

Молекулярно-генетическая диагностика синдрома Барде-Бидля с помощью МПС-панели генов

Орлова М.Д., Гундорова П., Поляков А.В.

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»

115522, г. Москва, ул. Москворечье, д. 1

Синдром Барде-Бидля – аутосомно-рецессивное заболевание, характеризующееся ожирением, пигментной дегенерацией сетчатки, полидактилией, задержкой психоречевого развития и структурными повреждениями почек. В работе представлены результаты применения МПС-панели, включающей кодирующие последовательности и прилегающие интронные области 21 гена, ассоциированного с синдромом Барде-Бидля. Впервые была проведена молекулярно-генетическая диагностика в группе из сорока российских пациентов с синдромом Барде-Бидля из неродственных семей. В результате исследования удалось подтвердить диагноз молекулярно-генетическим методом у 40% пациентов (n=16). В генах *BBS1*, *BBS7* и *BBS10* встретились повторяющиеся варианты. Частота встречаемости патогенных и вероятно патогенных вариантов в генах *BBS1* и *BBS10* у российских пациентов соответствует зарубежным данным. Варианты в гене *BBS7* встретились у пяти человек, у четырех из них был обнаружен патогенный вариант c.1967_1968delTAinsC, не встречающийся в других популяциях. Результаты, представленные в статье, показывают значительный вклад в заболеваемость синдромом Барде-Бидля в российской популяции патогенных вариантов в гене *BBS7*.

Ключевые слова: синдром Барде-Бидля, массовое параллельное секвенирование, МПС-панель, NGS

Для цитирования: Орлова М.Д., Гундорова П., Поляков А.В. Молекулярно-генетическая диагностика синдрома Барде-Бидля с помощью МПС-панели генов. *Медицинская генетика* 2021; 20(3): 26-35.

DOI: 10.25557/2073-7998.2021.03.26-35

Автор для корреспонденции: Орлова Мария Дмитриевна; **e-mail:** m.d.orlova@ya.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках госзадания Минобрнауки России для ФГБНУ «МГНЦ».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Поступила: 15.01.2021.

Molecular genetic diagnostics of Bardet-Biedl syndrome with an MPS-panel

Orlova M.D., Gundorova P., Poliakov A.V.

Research Centre for Medical Genetics

Moskvorechye str. 1, Moscow, 115522, Russia

Bardet-Biedl syndrome is an autosomal recessive disorder characterized by obesity, retinitis pigmentosa, polydactyly, development delay, and structural kidney defects. This study shows the results of using an MPS panel that includes coding sequences and intronic areas of 21 genes associated with Bardet-Biedl syndrome. For the first time molecular genetic testing has been provided for the group of 40 Russian patients with Bardet-Biedl syndrome from unrelated families. As a result of the testing, diagnoses were confirmed for 40% of the patients (n=16). The genes *BBS1*, *BBS7*, *BBS10* had recurrent variants. The frequency of pathogenic and likely pathogenic variants in the genes *BBS1* and *BBS10* among Russian patients matches the research data in other countries. Variants in the *BBS7* gene were found for five people, four of them had a pathogenic variant c.1967_1968delTAinsC, which is not present among other populations. Results provided in this article show the significant role of pathogenic variants in the *BBS7* gene in patients with Bardet-Biedl syndrome in Russian population.

Keywords: Bardet-Biedl Syndrome, MPS, MPS-panel, NGS.

For citation: Orlova M.D., Gundorova P., Poliakov A.V. Molecular genetic diagnostics of Bardet-Biedl syndrome with an MPS-panel. *Medicinskaja genetika* [Medical genetics] 2021; 20(2): 26-35. (In Russ.).

DOI: 10.25557/2073-7998.2021.03.26-35

Corresponding author: Maria D. Orlova; **e-mail:** m.d.orlova@ya.ru

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.

Conflict of interest. Authors declare no conflicts of interest.

Accepted: 15.01.2021.

Синдром Барде-Бидля — генетическое заболевание, относящееся к группе цилиопатий. Синдром Барде-Бидля наследуется по аутосомно-рецессивному типу, его распространенность оценивается в 1:140000–160000 человек (Европа и Северная Америка) [1]. В некоторых изолированных популяциях это заболевание встречается чаще [2]. К типичным проявлениям синдрома Барде-Бидля относятся пигментная дегенерация сетчатки, ожирение, полидактилия, гипогонадизм, структурные аномалии почек, задержка психоречевого развития, умственная отсталость.

Цилиопатии — группа генетических заболеваний, характеризующихся структурным или функциональным повреждением цилий. К группе цилиопатий также относятся синдромы Жубер, Альстрёма, Сениора-Локена, Картагенера, Меккеля-Грубера, Маккьюсика-Кауфмана, врожденный амавроз Лебера и другие.

Цилии — тонкие микротрубочковые органеллы, расположенные на поверхности клеток. Существует два типа цилий: подвижные и неподвижные. Подвижные цилии осуществляют движение жидкости по эпителию дыхательных путей, желудочков мозга и фаллопиевых труб. Неподвижные цилии присутствуют практически в каждом типе клеток человеческого организма. Они отвечают за распознавание внешних стимулов и выполняют функцию фоторецепторов и обонятельных рецепторов. На данный момент известно, что неподвижные цилии играют важную роль в клеточной сигнализации, необходимой для развития и правильного функционирования организма.

Основание цилии образует базальное тело. Базальное тело служит основой для формирования аксонемных микротрубочек. Основу цитоскелета цилии составляет аксонема. Между базальным телом и аксонемой существует транзитная зона, которая преобразует микротрубочковую структуру базального тела в аксонемную. Аксонема отвечает за интрафлагеллярный транспорт. Интрафлагеллярный транспорт включает антероградный транспорт, который реализует доставку сигнальных молекул на поверхность цилии, и ретроградный транспорт, осуществляющий их удаление с поверхности цилии. На верхушке цилии происходит переключение между антероградным и ретроградным интрафлагеллярным транспортом. Мембрана цилии является продолжением цитоплазматической мембраны клетки [3].

Важнейшим компонентом правильного функционирования цилии является ББСом — октамер, состоящий из белков BBS1, BBS2, BBS4, BBS5, BBS7, TTC8, BBS9 и BBIP1 [4]. ББСом выступает в качестве свя-

зующего звена между транспортными белками и сигнальными молекулами, доставляемыми и удаляемыми с поверхности цилии путём интрафлагеллярного транспорта.

