающего выравнивание чтений на референсную последовательность генома человека, постпроцессинг выравнивания, выявление вариантов и их фильтрацию по качеству, а также аннотацию по всем известным транскриптам из базы RefSeq с применением ряда методов предсказания патогенности замен, а также методов расчёта эволюционной консервативности позиций и метода предсказания влияния замен на процесс сплайсинга. Для оценки популяционных частот выявленных вариантов использованы выборки здоровых добровольцев проектов Genome Aggregation Database и Ruseq. Для оценки клинической релевантности выявленных вариантов использованы базы данных OMIM, ClinVar, специализированные базы данных по отдельным заболеваниям (при наличии) и данные литературы. Выявленные варианты были классифицированы на основании стандартов и рекомендаций Американской коллегии медицинской генетики и геномики (American College of Medical Genetics — ACMG) по интерпретации данных на 3 класса: патогенные, вероятно патогенные, варианты с неопределённой клинической значимостью.

Результаты

В отделениях ГБУЗ «НПЦ специализированной медицинской помощи детям ДЗМ» за 2017–2023 гг. проконсультированы врачами-генетиками 5529 пациентов (22,3% выписанных). Среди них значительную долю (42,1%) составили пациенты психоневрологического отделения.

В структуре синдромальной патологии (по базе данных OMIM) по результатам WES преобладала доля пациентов с выявленными вариантами нуклеотидной последовательности в генах, ассоциированных с ЭРиЭ (21,7%; 71/331). На основании клинического наблюдения и данных генетического тести-

рования была сформирована группа из 71 пациента с ЭРиЭ.

Среди обследованных пациентов с ЭРиЭ было 38 (53,5%) мальчиков и 33 (46,5%) девочки; возраст на момент проведения клинико-генеалогического анализа и генетического исследования варьировал от 1 мес до 16 лет. Все пациенты с ЭРиЭ имели фармакорезистентные судороги. Средний возраст начала судорог — 16,2 мес (от 1 сут до 10 лет), при этом у 12 (16,9%) пациентов дебют приступов пришёлся на неонатальный период (первые 28 дней жизни ребёнка).

Клиническая характеристика пациентов пред-

ставлена в **табл. 1**. Основными типами приступов были тонические, билатеральные или генерализованные тонико-клонические судороги, инфантильные спазмы и миоклонии. Наиболее часто наблюдаемыми изменениями на ЭЭГ были фокальные регистрируемые разряды (28,2%), за ними следовали мультифокальные разряды (16,9%) и гипсаритмия (15,5%). При проведении МРТ в 33 (46,5%) случаях не выявлено изменений головного мозга; наиболее часто описываемыми аномалиями были атрофия головного мозга/нарушение миелинизации (8,5%), расширение желудочков (11,3%) и гипогенезия/агенезия мозолистого тела (5,6%), гипо-

Таблица 1. Клиническая характеристика пациентов с ЭРиЭ (n = 71)
Table 1. Clinical characteristics of patients with developmental and epileptic encephalopathy (n = 71)

Признак Sign	Количество (%) Number (%)
Мальчики Boys	38 (53,5%)
Девочки Girls	33 (46,5%)
Возраст Age	1 мес до 16 лет 1 month to 16 years
Начало судорог, мес Onset of seizures, months	16,2 мес (от 1 суток до 10 лет) 16,2 months (from 1 day to 10 years)
Неонатальные судороги Neonatal seizures	12 (16,9%)
Инфантильные судороги Infantile seizures	59 (83,1%)
ЭЭГ EEG	
Фокальные разряды Focal discharges	20 (28,2%)
Мультифокальные разряды Multifocal discharges	12 (16,9%)
Генерализованные разряды Generalized discharges	6 (8,4%)
Доброкачественные эпилептиформные разряды DERD	2 (2,8%)
Гипсаритмия Hypsarrhythmia	11 (15,5%)
Эпилептической активности и приступов не зарегистрировано No epileptic activity or seizures were registered	14 (19,7%)
МРТ MRI	
Расширение желудочков Ventricular dilatation	8 (11,3%)
Гипоксически-ишемические изменения Hypoxic-ischemic changes	7 (9,8%)
Атрофия головного мозга/нарушение миелинизации Brain atrophy/myelination disorder	6 (8,5%)
Гипогенезия/агенезия мозолистого тела Hypogenesis/agenesis of the corpus callosum	4 (5,6%)
Глиозные изменения Gliosis changes	4 (5,6%)
Кистозные образования Cystic formations	2 (2,8%)
Варианты в генах (критерии ACMG) Variants in genes (ACMG criteria)	
Патогенные Pathogenic	20 (28,2%)
Вероятно патогенные Probably pathogenic	15 (21,1%)
Варианты с неопределённой клинической значимостью VUS	36 (50,7%)

ксически-ишемические изменения (9,8%), глиоз (5,6%), кистозные образования (2,8%). В 1 случае пациент имел порок развития головного мозга в виде фокальной кортикальной дисплазии. Количество противоэpileптических препаратов, использованных перед генетическим тестированием, колебалось от 2 до 5.

