Идентификация мутаций у больных незавершенным остеогенезом из Республики Башкортостан

© Зарипова А.Р.^{1*}, Хусаинова Р.И.^{1,2}

¹*Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, 450054, Уфа*

²*ГБУЗ Республиканский медико-генетический центр, 450076, Уфа*

*E-mail: a.ramilna@bk.ru

Проведено молекулярно-генетическое исследование незавершенного остеогенеза в 103 отягощенных семьях. Идентифицированы 9 типов патогенных мутаций у 12 пациентов в генах *COL1A1*, *COL1A2* и *IFITM5*: 2 дупликации, 1 делеция, 2 нонсенс, 3 миссенс, 1 – сдвига рамки считывания.

Ключевые слова: генетика; наследственные заболевания; незавершенный (несовершенный) остеогенез; гены коллагена; множественные переломы; синдром голубых склер; секвенирование; мутации; полиморфные варианты; NGS-секвенирование.

Незавершенный остеогенез (НО) (МКБ-10: Q78.0, несовершенный остеогенез) – это клинически и генетически гетерогенное наследственное заболевание, характеризующееся многочисленными переломами [1].

Более 80% случаев НО связаны с доминантно-наследуемыми мутациями в генах *COL1A1* или *COL1A2* [3]. В остальных случаях, в патогенез заболевания вовлечены 19 «неколлагеновых» генов, многие из которых отвечают за аутосомно-рецессивный тип наследования, за исключением генов *IFITM5* и *WNT1*, которые обуславливают аутосомно-доминантные формы.

В Республике Башкортостан зарегистрирован 151 пациент с НО в 145 семьях, частота заболевания составила 1:27937 населения, что сопоставимо с частотой заболевания в некоторых странах мира.

Учитывая клиническую и генетическую гетерогенность заболевания, а также тяжелое и инвалидизирующее течение, выявление молекулярно-генетической причины каждого конкретного случая НО является актуальной задачей для определения прогноза течения и проведения медико-генетического консультирования отягощенных семей.

Цели и задачи. Целью данного исследования является поиск структурных изменений в генах, участвующих в патогенезе НО, с последующей идентификацией выявленных изменений, определением патогенетической значимости и клинико-генетических корреляций, типа наследования и формы заболевания.

Материалы и методы. В нашей работе были использованы образцы ДНК 116 больных незавершенным остеогенезом из 103 семей и 148 родственников. Основными методами являлись выделение ДНК методом последовательной фенольно-хлороформной экстракции из цельной венозной крови, полимеразная цепная реакция, секвенирование по Сэнгеру и NGS-технология.

Результаты и обсуждение. В проведенном нами исследовании были идентифицированы 9 типов изменений с патогенной значимостью у 12 пациентов в генах *COL1A1*, *COL1A2* и *IFITM5*. В гене ***COL1A1*** были идентифицированы следующие патогенные мутации:

- ранее неописанная в литературе мутация с.375dupC, p.Ala126fs, приводящая к сдвигу рамки считывания. У пробанда (пол женский, 1966 г.р.) данная мутация возникла de novo. У пациента обнаружены: тугоухость, голубые склеры, контрактура левого локтевого сустава, тазобедренных и коленных суставов, множественные переломы. У родителей пробанда данная мутация не была найдена. Родители фенотипически здоровы.

- у двух пробандов идентифицирована мутация с.579delT (p.Gly194ValfsX71), в первом случае мутация возникла de novo, во втором – днк отца недоступно для анализа. В литературе мутация описана, как вовлеченная в патогенез НО 1 типа. Это изменение последовательности создает сигнал преждевременной остановки трансляции (p.Gly194Valfs * 71) в гене *COL1A1*. Варианты с потерей функции в *COL1A1*, как известно, являются патогенными. У первого пробанда (пол мужской, 2002 г.р.), обнаружены следующие клинические проявления: множественные переломы, брахицефалия, синие склеры, гипермобильность суставов, мышечная гипотония, деформация верхних и нижних конечностей, зубы неровные, янтарного цвета, речь с дефектами. У второго (пол мужской, 1995 г.р.), - склеры голубые, рахитические браслетки, гиперподвижность суставов, плоскостопие, сколиоз, деформация грудной клетки, множественные переломы [4].