На данный момент известен 21 белок, ассоциированный с синдромом Барде-Бидля. Кроме вышеупомянутых белков, образующих ББСом, это белки, отвечающие за ее сборку. Кроме того, в правильной работе цилии участвуют регуляторные и транспортные белки, а также белки, участвующие в построении самой цилии.

Наиболее часто патогенные изменения встречаются в генах *BBS1* (22–23%), *BBS10* (20–28,6%), *BBS2* (8–15,9%), *BBS12* (5–14,3%) [1, 5]. Описаны наиболее часто встречающиеся варианты нуклеотидной последовательности у пациентов с синдромом Барде-Бидля. Самым частым в гене *BBS1* является вариант с.1169T>C, приводящий к миссенс-замене p.Met390Arg [6]. В гене *BBS10* также описаны мажорные патогенные варианты: дупликация с.271dup, приводящая к сдвигу рамки считывания и формированию преждевременного терминирующего кодона p.Cys91LeufsTer5 [7, 8], а также однонуклеотидный вариант с.145C>T, приводящий к миссенс-замене p.Arg49Trp [7].

Целью настоящей работы было определение мажорных генов и спектра патогенных вариантов нуклеотидной последовательности у российских пациентов с клиническим диагнозом *синдром Барде-Бидля*.

Материалы и методы

Было исследовано 40 образцов ДНК пациентов с направительным диагнозом *синдром Барде-Бидля*. Все пациенты были осмотрены врачами-генетиками ФГБНУ МГНЦ.

Выделение ДНК из лейкоцитов периферической крови выполняли с использованием набора реактивов для выделения Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, USA) по протоколу производителя. Анализ проведен методом массового параллельного секвенирования (NGS) с использованием кастомной панели «BBS-Joubert», включающей кодирующие последовательности и прилегающие интронные участки 21 гена, ассоциированного с синдромом Барде-Бидля. В панель вошли следующие гены, непосредственно ассоциированные с синдромом Барде-Бидля: *BBS1*, *BBS2*, *ARL6*, *BBS4*, *BBS5*, *MKKS*, *BBS7*, *TTC8*, *BBS9*, *BBS10*, *TRIM32*, *BBS12*, *MKS1*, *CEP290*, *WDPCP*, *SDCCAG8*, *LZTFL1*, *BBIP1*, *IFT27*, *IFT172*, *C8orf37*, а также гены, ассоциированные со схожими фенотипами, такими как синдромы Альстрёма, Жубер, Меккеля, Коэна и другими. Всего в панель вошли 56 генов. С полным списком ге-

Список генов, включенных в панель «BBS-Joubert», и ассоциированных с ними фенотипов.

Ген	Фенотип
<i>AHI1</i>	Синдром Жубер 3 (OMIM:608629)
<i>ALMS1</i>	Синдром Альстрёма (OMIM:203800)
<i>ARL13B</i>	Синдром Жубер 8 (OMIM:612291)
<i>ARL6 (BBS3)</i>	Пигментный ретинит 55 (OMIM:613575); { синдром Барде-Бидля 1, modifier of } [9] (OMIM:209900); синдром Барде-Бидля 3 (OMIM:600151)
<i>ARMC9</i>	Синдром Жубер 30 (OMIM:617622)
<i>B9D1</i>	Синдром Меккеля 9 (OMIM:614209); синдром Жубер 27 (OMIM:617120)
<i>B9D2</i>	Синдром Меккеля 10 (OMIM:614175); синдром Жубер 34 (OMIM:614175)
<i>BBIP1 (BBS18)</i>	Синдром Барде-Бидля 18 (OMIM:615995)
<i>BBS1</i>	Синдром Барде-Бидля 1 (OMIM:209900)
<i>BBS10</i>	Синдром Барде-Бидля 10 (OMIM:615987)
<i>BBS12</i>	Синдром Барде-Бидля 12 (OMIM:615989)
<i>BBS2</i>	Синдром Барде-Бидля 2 (OMIM:615981)
<i>BBS4</i>	Синдром Барде-Бидля 4 (OMIM:615982)
<i>BBS5</i>	Синдром Барде-Бидля 5 (OMIM:615983)
<i>BBS7</i>	Синдром Барде-Бидля 7 (OMIM:615984)
<i>BBS9</i>	Синдром Барде-Бидля 9 (OMIM:615986)
<i>C5orf42</i>	Синдром Жубер 17 (OMIM:614615); оро-фацио-дигитальный синдром VI (OMIM:277170)
<i>C8orf37 (BBS21)</i>	Синдром Барде-Бидля 21 (OMIM:617406); конусно-стержневая дистрофия 16 (OMIM:614500); пигментный ретинит 64 (OMIM:614500)
<i>CC2D2A</i>	Синдром COACH (OMIM:216360); синдром Жубер 9 (OMIM:612285); синдром Меккеля 6 (OMIM:612284)
<i>CEP104</i>	Синдром Жубер 25 (OMIM:616781)
<i>CEP120</i>	Синдром Жубер 31 (OMIM:617761); коротко-реберная торакальная дисплазия 13 с/без полидактилией (OMIM:616300)
<i>CEP290 (BBS14)</i>	Синдром Барде-Бидля 14 (OMIM:615991); синдром Жубер 5 (OMIM:610188); врожденный амавроз Лебера 10 (OMIM:611755); синдром Меккеля 4 (OMIM:611134); синдром Сениора-Локена 6, (OMIM:610189);
<i>CEP41</i>	Синдром Жубер 15 (OMIM:614464)
<i>CSPPI</i>	Синдром Жубер 21 (OMIM:615636)
<i>IFT172 (BBS20)</i>	Пигментный ретинит 71, (OMIM:616394); коротко-реберная торакальная дисплазия 10 с/без полидактилией (OMIM:615630)
<i>IFT27 (BBS19)</i>	Синдром Барде-Бидля 19 (OMIM:615996)
<i>IFT74</i>	Синдром Барде-Бидля 20 (OMIM:617119)
<i>INPPE</i>	Синдром Жубер 1, (OMIM:213300); умственная отсталость, ожирение туловища, дистрофия сетчатки и микропенис (OMIM:610156)
<i>KIAA0556</i>	Синдром Жубер 26 (OMIM:616784)
<i>KIAA0586</i>	Синдром Жубер 23 (OMIM:616490); коротко-реберная торакальная дисплазия 14 с полидактилией (OMIM:616546)
<i>KIAA0753</i>	Оро-фацио-дигитальный синдром XV, (OMIM:617127)
<i>KIF7</i>	Синдром Аль-Газали -Бакалиновой (OMIM:607131); гидроретальный синдром 2 (OMIM:614120); акрокаллёзный синдром (OMIM:200990); синдром Жубер 12 (OMIM:200990)
<i>LZTFL1 (BBS17)</i>	Синдром Барде-Бидля 17 (OMIM:615994)
<i>MKKS (BBS6)</i>	Синдром Барде-Бидля 6 (OMIM:605231); синдром Маккьюсика-Кауфмана (OMIM:236700)
<i>MKS1 (BBS13)</i>	Синдром Барде-Бидля 13 (OMIM:615990); синдром Жубер 28 (OMIM:617121); синдром Меккеля 1 (OMIM:249000)
<i>NPHP1</i>	Синдром Жубер 4 (OMIM:609583); нефронофтиз 1, ювенильный (OMIM:256100); синдром Сениора-Локена 1 (OMIM:266900)
<i>OFD1</i>	Пигментный ретинит 23 (OMIM:300424); синдром Жубер10 (OMIM:300804); оро-фацио-дигитальный синдром I (OMIM:311200); синдром Симпсона-Голаби-Бемель, тип 2 (OMIM:300209)
<i>PDE6D</i>	Синдром Жубер 22 (OMIM:615665)
<i>PIBF1</i>	Синдром Жубер 33 (OMIM:617767)
<i>RPGRIP1L</i>	COACH синдром (OMIM:216360); синдром Жубер 7 (OMIM:611560); синдром Меккеля 5 (OMIM:611561)

