

Поиск генов, ассоциированных с синдромом Элерса-Данло гипермобильного типа

Серебрякова Е.А.¹, Кадурина Т.И.², Лонишин Л.Р.³, Аббакумова Л.Н.², Барбитов Ю.А.¹, Полев Д.Е.¹, Готов О.С.¹, Готов А.С.¹

1 — ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта»
199034, г. Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д.3

2 — Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова
191015, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д.41

3 — Санкт-Петербургский Политехнический Университет Петра Великого
195251, г. Санкт-Петербург, Политехническая ул., д. 29

Представлены результаты молекулярно-генетического исследования пациентов с гипермобильным типом синдрома Элерса-Данло (гСЭД). Предложен возможный алгоритм верификации гСЭД и других наследуемых нарушений соединительной ткани с неуточнённой этиологией.

Ключевые слова: синдром Элерса-Данло, гипермобильный тип, молекулярно-генетическая диагностика

Для цитирования: Серебрякова Е.А., Кадурина Т.И., Лонишин Л.Р., Аббакумова Л.Н., Барбитов Ю.А., Полев Д.Е., Готов О.С., Готов А.С. Поиск генов, ассоциированных с синдромом Элерса-Данло гипермобильного типа. *Медицинская генетика* 2020; 19(8): 54-56.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.08.54-56

Автор для корреспонденции: Серебрякова Е.А.; e-mail: serebryakova@mail.ru

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

The search for candidate genes associated with hypermobile Ehlers-Danlos syndrome

Serebryakova E.A.¹, Kadurina T.I.², Lonishin L.R.³, Abbakumova L.N.², Barbitof Y.A.¹, Polev D.E.¹, Glotov O.S.¹, Glotov A.S.¹

1 — D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology
Mendeleevskaya line, 3, St. Petersburg, 199034, Russia

2 — North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov
Kirochnaya str., 41, St. Petersburg, 191015, Russia

3 — Peter the Great St.Petersburg Polytechnic University
Polytechnicheskaya str., 29, St.Petersburg, 195251, Russia

The results of a molecular genetic study of patients with a hypermobile type of Ehlers-Danlos syndrome (hEDS) are presented. A possible algorithm for verifying hEDS and other inherited disorders of connective tissue with unspecified etiology is proposed.

Keywords: hypermobile Ehlers-Danlos syndrome, molecular genetic diagnostics

For citation: Serebryakova E.A., Kadurina T.I., Lonishin L.R., Abbakumova L.N., Barbitof Y.A., Polev D.E., Glotov O.S., Glotov A.S. The search for candidate genes associated with hypermobile Ehlers-Danlos syndrome. *Medical genetics*. 2020; 19(8): 54-56. (In Rus).

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.08.54-56

Corresponding author: Serebryakova E.A.; e-mail: serebryakova@mail.ru

Funding. This work was supported by the state assignment.

Conflict of Interest. Authors declare no conflict of interest.

Accepted: 20.05.2020

Поиск новых молекулярно-генетических подходов к диагностике гСЭД является актуальной проблемой, поскольку постановка данного диагноза на сегодня осуществляется только клинически, т.к. ген и/или кодируемый им белок достоверно не известны [1,2]. По данным литературы, частота гСЭД (ОММ: 130020) составляет примерно 1 на 5000 человек во всем мире [1,2]. Однако, вследствие сложности

верификации большого числа легких форм, истинная распространенность данной патологии, по нашему мнению, неизвестна.

Анализ немногочисленных литературных данных позволяет считать, что гСЭД является фенотипически и генетически гетерогенным заболеванием [3,4]. Так, незначительная часть случаев гСЭД обусловлена гаплонедостаточностью гена теназина X (*TNXB*)

[5–7]. Единичные, неподтвержденные в дальнейшем, сообщения указывают на связь гСЭД с мутацией в гене коллагена типа III (*COL3A1*) [8]. и гена *LZTS1*, при этом этиопатогенетическая природа указанных вариантов на сегодня остаётся неисследованной [9]. Полагаем, что разработка новых подходов к интерпретации результатов молекулярно-генетических исследований больных с гСЭД позволит идентифицировать дополнительные гены, связанные с формированием данного заболевания.

Цель работы: поиск молекулярно-генетических причин развития гСЭД.

Материалы и методы

Для исследования использованы образцы геномной ДНК неродственных пациентов с гСЭД, дебют болезни которых был в возрасте от 1 до 18 лет (9 женского и 23 мужского пола). У всех пациентов, проходивших обследование, собран подробный анамнез, составлена родословная, проведён физикальный осмотр, выполнен ряд клинико-инструментальных и клинико-лабораторных исследований. Во всех случаях диагноз установлен на основании международных рекомендаций по синдрому Элерса-Данло 2017 года.