- нонсенс мутация с.967G>T(p.Gly323X) патогенетическая мутация у пробанда (пол женский, 1991 г.р.) и его матери, 1969 г.р.. Данное изменение приводит к НО 1 типа. Клинические проявления заболевания у пациента: у пробанда – 4 перелома, голубые склеры, уши без мочек, зубы светло-коричневые, мышечная гипотония, гиперэкстензия суставов, выраженный остеопороз, у матери – около 20 переломов. У отца пробанда данная мутация отсутствует [1].

- нонсенс мутация с.658C>T, p.Arg220* найдена у пробанда (пол мужской, 2012 г.р). Данное изменение приводит к НО 1 типа. Множество переломы, вальгусная деформация конечностей, Голубые склеры, зубы янтарного цвета, крошатся, грудная клетка конической формы. Мать и отец фенотипически здоровы, их ДНК для генетического анализа недоступны [5].

- миссенс мутация с.2461G>A, p.Gly821Ser найдена у пробанда (пол женский, 1992 г.р). Об этом варианте сообщалось у многих людей с несовершенным остеогенезом (НО) типов I-IV, причем НО типа IV является наиболее распространенным (PMID: 26177859, 26627451, 27519266, 21667357, 21884818, 17078022). Также было показано, что этот вариант возникает de novo у человека, пораженного НО типа III (PMID: 9101304). В анамнезе множественные переломы. Фенотип: сколиоз, деформация нижних конечностей, голубые склеры. Тип наследования на данный момент невозможно выяснить, так как ДНК членов семьи недоступно для анализа [6,7,8].

В гене ***COL1A2*** были идентифицированы следующие патогенетические мутации, являющиеся причиной возникновения НО у пациентов:

- миссенс мутация с.874G>A;p.Gly292Ser у пробанда (пол мужской, 2001 г.р). Согласно базе данных университета Лейдена, мутация описана у пациентов с НО I и III типов. Обнаружено: множественные переломы, плоско-вальгусные стопы, позвоночник искривлен, склеры голубые, зубы желто-янтарного оттенка, выраженная мышечная гипотония, гипермобильность суставов. Тип наследования на данный момент невозможно выяснить, так как ДНК членов семьи недоступно для анализа [9,10].

- дупликация с.1897_1902dupGCTGGT, p.Ala633_Gly634dup у пробанда (пол женский, 2001 г.р.). Данная мутация не была описана в литературе и по предсказательным программам (in silico) оценена, как вероятно патогенная. Обнаружено: 4 перелома, голова акроцефальной формы, выраженные лобные бугры, голубые склеры, самостоятельно не ходит, множественные деформации верхних и нижних конечностей, килевидная деформация грудной клетки, грудной кифоз, низкий рост, саблевидная деформация правого плеча, частичный птоз, гипотиреоз. У матери пробанда данная мутация не найдена, ДНК отца недоступна для генетического анализа.

- миссенс мутация с.G2341C:p.G781R у пробанда (пол мужской, 2016 г.р.), возникшая de novo. В базе данных ClinVar и HGMD описана, как патогенная (CM194715). Данная мутация приводит к НО 1 типа. У пробанда обнаружено: множественные переломы с рождения, крупная голова, склеры голубые.

Также найдена мутация с.-14C>T в гене *IFITM5* у трех неродственных пациентов. У двух пациентов наблюдается клиническая картина V типа НО, у третьего пациента также выявлена ранее неописанная мутация с.1903C>T: p.Arg635* в гене *LAMB3*, что привело к стертой клинической манифестации V типа НО. Нами впервые было обнаружено сочетание двух молекулярных дефектов у пациентки с основным диагнозом НО V типа [2].

