

Молекулярно-генетическая природа наследственных заболеваний, проявляющихся подвывихом хрусталика

Сталыбко Анастасия Сергеевна, научный сотрудник РНПЦ «Мать и дитя»

Введение

- Термин «врожденное смещение хрусталика» описывает случаи дислокации хрусталика, не связанные с травмой
- Врожденное смещение хрусталика – частый признак наследственных заболеваний соединительной ткани
- Распространённость генетически обусловленной дислокации хрусталика составляет 7-10 случаев на 100 000 человек (Коновалов М.Е. и соавт., 2014, Грабовецкий В.Р. и соавт., 2016)
- Мутации в гене *FBN1* являются причиной врожденной эктопии хрусталика в 25-85% случаев (Li J. et al., 2014, Overwater E. et al., 2017)
- Другими частыми причинами врожденного смещения хрусталика являются мутации в генах *ADAMTSL4* и *CBS* (Li J. et al., 2014, Overwater E. et al., 2017)

Цель исследования

- Оценить вклад мутаций в генах *ADAMTSL4*, *FBN1* и *CBS* в развитие врожденного смещения хрусталика у пациентов в Республике Беларусь

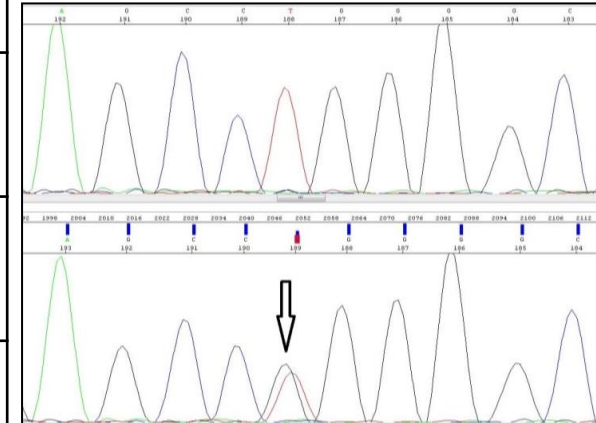
Материалы и методы исследования

- Группа обследованных (83 пациента):
 - 36 пробандов из 35 неродственных семей
 - 47 здоровых и пораженных родственников
- Иммуноферментный анализ (РНПЦ «Мать и дитя»)
 - Определение концентрации общего гомоцистеина
- Метод мультиплексной амплификации лигированных зондов (РНПЦ «Мать и дитя»)
 - Поиск крупных перестроек в гене *FBN1*
- Высокопроизводительное секвенирование (Институт репродуктивной генетики ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова», РНПЦ «Мать и дитя»)
 - Поиск мутаций в генах *FBN1*, *ADAMTSL4*, *CBS*
- Секвенирование по Сэнгеру (РНПЦ «Мать и дитя»)
 - Подтверждение вариантов, выявленных с помощью секвенирования нового поколения, фрагментного анализа
 - Поиск мутаций в генах *FBN1*, *ADAMTSL4*, *CBS*
- Фрагментный анализ (РНПЦ «Мать и дитя»)
 - Исследование частоты гетерозиготного носительства мутации c.767_786del20 в гене *ADAMTSL4* в группе из 1000 новорожденных в Беларуси