Продолжение табл. 1 см. на стр. 29.

Ген	Фенотип
<i>SDCCAG8 (BBS16)</i>	Синдром Барде-Бидля 16 (OMIM:615993); синдром Сениора-Локена 7 (OMIM:613615)
<i>TCTN1</i>	Синдром Жубер 13 (OMIM:614173)
<i>TCTN2</i>	Синдром Меккеля 8 (OMIM:613885); синдром Жубер 24 (OMIM:616654)
<i>TCTN3</i>	Синдром Жубер 18 (OMIM:614815); оро-фацио-дигитальный синдром IV (OMIM:258860)
<i>TMEM107</i>	Синдром Жубер 29 (OMIM:617562); синдром Меккеля 13 (OMIM:617562); оро-фацио-дигитальный синдром XVI (OMIM:617563)
<i>TMEM138</i>	Синдром Жубер 16 (OMIM:614465)
<i>TMEM216</i>	Синдром Жубер 2 (OMIM:608091); синдром Меккеля 2 (OMIM:603194)
<i>TMEM231</i>	Синдром Жубер 20 (OMIM:614970); синдром Меккеля 11 (OMIM:615397)
<i>TMEM237</i>	Синдром Жубер 14 (OMIM:614424)
<i>TMEM67</i>	Синдром RHYNS, (OMIM:602152); {синдром Барде-Бидля 14, modifier of} (OMIM:615991); COACH синдром (OMIM:216360); синдром Жубер 6 (OMIM:610688); синдром Меккеля 3 (OMIM:607361); нефронофтиз 11, (OMIM:613550)
<i>TRIM32 (BBS11)</i>	Синдром Барде-Бидля 11 (OMIM:615988); мышечная дистрофия поясно-конечностная, аутосомно-рецессивная 8 (OMIM:254110)
<i>TTC21B</i>	Нефронофтиз 12, (OMIM:613820); коротко-реберная торакальная дисплазия 4 с полидактилией или без полидактилии (OMIM:613819)
<i>TTC8</i>	Пигментный ретинит 51 (OMIM:613464); синдром Барде-Бидля 8 (OMIM:615985)
<i>VPS13B</i>	Коэна синдром (OMIM:216550)
<i>WDPCP (BBS15)</i>	Синдром Барде-Бидля 15 (OMIM:615992); врожденные пороки сердца, гамартомы языка и полисиндактилия (OMIM:217085)
<i>ZNF423</i>	Синдром Жубер 19 (OMIM:614844); нефронофтиз 14 (OMIM:614844)

нов и фенотипов можно ознакомиться в **табл. 1**. Гены были выбраны на основании информации базы данных HGMD® Professional.

Для пробоподготовки библиотек использована технология ультрамультиплексной ПЦР, сопряженная с последующим секвенированием (AmpliSeq™). Анализ ДНК пациентов проведен на секвенаторе нового поколения Ion S5.

Для обработки данных секвенирования и поиска вариантов была использована программа NGS-data, разработанная отделом биоинформатики ФГБНУ МГНЦ.

Для названия выявленных вариантов использовалась номенклатура HGVS. Для оценки популяционных частот выявленных вариантов использована выборка Genome Aggregation Database (gnomAD). Для оценки клинической значимости выявленных вариантов использованы база данных OMIM, база данных по патогенным вариантам HGMD® Professional и литературные данные. Оценка патогенности выявленных вариантов проводилась на основании российских рекомендаций для интерпретации данных, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) [10].

Статистическая обработка проводилась с помощью программы Statistica 12.0. При анализе предполагаемых различий между аллельными частота-

ми патогенных вариантов в российской популяции и популяциями других стран использовался непараметрический критерий χ^2 . Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты

Варианты были обнаружены на 53 хромосомах (**табл. 2**). Патогенные варианты были обнаружены на 29 хромосомах. Хромосом с вероятно патогенными вариантами было обнаружено 8, с вариантами неопределенного значения – 16.

В результате исследования у 16 человек из 40 были обнаружены патогенные или вероятно патогенные варианты нуклеотидной последовательности. У 11 пациентов были обнаружены варианты неопределенного клинического значения. У 13 человек вариантов в исследуемых генах не было обнаружено.

