

Преимущества высокопроизводительного параллельного секвенирования в выявлении соматического мозаицизма при спорадической ретинобластоме

Алексеева Е.А.^{1,2}, Бабенко О.В.¹, Козлова В.М.³, Ушакова Т.Л.³, Казубская Т.П.³,
Танас А.С.¹, Карандашева К.И.¹, Стрельников В.В.¹, Залетаев Д.В.^{1,2}

1 — ФГБНУ «МГНЦ им. академика Н.П. Бочкова»
115522, г. Москва, ул. Москворечье, д.1,

2 — Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова МЗ РФ
119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д.8, стр.2

3 — ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н. Н. Блохина» МЗ РФ
115478, г. Москва, Каширское ш., д.24

Почти 80% случаев наследственной ретинобластомы не имеют семейного анамнеза и возникают в результате мутаций *de novo* в гене *RB1*. Методом высокопроизводительного параллельного секвенирования (ВПС) проведено молекулярно-генетическое обследование 208 неродственных больных со спорадической РБ, среди которых 145 пациентов с унилатеральной формой заболевания и 63 – с билатеральной. В группе пациентов с билатеральной РБ молекулярные изменения в гене *RB1* обнаружены в 90,5% (57/63) случаев. У 4,8% (3/63) пациентов определен мозаичный вариант мутации в гене *RB1*. В группе пациентов с унилатеральной РБ молекулярные изменения в гене *RB1* выявлены в 17,9% (26/145) случаев. Среди исследованных пациентов соматический мозаицизм выявлен в 9,0% (13/165) случаев. Применение ВПС позволяет точно определять аллельную частоту вариантов, что делает поиск соматического мозаицизма эффективным.

Ключевые слова: спорадическая ретинобластома, *RB1*, соматический мозаицизм, ВПС

Для цитирования: Алексеева Е.А., Бабенко О.В., Козлова В.М., Ушакова Т.Л., Казубская Т.П., Танас А.С., Карандашева К.И., Стрельников В.В., Залетаев Д.В. Преимущества высокопроизводительного параллельного секвенирования в выявлении соматического мозаицизма при спорадической ретинобластоме. *Медицинская генетика* 2020; 19(6): 6-7.
DOI: 10.25557/2073-7998.2020.06.6-7

Автор для корреспонденции: Алексеева Екатерина Александровна; **e-mail:** ekater.alekseeva@gmail.com.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России для ФГБНУ «МГНЦ им. академика Н.П. Бочкова» на выполнение НИР в 2020 году.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Advantages of high throughput parallel sequencing in detecting somatic mosaicism in sporadic retinoblastoma

Alekseeva E.A.^{1,2}, Babenko O.V.¹, Kozlova V.M.³, Ushakova T.L.³, Kazubskaya T.P.³,
Tanas A.S.¹, Karandasheva K.O.¹, Strelnikov V.V.¹, Zaletaev D.V.^{1,2}

1 — Research Centre for Medical Genetics
Moskvorechie st.1, Moscow, 115522, Russia

2 — I.M. Sechenov First Moscow State Medical University
Trubetskaya st. 8, Moscow, 119991, Russia

3 — N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology
Kashirskoe sh., 24, 115522, Moscow, Russia

Almost 80% of cases of hereditary retinoblastoma do not have a family history and arise as a result of *de novo* mutations in the *RB1* gene. An NGS test was performed on 208 unrelated patients with sporadic RB, including 145 patients with a unilateral form and 63 patients with a bilateral one. In the group of patients with bilateral RB, pathogenic variants in the *RB1* gene were detected in 90.5% (57/63) cases. In 4.8% (3/63) of patients, a mosaic variants were determined. In the group of patients with unilateral RB, changes in the *RB1* gene were detected in 17.9% (26/145) cases. Among the examined patients, somatic mosaicism was detected in 9.0% (13/165) cases. NGS allows us to determine the allelic frequency of variants, which makes the search for somatic mosaicism effective.

Keywords: sporadic retinoblastoma, *RB1*, somatic mosaicism, NGS

For citation: Alekseeva E.A., Babenko O.V., Kozlova V.M., Ushakova T.L., Kazubskaya T.P., Tanas A.S., Karandasheva K.O., Strelnikov V.V., Zaletaev D.V. Advantages of high throughput parallel sequencing in detecting somatic mosaicism in sporadic retinoblastoma. *Medical genetics*. 2020; 19(6): 6-7. (In Rus)
DOI: 10.25557/2073-7998.2020.06.6-7

Corresponding author: Alekseeva Ekaterina Aleksandrovna; e-mail: ekater.alekseeva@gmail.com.

Funding. The research was carried out within the state assignment of Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation for Research Centre for Medical Genetics in 2020.