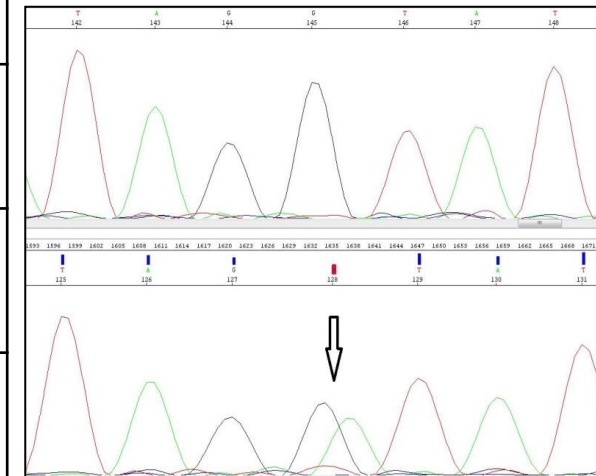
Результаты исследования: *FBN1*

У 30 из 36 (83,33%) пробандов обнаружены мутации в гене *FBN1*

16 новых вариантов		13 ранее известных мутаций rs193922219 – выявлен в 2 неродственных семьях	
p.Cys821Ser (NM_000138.5: c.2461T>A)	p.Cys2617Trpfs*65 (NM_000138.5: c.7851delC)	p.Cys598Tyr (NM_000138.5:c.1793G>A, rs1555399955)	NM_000138.5:c.2539+1G> A (rs794728192)
p.Cys628Trp (NM_000138.5: c.1884C>G)	p. Gly779fs* (NM_000138.5: c.2335G>T)	p.Trp217Gly (NM_000138.5:c.649T>G, rs193922224)	p.Cys1835Tyr (NM_000138.5:c.5504G>A, rs111929350)
p.Cys2565Ser (NM_000138.5: c.7694G>C)	p.Thr1547Asnfs*5 (NM_000138.5: c. 4640_4641insA)	NM_000138.5:c.1837+1G>A (rs397515762)	p.Cys80Arg (NM_000138.5: c.238T>C, rs111764111)
p.Cys750Ser (NM_000138.5: c.2248T>A)	p.Cys1719Alafs*174 (NM_000138.5: c.5155del)	NM_000138.5:c.5788+5G>A (rs193922219)	p. Cys763Arg (NM_000138.5: c.2287T>C, rs1555399361)
p.Cys534Phe (NM_000138.5: c.1601G>T)	p.Glu2748Lysfs*4 (NM_000138.5: c.8246delG)	p.Cys596Tyr (NM_000138.5:c.1787G>A, rs2043732180)	p. Cys1431* (NM_000138.5: c.4293C>A, rs112375043)
p.Cys816Tyr (NM_000138.5: c.2447G>A)	(NM_000138.5: c.6616+2T>C)	p.Arg545Cys (NM_000138.5:c.1633C>T, rs730880099)	NM_000138.5:c.4460- 8G>A (rs193922204)
p.Leu1464Pro (NM_000138.5: c.4391T>C)	p.Thr1299Pro (NM_000138.5: c.3895A>C)	p.Cys1408Arg (NM_000138.5:c.4222T>C, rs397515802)	
p.Gly716Arg (NM_000138.5: c.2146G>C)	p.Asp1689Gly (NM_000138.5: c.5066A>G)		



Мутация c.2146G>C в 17 экзоне гена *FBN1* в гетерозиготном состоянии (нижняя дорожка)

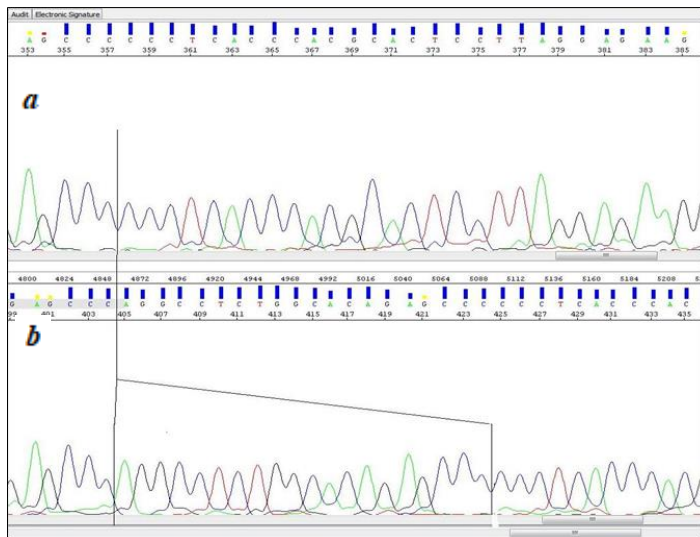


Мутация c.2539+1G>A в 21 интроне гена *FBN1* в гетерозиготном состоянии (нижняя дорожка)