У четырех пациентов обнаружено два патогенных варианта, еще у четырех – один патогенный и один вероятно патогенный варианты в компаунд-гетерозиготном состоянии, у шести пациентов обнаружен один патогенный вариант в гомозиготном состоянии, у двоих – вероятно патогенный вариант в гомозиготном состоянии. Следовательно, у 16 пациентов (40%) диагноз «синдром Барде-Бидля» подтвержден молекулярно-генетическим методом.

Список обнаруженных вариантов в группе пациентов с направительным диагнозом синдром Барде-Бидля

Ген, референсная последовательность	ID пациента	Положение в кДНК	Эффект	Зиготность	Источники
<i>BBS1</i> NM_024649.4	79	c.479+2T>G	сплайсинг	Гет	Эта статья
		c.1401C>G	p.Tyr467Ter	Гет	Эта статья
	85	c.479+2T>G	сплайсинг	Гомо	Эта статья
	41	c.479G>A	p.Arg160Gln	Гет	[4]
		c.667del	p.Thr223ProfsTer17	Гет	Эта статья
	44	c.1169T>C	p.Met390Arg	Гет	[6]
<i>BBS2</i> NM_031885.3	3	c.1169T>C	p.Met390Arg	Гет	[6]
		c.943C>T	p.Arg315Trp	Гет	[11, 12]
	81	c.926C>T	p.Ser309Leu	Гет	Эта статья
<i>BBS4</i> NM_033028.4	67	c.194A>T	p.Asp65Val	Гет	Эта статья
NM_152384.2	87	c.1106+2T>A	сплайсинг	Гомо	[45]
<i>CEP290</i> NM_025114.3		c.208+5G>A	сплайсинг	Гомо	Эта статья
		c.6596C>T	p.Thr2199Ile	Гет	Эта статья
<i>BBS7</i> NM_176824.2	10	c.3154A>G	p.Ile1052Val	Гет	Эта статья
		c.1967_1968delTAinsC	p.Leu656ProfsTer18	Гомо	[13]
	15	c.1967_1968delTAinsC	p.Leu656ProfsTer18	Гет	[13]
		c.790G>A	p.Gly264Arg	Гет	Эта статья
	42	c.1967_1968delTAinsC	p.Leu656ProfsTer18	Гомо	[13]
	58	c.1967_1968delTAinsC	p.Leu656ProfsTer18	Гет	[13]
c.712_715delAGAG		p.Arg238GlufsTer59	Гет	[9]	
<i>TTC8</i> NM_198309.3	59	c.495G>C	p.Leu165Phe	Гет	Эта статья
		c.459G>A	p.Thr153Thr	Гет	[14]
	28	c.651G>T	p.Trp217Cys	Гет	Эта статья
		c.128T>C	p.Leu43Ser	Гомо	Эта статья
<i>BBS9</i> NM_198428.2	82	c.871_875delATCTA	p.Ile301Ter	Гомо	Эта статья
		c.677_678dupAA	p.Leu227AsnfsTer8	Гомо	Эта статья
		<i>BBS10</i> NM_024685.3	74	c.1024dup	p.Leu227AsnfsTer8
c.271dup	p.Ile342AsnfsTer20			Гет	[15]
16	c.145C>T		p.Cys91LeufsTer5	Гет	[7]
	c.271dup		p.Arg49Trp	Гет	[7]
30	c.271dup		p.Cys91LeufsTer5	Гет	[7]
	c.539G>A		p.Gly180Glu	Гет	[16]
40	c.271dup		p.Cys91LeufsTer5	Гет	[7]
68	c.145C>T		p.Arg49Trp	Гомо	[7]
<i>BBS12</i> NM_152618.2	57	c.1969A>G	p.Arg49Trp	Гет	Эта статья
		c.1273-5_1273-2delTTTA insAAAG	p.Thr657Ala	Гет	Эта статья
	80	c.1969A>G	p.Thr657Ala	Гет	[7]
<i>MKKS</i> NM_018848.3	51	c.271dup	p.Cys91LeufsTer5	Гомо	Эта статья
		c.376G>T	p.Glu126Ter	Гет	Эта статья
	91	c.2023C>T	p.Arg675Ter	Гет	[17]
<i>MKKS</i> NM_018848.3	51	c.1792T>G	p.Arg675Ter	Гет	Эта статья
		c.1273-5_1273-2delTTTA insAAAG	сплайсинг	Гет	Эта статья
	65	c.110A>G	p.Tyr37Cys	Гет	[13, 18]
	65	c.802C>T	p.Tyr37Cys	Гет	Эта статья
		c.802C>T	p.Leu268Phe	Гет	Эта статья

Примечание: Гет — вариант в гетерозиготном состоянии, Гомо — вариант в гомозиготном состоянии.

У 11 больных обнаружены варианты неопределенного клинического значения. У трех из них обнаружено два варианта: один патогенный и один вариант неопределенного клинического значения, что не позволяет подтвердить диагноз синдрома Барде-Бидля, т.к. необходимы уточняющие данные. У четырех пациентов обнаружен один вариант неопределенного значения в гомозиготном состоянии. Также, у одного из вышеупомянутых пациентов кроме варианта неопределенного значения в гомозиготном состоянии присутствуют два варианта неопределенного значения в гетерозиготном состоянии в другом гене. У четырех больных не удалось найти второго патогенного варианта.

Патогенные и вероятно патогенные варианты были выявлены в восьми генах *BBS1*, *BBS4*, *BBS7*, *TTC8*, *BBS9*, *BBS10*, *BBS12* и *MKKS* (рис. 1). Все они ассоциированы с синдромом Барде-Бидля. Наиболее часто патогенные и вероятно патогенные варианты были локализованы в генах *BBS1*, *BBS10*, *BBS7*. Большую часть составляют варианты, приводящие к сдвигу рамки считывания (рис. 2). Для генов *BBS1* и *BBS10* полученные данные совпадают с общемировыми [1, 5]. В генах *BBS1*, *BBS7* и *BBS10* были обнаружены повторяющиеся варианты (табл. 3).

