

Молекулярно-генетическая диагностика нейрофиброматоза: когортное исследование

Карандашева К.О., Пащенко М.С., Аношкин К.И., Кузнецова Е.Б., Танас А.С., Стрельников В.В.

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»
115522, г. Москва, ул. Москворечье 1

Исследование проведено на материале ДНК периферической крови 1000 пациентов с клиническими признаками нейрофиброматоза 1-го типа или нейрофиброматоза 2-го типа. Молекулярно-диагностический комплекс включал высокопроизводительное параллельное секвенирование, мультиплексную амплификацию лигированных зондов, секвенирование по Сэнгеру. Клинический диагноз был подтвержден в 70,2% случаев, мутации в генах *NF1* и *NF2* были выявлены у 672 и 30 пациентов соответственно.

Ключевые слова: нейрофиброматоз 1 типа, нейрофиброматоз 2 типа, *NF1*, *NF2*.

Для цитирования: Карандашева К.О., Пащенко М.С., Аношкин К.И., Кузнецова Е.Б., Танас А.С., Стрельников В.В. Молекулярно-генетическая диагностика нейрофиброматоза: когортное исследование. *Медицинская генетика* 2020; 19(6): 10-11.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.06.10-11

Автор для корреспонденции: Карандашева Кристина Олеговна; e-mail: christinavader@gmail.com

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

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Neurofibromatosis genetic testing: cohort study

Karandasheva K.O., Pashchenko M.S., Anoshkin K.I., Kuznetsova E.B., Tanas A.S., Strelnikov V.V.

Research Centre of Medical Genetics
Moskvorechye st., 1, Moscow, 115522, Russia

The study was conducted of DNA from peripheral blood of 1000 patients with clinical signs of neurofibromatosis type 1 or neurofibromatosis type 2. The genetic testing included massive parallel sequencing, multiplex ligation-dependent probe amplification, Sanger sequencing. The pathogenic mutation was identified in 70.2% of the cases, affecting *NF1* and *NF2* genes in 672 and 30 cases, respectively.

Keywords: neurofibromatosis type 1, neurofibromatosis type 2, *NF1*, *NF2*.

For citation: Karandasheva K.O., Pashchenko M.S., Anoshkin K.I., Kuznetsova E.B., Tanas A.S., Strelnikov V.V. Neurofibromatosis genetic testing: cohort study. *Medical genetics*. 2020; 19(6): 10-11 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.06.10-11

Corresponding author: Karandasheva Kristina Olegovna; e-mail: christinavader@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 of Medical Genetics.

Conflict of interest. The authors declare that there is no conflict of interest.

Accepted: 20.05.2020

Нейрофиброматоз — группа высокопенетрантных наследственных аутосомно-доминантных заболеваний, характеризующихся нарушениями пигментации кожных покровов и развитием опухолей нейроэктодермального происхождения. На основании этиологического фактора и локализации новообразований выделяют нейрофиброматоз 1 типа (MIM162200) и нейрофиброматоз 2 типа (MIM101000).

Нейрофиброматоз 1 типа (НФ-1) встречается в популяции с частотой 1:3000 новорожденных, являясь одним из наиболее частых моногенных заболеваний. Клиническая картина вариабельна, к основным про-

явлениям относят пятна цвета “кофе с молоком”, гаммартомы радужной оболочки глаза, нейрофибромы, опухоли ЦНС, скелетные аномалии. НФ-1 обусловлен инактивирующей мутацией в гене-онкосупрессоре *NF1*. *NF1* кодирует белок нейрофибромин, вовлеченный в сигнальный каскад Ras-МАРК. Более 50% случаев НФ-1 обусловлены мутацией *de novo*, что свидетельствует о высокой мутабельности гена [1, 2]. Сопряженным заболеванием является синдром делеции 17q11.2 (MIM613675), охватывающей ~1,4 млн п.н., в которые входят *NF1* и фланкирующие гены. Для данного состояния характерны клиническая картина НФ-1 с ранней

манифестацией нейрофибром, лицевой дизморфизм, задержка психоречевого и психомоторного развития, плексиформные нейрофибромы. Синдром 17q11.2 составляет 5–20% от всех клинических случаев НФ-1.

Нейрофиброматоз 2 типа (НФ-2) характеризуется образованием доброкачественных новообразований центральной и периферической нервной системы: шванном, глиом, менингиом и нейрофибром. Патогномичным симптомом являются двусторонние невриномы VIII нерва. Также наблюдаются пятна цвета “кофе с молоком”, ювенильная катаракта, помутнение хрусталика. Популяционная частота – 1:25000 человек. Заболевание ассоциировано с мутацией в гене супрессоре опухолевого роста *NF2*, кодирующем белок мерлин, участвующий в пролиферации клеток нейроэктодермального происхождения [1, 2]. Для НФ-1, НФ-2 и синдрома делеции 17q11.2 подтверждение клинического диагноза молекулярно-генетическими методами является необходимым этапом дифференциальной диагностики и играет ключевую роль в отношении тактики ведения пациента и вопросах планирования семьи.