Результаты исследования: *ADAMTSL4*

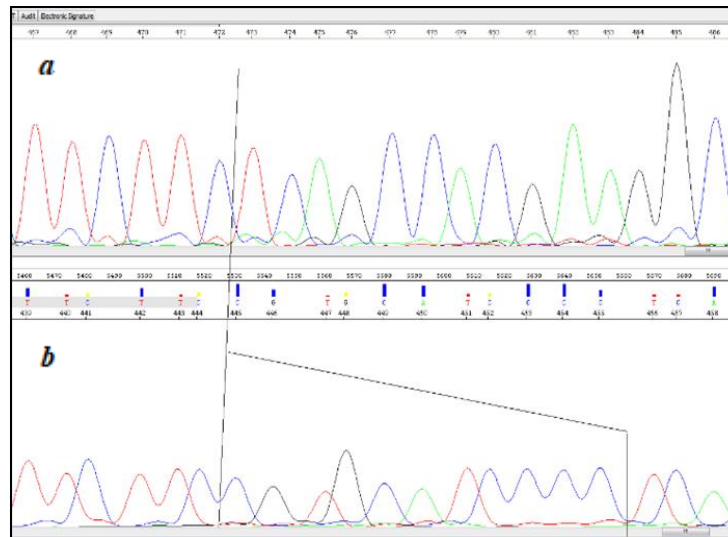
Изолированная аутосомно-рецессивная эктопия хрусталиков - редкое заболевание, обусловленное мутациями в *ADAMTSL4* диагностировано у трех пробандов (8,33%) из двух неродственных семей

Рисунок 1



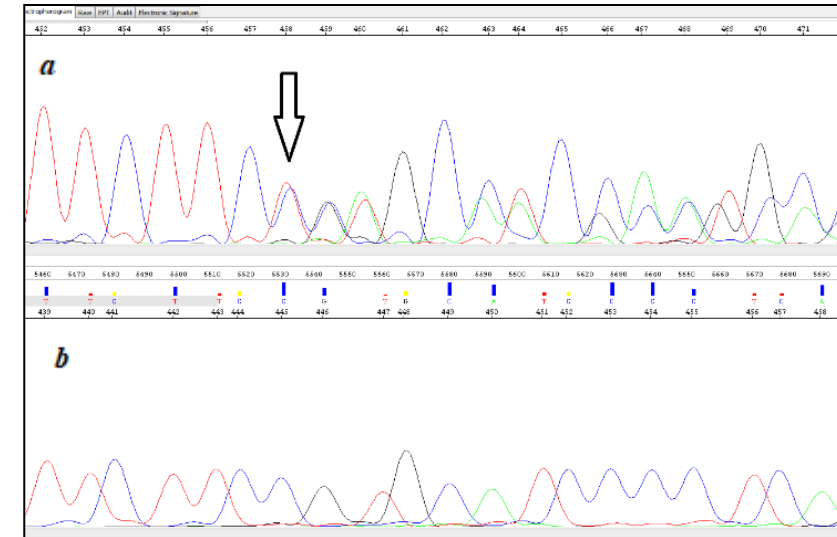
Делеция с.767_786del11 в гомозиготном состоянии у пациента (а), нормальная последовательность (б), линиями выделен deletированный фрагмент

Рисунок 2



Делеция с.826_836del11 в гомозиготном состоянии у пациента (а), нормальная последовательность (б), линиями выделен deletированный фрагмент