В гене *BBS1* была обнаружена не описанная в литературе однонуклеотидная замена с.479+2T>G, локализованная в каноническом сайте сплайсинга. Данный вариант был обнаружен у двух человек: у пациента 85 в гомозиготном состоянии и у пациента 79 в гетерозиготном состоянии вместе с ранее не описанной нонсенс-заменой с.1401C>G (p.Tyr467Ter). Алгоритмы предсказания патогенности SpliceAI, Human Splicing Finder, FSPLICE и MutationTaster расценивают вариант с.479+2T>G как вероятно влияющий на сплайсинг.

Вариант с.1967_1968delTAinsC (p.Leu656ProfsTer18) в гене *BBS7* был обнаружен у четырех человек: у двоих в гомозиготном состоянии и у двоих в гетерозиготном состоянии вместе с другими вариантами в этом гене. В группе обследованных пациентов с установленным диагнозом доля больных с патогенными и вероятно патогенными вариантами в гене *BBS7* составляет 19%.

У всех пяти пациентов с мутациями в гене *BBS10* встретились распространенные и неоднократно описанные варианты с.271dup (p.Cys91LeufsTer5) [7, 8] и с.145C>T (p.Arg49Trp) [5, 18].

Обсуждение

Исследование показало, что у 16 человек (40%) присутствуют патогенные или вероятно патогенные варианты в гомозиготном или компаунд-гетерозигот-

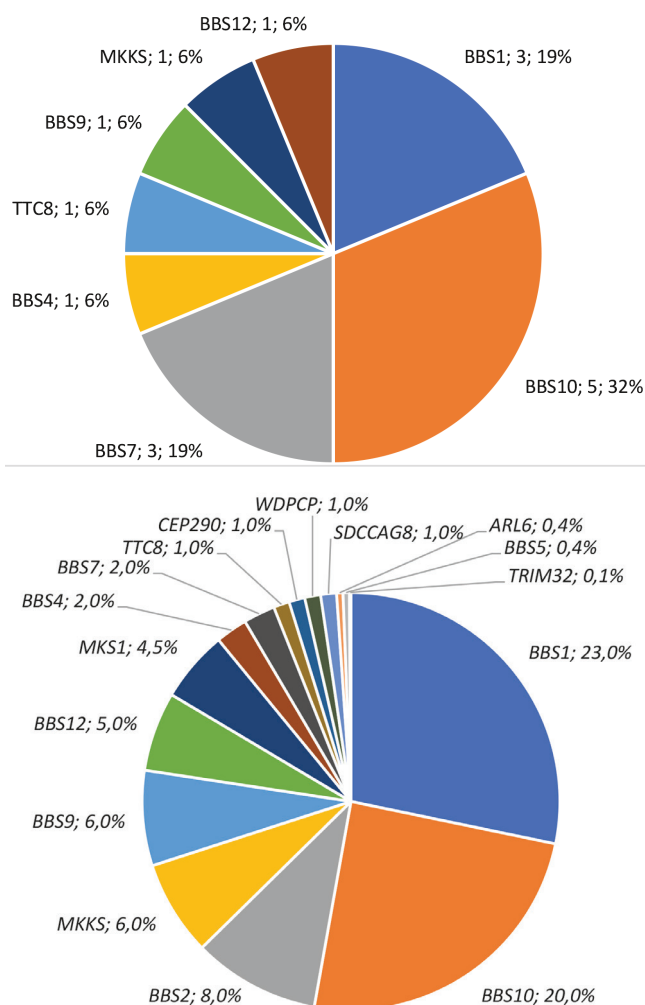


Рис. 1. Распределение патогенных и вероятно патогенных вариантов по генам в группе пациентов с подтвержденным диагнозом: А – настоящее исследование; Б – литературные данные [1].

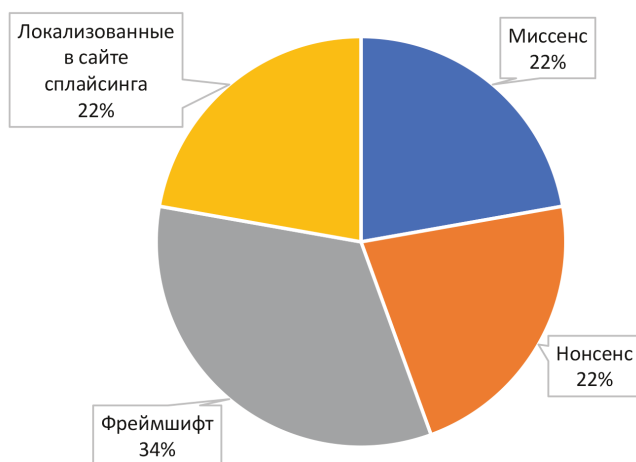


Рис. 2. Типы патогенных и вероятно патогенных вариантов, обнаруженных в группе пациентов с установленным диагнозом.

ном состоянии, что позволяет подтвердить диагноз молекулярно-генетическим методом. Основываясь на литературных данных, эффективность диагностических МПС-панелей, включающих гены, ассоциированные с синдромом Барде-Бидля, составляет 60-87% [34, 46]. В настоящей работе была обследована группа пациентов с размытым фенотипом и, вероятно, не вполне соответствующей синдрому Барде-Бидля клинической картиной. Это может объяснить меньшую выявляемость патогенных и вероятно патогенных вариантов, ассоциированных с синдромом Барде-Бидля, по сравнению с исследованиями, описанными в литературе.

У семи человек обнаружены варианты, интерпретированные как варианты неопределенного клинического значения, которые могут иметь отношение к фенотипу пациентов в случае получения дополнительных подтверждающих данных в виде молекулярно-генетического анализа членов семьи, проведения функционального анализа, а также появления литературных данных, свидетельствующих о патогенности данных вариантов.

Описание выявленных вариантов и генотипы пациентов с установленным в настоящем исследовании диагнозом «синдром Барде-Бидля» приведены в табл. 4.

В настоящей работе показано, что наиболее часто у исследуемой группы пациентов были обнаружены патогенные и вероятно патогенные варианты в генах *BBS1*, *BBS7* и *BBS10*. Доля мутаций в генах *BBS1* и *BBS10* совпадает с долями встречаемости в других популяциях. Согласно общемировым данным, мутации в гене *BBS7* встречаются у 1,5-2% пациентов с синдромом Барде-Бидля, в то время как в группе российских пациентов мутации в этом гене удалось обнару-

жить в 19%. Это позволяет предположить, что мутации в гене *BBS7*, наряду с мутациями в генах *BBS1* и *BBS10*, являются преобладающими в российской популяции.