При анализе полученных данных WES показано, что согласно критериям ACMG [15, 16], в 20 (28,2%) случаях у обследованных пациентов выявлены описанные в базе данных и научной литературе патогенные варианты нуклеотидной последовательности, в 15 (21,1%) случаях — вероятно патогенные, у 36 (50,7%) — варианты с неизвестным клиническим значением. На основе онтологии генов преобладали варианты в генах, определяющих активность работы каналов — *CACNA1A*, *SCN1A*, *SCN1B*, *SCN2A*, *SCN8A*, *KCNB1*, *KCNQ2*, *KCNT1*, *KCNT2*, *CACNA1E* (27/71; 38,02%), влияющих на синаптическую передачу — *GABBR2*, *GABRA1*, *GABRB1*, *GABRB2*, *GABRB3*, *GRIN1*, *GRIN2B*, *GRIN2D*, *STXBP1* (12/71; 16,9%) и везикулярный транспорт/клеточную адгезию — *ATP1A2*, *DNM1*, *PCDH19*, *SPTAN1* (10/71; 14,08%). По типу выявленных вариантов преобладали миссенс-мутации (53/71; 74,6%), приводящие к изменению аминокислоты в белке; варианты, приводящие к потере функции, были представлены делециями и дупликациями нуклеотидов (мутации со сдвигом рамки считывания) — 4/71 (5,6%) и 2/71 (2,8%) пациентов соответственно и нонсенс-мутациями (варианты,

приводящие к остановке синтеза полнофункционального белка) — 5/71 (7,04%) пациентов. У остальных пациентов с ЭРиЭ выявлены варианты, влияющие на эффективность сплайсинга — 7/71 (9,8%). Данные представлены на **рис. 1**.

По типу наследования в большинстве случаев были выявлены варианты нуклеотидной последовательности в генах, ассоциированных с аутосомно-доминантными формами ЭРиЭ (64/71; 90,1%).

По результатам WES, согласно критериям ACMG, у 20/71 (28,2%) пациентов определены патогенные варианты нуклеотидной последовательности, у 15,71 (21,1%) — вероятно патогенные, в остальных случаях (36/71; 50,7%) — варианты с неизвестным клиническим значением. Характеристика выявленных патогенных вариантов представлена в **табл. 2**.

Обсуждение

В настоящее время в генетической диагностике эпилепсии целевых генных панелей используют NGS, WES и секвенирование всего генома (whole genome sequencing — WGS). Кастомные генные панели позволяют проводить скрининг нескольких потенциально клинически значимых генов и проводить фенотип-генотипические корреляции. WES фокусируется на белок-кодирующих областях в геноме, что составляет приблизительно 1–2% генома, и выявляет 85% мутаций, связанных с заболеванием [16, 17].

