

<https://doi.org/10.25557/2073-7998.2025.07.78-81>

## Полногеномное секвенирование в диагностике нераскрытых случаев у российских пациентов с рецессивной патологией сетчатки

Огородова Н.Ю.<sup>1</sup>, Степанова А.А.<sup>1</sup>, Кадышев В.В.<sup>1</sup>, Климчук О.И.<sup>2</sup>, Зинченко Р.А.<sup>1</sup>, Поляков А.В.<sup>1</sup>, Щагина О.А.<sup>1</sup>

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

2 – ООО «Биотек кампус»  
117437, г. Москва, Россия, ул. Миклухо-Маклая, 16/10 корп.16

Наибольшую долю случаев наследственных заболеваний сетчатки составляют аутосомно-рецессивные формы (АР-НЗС) (более 50% всей выявляемой патологии). Однако из-за высокой распространенности патогенных рецессивных вариантов в общей популяции трудно установить, является ли данный вариант причиной заболевания или отражает случайное носительство. Поэтому целью настоящего исследования было оценить перспективы поиска второго варианта в частых генах АР-НЗС (*ABCA4*, *CNGB3*, *USH2A*, *CRB1*, *RPE65*, *CEP290* и *EYS*) на основании популяционных данных и с помощью полногеномного секвенирования (WGS) выявить «неуловимые» рутинными методами варианты на втором аллеле. У 106 пациентов были ретроспективно проанализированы данные WGS, из них у 45 (42,5%) удалось установить молекулярный диагноз, из которых 27 человек (60%) несли на втором аллеле «искомый» вариант. У остальных 18 пациентов были выявлены мутации в других генах с разными типами наследования. Наиболее распространенными генами, в которых чаще регистрировались CNV и интронные варианты, были гены *EYS*, *USH2A* и *ABCA4*. Использование метода WGS позволило увеличить долю «решенных» случаев НЗС на 3%, однако эта цифра будет значительно выше, если включить в исследование всех пациентов с неустановленным молекулярным диагнозом.

**Ключевые слова:** наследственные заболевания сетчатки, полногеномное секвенирование, *EYS*, *USH2A*, *ABCA4*.

**Для цитирования:** Огородова Н.Ю., Степанова А.А., Кадышев В.В., Климчук О.И., Зинченко Р.А., Поляков А.В., Щагина О.А. Полногеномное секвенирование в диагностике нераскрытых случаев у российских пациентов с рецессивной патологией сетчатки. *Медицинская генетика* 2025; 24(7): 78-81.

**Автор для корреспонденции:** Огородова Н.Ю.; **e-mail:** [ogorodova@med-gen.ru](mailto:ogorodova@med-gen.ru)

**Финансирование.** Исследование выполнено без спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Поступила:** 15.07.2025

**Принята:** 30.07.2025

## Whole genome sequencing in unsolved cases in Russian patients with recessive inherited retinal diseases

Ogorodova N.Yu.<sup>1</sup>, Stepanova A.A.<sup>1</sup>, Kadyshchev V.V.<sup>1</sup>, Klimchuk O.I.<sup>2</sup>, Zinchenko R.A.<sup>1</sup>, Polyakov A.V.<sup>1</sup>, Shchagina O.A.<sup>1</sup>

1 – Research Centre for Medical Genetics  
1, Moskvorechie st., Moscow, 115478, Russian Federation

2 – ООО «Биотек Кампус»  
16/10 bldg.16, Miklukho-Maklaya st., Moscow, 117437, Russian Federation