Заключение. Таким образом, нами были идентифицировано: 1 дупликация, 1 делеция, 2 нонсенс и 1 миссенс мутации в гене *COL1A1*, в гене *COL1A2* - 2 миссенс и 1 дупликация. Также найдена мутация -с.-14C>T в гене *IFITM5* у трех неродственных пациентов. У одного пациента дополнительно выявлена ранее неописанная мутация с.1903C>T: p.Arg635* в гене *LAMB3*, что привело к стертой клинической манифестации.

Литература

1. Надыршина Д.Д., Хусаинова Р.И., Хуснутдинова Э.К.. Исследование α 1 цепи коллагена 1 типа (*COL1A1*) у больных несовершенным остеогенезом // Генетика. 2012. Т 48. № 3. С. 372–380.
2. Зарипова А.Р., Нургалиева Л.Р., Тюрин А.В., Миннихметов И.Р., Хусаинова Р.И. Поиск мутаций в гене интерферон индуцированного трансмембранного белка 5 (*IFITM5*) у больных несовершенным остеогенезом. Медицинская генетика 2019; 18(10): 21-29.
3. Joan C. Marini, An D., Dang Do, Kenneth R Feingold, Bradley Anawalt. Osteogenesis Imperfecta. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDTtext.com, Inc.; 2000–2020 Jul 26.
4. Zhytnik L., Maasalu K., Pashenko A., etc. COL1A1/2 Pathogenic Variants and Phenotype Characteristics in Ukrainian Osteogenesis Imperfecta Patients. Front Genet. 2019 Aug 9;10:722. doi:10.3389/fgene.2019.00722.
5. Zhang H., Yang R, Wang Y., etc. A pilot study of gene testing of genetic bone dysplasia using targeted next-generation sequencing. J Hum Genet. 2015 Dec;60(12):769-76. doi: 10.1038/jhg.2015.112.
6. Kloen P, Donders JCE, Eekhoff EMW, Hamdy RC. Pauwels Osteotomy for Femoral Neck Nonunion in Two Adult Siblings with Osteogenesis Imperfecta. Hip Pelvis. 2018;30(1):53-59. doi:10.5371/hp.2018.30.1.53

7. Mohd Nawawi N, Selveindran NM, Rasat R, et al. Genotype-phenotype correlation among Malaysian patients with osteogenesis imperfecta. Clin Chim Acta. 2018;484:141-147. doi:10.1016/j.cca.2018.05.048
8. Marini JC, Forlino A, Cabral WA, et al. Consortium for osteogenesis imperfecta mutations in the helical domain of type I collagen: regions rich in lethal mutations align with collagen binding sites for integrins and proteoglycans. Hum Mutat. 2007;28(3):209-221. doi:10.1002/humu.20429
9. Ho Duy B, Zhytnik L, Maasalu K, et al. Mutation analysis of the COL1A1 and COL1A2 genes in Vietnamese patients with osteogenesis imperfecta. Hum Genomics. 2016;10(1):27. Published 2016 Aug 12. doi:10.1186/s40246-016-0083-1
10. Rolvien T, Stürznickel J, Schmidt FN, et al. Comparison of Bone Microarchitecture Between Adult Osteogenesis Imperfecta and Early-Onset Osteoporosis. Calcif Tissue Int. 2018;103(5):512-521. doi:10.1007/s00223-018-0447-8

The identification of mutations in patients with osteogenesis imperfecta from the Republic of Bashkortostan

Zaripova A.R.^{1*}, Khusainova R.I.^{1,2}

¹ Institute of Biochemistry and Genetics Ufa Branch of the Russian Academy of Sciences;

² Republican Medical Genetics Center, Ufa; ³ Bashkir State Medical University, Ufa

*e-mail: a.ramilna@bk.ru

A molecular genetic study of osteogenesis imperfecta in 103 burdened families was carried out. 9 types of pathogenic mutations were identified in 12 patients in the COL1A1, COL1A2 and IFITM5 genes: 2 duplications, 1 deletion, 2 nonsense, 3 missense, 1 frame shift.

Key words: *genetics; hereditary diseases; incomplete (imperfect) osteogenesis; collagen genes; multiple fractures; blue sclera syndrome; sequencing; mutations; polymorphic variants; NGS sequencing.*