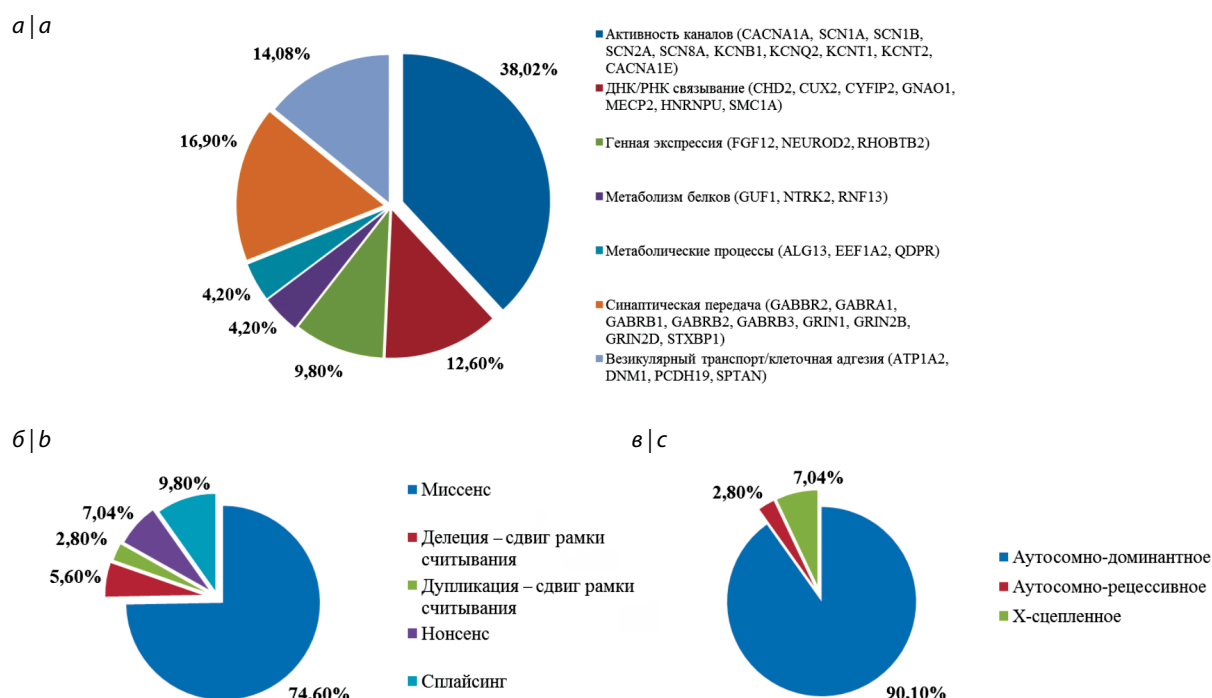


Рис. 1. Идентифицированные гены, разделённые на макрокатегории на основе онтологии генов (а), типы мутаций (б) и тип наследования выявленных вариантов (в).

Fig. 1. (a) Identified genes divided into macro-categories based on Gene Ontology. (b) Types of mutations identified. (c) Inheritance type of the identified variants.

Таблица 2. Патогенные варианты (критерии ACMG) нуклеотидной последовательности, выявленные у пациентов с ЭРИЭ (n = 20)

Table 2. Pathogenic variants (ACMG criteria) of the nucleotide sequence identified in patients with developmental and epileptic encephalopathy (n = 20)

Ген Gene	Транскрипт Transcript (RefSeq)	Замена нуклеотида Nucleotide substitution	Замена аминокислоты Amino acid substitution	Тип мутаций Type options	Зиготность/тип наследования Zygosity/type of inheritance
<i>KCNT1</i>	NM_020822.3	<i>c.1420C>T</i>	<i>p.Arg474Cys</i>	Миссенс Missense	Гетерозигота/АД Heterozygote/AD
<i>PCDH19</i>	NM_001184880.2	<i>c.565G>T</i>	<i>p.Glu189X</i>	Нонсенс Nonsense	Гетерозигота/Х-сцепленное Heterozygote/X linked
<i>PCDH19</i>	NM_001184880.2	<i>c.1091dup</i>	<i>p.Tyr366LeufsTer10</i>	Сдвиг рамки считывания (дупликация) Frameshift (duplication)	Гетерозигота/Х-сцепленное Heterozygote/X linked
<i>ALG13</i>	NM_001099922.3	<i>c.320A>G</i>	<i>p.Asn107Ser</i>	Миссенс Missense	Гетерозигота/Х-сцепленное Heterozygote/X linked
<i>FGF12</i>	NM_004113.6	<i>c.155G>A</i>	<i>p.Arg52His</i>	Миссенс Missense	Гетерозигота/АД Heterozygote/AD
<i>SCN1A</i>	NM_001165963.4	<i>c.1034G>A</i>	<i>p.Cys345Tyr</i>	Миссенс Missense	Гетерозигота/АД Heterozygote/AD
<i>KCNB1</i>	NM_004975.4	<i>c.629C>T</i>	<i>p.Thr210Met</i>	Миссенс Missense	Гетерозигота/АД Heterozygote/AD
<i>GRIN2B</i>	NM_000834.5	<i>c.2470A>G</i>	<i>p.Met824Val</i>	Миссенс Missense	Гетерозигота/АД Heterozygote/AD
<i>SCN1A</i>	NM_001165963.4	<i>c.1837C>T</i>	<i>p.Arg613X</i>	Нонсенс Nonsense	Гетерозигота/АД Heterozygote/AD
<i>GNAO1</i>	NM_020988.3	<i>c.155A>G</i>	<i>p.Gln52Arg</i>	миссенс missense	Гетерозигота/АД Heterozygote/AD
<i>KCNQ2</i>	NM_172107.4	<i>c.1632-1G>A</i>	Сайт сплайсинга Splicing site	Сплайсинг акцептор Splicing acceptor	Гетерозигота/АД Heterozygote/AD
<i>KCNQ2</i>	NM_172107.4	<i>c.1573C>T</i>	<i>p.Arg553Trp</i>	Миссенс Missense	Гетерозигота/АД Heterozygote/AD
<i>SCN2A</i>	NM_001040142.2	<i>c.2995G>A</i>	<i>p.Glu999Lys</i>	Миссенс Missense	Гетерозигота/АД Heterozygote/AD
<i>SCN8A</i>	NM_001330260.2	<i>c.5614C>T</i>	<i>p.Arg1872Trp</i>	Миссенс Missense	Гетерозигота/АД Heterozygote/AD
<i>SCN1A</i>	NM_001165963.4	<i>c.664C>T</i>	<i>p.Arg222X</i>	Нонсенс Nonsense	Гетерозигота/АД Heterozygote/AD
<i>SCN1A</i>	NM_001165963.4	<i>c.1178G>A</i>	<i>p.Arg393His</i>	Миссенс Missense	Гетерозигота/АД Heterozygote/AD
<i>MECP2</i>	NM_001110792.2	<i>c.397C>T</i>	<i>p.Arg133Cys</i>	Миссенс Missense	Гетерозигота/АД Heterozygote/AD
<i>PCDH19</i>	NM_001184880.2	<i>c.1114C>T</i>	<i>p.Arg372Trp</i>	миссенс missense	Гетерозигота/Х-сцепленное Heterozygote/X linked
<i>SCN1A</i>	NM_001165963.4	<i>c.1639_1640del</i>	<i>p.Lys547GlufsTer23</i>	Сдвиг рамки считывания (делеция) Frameshift (deletion)	Гетерозигота/АД Heterozygote/AD
<i>SCN1A</i>	NM_001165963.4	<i>c.3970-1G>A</i>	Сайт сплайсинга Splicing site	Сплайсинг акцептор Splicing acceptor	Гетерозигота/АД Heterozygote/AD