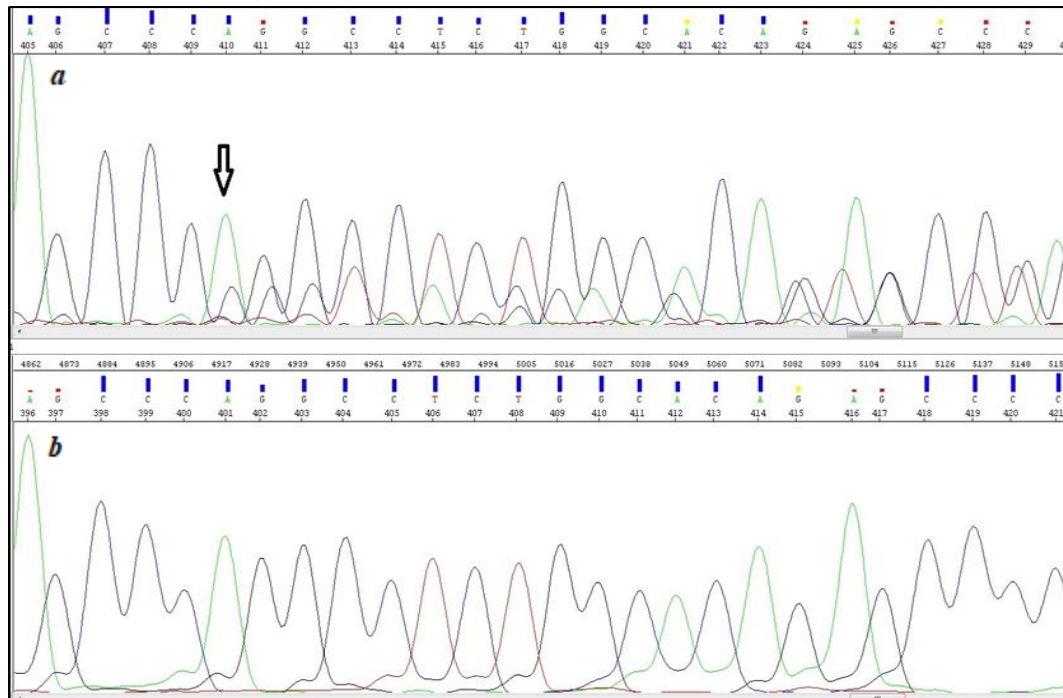
Рисунок 3



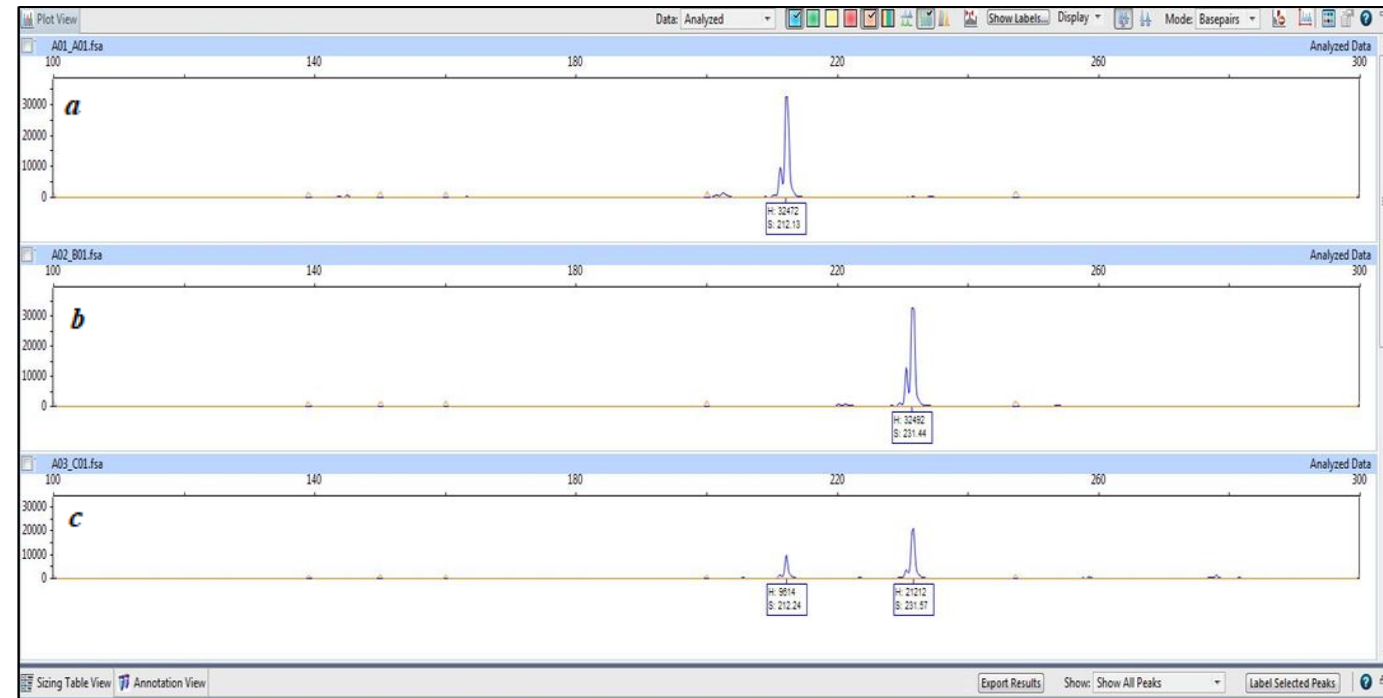
Делеция с.826_836del11 в гетерозиготном состоянии у матери пациента (а, показано стрелкой), нормальная последовательность (б)