В гене *BBS1* самым часто встречающимся вариантом стала однонуклеотидная замена, локализованная в каноническом сайте сплайсинга с.479+2T>G. В базе данных Clinvar (RCV000666424) данный вариант интерпретирован как вероятно патогенный, но уточняющих данных не предоставлено. Доля варианта с.479+2T>G в группе пациентов с установленным диагнозом составляет 50% от всех хромосом с патогенными и вероятно патогенными вариантами в этом гене. В то же время наиболее распространенный в мире патогенный вариант, ассоциированный с синдромом Барде-Бидля, 1169T>C (p.Met390Arg) не встретился в группе обследованных в данной работе пациентов с установленным диагнозом.

Для гена *BBS10* полученные нами данные не отличаются от таковых в других странах. Исследования, проведенные с использованием МПС-панелей генов, показывают, что у 20-31% пациентов варианты локализованы в гене *BBS10*. В настоящем исследовании показано, что патогенные варианты в гене *BBS10* встретились у 32% пациентов. Из 10 хромосом с патогенными вариантами на пяти обнаружен вариант с.271dup (p.Cys91LeufsTer5), на трех хромосомах из 10 – вариант с.145C>T (p.Arg49Trp).

Важной находкой стал патогенный вариант с.1967_1968delTAinsC в гене *BBS7*, встретившийся у трех человек в обследованной группе пациентов. Этот вариант ранее был описан у двух русских пациентов с синдромом Барде-Бидля из одной семьи [19]. Доля варианта с.1967_1968delTAinsC в гене *BBS7* от всех патогенных и вероятно патогенных вариантов в этом гене – 83%. Доля хромосом, несущих вариант

Таблица 3

Повторяющиеся патогенные варианты, обнаруженные у пациентов с подтвержденным диагнозом.

Ген	Вариант	Число хромосом с этим вариантом	Число хромосом с П и ВП вариантами в этом гене	Доля от всех хромосом с П и ВП вариантами в этом гене	Доля от общего количества хр. с П и ВП вариантами (n=32)	GnomAD ¹	RuExac ²	p-value*
<i>BBS1</i>	с.479+2T>G	3	6	0,5	0,09	0,0000956	0	
<i>BBS7</i>	с.1967_1968delTAinsC	5	6	0,83	0,16	0,00008843	0,0016	p<0,001
<i>BBS10</i>	с.271dup	5	10	0,5	0,16	0,0005642	0,0008	p>0,5
	с.145C>T	3	10	0,3	0,09	0,00005371	0	

Примечание: П – патогенный вариант, ВП – вероятно патогенный вариант; ¹ – частота аллеля в базе данных популяционных частот Genome Aggregation Database (gnomAD v.2.1.1) (данные по 125748 экзому и 15708 геному), ² – частота аллеля в базе данных популяционных частот у российского населения RuExac (данные по 1223 экзому).

c.1967_1968delTAinsC от всех хромосом с патогенными и вероятно патогенными вариантами (n=32) составляет 15,6%, что делает его самым распространенным в обследованной группе пациентов наряду с патогенным вариантом c.271dup в гене *BBS10*.

Вариант c.1967_1968delTAinsC в гене *BBS7* был описан в гетерозиготном состоянии с другим вариантом у одного пациента европейского происхождения (данных о национальности не предоставлено) с синдромом Барде-Бидля, но уточняющих данных, свидетельствующих в пользу патогенности данного варианта не было предоставлено [13]. Этот вариант также был ранее описан у двух сибсов из русской семьи.

У обоих сибсов вариант зарегистрирован в гомозиготном состоянии. Родители и третий ребенок являются гетерозиготными носителями. Авторы сообщают, что обнаружили данный вариант в гетерозиготном состоянии у 0,07% здоровых российских индивидов (всего было обследовано 2832 человека) [19]. В базе данных популяционных частот gnomAD вариант c.1967_1968delTAinsC зарегистрирован с частотой 0,0088%, в то время как в базе данных популяционных частот российского населения RuExas, основанной на данных по 1223 экзомов, данный вариант зарегистрирован с частотой 0,16% (табл. 3). Согласно gnomAD, частота данного варианта в европей-

Таблица 4

Генотипы пациентов с подтвержденным диагнозом

Номер ДНК	Ген	кДНК	Эффект	Зиготность	Критерии патогенности/Источник	Патогенность
79	<i>BBS1</i>	c.479+2T>G	сплайсинг	гетеро	PVS1, PM2, PP3	П
		c.1401C>G	p.Tyr467Ter	гетеро	PVS1, PM2	ВП
85	<i>BBS1</i>	c.479+2T>G	сплайсинг	гомо	PVS1, PM2, PP3	П
41	<i>BBS1</i>	c.479G>A	p.Arg160Gln	гетеро	[4]	П
		c.667delA	p.Thr223ProfsTer17	гетеро	PVS1, PM2, PM3	П
67	<i>BBS4</i>	c.1106+2T>A	сплайсинг	гомо	[45]	П
10	<i>BBS7</i>	c.1967_1968delTAinsC	p.Leu656ProfsTer18	гомо	[13]	П
42	<i>BBS7</i>	c.1967_1968delTAinsC	p.Leu656ProfsTer18	гомо	[13]	П
58	<i>BBS7</i>	c.1967_1968delTAinsC	p.Leu656ProfsTer18	гетеро	[13]	П
		c.712_715delAGAG	p.Arg238GluTer59	гетеро	[9]	П
82	<i>TTC8</i>	c.871_875delATCTA	p.Ile301Ter	гомо	PVS1, PM2	ВП
74	<i>BBS9</i>	c.677_678dupAA	p.Leu227AsnfsTer8	гомо	PVS1, PM2	ВП
2	<i>BBS10</i>	c.1024dup	p.Ile342AsnfsTer20	гетеро	[15]	П
		c.271dup	p.Cys91LeufsTer5	гетеро	[7]	П
16	<i>BBS10</i>	c.145C>T	p.Arg49Trp	гетеро	[7]	П
		c.271dupT	p.Cys91LeufsTer5	гетеро	[7]	П
30	<i>BBS10</i>	c.539G>A	p.Gly180Glu	гетеро	[16]	П
		c.271dupT	p.Cys91LeufsTer5	гетеро	[7]	П
40	<i>BBS10</i>	c.145C>T	p.Arg49Trp	гомо	[7]	П
80	<i>BBS10</i>	c.271dupT	p.Cys91LeufsTer5	гомо	[7]	П
57	<i>BBS12</i>	c.376G>T	p.Glu126Ter	гетеро	PVS1, PM2	ВП
		c.2023C>T	p.Arg675Ter	гетеро	[17]	П
51	<i>MKKS</i>	c.1273-5_1273-2delTTTAinsAAAG	сплайсинг	гетеро	PVS1, PM2	ВП
		c.110A>G	p.Tyr37Cys	гетеро	[13, 18]	П

Примечание: Гет — вариант в гетерозиготном состоянии; Гомо — вариант в гомозиготном состоянии; П — патогенный вариант; ВП — вероятно патогенный вариант.

