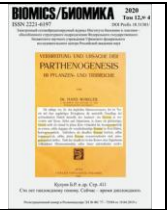




BIOMICS/БИОМИКА



ISSN 2221-6197 <http://biomicsj.ru>

ИДЕНТИФИКАЦИЯ МУТАЦИЙ У БОЛЬНЫХ НЕЗАВЕРШЕННЫМ ОСТЕОГЕНЕЗОМ ИЗ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН

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

¹Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра РАН,
Россия, 450054, Уфа, Проспект Октября, 71

²ГБУЗ Республиканский медико-генетический центр, Россия, 450076, г. Уфа, ул. Гафури, д. 74

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

Резюме

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 – сдвиг рамки считывания.

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

Цитирование: Зарипова А.Р., Хусаинова Р.И. Идентификация мутаций у больных незавершенным остеогенезом из Республики Башкортостан // Биомика. 2020. Т.12(4). С. 460-463. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-38

© Авторы

THE IDENTIFICATION OF MUTATIONS IN PATIENTS WITH OSTEOGENESIS IMPERFECTA FROM THE REPUBLIC OF BASHKORTOSTAN

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

¹Institute of Biochemistry and Genetics - Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, 71 Prospekt Oktyabrya, 450054, Ufa, Russia

²Republican Medical Genetic Center 74 Gafuri street, 450076, Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia

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

Resume

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.

Citation: Zaripova A.R., Khusainova R.I. The identification of mutations in patients with osteogenesis imperfecta from the Republic of Bashkortostan. *Biomics*. V.12(4). P. 460-463. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-38 (In Russian)

© The Authors

Введение

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.

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 патогенетической 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 недоступна для анализа. В литературе мутация описана, как вовлеченная в патогенез НО 1 типа [4]. 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.

- нонсенс мутация с.967G>T(p.Gly323X) патогенетическая мутация у пробанда (пол женский, 1991 г.р.) и матери пробанда, 1969 г.р. Данное изменение приводит к НО 1 типа [1]. 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.

- нонсенс мутация с.658C>T, p.Arg220* найдена у пробанда (пол мужской, 2012 г.р.). Данное изменение приводит к НО 1 типа [5]. 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.

- 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 [8] и IV, причем НО типа IV является наиболее распространенным [11, 12, 13]. Также было показано, что этот вариант возникает *de novo* у человека, пораженного НО типа III [6,7]. В анамнезе множественные переломы. Фенотип: сколиоз, деформация нижних конечностей, голубые склеры. Тип наследования на данный момент невозможно выяснить, так как ДНК членов семьи недоступна для анализа.

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 [9,10]. 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 недоступна для анализа.

- 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 I 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 идентифицированы: 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

- Надыршина Д.Д., Хусаинова Р.И., Хуснутдинова Э.К.. Исследование $\alpha 1$ цепи коллагена I типа (*COL1A1*) у больных несовершенным остеогенезом // Генетика. 2012. Т 48. № 3. С. 372–380.
- 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.
- Joan C. Marini, An D., Dang Do, Kenneth R Feingold, Bradley Anawalt. Osteogenesis Imperfecta. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000–2020 Jul 26.
- 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.
- 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.
- Kloen P, Donders JCE, Eekhoff EMW, Hamdy RC. Pauwels Osteotomy for Femoral Neck Nonunion in Two Adult Siblings with Osteogenesis Imperfecta // Hip Pelvis. 2018. V.30(1). P.53-59. doi:10.5371/hp.2018.30.1.53
- Mohd Nawawi N, Selveindran NM, Rasat R, et al. Genotype-phenotype correlation among Malaysian patients with osteogenesis imperfecta // Clin Chim Acta. 2018. V.484. P.141-147. doi:10.1016/j.cca.2018.05.048
- Wang Z, Xu DL, Hu JY, Liao YH, Yang Z, Liang Q, Wang LT. Gene mutation analysis of a Chinese family with osteogenesis imperfecta. Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi. 2006 Apr;23(2):192-4. (In Chinese)
- 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. V.10(1) 27. doi: 10.1186/s40246-016-0083-1
- Rolvien T, Stürznickel J, Schmidt FN, et al. Comparison of Bone Microarchitecture Between Adult Osteogenesis Imperfecta and Early-Onset Osteoporosis // Calcif Tissue Int. 2018. V.103(5). P.512-521. doi:10.1007/s00223-018-0447-8
- Lin HY, Chuang CK, Su YN, Chen MR, Chiu HC, Niu DM, Lin SP. Genotype and phenotype analysis of Taiwanese patients with osteogenesis imperfecta // Orphanet J Rare Dis. 2015. V.10:152. doi: 10.1186/s13023-015-0370-2
- 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. V.10(1):27. doi: 10.1186/s40246-016-0083-1