Autosomal recessive forms (AR-IRD) account for the largest proportion of cases of inherited retinal diseases (more than 50% of all detected pathology). However, due to the high prevalence of pathogenic recessive variants in the general population, it is difficult to establish whether the variant is the cause of the disease or reflects an incidental carriage. Therefore, the aim of the present study was to evaluate the prospects of finding a second variant in frequent AR-IRD genes (*ABCA4*, *CNGB3*, *USH2A*, *CRB1*, *RPE65*, *CEP290* and *EYS*) based on population data and to identify «elusive» variants on the second allele by routine methods using whole genome sequencing (WGS). WGS data were retrospectively analyzed for 106 patients. Of these, 45 (42.5%) were able to establish a molecular diagnosis, of whom 27 (60%) carried a variant in the target gene on the second allele. In the remaining 18 patients mutations in other genes with different types of inheritance were detected. The most common genes in which CNVs and intronic variants were more frequently reported were the *EYS*, *USH2A*, and *ABCA4*. WGS increased the percentage of solved cases of IRD by 3%, but this figure would be significantly higher if all patients with an unconfirmed molecular diagnosis were included in the study.

**Keywords:** inherited retinal diseases, whole genome sequencing, *EYS*, *USH2A*, *ABCA4*.

**For citation:** Ogorodova N.Yu., Stepanova A.A., Kadyshchev V.V., Klimchuk O.I., Zinchenko R.A., Polyakov A.V., Shchagina O.A. Whole genome sequencing in unsolved cases in Russian patients with recessive inherited retinal diseases. *Medical genetics [Medicinskaya genetika]*. 2025; 24(7): 78-81. (In Russian).

**Corresponding author:** Ogorodova N.Yu.; **e-mail:** ogorodova@med-gen.ru

**Funding.** The study was carried out without sponsorship.

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

**Received:** 15.07.2025

**Accepted:** 30.07.2025

## Введение

Наследственные заболевания сетчатки (НЗС) — гетерогенная и клинически разнообразная группа заболеваний, которая характеризуется дегенерацией фоторецепторных клеток и/или клеток пигментного эпителия сетчатки. Наибольшую долю случаев НЗС составляют аутосомно-рецессивные формы (АР-НЗС), на которые приходится более 50% всей выявляемой патологии в разных странах [1]. Средняя распространенность АР-НЗС во всем мире составляет 1 на 1380 человек [2].

Несмотря на широкое применение методов NGS в разных странах, доля больных с установленным молекулярным диагнозом НЗС во всем мире колеблется от 50 до 75% [3]. Значительное число пациентов остается без молекулярно подтвержденного диагноза, что связано с наличием вариантов в глубоких некодирующих областях генов, а также структурных вариантов (CNV), которые не детектируются в ходе таргетного или экзомного секвенирования.

Нами ранее были опубликованы данные о спектре частых вариантов в генах АР-НЗС. Были выявлены частые рецессивные гены — *ABCA4*, *CNGB3*, *USH2A*, *RPE65*, *CRB1*, *CNGA3*, *CEP290*, *GUCY2D*, *PDE6H*, на которые приходится 73,3% всех молекулярно-подтвержденных случаев АР-НЗС у российских пациентов [4]. Суммарная информативность панельного секвенирования, включающего 212 генов, составила 43,7%. В остальных случаях были выявлены либо единственный рецессивный патогенный вариант, либо варианты неопределенного клинического значения (VUS). Рецессивные формы НЗС представляют особый интерес, поскольку из-за высокой распространенности патогенных вариантов в общей популяции трудно установить, является ли данный вариант причиной заболевания или отражает случайное носительство. Поэтому основной задачей является повышение эффективности молекулярно-генетической диагностики за счет внедрения в практику метода полногеномного секвенирования (WGS) для поиска «неуловимых» вариантов. По данным литературы WGS увеличило долю подтвержденных случаев НЗС на 13-33% [5, 6]. Отсюда,

целью данного исследования было оценить эффективность использования WGS при поиске второго причинного варианта в рецессивных генах у пациентов с НЗС.