ской популяции составляет 0,019%, в африканской — 0,004%. В других популяциях данный вариант не зарегистрирован.

Для проверки статистической достоверности различий аллельных частот варианта с.1967_1968delTAinsC в российской популяции относительно частот в других странах мира использовался непараметрический критерий χ^2 . В результате расчётов было установлено статистически значимое ($p < 0,001$) повышение частоты данного варианта в российской популяции.

Все три пациента из настоящего исследования, имеющие патогенный вариант с.1967_1968delTAinsC, имеют русское происхождение. Более высокая частота варианта с.1967_1968delTAinsC в российской популяции, а также отсутствие ассоциации данного патогенного варианта с синдромом Барде-Бидля в других популяциях позволяет предположить, что вариант с.1967_1968delTAinsC в гене *BBS7* является мажорным и обладает эффектом основателя в российской популяции.

Согласно литературным данным, мутации в гене *BBS7* встречаются у 1,5–2% пациентов с синдромом Барде-Бидля [5, 13, 20]. В турецкой популяции разные патогенные варианты в этом гене встретились у 15% (2 из 13 человек), что может быть объяснено изолированностью популяции. Вариант с.1967_1968delTAinsC не был обнаружен [15].

На основании полученных результатов можно разработать систему поиска частых патогенных и вероятно патогенных вариантов, ассоциированных с синдромом Барде-Бидля (представлены в табл. 3) и использовать ее как первый этап молекулярно-генетической диагностики этого заболевания. Можно полагать, что эффективность такой системы будет составлять 50% от всех хромосом с патогенными и вероятно патогенными вариантами, ассоциированными с синдромом Барде-Бидля (16 из 32 хромосом). Но стоит обратить внимание на то, что в половине случаев частые патогенные варианты в генах *BBS1*, *BBS7* и *BBS10* были обнаружены в гетерозиготном состоянии с другими более редкими вариантами. Учитывая этот факт, на данный момент невозможно предположить, насколько эффективной будет система поиска частых патогенных вариантов, ассоциированных с синдромом Барде-Бидля.

Половина из обнаруженных нами вариантов нуклеотидной последовательности ранее не была описана, что еще раз подчеркивает необходимость изучения молекулярно-генетической природы такого редкого заболевания как синдром Барде-Бидля.

На данный момент МПС-панель генов «BBS-Joubert» показала себя эффективной в отношении диагностики синдрома Барде-Бидля. Выявляемость со-

ставила 40%. Панель включает кодирующие последовательности всех известных на сегодняшний день генов ($n=21$), ассоциированных с синдромом Барде-Бидля, что делает ее эффективным и исчерпывающим инструментом для молекулярно-генетической диагностики этой патологии.

Литература

1. Forsythe E., Beales P.L. Bardet-Biedl syndrome. *Eur J Hum Genet* 2013; 21(1): 8–13.
2. Farag T.I., Teebi A.S. High incidence of Bardet Biedl syndrome among the Bedouin. *Clin Genet* 1989; 36(6): 463–464.
3. Fliegauf M., Benzing T. T., Omran H. When cilia go bad: cilia defects and ciliopathies. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8(11): 880–893.
4. Hichri H., et al. Testing for triallelism: analysis of six BBS genes in a Bardet-Biedl syndrome family cohort. *Eur J Hum Genet* 2005; 13(5): 607–616.
5. Deveau C., et al. BBS genotype-phenotype assessment of a multiethnic patient cohort calls for a revision of the disease definition. *Hum Mutat* 2011; 32(6): 610–619.
6. Myktyyn K., et al. Identification of the gene (BBS1) most commonly involved in Bardet-Biedl syndrome, a complex human obesity syndrome. *Nat Genet* 2002; 31(4): 435–438.
7. Lindstrand A., et al. Recurrent CNVs and SNVs at the NPHP1 locus contribute pathogenic alleles to Bardet-Biedl syndrome. *Am J Hum Genet* 2014; 94(5): 745–754.
8. Sathya Priya C., et al. Mutation spectrum in BBS genes guided by homozygosity mapping in an Indian cohort. *Clin Genet* 2015; 87(2): 161–166.
9. Bin J., et al. BBS7 and TTC8 (BBS8) mutations play a minor role in the mutational load of Bardet-Biedl syndrome in a multiethnic population. *Hum Mutat* 2009; 30(7): E737–746.
10. Рыжкова О.П., Кардымон О.Л., Прохорчук Е.Б., Коновалов Ф.А., Масленников А.Б., Степанов В.А., Афанасьев А.А., Залязьминская Е.В., Ребриков Д.В., Савостьянов К.В., Глотов А.С., Костарева А.А., Павлов А.Е., Голубенко М.В., Поляков А.В., Куцев С.И. Руководство по интерпретации данных последовательности ДНК человека, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) (редакция 2018, версия 2). Медицинская генетика 2019; 18(2): 3–23.
11. Katsanis N., et al. Triallelic inheritance in Bardet-Biedl syndrome, a Mendelian recessive disorder. *Science* 2001; 293(5538): 2256–2259.
12. Zaghoul N.A., et al. Functional analyses of variants reveal a significant role for dominant negative and common alleles in oligogenic Bardet-Biedl syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107(23): 10602–10607.
13. Muller J., et al. Identification of 28 novel mutations in the Bardet-Biedl syndrome genes: the burden of private mutations in an extensively heterogeneous disease. *Hum Genet* 2010; 127(5): 583–593.
14. Stoetzel C., et al. BBS8 is rarely mutated in a cohort of 128 Bardet-Biedl syndrome families. *J Hum Genet* 2006; 51(1): 81–84.
15. Ece Solmaz A., et al. Targeted multi-gene panel testing for the diagnosis of Bardet Biedl syndrome: Identification of nine novel mutations across BBS1, BBS2, BBS4, BBS7, BBS9, BBS10 genes. *Eur J Med Genet* 2015; 58(12): 689–694.
16. Janssen S., et al. Mutation analysis in Bardet-Biedl syndrome by DNA pooling and massively parallel resequencing in 105 individuals. *Hum Genet* 2011; 129(1): 79–90.
17. Dulfer E., et al. Two sibs with Bardet-Biedl syndrome due to mutations in BBS12: no clues for modulation by a third mutation in BBS10. *Am J Med Genet A* 2010; 152A(10): 2666–2669.

