

Мутации гена *FOXL2* при синдроме «Блефарофимоз-птоз-обратный эпикант»

Щагина О.А., Демина Н.А., Бессонова Л.А., Бескоровайна Т.С., Поляков А.В.

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

Синдром «Блефарофимоз-птоз-обратный эпикант» (БПЭС) – заболевание, характеризующееся пороками развития век: птозом, блефарофимозом и наличием обратного эпиканта или телеканта. БПЭС у женщин может сопровождаться синдромом преждевременного истощения яичников и связанным с ним бесплодием. В настоящей работе суммированы результаты генетического исследования 24 больных из 19 неродственных семей с направительным диагнозом БПЭС. В результате анализа всей кодирующей последовательности гена *FOXL2* мутации выявлены в 10 неродственных семьях

Ключевые слова: блефарофимоз-птоз-обратный эпикант, *FOXL2*, БПЭС

Для цитирования: Щагина О.А., Демина Н.А., Бессонова Л.А., Бескоровайна Т.С., Поляков А.В. Мутации гена *FOXL2* при синдроме «Блефарофимоз-птоз-обратный эпикант». Медицинская генетика 2019; 18(8): 17-20.

DOI: 10.25557/2073-7998.2019.08.17-20

Автор для корреспонденции: Щагина Ольга Анатольевна, e-mail: schagina@dnalab.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования России на выполнение НИР.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 16.08.2019

FOXL2 mutations in Blepharophimosis-Ptosis-Epicanthus inversus syndrome

Shchagina O.A., Demina N.A., Bessonova L.A., Beskorovainaya T.S., Polyakov A.V.

Research Centre for Medical Genetics
Moskvorechie str. 1, 115522 Moscow, Russian Federation

Blepharophimosis-Ptosis-Epicanthus inversus syndrome (BPES) is a disease characterized by malformations of the eyelids: ptosis, blepharophimosis and the presence of a reverse epicanth or telecanth (BPES). This syndrome in women can be accompanied by a premature ovarian exhaustion syndrome and related infertility. This work summarizes the results of *FOXL2* gene analysis for 24 patients from 19 unrelated families with an incoming diagnosis. Mutations were detected in 10 unrelated families

Keywords: Blepharophimosis-Ptosis-Epicanthus inversus syndrome, *FOXL2*, BPES

For citation: Shchagina O.A., Demina N.A., Bessonova L.A., Beskorovainaya T.S., Polyakov A.V. *FOXL2* mutations in Blepharophimosis-Ptosis-Epicanthus inversus syndrome. *Medical genetics* 2019; 18(8): 17-20. [In Rus]

DOI: 10.25557/2073-7998.2019.08.17-20

Corresponding author. Shchagina Olga, e-mail: schagina@dnalab.ru

Funding. The research was carried out within the state assignment of Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation.

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

Accepted: 16.08.2019

Ведение

Синдром «Блефарофимоз-птоз-обратный эпикант» (БПЭС) – заболевание, характеризующееся пороками развития век: птозом, блефарофимозом и наличием обратного эпиканта или телеканта. БПЭС у женщин может сопровождаться синдромом преждевременного истощения яичников и связанным с ним бесплодием (БПЭС тип 1). Однако часть женщин с данным синдромом имеет нормальную фертиль-

ность (БПЭС тип 2) [1]. Причиной синдрома являются мутации гена *FOXL2*. Причиной 70% случаев БПЭС являются точковые мутации, малые делеции и инсерции, остальные случаи обусловлены протяженными делециями и крупными структурными перестройками, захватывающими ген *FOXL2* [2,3].

Ген *FOXL2* кодирует транскрипционный фактор, состоящий из 376 аминокислот. Критическим

для функционирования белка является домен, расположенный между аминокислотными остатками 53 и 139. Кроме того, белок содержит полиаланиновый тракт p.Ala221_Ala234, функция которого до сих пор остается неясной. На сегодняшний день в базе HGMD (<https://portal.biobase-international.com/hgmd/pro/gene.php?gene=FOXL2>) содержится информация о более 200 различных мутаций данного гена. Показано, что миссенс-мутации, затрагивающие горячий участок, приводят к синдрому БПЭС 1 типа, сопровождающемуся преждевременным истощением яичников, в то время как миссенс-мутации в других частях гена приводят к БПЭС 2 типа, характеризующемуся только пороками развития верхнего века. Наиболее частым типом мутаций гена *FOXL2* являются мутации с потерей функций гена – протяженные и малые делеции и инсерции, мутации сайтов сплайсинга, мутации с образованием преждевременного терминирующего кодона.