Результаты исследования: *ADAMTSL4*

В группе из 1000 новорожденных в Республике Беларусь 4 оказались носителями наиболее частого мутантного аллеля 6 экзона гена *ADAMTSL4* – с.767_786del20 в гетерозиготном состоянии



Делеция с.767_786del20 в гетерозиготном состоянии
(*a*, показано стрелкой), нормальная последовательность (*b*)

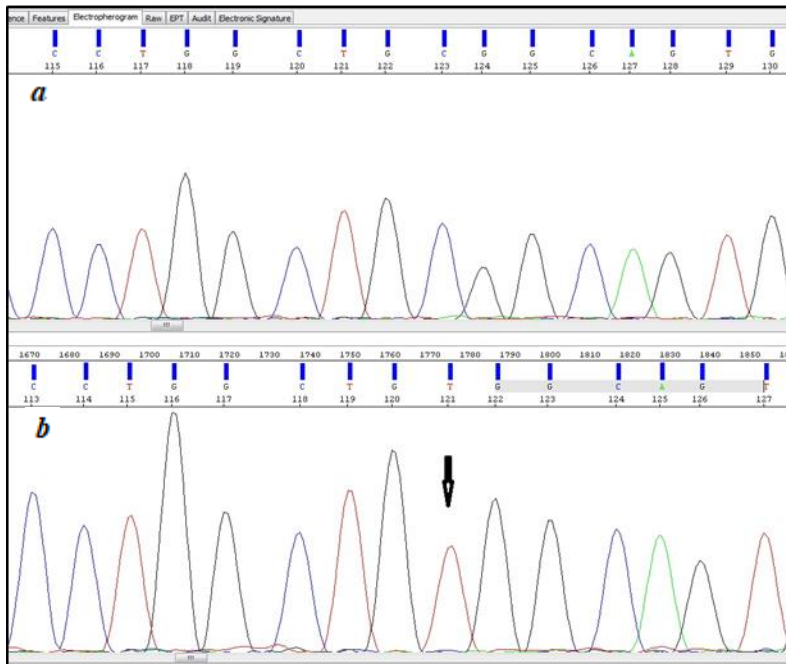


A – фрагмент длиной 212 п.о., соответствующий делеции с.767_786del20 в гомозиготном состоянии, *B* – фрагмент длиной 231 п.о. соответствует нормальной последовательности, *C* – фрагмент длиной 212 и 232 п.о., соответствующие делеции с.767_786del20 в гетерозиготном состоянии