Примечание. АД — аутосомно-доминантное наследование.
Note. AD — autosomic dominant type of inheritance.

WGS предоставляет информацию о целом геноме (как кодирующих, так и не кодирующих областях), обеспечивая дополнительной информацией о мутациях в регуляторных регионах, а также о вариациях числа копий с более высокой эффективностью, чем WES. Большая часть (99%) генома содержит нетранслируе-

мые области, которые могут играть регуляторную роль (например, не кодирующие РНК или сайты связывания транскрипции) вместе с потенциальными сайтами кодирования белка, которые ещё не аннотированы как гены. WGS может быть особенно полезно в научных целях, поскольку даёт более широкое представление

о геноме и позволяет открывать новые генетические ассоциации. Таким образом, и WES, и WGS имеют свои преимущества и подходят для различных целей. Выбор между двумя методами зависит от конкретных потребностей генетического тестирования [18].

Высокую диагностическую ценность WES имеет при диагностике моногенных заболеваний. Показано, что WES позволяет поставить диагнозы наследственного заболевания у 75–80% пациентов. Это важно, поскольку при быстрой и эффективной диагностике пациенты могут получать адекватную и своевременную медицинскую помощь. WES важно не только для установления диагноза, но и служит основой для понимания патогенетических механизмов заболеваний, выделения новых нозологий, эффективного генетического консультирования пациентов, пренатальной диагностики и разработки подходов к таргетному лечению [16, 17]. Во многих исследованиях подчёркивается влияние NGS, включая WES, на уровень научных знаний. С одной стороны, с помощью новых технологий выявляются новые гены как причины заболеваний. С другой стороны, устанавливается связь новых фенотипов с ранее описанными генами [16, 17].

В основе персонализированного подхода с применением WES лежит коллегиальное взаимодействие врача генетика и лабораторного генетика в интерпретации вариантов нуклеотидной последовательности и постановке молекулярного диагноза, что даёт возможность выработать стратегию действий, направленную на лечение, предупреждение осложнений и репродуктивных рисков в семье.

В исследовании представлены и проанализированы результаты применения в качестве генетического тестирования первой линии WES у пациентов с ЭРиЭ, характеризующейся ранним началом фармакорезистентных судорог, ассоциированных с задержкой развития и когнитивным дефицитом.

Ранее подобное исследование было проведено на итальянской популяции [19], патогенные или вероятно патогенные варианты были выявлены в 43% (35/82) случаев [19]. Р. Boonsimma и соавт. обследовали 103 пациента с фармакорезистентной эпилепсией с ранним началом [20]. С целью поиска причины заболевания проведено WES. По результатам WES выявлены патогенные или вероятно патогенные варианты в 62% случаев (64/103) и у 29% пациентов (19/66) варианты ранее никогда не были описаны [20]. В нашем исследовании патогенные или вероятно патогенные варианты при применении WES были выявлены у 35/71 (49,3%) пациентов, что сопоставимо с показателем в исследовании L. Vetri и соавт. [19]. С точки зрения диагностической ценности метода, результаты, полученные в нашем исследовании, полностью сопоставимы с результатами других работ с использованием WES в диагностике генетических эпилепсий, показывающих показатель выявляемости генетической причины 25–45% [21].

При сопоставлении данных, полученных в нашем

исследовании, с результатами работы L. Vetri и соавт. [19], выявлены интересные различия. По типу вариантов нуклеотидной последовательности в 7,04% случаев установлены нонсенс-мутации, приводящие к остановке синтеза полнофункционального белка. В исследовании L. Vetri и соавт. [19] таких вариантов не выявлено. Также у нас было больше вариантов, нарушающих процесс сплайсинга — 9,8% против 3% в итальянском исследовании. И следующим интересным моментом, отличающим наше исследование от работы L. Vetri и соавт. [19], было большое количество описанных пациентов с вариантами в генах, участвующих в синаптической передаче. В нашем случае это гены *GABBR2*, *GABRA1*, *GABRB1*, *GABRB2*, *GABRB3*, *GRIN1*, *GRIN2B*, *GRIN2D*, *STXBP1* у 12/71 (16,9%) пациентов. В исследовании L. Vetri и соавт. [19] описан только ген *GABRB3*.