Проведено полноэкзомное секвенирование на анализаторе HiSeq2500 System («Illumina», США) методом парно-концевых чтений (2x150 п.н.) со средним покрытием целевых регионов 70x. Биоинформатический анализ результатов секвенирования выполнен с использованием специального алгоритма обработки, основанного на *bwa aligner*, *Genome Analysis Toolkit v. 3.5* и *Picard tools v. 2.2.2*. Алгоритм анализа построен в соответствии с процессом *GATK Best Practices*. Оценка патогенности выявленных вариантов проведена на основании рекомендаций ACMG и *Sherloc* по интерпретации данных, полученных методом секвенирования нового поколения (NGS) [10, 11], а также руководства по интерпретации данных, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) [12].

Результаты

По базе данных The Human Phenotype Ontology (<https://hpo.jax.org/app/>) было отобрано 605 генов-кандидатов, ответственных за формирование фенотипа гСЭД. В отобранных генах у пациентов было обнаружено 7704 варианта, из которых 35,18% – интронные, 23,56% – синонимичные, 23,5% – миссенс-варианты и 17,76% – другие. В результате оценки патогенности было выявлено 7 патогенных и 5 вероятно патогенных вариантов в кодирующих регионах генов

ABCA4, ABCC9, CBS, CCDC8, FIG4, GJB2, HGD, KRT14, LMNA, MEFV, PROM1, RYR1, SLC26A2 и *USH2A* в гетерозиготном состоянии. Варианты, которые были интерпретированные как доброкачественные и вероятно доброкачественные не были включены в дальнейший анализ. При анализе миссенс-вариантов было выявлено 318 вариантов с неизвестным клиническим значением и зарегистрированных с низкой частотой в базе данных The Genome Aggregation Database (<https://gnomad.broadinstitute.org/>). С целью предсказания патогенности выявленных вариантов были использованы *in silico* программы Polyphen2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>), SIFT (<http://sift.jcvi.org/>) и CADD (<https://cadd.gs.washington.edu/>). Для дальнейшего анализа были отобраны варианты, патогенный эффект которых был подтверждён по всем трем программам. В итоге был отобран 21 ген: *ACAN, CHAT, COCH, COL11AA1, COL1A2, COMP, DHODH, FLNB, IFIH1, IFT122, IFT140, MAN2B1, NTRK1, PLEC, RHO, RYR1, SLC7A14, TAF1, TGFBI, USP8* и *VWF*, для миссенс-вариантов которых предсказан патогенный эффект. Все выявленные варианты встречались только в гетерозиготном состоянии.

Выводы

Учитывая результаты исследования, нельзя исключить, что выявленные нами миссенс-варианты имеют патогенный эффект в гетерозиготном состоянии, формируя фенотип гСЭД. Это может быть обусловлено их причастностью к нарушению различных метаболических путей («геномных сетей»), участвующих в организации актинового цитоскелета клетки, функционировании аппарата Гольджи, сульфатировании протеогликанов хряща и эндохондральной кости и др., задействованных в формировании соединительной ткани. Полагаем, что выявление геномных сетей-кандидатов открывает перспективу понимания причин, приводящих к развитию гСЭД.

Литература

1. Арсентьев В.Г., Кадурин Т.И., Аббакумова Л.Н. Новые принципы диагностики и классификации синдрома Элерса – Данло. Педиатрия 2018; 9(1): 118–125.
2. Malfait F., Francomano C., Byers P., et al. The 2017 international classification of the Ehlers-Danlos syndromes. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2017; 175(1): 8–26.
3. De Wandele I., Rombaut L., Leybaert L., et al. Dysautonomia and its underlying mechanisms in the hypermobility type of Ehlers-Danlos syndrome. *Semin Arthritis Rheum.* 2014 Aug;44(1):93–100. doi: 10.1016/j.semarthrit.2013.12.006.
4. Pacey V., Adams R.D., Tofts L., et al. Joint hypermobility syndrome subclassification in paediatrics: A factor analytic approach. *Arch Dis Child* 2015; 100: 8–13.