Zhang ZL, Zhang H, Ke YH, Yue H, Xiao WJ, Yu JB, Gu JM, Hu WW, Wang C, He JW, Fu WZ. The identification of novel mutations in COL1A1, COL1A2, and LEPRE1 genes in Chinese patients with osteogenesis imperfecta // *J Bone Miner Metab*. 2012. V.30(1). P.69-77. doi: 10.1007/s00774-011-0284-6

References

Nadyrshina D.D., Husainova R.I., Husnutdinova Je.K. Issledovanie α 1 cepi kollagena 1 tipa (COL1A1) u bol'nyh nesovershennym osteogenezom. *Genetika*. 2012. T 48. № 3. C. 372–380. [Study of the α -1 chain of type 1 collagen (COL1A1) in patients with osteogenesis imperfecta] (In Russian)

Zaripova A.R., Nurgalieva L.R., Tjurin A.V., Minniahmetov I.R., Husainova R.I. Poisk mutacij v gene interferon inducirovannogo transmembrannogo belka 5 (IFITM5) u bol'nyh nesovershennym osteogenezom. *Medicinskaja genetika*. 2019. V.18(10). P. 21-29. [Search for mutations in the interferon-induced transmembrane protein 5 (IFITM5) gene in patients with osteogenesis imperfecta] (In Russian)

Joan C. Marini, An D., Dang Do, Kenneth R Feingold, Bradley Anawalt. Osteogenesis Imperfecta. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000–2020 Jul 26.

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

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. V.60(12). P.769-76. doi: 10.1038/jhg.2015.112

Kloen P, Donders JCE, Eekhoff EMW, Hamdy RC. Pauwels Osteotomy for Femoral Neck Nonunion in Two

Adult Siblings with Osteogenesis Imperfecta. *Hip Pelvis*. 2018. V.30(1). P.53-59. doi:10.5371/hp.2018.30.1.53

Mohd Nawawi N, Selveindran NM, Rasat R, et al. Genotype-phenotype correlation among Malaysian patients with osteogenesis imperfecta. *Clin Chim Acta*. 2018. V.484. P.141-147. doi:10.1016/j.cca.2018.05.048

Wang Z, Xu DL, Hu JY, Liao YH, Yang Z, Liang Q, Wang LT. Gene mutation analysis of a Chinese family with osteogenesis imperfecta. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi*. 2006 Apr;23(2):192-4. (In Chinese)

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. V.10(1):27. doi:10.1186/s40246-016-0083-1

Rolvien T, Stürznickel J, Schmidt FN, et al. Comparison of Bone Microarchitecture Between Adult Osteogenesis Imperfecta and Early-Onset Osteoporosis. *Calcif Tissue Int*. 2018. V.103(5). P.512-521. doi:10.1007/s00223-018-0447-8

Lin HY, Chuang CK, Su YN, Chen MR, Chiu HC, Niu DM, Lin SP. Genotype and phenotype analysis of Taiwanese patients with osteogenesis imperfecta. *Orphanet J Rare Dis*. 2015. Dec 1;10:152. doi: 10.1186/s13023-015-0370-2

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

Zhang ZL, Zhang H, Ke YH, Yue H, Xiao WJ, Yu JB, Gu JM, Hu WW, Wang C, He JW, Fu WZ. The identification of novel mutations in COL1A1, COL1A2, and LEPRE1 genes in Chinese patients with osteogenesis imperfecta. *J Bone Miner Metab*. 2012. V.30(1). P.69-77. doi: 10.1007/s00774-011-0284-6