В нашем наблюдении пациентов с ЭРиЭ, как и в исследовании L. Vetri и соавт. [19], не обнаружено статистически значимых различий в семиологии приступов, изменении на ЭЭГ, результатах МРТ головного мозга, количестве использованных АЭП, возрасте и полу. Показатель количества пациентов с неонатальными судорогами был сопоставим с показателем в работе L. Vetri и соавт. (16,9 и 17% соответственно).

В настоящее время на основании ряда опубликованных работ показано, что диагностический протокол использования WES в качестве теста первой линии является экономически эффективным вариантом по сравнению с протоколами применения панели генов. Е.Е. Palmer и соавт. в исследовании, направленном на изучение экономической эффективности использования WES в диагностическом протоколе, показали, что WES примерно в 10 раз дешевле стандартной диагностической панели [22]. Ещё одним неоспоримым преимуществом использования WES является возможность выявления новых возможных генов-кандидатов; так в исследовании L. Vetri и соавт. были идентифицированы 3 гена (*KCNK2*, *STXBP6* и *DHRS9*), варианты в которых ранее не были связаны с развитием эпилепсии.

Заключение

В настоящем исследовании оценивалась эффективность использования WES в качестве молекулярно-генетического теста первой линии у пациентов с ЭРиЭ.

Пациенты с ранним началом судорог, задержкой развития, интеллектуальным дефицитом часто включаются в группы с ЭРиЭ и определяют генетический этиопатогенез. Фенотипический спектр таких форм чрезвычайно широк и включает множество неврологических признаков, которые связаны не только с резистентными приступами, но и с психическими проявлениями и нарушениями в поведении. Такая симптоматика отражает широкую генотипическую гетерогенность, лежащую в основе различных синдромов. В этом контексте чрезвычайно важно иметь до-

ступные диагностические инструменты, которые при правильном соотношении затрат и эффективности и в разумные сроки могут пролить свет на этиологию энцефалопатии.

Основным результатом, полученным в ходе обследования пациентов, которым был выполнен WES в 2017–2023 гг., является показатель выявляемости вариантов в генах, ассоциированных с ЭРИЭ (21,7%; 71/331). Их них у 35/71 (49,3%) были найдены патогенные и вероятно патогенные варианты нуклеотидной последовательности. На основании полученных результатов WES пациентам проведён подбор наиболее эффективных таргетных антиэпилептических препаратов.

Кроме этого WES вносит существенный научный вклад, благодаря обнаружению новых генов-кандидатов в развитие эпилепсии, проведению генотип-фенотипических корреляций и расширению спектра за счёт описания новых форм ЭРИЭ.

Постановка точного генетического диагноза является фундаментальной предпосылкой прецизионной терапии. Персонализированная медицина, т. е. попытка персонализировать профилактику, диагностику и лечение, насколько это возможно, в соответствии с характеристиками и потребностями пациента должна быть основной целью клинических исследований и новым направлением современной медицины.

ЛИТЕРАТУРА

- Wirrell E., Tinuper P., Perucca E., Moshé S.L. Introduction to the epilepsy syndrome papers. *Epilepsia*. 2022; 63(6): 1330–2. <https://doi.org/10.1111/epi.17262>
- Kalser J., Cross J.H. The epileptic encephalopathy jungle – from Dr. West to the concepts of aetiology-related and developmental encephalopathies. *Curr. Opin. Neurol.* 2018; 31(2): 216–22. <https://doi.org/10.1097/WCO.0000000000000535>
- Guerrini R., Conti V., Mantegazza M., Balestrini S., Galanopoulou A.S., Benfenati F. Developmental and epileptic encephalopathies: from genetic heterogeneity to phenotypic continuum. *Physiol. Rev.* 2023; 103(1): 433–513. <https://doi.org/10.1152/physrev.00063.2021>
- Siniatchkin M., Capovilla G. Functional neuroimaging in epileptic encephalopathies. *Epilepsia*. 2013; 54(Suppl. 8): 27–33. <https://doi.org/10.1111/epi.12420>
- Raga S., Specchio N., Rheims S., Wilmshurst J.M. Developmental and epileptic encephalopathies: recognition and approaches to care. *Epileptic Disord.* 2021; 23(1): 40–52. <https://doi.org/10.1684/epd.2021.1244>
- Berg A.T., Berkovic S.F., Brodie M.J., Buchhalter J., Cross J.H., van Emde Boas W., et al. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005–2009. *Epilepsia*. 2010; 51(4): 676–85. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2010.02522.x>
- Scheffer I.E., Liao J. Deciphering the concepts behind “Epileptic encephalopathy” and “Developmental and epileptic encephalopathy”. *Eur. J. Paediatr. Neurol.* 2020; 24: 11–4. <https://doi.org/10.1016/j.ejpn.2019.12.023>
- Scheffer I.E., Berkovic S., Capovilla G., Connolly M.B., French J., Guilhoto L., et al. ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*. 2017; 58(4): 512–21. <https://doi.org/10.1111/epi.13709>
- McTague A., Howell K.B., Cross J.H., Kurian M.A., Scheffer I.E. The genetic landscape of the epileptic encephalopathies of infancy and childhood. *Lancet Neurol.* 2016; 15(3): 304–16. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(15\)00250-1](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(15)00250-1)
- Caliendo M., Lanzara V., Vetri L., Roccella M., Marotta R., Carotenuto M., et al. Emotional-behavioral disorders in healthy siblings