5. Zweers M.C, Bristow J, Steijlen P.M, et al. Haploinsufficiency of TNXB is associated with hypermobility type of Ehlers-Danlos syndrome. *Am J Hum Genet.* 2003 Jul;73(1):214–217. doi: 10.1086/376564.
6. Morissette R., Chen W., Perritt A.F., et al. Broadening the Spectrum of Ehlers Danlos Syndrome in Patients With Congenital Adrenal Hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015 Aug; 100(8):E1143–52. doi: 10.1210/jc.2015–2232.
7. Аббакумова Л.Н., Кадурина Т.И., Г.А. Новик и др. Клинический полиморфизм и частота встречаемости гаплонедостаточности гена тенаскина, обусловленной del30kВ, у детей с синдромом гипермобильности суставов. *Педиатрия. Журнал имени Г.Н. Сперанского* 2016; 95(6): 171–176.
8. Narcisi P., Richards A.J., Ferguson S.D., et al. A family with Ehlers-Danlos syndrome type III/articular hypermobility syndrome has a glycine 637 to serine substitution in type III collagen. *Hum Mol Genet.* 1994 Sep;3(9):1617–1620. doi: 10.1093/hmg/3.9.1617.
9. Syx D., Van Damme T., Symoens S., et al. Genetic heterogeneity and clinical variability in musculocontractural Ehlers-Danlos syndrome caused by impaired dermatan sulfate biosynthesis. *Hum Mutat.* 2015 May;36(5):535–547. doi: 10.1002/humu.22774.
10. Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015; 17(5): 405–424.
11. Nykamp K, Anderson M, Powers M. Sherlock: a comprehensive refinement of the ACMG-AMP variant classification criteria. *Genet Med.* 2017; 19(10): 1105–1117.
12. Рыжкова О.П. Кардымон О.Л., Прохорчук Е.Б. и др. Руководство по интерпретации данных, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) (редакция 2018, версия 2). *Медицинская генетика.* 2019; 18(2): 3–23.
3. De Wandele I., Rombaut L., Leybaert L., et al. Dysautonomia and its underlying mechanisms in the hypermobility type of Ehlers-Danlos syndrome. *Semin Arthritis Rheum.* 2014 Aug;44(1):93–100. doi: 10.1016/j.semarthrit.2013.12.006.
4. Pacey V., Adams R.D, Tofts L., et al. Joint hypermobility syndrome subclassification in paediatrics: A factor analytic approach. *Arch Dis Child* 2015; 100: 8–13.
5. Zweers M.C, Bristow J, Steijlen P.M, et al. Haploinsufficiency of TNXB is associated with hypermobility type of Ehlers-Danlos syndrome. *Am J Hum Genet.* 2003 Jul;73(1):214–217. doi: 10.1086/376564.
6. Morissette R., Chen W., Perritt A.F., et al. Broadening the Spectrum of Ehlers Danlos Syndrome in Patients With Congenital Adrenal Hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015 Aug; 100(8):E1143–52. doi: 10.1210/jc.2015–2232.
7. Аббакумова Л.Н., Кадурина Т.И., Г.А. Новик и др. Клинический полиморфизм и частота встречаемости гаплонедостаточности гена тенаскина, обусловленной del30kВ, у детей с синдромом гипермобильности суставов [Clinical polymorphism and frequency of occurrence of tenascin gene haploinsufficiency caused by del30kВ in children with joint hypermobility syndrome]. *Pediatriya. Zhurnal imeni G.N. Speranskogo [Pediatrics n.a. G.N. Speransky]* 2016; 95(6): 171–176. (In Russ.)
8. Narcisi P., Richards A.J., Ferguson S.D., et al. A family with Ehlers-Danlos syndrome type III/articular hypermobility syndrome has a glycine 637 to serine substitution in type III collagen. *Hum Mol Genet.* 1994 Sep;3(9):1617–1620. doi: 10.1093/hmg/3.9.1617.
9. Syx D., Van Damme T., Symoens S., et al. Genetic heterogeneity and clinical variability in musculocontractural Ehlers-Danlos syndrome caused by impaired dermatan sulfate biosynthesis. *Hum Mutat.* 2015 May;36(5):535–547. doi: 10.1002/humu.22774.
10. Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015; 17(5): 405–424.
11. Nykamp K, Anderson M, Powers M. Sherlock: a comprehensive refinement of the ACMG-AMP variant classification criteria. *Genet Med.* 2017; 19(10): 1105–1117.
12. Рыжкова О.П., Кардымон О.Л., Прохорчук Е.Б., et al. Руководство по интерпретации данных последовательности ДНК человека, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) (редакция 2018, версия 2). [Guidelines for the interpretation of massive parallel sequencing variants (update 2018, v2)]. *Медицинская генетика [Medical genetics]* 2019; 18(2): 3–24. (In Russ.)

References

1. Arsentev V.G., Kadurina T.I., Abbakumova L.N. Novyye printsipy diagnostiki i klassifikatsii sindroma Ehlers – Danlo [New principles of diagnosis and classification of the Ehlers-Danlos syndrome]. *Pediatr [Pediatrician]* 2018; 9(1): 118–125. (In Russ.)
2. Malfait F., Francomano C., Byers P., et.al. The 2017 international classification of the Ehlers-Danlos syndromes. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2017; 175(1): 8–26.