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

Accepted: 20.05.2020

Почти 80% случаев наследственной ретинобластомы (РБ) не имеют семейного анамнеза и возникают в результате мутаций *de novo* в гене *RB1* [1, 2]. Соматический мутационный мозаицизм — общая черта моногенных нарушений, особенно тех, для которых характерна высокая частота мутаций *de novo*. Соматический мозаицизм возникает в результате мутации в постзиготической ранней эмбриональной клетке и характеризуется неравномерным распределением мутантных клонов между различными тканями тела. Примерно в 10% случаев наследственной РБ первоначальная мутация в гене *RB1* является мозаичной [4]. Кроме того, соматический мозаицизм является причиной фенотипической вариативности проявления одной мутации у различных членов семьи при РБ [3]. Возможность идентифицировать мозаичный вариант мутации в гене *RB1* имеет важное значение для генетического консультирования, поскольку мозаицизм повышает риск развития опухоли в другом глазу, а также других опухолей и передачи мутации следующему поколению [4]. Выявление соматического мозаицизма является сложной задачей. Метод секвенирования по Сэнгеру позволяет идентифицировать мутантный аллель, если его доля составляет не менее 15%, что приводит к ложноотрицательной диагностике у пациентов с мозаицизмом более низкого уровня. Метод высокопроизводительного параллельного секвенирования (ВПС) позволяет точно определять аллельную частоту вариантов, что делает поиск соматического мозаицизма более эффективным [2].

Цель. Установить встречаемость соматических мозаичных мутаций в гене *RB1* у больных со спорадической РБ.

Материалы и методы

Методом ВПС проведено обследование 208 неродственных больных со спорадической РБ, среди которых 145 пациентов с унилатеральной формой заболевания и 63 — с билатеральной. Выделение ДНК, ВПС гена *RB1*, секвенирование по Сэнгеру с целью верификации выявленных точечных мутаций проводили в полном соответствии с ранее разработанной авторами медицинской технологией комплексной ДНК-диагностики РБ [5].

Результаты

В группе пациентов с билатеральной РБ молекулярные изменения в гене *RB1* обнаружены в 90,5% (57/63) случаев. У 4,8% (3/63) пациентов определен мозаичный вариант мутации в гене *RB1*: 1 нонсенс-мутация и 2 короткие делеции, приводящие к сдвигу рамки считывания. Частота мутантного аллеля в образцах

варьировала от 10% до 21%. В группе пациентов с унилатеральной РБ молекулярные изменения в гене *RB1* выявлены в 17,9% (26/145) случаев. Среди обследованных пациентов соматический мозаицизм выявлен в 9,0% (13/165) случаев (10 нонсенс-мутаций, 2 мутации сайтов сплайсинга и 1 короткая делеция, приводящая к сдвигу рамки считывания). Частота мутантного аллеля в образцах варьировала от 2% до 26%. Кроме того, выявлен случай бессимптомного носительства мозаичной мутации сдвига рамки считывания в гене *RB1* (частота мутантного аллеля 15%) матерью пробанда, у которого развилась семейная двусторонняя форма заболевания.

Таким образом, ВПС является эффективным методом выявления мозаичных вариантов мутаций в гене *RB1*, позволяющим определять мутантный минорный аллель, составляющий менее 15%.

Литература

1. Amitrano S., Marozza A., Somma S., et al. Next generation sequencing in sporadic retinoblastoma patients reveals somatic mosaicism. *European Journal of Human Genetics* 2015; 23(11): 1523–1530.
2. Rodriguez-Martin C., Robledo C., Gomez-Mariano G. et al. Frequency of low-level and high-level mosaicism in sporadic retinoblastoma: genotype-phenotype relationships. *Journal of Human Genetics* 2020; 65(2):165–174.
3. Imperatore V., Pinto A.M., Gelli E. et al. Parent-of-origin effect of hypomorphic pathogenic variants and somatic mosaicism impact on phenotypic expression of retinoblastoma. *Journal of Human Genetics* 2018; 26(7):1026–1037.
4. Li W.L., Buckley J., Sanchez-Lara P.A., et al. A Rapid and Sensitive Next-Generation Sequencing Method to Detect *RB1* Mutations Improves Care for Retinoblastoma Patients and Their Families. *The Journal of Molecular Diagnostics* 2016; 18(4): 480–493.
5. Алексеева Е.А., Бабенко О.В., Козлова В.М. с соавт. Результаты использования новой медицинской технологии комплексной ДНК-диагностики ретинобластомы. *Медицинская генетика* 2017; 16(10): 41–46.

References

1. Amitrano S., Marozza A., Somma S., et al. Next generation sequencing in sporadic retinoblastoma patients reveals somatic mosaicism. *European Journal of Human Genetics* 2015; 23(11): 1523–1530.
2. Rodriguez-Martin C., Robledo C., Gomez-Mariano G. et al. Frequency of low-level and high-level mosaicism in sporadic retinoblastoma: genotype-phenotype relationships. *Journal of Human Genetics* 2020; 65(2):165–174.
3. Imperatore V., Pinto A.M., Gelli E. et al. Parent-of-origin effect of hypomorphic pathogenic variants and somatic mosaicism impact on phenotypic expression of retinoblastoma. *Journal of Human Genetics* 2018; 26(7):1026–1037.
4. Li W.L., Buckley J., Sanchez-Lara P.A., et al. A Rapid and Sensitive Next-Generation Sequencing Method to Detect *RB1* Mutations Improves Care for Retinoblastoma Patients and Their Families. *The Journal of Molecular Diagnostics* 2016; 18(4): 480–493.
5. Alekseeva E.A., Babenko O.V., Kozlova V.M. et al. Rezultaty ispolzovaniya novoy meditsinskoy tekhnologii kompleksnoy DNK-diagnosticski retinoblastomy [The results of the use of new medical technology for comprehensive DNA analysis in retinoblastoma]. *Meditsinskaya genetika [Medical Genetics]* 2017; 16(10): 41–46. (In Russ.)