## Методы

Для оценки перспектив поиска второго варианта в частых рецессивных генах *ABCA4*, *CNGB3*, *USH2A*, *CRB1*, *RPE65*, *EYS*, *CEP290* у пациентов с единственным выявленным патогенным/вероятно патогенным вариантом сравнивались популяционные частоты гетерозигот по частым вариантам в исследуемой и контрольной группах. В исследуемую группу входили данные панельного секвенирования 1538 неродственных пациентов с патологией сетчатки (панель «Ophthalmology», 212 генов), группа сравнения включала данные 2905 экзотов пациентов с различными наследственными заболеваниями (база «RuExAc»).

Для поиска второго каузативного варианта в частых генах АР-НЗС у отобранных 106 пациентов были ретроспективно проанализированы данные WGS. Анализ проведен на генетическом анализаторе DNBSEQ-T7 методом парно-концевого прочтения PE150. Для пробоподготовки была использована методика PCR-free с ферментативной фрагментацией (MGI). Обработка результатов секвенирования проведена с использованием программного обеспечения «NGS-Data» (<https://ngs-data-ccu.epigenetic.ru>). Клиническую значимость ранее не описанных вариантов оценивали на основании международных рекомендаций по интерпретации данных [7]. Секвенирование проведено в рамках национальной генетической инициативы «100 000 + Я». От пациентов получено информированное добровольное согласие на исследование и обработку персональных данных.

## Результаты и обсуждение

Из 1538 пациентов у 713 (46,36%) были выявлены патогенные и вероятно патогенные варианты в генах НЗС. Аутосомно-рецессивная патология сетчатки была частой в исследуемой выборке — 509 пациентов (71,4%).

Значительная доля случаев была вызвана биаллельными мутациями в генах *ABCA4* (38,3%), *CNGB3* (10,2%), *USH2A* (6,1%), *CRB1* (4,9%), *RPE65* (4,7%), *CER290* (3,14%) и *EYS* (2,55%). По каждому из этих генов суммарно были рассчитаны частоты носительства частых патогенных вариантов. По вариантам в гене *ABCA4* (p.[Leu541Pro;Ala1038Val], p.Gly1961Glu, p.Cys1490Tyr, p.Arg653Cys, p.Arg1640Trp, c.5714+5G>A) достоверных отличий по сравнению с контрольной группой не было выявлено (частота гетерозигот в исследуемой выборке составила 2,3%, в контрольной – 2,5%). По другим генам *RPE65* (p.Glu102\*, p.Arg124\*, p.Arg91Gln, c.11+5G>A) (0,13%), *CRB1* (p.Gly827Val, p.Cys948Tyr) (0,13%) и *EYS* (p.Cys385\*, p.Thr2883Lysfs\*4) (0,6%) также не наблюдалась достоверная разница в частотах (0,07%, 0,13% и 0,38% соответственно в контрольной группе). В генах *CNGB3* (p.Thr383fs\*, p.Arg274fs\*) (0,98%) и *USH2A* (p.Trp3955\*, p.Glu4445\_Ser4449delinsAspLeu) (0,65%) наблюдались статистически значимые различия ( $p<0,05$ ) (частота гетерозигот в исследуемой и контрольной группах 0,38% и 0,24% соответственно), что говорит в пользу необходимости дальнейшего поиска либо протяженных делеций/дупликаций в этих генах, либо глубоко интронных вариантов.

По данным WGS среди отобранных 106 пациентов с единственным выявленным патогенным вариантом в перечисленных выше генах у 45 (42,5%) удалось установить молекулярный диагноз. Из них 27 человек (60%) несли на втором аллеле «искомый» вариант. У остальных 18 пациента были выявлены мутации в других генах с разными типами наследования.