- of children with neurodevelopmental disorders. *Medicina (Kaunas)*. 2020; 56(10): 491. <https://doi.org/10.3390/medicina56100491>
- Vetri L., Messina L.M., Drago F., D’Aiuto F., Vanadia F., Brighina F., et al. Are paediatric headaches in the emergency department increasing? An Italian experience. *Funct. Neurol.* 2019; 34(3): 188–95.
- Esposito M., Orsini A., Striano P. Percorso diagnostico nelle epilepsie genetiche. *Prospett. Pediatr.* 2019; 49: 86–94. (in Italian)
- Slatko B.E., Gardner A.F., Ausubel F.M. Overview of next-generation sequencing technologies. *Curr. Protoc. Mol. Biol.* 2018; 122(1): e59. <https://doi.org/10.1002/cpmb.59>
- Levy S.E., Boone B.E. Next-generation sequencing strategies. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2019; 9(7): a025791. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025791>
- Richards S., Aziz N., Bale S., Bick D., Das S., Gastier-Foster J., et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet. Med.* 2015; 17(5): 405–24. <https://doi.org/10.1038/gim.2015.30>
- Рыжкова О.П., Кардымон О.Л., Прохорчук Е.Б., Коновалов Ф.А., Масленников А.Б., Степанов В.А. и др. Руководство по интерпретации данных, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS). *Медицинская генетика*. 2017; 16(7): 4–17. <https://elibrary.ru/zjtgdg>
- Демикова Н.С., Баранова Е.Е. Показания к полногеномному секвенированию у больных с подозрением на наследственные редкие заболевания: Учебное пособие. М.; 2022.
- Ostrander B.E.P., Butterfield R.J., Pedersen B.S., Farrell A.J., Layer R.M., Ward A., et al. Whole-genome analysis for effective clinical diagnosis and gene discovery in early infantile epileptic encephalopathy. *NPJ Genom. Med.* 2018; 3: 22. <https://doi.org/10.1038/s41525-018-0061-8>
- Vetri L., Cali F., Saccone S., Vinci M., Chiavetta N.V., Carotenuto M., et al. Whole exome sequencing as a first-line molecular genetic test in developmental and epileptic encephalopathies. *Int. J. Mol. Sci.* 2024; 25(2): 1146. <https://doi.org/10.3390/ijms25021146>
- Boonsimma P., Ittiwut C., Kamolvisit W., Ittiwut R., Chetruengchai W., Phokaew C., et al. Exome sequencing as first-tier genetic testing in infantile-onset pharmacoresistant epilepsy: diagnostic yield and treatment impact. *Eur. J. Hum. Genet.* 2023; 31(2): 179–87. <https://doi.org/10.1038/s41431-022-01202-x>
- Mercimek-Mahmutoglu S., Patel J., Cordeiro D., Hewson S., Callen D., Donner E.J., et al. Diagnostic yield of genetic testing in epileptic encephalopathy in childhood. *Epilepsia*. 2015; 56(5): 707–16. <https://doi.org/10.1111/epi.12954>
- Palmer E.E., Schofield D., Shrestha R., Kandula T., Macintosh R., Lawson J.A., et al. Integrating exome sequencing into a diagnostic pathway for epileptic encephalopathy: Evidence of clinical utility and cost effectiveness. *Mol. Genet. Genomic Med.* 2018; 6(2): 186–99. <https://doi.org/10.1002/mgg3.355>