Результаты исследования: CBS

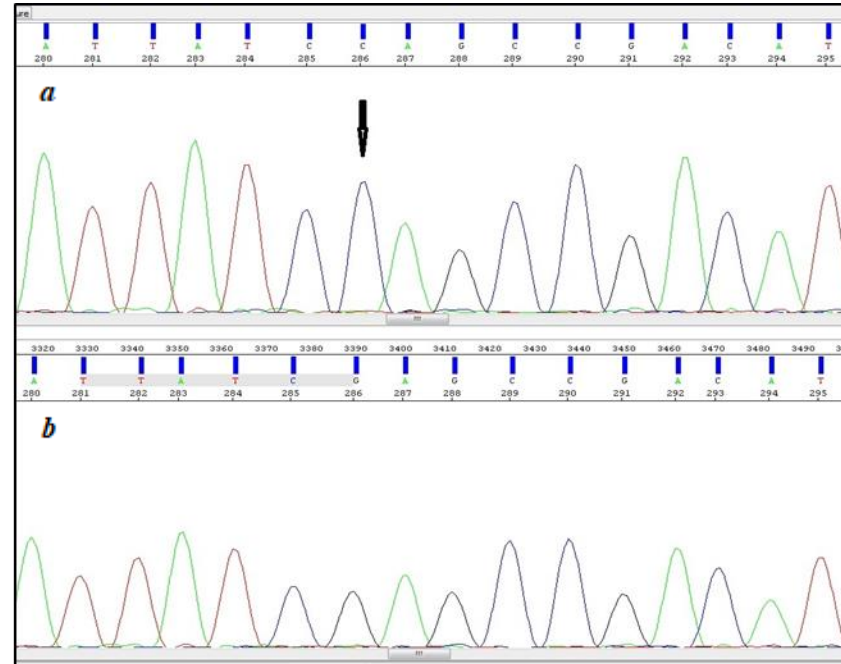
Классическая гомоцистинурия – редкое аутосомно- рецессивное заболевание, обусловленное дефицитом активности цистатионин-β-синтазы вследствие мутаций в гене *CBS*, диагностировано у 3 пробандов (8,33%) из 36 обследованных

Рисунок 1



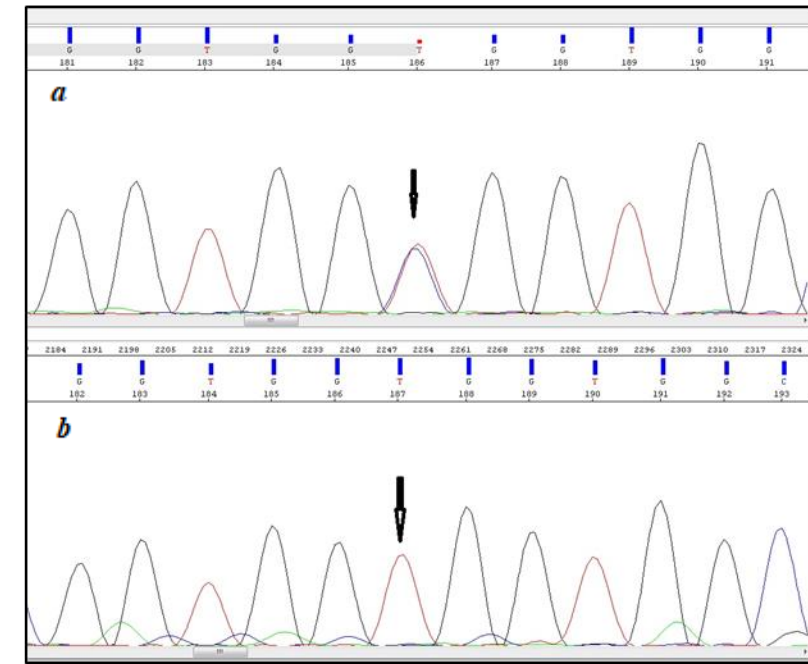
Мутация с.473C>T в гене CBS в гомозиготном состоянии у пробанда 1 (b), нормальная последовательность в контрольном образце (a)

Рисунок 2



Мутация с.430G>C в гене CBS в гомозиготном состоянии у пробанда 2 (a), нормальная последовательность в контрольном образце (b)

Рисунок 3



Мутация с.1064C>T в гене CBS гетерозиготном состоянии у сестры пробанда 3 (a), мутация с.1064C>T в гомозиготном состоянии у пробанда 3 (b)