18. Scheidecker S., et al. Predominantly Cone-System Dysfunction as Rare Form of Retinal Degeneration in Patients With Molecularly Confirmed Bardet-Biedl Syndrome. *Am J Ophthalmol* 2015; 160(2):364-372 e1.
19. Suspitsin E.N., et al. Exome Sequencing of a Family with Bardet-Biedl Syndrome Identifies the Common Russian Mutation c.1967_1968delTAinsC in BBS7. *Mol Syndromol* 2015; 6(2): 96-98.
20. Katsanis, N., The oligogenic properties of Bardet-Biedl syndrome. *Hum Mol Genet* 2004; 13 (Spec 1): R65-71.
10. Ryzhkova O.P., Kardymon O.L., Prokhorchuk E.B., Kononov F.A., Maslennikov A.B., Stepanov V.A., Afanasyev A.A., Zaklyazminskaya E.V., Rebrikov D.V., Savostianov K.V., Glotov A.S., Kostareva A.A., Pavlov A.E., Golubenko M.V., Polyakov A.V., Kutsev S.I. Rukovodstvo po interpretatsii dannykh posledovatel'nosti DNK cheloveka, poluchennykh metodami massovogo parallel'nogo sekvenirovaniya (MPS) (redaktsiya 2018, versiya 2). [Guidelines for the interpretation of massive parallel sequencing variants (update 2018, v2)]. *Meditsinskaya genetika [Medical genetics]* 2019; 18(2): 3–24. (In Russ.)
11. Katsanis N., et al. Triallelic inheritance in Bardet-Biedl syndrome, a Mendelian recessive disorder. *Science* 2001; 293(5538): 2256-2259.
12. Zaghoul N.A., et al. Functional analyses of variants reveal a significant role for dominant negative and common alleles in oligogenic Bardet-Biedl syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107(23):10602-10607.
13. Muller J., et al. Identification of 28 novel mutations in the Bardet-Biedl syndrome genes: the burden of private mutations in an extensively heterogeneous disease. *Hum Genet* 2010; 127(5): 583-593.
14. Stoetzel C., et al. BBS8 is rarely mutated in a cohort of 128 Bardet-Biedl syndrome families. *J Hum Genet* 2006; 51(1): 81-84.
15. Ece Solmaz A., et al. Targeted multi-gene panel testing for the diagnosis of Bardet Biedl syndrome: Identification of nine novel mutations across BBS1, BBS2, BBS4, BBS7, BBS9, BBS10 genes. *Eur J Med Genet* 2015; 58(12): 689-694.
16. Janssen S., et al. Mutation analysis in Bardet-Biedl syndrome by DNA pooling and massively parallel resequencing in 105 individuals. *Hum Genet* 2011; 129(1): 79-90.
17. Dulfer E., et al. Two sibs with Bardet-Biedl syndrome due to mutations in BBS12: no clues for modulation by a third mutation in BBS10. *Am J Med Genet A* 2010; 152A(10): 2666-2669.
18. Scheidecker S., et al. Predominantly Cone-System Dysfunction as Rare Form of Retinal Degeneration in Patients With Molecularly Confirmed Bardet-Biedl Syndrome. *Am J Ophthalmol* 2015; 160(2):364-372 e1.
19. Suspitsin E.N., et al. Exome Sequencing of a Family with Bardet-Biedl Syndrome Identifies the Common Russian Mutation c.1967_1968delTAinsC in BBS7. *Mol Syndromol* 2015; 6(2): 96-98.
20. Katsanis, N., The oligogenic properties of Bardet-Biedl syndrome. *Hum Mol Genet* 2004; 13 (Spec 1): R65-71.

References

1. Forsythe E., Beales P.L. Bardet-Biedl syndrome. *Eur J Hum Genet* 2013; 21(1): 8-13.
2. Farag T.I., Teebi A.S. High incidence of Bardet Biedl syndrome among the Bedouin. *Clin Genet* 1989; 36(6): 463-464.
3. Fliegauf M., Benzing T. T., Omran H. When cilia go bad: cilia defects and ciliopathies. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8(11): 880-893.
4. Hichri H., et al. Testing for triallelism: analysis of six BBS genes in a Bardet-Biedl syndrome family cohort. *Eur J Hum Genet* 2005; 13(5): 607-616.
5. Deveau C., et al. BBS genotype-phenotype assessment of a multiethnic patient cohort calls for a revision of the disease definition. *Hum Mutat* 2011; 32(6): 610-619.
6. Myktyyn K., et al. Identification of the gene (BBS1) most commonly involved in Bardet-Biedl syndrome, a complex human obesity syndrome. *Nat Genet* 2002; 31(4): 435-438.
7. Lindstrand A., et al. Recurrent CNVs and SNVs at the NPHP1 locus contribute pathogenic alleles to Bardet-Biedl syndrome. *Am J Hum Genet* 2014; 94(5): 745-754.
8. Sathya Priya C., et al. Mutation spectrum in BBS genes guided by homozygosity mapping in an Indian cohort. *Clin Genet* 2015; 87(2): 161-166.
9. Bin J., et al. BBS7 and TTC8 (BBS8) mutations play a minor role in the mutational load of Bardet-Biedl syndrome in a multiethnic population. *Hum Mutat* 2009; 30(7):E737-746.