REFERENCES

- Wirrell E., Tinuper P., Perucca E., Moshé S.L. Introduction to the epilepsy syndrome papers. *Epilepsia*. 2022; 63(6): 1330–2. <https://doi.org/10.1111/epi.17262>
- Kalser J., Cross J.H. The epileptic encephalopathy jungle – from Dr. West to the concepts of aetiology-related and developmental encephalopathies. *Curr. Opin. Neurol.* 2018; 31(2): 216–22. <https://doi.org/10.1097/WCO.0000000000000535>
- Guerrini R., Conti V., Mantegazza M., Balestrini S., Galanopoulou A.S., Benfenati F. Developmental and epileptic encephalopathies: from genetic heterogeneity to phenotypic continuum. *Physiol. Rev.* 2023; 103(1): 433–513. <https://doi.org/10.1152/physrev.00063.2021>
- Siniatchkin M., Capovilla G. Functional neuroimaging in epileptic encephalopathies. *Epilepsia*. 2013; 54(Suppl. 8): 27–33. <https://doi.org/10.1111/epi.12420>
- Raga S., Specchio N., Rheims S., Wilmshurst J.M. Developmental and epileptic encephalopathies: recognition and approaches to care. *Epileptic Disord.* 2021; 23(1): 40–52. <https://doi.org/10.1684/epd.2021.1244>
- Berg A.T., Berkovic S.F., Brodie M.J., Buchhalter J., Cross J.H., van Emde Boas W., et al. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005–2009. *Epilepsia*. 2010; 51(4): 676–85. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2010.02522.x>

7. Scheffer I.E., Liao J. Deciphering the concepts behind “Epileptic encephalopathy” and “Developmental and epileptic encephalopathy”. *Eur. J. Paediatr. Neurol.* 2020; 24: 11–4. <https://doi.org/10.1016/j.ejpn.2019.12.023>
8. Scheffer I.E., Berkovic S., Capovilla G., Connolly M.B., French J., Guilhoto L., et al. ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia.* 2017; 58(4): 512–21. <https://doi.org/10.1111/epi.13709>
9. McTague A., Howell K.B., Cross J.H., Kurian M.A., Scheffer I.E. The genetic landscape of the epileptic encephalopathies of infancy and childhood. *Lancet Neurol.* 2016; 15(3): 304–16. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(15\)00250-1](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(15)00250-1)
10. Caliendo M., Lanzara V., Vetri L., Roccella M., Marotta R., Carotenuto M., et al. Emotional-behavioral disorders in healthy siblings of children with neurodevelopmental disorders. *Medicina (Kaunas).* 2020; 56(10): 491. <https://doi.org/10.3390/medicina56100491>
11. Vetri L., Messina L.M., Drago F., D’Aiuto F., Vanadia F., Brighina F., et al. Are paediatric headaches in the emergency department increasing? An Italian experience. *Funct. Neurol.* 2019; 34(3): 188–95.
12. Esposito M., Orsini A., Striano P. Percorso diagnostico nelle epilessie genetiche. *Prospett. Pediatr.* 2019; 49: 86–94. (in Italian)
13. Slatko B.E., Gardner A.F., Ausubel F.M. Overview of next-generation sequencing technologies. *Curr. Protoc. Mol. Biol.* 2018; 122(1): e59. <https://doi.org/10.1002/cpmb.59>
14. Levy S.E., Boone B.E. Next-generation sequencing strategies. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2019; 9(7): a025791. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025791>
15. Richards S., Aziz N., Bale S., Bick D., Das S., Gastier-Foster J., et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet. Med.* 2015; 17(5): 405–24. <https://doi.org/10.1038/gim.2015.30>
16. Ryzhkova O.P., Kardymon O.L., Prohorchuk E.B., Kononov F.A., Maslennikov A.B., Stepanov V.A., et al. Guidelines for the interpretation of massive parallel sequencing variants. *Meditsinskaya genetika.* 2017; 16(7): 4–17. <https://elibrary.ru/zjtgdrr> (in Russian)
17. Demikova N.S., Baranova E.E. *Indications for Genome-Wide Sequencing in Patients with Suspected Hereditary Rare Diseases: Textbook [Pokazaniya k polnogenomnomu sekvenirovaniyu u bol’nykh s podozreniem na nasledstvennye redkie zabolevaniya: Uchebnoe posobie]*. Moscow; 2022. (in Russian)
18. Ostrander B.E.P., Butterfield R.J., Pedersen B.S., Farrell A.J., Lyster R.M., Ward A., et al. Whole-genome analysis for effective clinical diagnosis and gene discovery in early infantile epileptic encephalopathy. *NPJ Genom. Med.* 2018; 3: 22. <https://doi.org/10.1038/s41525-018-0061-8>
19. Vetri L., Cali F., Saccone S., Vinci M., Chiavetta N.V., Carotenuto M., et al. Whole exome sequencing as a first-line molecular genetic test in developmental and epileptic encephalopathies. *Int. J. Mol. Sci.* 2024; 25(2): 1146. <https://doi.org/10.3390/ijms25021146>
20. Boonsimma P., Ittiwut C., Kamolvisit W., Ittiwut R., Chetruengchai W., Phokaew C., et al. Exome sequencing as first-tier genetic testing in infantile-onset pharmacoresistant epilepsy: diagnostic yield and treatment impact. *Eur. J. Hum. Genet.* 2023; 31(2): 179–87. <https://doi.org/10.1038/s41431-022-01202-x>
21. Mercimek-Mahmutoglu S., Patel J., Cordeiro D., Hewson S., Callen D., Donner E.J., et al. Diagnostic yield of genetic testing in epileptic encephalopathy in childhood. *Epilepsia.* 2015; 56(5): 707–16. <https://doi.org/10.1111/epi.12954>
22. Palmer E.E., Schofield D., Shrestha R., Kandula T., Macintosh R., Lawson J.A., et al. Integrating exome sequencing into a diagnostic pathway for epileptic encephalopathy: Evidence of clinical utility and cost effectiveness. *Mol. Genet. Genomic Med.* 2018; 6(2): 186–99. <https://doi.org/10.1002/mgg3.355>