Материалы и методы

Выборка составила 1000 человек, направленных ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова» для подтверждения клинического диагноза НФ-1, НФ-2 или в целях дифференциальной диагностики при неполном соответствии фенотипа пациента диагностическим критериям. Высокопроизводительное параллельное секвенирование (ВПС) проводилось на приборах Ion Torrent PGM и Ion Torrent S5 с использованием технологии таргетного обогащения Ion AmpliSeq (Life Technologies, USA). Панель праймеров составила 183 ампликона, охватывающих экзоны и прилежащие к ним участки интронов генов *NF1* и *NF2*. Анализ данных ВПС включал исключение неверно картированных прочтений и использование ПО Torrent Suite в составе TMAP, TVC [3]. Выявленные генетические варианты проаннотированы с использованием баз данных GnomAD, HGMD, ClinVar, LOVD, dbSNP. Для верификации выявленных патогенных генетических вариантов использовали секвенирование по Сэнгеру и сегрегационный анализ. Для поиска протяженных делеций в ассоциированных генах использовали наборы для мультиплексной амплификации лигированных зондов SALSA MLPA Probemix P-081, P122 (MRC Holland, Netherlands).

Результаты и обсуждение

Патогенные генетические варианты выявлены в 702 случаях (70,2%). У 672 пациентов мутации вы-

явлены в гене *NF1* (638 точковые мутации; 14 делеций, захватывающих несколько экзонов, 20 делеций всего гена). Точковые мутации распределены вдоль гена неравномерно, представлены нонсенс-мутациями (34,6%), миссенс-мутациями (20,1%), мутациями в сайтах сплайсинга (15,8%), короткими инделами (29,5%). 8 точковых мутаций и одна протяженная делеция имели низкую аллельную представленность в образце и были расценены как случаи соматического мозаицизма [4]. Мутации в гене *NF2* выявлены у 30 пациентов: 22 точковые мутации (нонсенс-мутации – 40,9%, миссенс-мутации – 27,3%, мутации в сайтах сплайсинга – 9,1%, короткие инделы – 22,7%) и 8 протяженных делеций. У 29,1% пациентов клинический диагноз подтвердить не удалось. Обследованная когорта пациентов является на сегодняшний день самой представительной из описанных в России и одной из крупнейших в мире.

Литература

1. Kresak J.L., Walsh M. Neurofibromatosis: a review of NF1, NF2, and schwannomatosis. *Journal of pediatric genetics*. 2016 Jun;5(02):098–104
2. Пашченко М.С., Карандашева К.О., Кузнецова Е.Б. и др. Молекулярно-генетический анализ 617 российских пациентов с клиническим диагнозом «нейрофиброматоз»: новые патогенные и редкие непатогенные генетические варианты. *Медицинская генетика*. 2018;17(11):20–24.
3. Карандашева К.О., Аношкин К.И., Володин И.В., и др. Исключение неверно картированных прочтений при таргетном высокопроизводительном секвенировании ДНК с использованием технологии Ion AmpliSeq. *Медицинская генетика*. 2018;17(5):19–22
4. Карандашева К.О., Пашченко М.С., Демина Н.А., и др. Соматический мозаицизм при нейрофиброматозе первого типа. *Медицинская генетика*. 2019;18(5):28–36.

References

1. Kresak J.L., Walsh M. Neurofibromatosis: a review of NF1, NF2, and schwannomatosis. *Journal of pediatric genetics*. 2016 Jun;5(02):098–104
2. Pashchenko M.S., Karandasheva K.O., Kuznetsova E.B., et al. Molekuljarno-geneticheskij analiz 617 rossijskih patsientov s klinicheskim diagnozom «nejrofibromatoz» [Genetic analysis of 617 Russian neurofibromatosis patients: novel pathogenic and rare non-pathogenic mutations]. *Meditsynskaja genetika. [Medical Genetics]*. 2018;17(11):20–24. (In Russ.)
3. Karandasheva K.O., Anoshkin K.I., Volodin I.V., et al. Iskluchenie neverno kartirovannyh prochtenij pri targetnom vysokoproizvoditel'nom sekvenirovanii DNK s ispol'zovaniem tehnologii targetnogo obogashchenija Ion AmpliSeq [Elimination of incorrectly mapped reads from the results of Ion AmpliSeq targeted NGS]. *Meditsynskaja genetika [Medical Genetics]*. 2018;17(5):19–22. (In Russ.)
4. Karandasheva K.O., Pashchenko M.S., Demina N.A et al. Somaticheskij mozaitsizm pri nejrofibromatoze pervogo tipa [Somatic mosaicism in neurofibromatosis type 1]. *Meditsynskaja genetika. [Medical Genetics]*. 2019;18(5):28–36. (In Russ.)