В гене *EYS* было выявлено наибольшее число вариантов – 10, из которых 5 были протяженными делециями (у четырех пациентов была выявлена одна и та же делеция в гетерозиготном состоянии, частично затрагивающая экзон 19). Также была обнаружена инверсия участка размером ~756389, одна из точек разрыва которой затрагивала интрон 13 гена *EYS*. В гене *ABCA4* у 5 человек удалось выявить на втором аллеле каузативный вариант. Глубоко интронные описанные ранее варианты c.4539+2064C>T, c.6817-679C>A c.859-546G>A были обнаружены у трех пробандов [8], у одного человека была выявлена крупная делеция, затрагивающая экзон 30. В гене *USH2A* у восьми человек были выявлены шесть протяжённых делеций (делеция экзона 22-24 встретила у 4 пациентов) и два интронных

варианта, один из которых не был описан ранее. Также в гене *CNGB3* были выявлены у двух человек крупные делеции, затрагивающие экзоны 15 или 18.

Таким образом, несмотря на отсутствие достоверных различий в расчетах частоты гетерозиготного носительства в генах *ABCA4* и *EYS*, нам удалось выявить мутации на втором аллеле, большинство из которых являлось интронными вариантами или CNV соответственно. По литературным данным, наиболее распространенными генами, в которых чаще регистрируются CNV, являются гены *PRPF31*, *EYS* и *USH2A* [9]. Нами было посчитано, что CNV в гене *EYS* на втором аллеле регистрируются в 19% случаев, в гене *USH2A* – в 8,1%, что согласуется с литературными данными [10, 11]. В гене *PRPF31*, ответственном за аутосомно-доминантную пигментную дегенерацию сетчатки, у одного пациента была выявлена протяженная делеция с захватом экзона 1.

В настоящем исследовании применение WGS увеличило долю «решенных» случаев НЗС на 3%. Этот показатель будет значительно выше, если включить всех пациентов, у которых не была установлена причина заболевания на этапе панельного секвенирования. WGS расширил спектр генетических вариантов, а также показал эффективность и клиническую полезность в диагностике НЗС.

### Литература/References

1. Khan K.N., Chana R., Ali N., et al. Advanced diagnostic genetic testing in inherited retinal disease: experience from a single tertiary referral centre in the UK National Health Service. *Clin Genet.* 2017;91(1):38-45.
2. Hanany M., Rivolta C., Sharon D. Worldwide carrier frequency and genetic prevalence of autosomal recessive inherited retinal diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2020;117(5):2710-2716.
3. Ben-Yosef T. Inherited Retinal Diseases. *Int J Mol Sci.* 2022;23(21):13467.
4. Ogorodova N.Y., Stepanova A.A., Shchagina O.A. et al. Frequent Genetic Variants of Autosomal Recessive Nonsyndromic Forms of Inherited Retinal Diseases in the Russian Federation. *Russ J Genet.* 2024;60:503–515.
5. Liu X., Hu F., Zhang D., et al. Whole genome sequencing enables new genetic diagnosis for inherited retinal diseases by identifying pathogenic variants. *NPJ Genom Med.* 2024;9(1):6.
6. Zeuli R., Karali M., de Bruijn S.E., et al. Whole genome sequencing identifies elusive variants in genetically unsolved Italian inherited retinal disease patients. *HGG Adv.* 2024;5(3):100314.
7. 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):405-24.

8. Khan M., Cornelis S.S., Pozo-Valero M.D., et al. Resolving the dark matter of ABCA4 for 1054 Stargardt disease probands through integrated genomics and transcriptomics. *Genet Med.* 2020;22(7):1235-1246.
9. Zampaglione E., Kinde B., Place E.M., et al. Copy-number variation contributes 9% of pathogenicity in the inherited retinal degenerations. *Genet Med.* 2020;22(6):1079-1087.
10. Pieras JJ, Barragán I, Borrego S, et al. Copy-number variations in EYS: a significant event in the appearance of arRP. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52(8):5625-31.
11. Reurink J., Weisschuh N., Garanto A., et al. Whole genome sequencing for USH2A-associated disease reveals several pathogenic deep-intronic variants that are amenable to splice correction. *HGG Adv.* 2023;4(2):100181.