Информация об авторах:

Кожанова Татьяна Викторовна, к.м.н., ведущий научный сотрудник, врач-лабораторный генетик ГБУЗ «НПЦ спец.мед.помощи детям ДЗМ», 119620, Москва, Россия; доцент кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики имени Л.О. Бадаляна ПФ ФГАОУ ВО «РНИМУ имени Н.И. Пирогова» МЗ РФ, <https://orcid.org/0000-0001-9101-5213> E-mail: vkozhanov@bk.ru

Жилина Светлана Сергеевна, к.м.н., ведущий научный сотрудник, врач — генетик ГБУЗ «НПЦ спец.мед.помощи детям ДЗМ», 119620, Москва, Россия; доцент кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики имени Л.О. Бадаляна ПФ ФГАОУ ВО «РНИМУ имени Н.И. Пирогова» МЗ РФ, <https://orcid.org/0000-0002-2400-0748> E-mail: szhylina@mail.ru

Мещерякова Татьяна Ивановна, к.м.н., ведущий научный сотрудник, врач-генетик ГБУЗ «НПЦ спец.мед.помощи детям ДЗМ», 119620, Москва, Россия; доцент кафедры общей и медицинской генетики МБФ ФГАОУ ВО «РНИМУ имени Н.И. Пирогова» МЗ РФ, <https://orcid.org/0000-0001-6020-0758> E-mail: ivanovna-76@mail.ru

Абрамов Александр Андреевич, научный сотрудник, врач — лабораторный генетик ГБУЗ «НПЦ спец.мед.помощи детям ДЗМ», 119620, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0481-483X> E-mail: arhelios@yandex.ru

Айвазян Сергей Оганесович, ведущий научный сотрудник ГБУЗ «НПЦ спец.мед.помощи детям ДЗМ», 119620, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-9363-8836> E-mail: soayvaz@gmail.com

Заваденко Николай Николаевич, д.м.н., профессор, зав. кафедрой неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики им. академика Л.О. Бадаляна ПФ ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» МЗ РФ, 117997, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0103-7422> E-mail: zavadenko@mail.ru

Information about the authors:

Tatyana V. Kozhanova, MD, PhD, Leading Researcher, Laboratory Geneticist, St. Luka’s Clinical Research Center for Children, Moscow, 119620, Russian Federation; Associate Professor, Department of Neurology, Neurosurgery and Medical Genetics, Faculty of Pediatrics, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, 117997, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-9101-5213> E-mail: vkozhanov@bk.ru

Svetlana S. Zhilina, MD, PhD, Leading Researcher, Geneticist, St. Luka’s Clinical Research Center for Children, Moscow, 119620, Russian Federation; Associate Professor, Department of Neurology, Neurosurgery and Medical Genetics, Faculty of Pediatrics, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, 117997, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-2400-0748> E-mail: szhylina@mail.ru

Tatyana I. Meshcheryakova, MD, PhD, Leading Researcher, Geneticist, St. Luka’s Clinical Research Center for Children, Moscow, 119620, Russian Federation; Associate Professor, Department of General and Medical Genetics, Faculty of Medicine and Biology, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, 117997, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-6020-0758> E-mail: ivanovna-76@mail.ru

Alexander A. Abramov, Researcher, Laboratory Geneticist, St. Luka’s Clinical Research Center for Children, Moscow, 119620, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0003-0481-483X> E-mail: arhelios@yandex.ru

Sergey O. Ayvazyan, MD, PhD, Leading Researcher, Geneticist, St. Luka’s Clinical Research Center for Children, Moscow, 119620, Russian Federation; <https://orcid.org/0000-0001-9363-8836> E-mail: soayvaz@gmail.com

Nikolay N. Zavadenko, MD, PhD, DSci., Professor, Chief of Department of Neurology, Neurosurgery and Medical Genetics, Faculty of Pediatrics, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, 117997, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0003-0103-7422> E-mail: zavadenko@mail.ru