В данной работе суммированы результаты генетического исследования 24 больных из 19 неродственных семей с направительным диагнозом синдром «Блефарофимоз-птоз-обратный эпикант».

Материалы и методы

Материалом для исследования явились образцы ДНК, выделенные из периферической крови 24 больных и их родственников, направленных для исследования с диагнозом «Блефарофимоз-птоз-обратный эпикант».

Определение нуклеотидной последовательности гена *FOXL2* проводили методом прямого секвенирования по Сэнгеру продукта ПЦР как с прямого, так и с обратного праймеров. Автоматическое секвенирование проводилось согласно протоколу фирмы-производителя на приборе ABI Prism 3100 (Applied Biosystems).

Дизайн олигонуклеотидных праймеров осуществлен в лаборатории ДНК-диагностики ФГБНУ МГНЦ, синтез – в ЗАО «Евроген», Москва. Последовательности праймеров выбирали согласно базе данных GeneBank из последовательностей, фланкирующих экзоны гена, транскрипт NM_023067.

Таблица 1

Последовательности праймеров и условия амплификации

Последовательность праймеров	t° отжига	MgCl ₂ (ММ)
F1: CAGCGCCTGGAGCGGAGAGC R1: GAGGCTGCGGTAGCGGCCAC	60°	5,6
F2: GGGCCGACGGCTACGGCTAC R2: GCGTCCCTGCATCCTCGCATC	60°	5,6

Последовательности праймеров и условия амплификации представлены в **табл. 1**.

Для названия выявленных вариантов использовалась номенклатура, представленная на сайте <http://varnomen.hgvs.org/recommendations/DNA> версия 2.15.11.

Результаты

В результате анализа всей кодирующей последовательности гена *FOXL2*, состоящего из одного экзона, мутации выявлены в 10 неродственных семьях (**табл. 2**).

Три мутации, выявленные в четырех неродственных семьях, были описаны ранее: c.53_54delCA (p.Pro18Argfs*77), c.804delC (p.Gly269Alafs*2), c.855_871del17 (p.Pro287Alafs*241). Еще в шести семьях были выявлены ранее не описанные патогенные варианты: c.843_853del11 (p.Ala283Serfs*247), c.1011delC (p.Thr338Profs*18), c.965_978del14 (p.Leu322Profs*207), c.558C>A (p.Tyr186Stop), c.230delT (p.Leu77Argfs*73), c.677delC (p.Ala226Valfs*45).

У двух неродственных пробандов нами был выявлен описанный ранее Beusen с соавт. патогенный вариант c.804delC [4], приводящий к сдвигу рамки считывания и образованию преждевременного терминирующего кодона (p.Gly269Alafs*2). Один случай был семейным: пробанд – 8-летний мальчик с типичным фенотипом синдрома унаследовал его от отца с такими же особенностями. Кроме того, фенотипические проявления наблюдались и у новорожденной сестры пробанда. Мутация c.804delC сегрегировала в семье совместно с заболеванием. В другом случае данный патогенный вариант был выявлен у 27-летней женщины, у которой особенности фенотипа сочетались с первичным бесплодием без семейной истории синдрома.

В семье с наследованием синдрома в трех поколениях по отцовской линии у всех пораженных членов семьи выявлена ранее описанная De Baere делеция двух нуклеотидов c.53_54delCA [2], приводящая на уровне протеина к образованию преждевременно стоп-кодона p.Pro18Argfs*77.

Вариант c.843_853del11, приводящий к удлинению и изменению аминокислотной последовательности белка *FOXL2* (p.Ala283Serfs*247), был выявлен *de novo* у шестилетнего мальчика с типичным для данного синдрома фенотипом: блефарофимозом, обратным эпикантом и птозом. Родители и другие родственники мальчика не имели фенотипических особенностей. Еще одна *de novo* делеция 14 нуклеотидов c.965_978del14, также приводящая к удлинению и изменению аминокислотного состава протеина, начинающаяся с лейцина в положении 322 (p.Leu322Profs*207),

была выявлена у недоношенной шестимесячной девочки с блефарофимозом, птозом и низко посаженными диспластичными ушными раковинами. Описанный ранее Yamada патогенный вариант с.855_871del17 (p.Pro287Alafs*241), также приводящий к удлинению белкового продукта, был выявлен нами у 24-летней женщины, основными жалобами которой при обращении были дисфункция яичников и гипоплазия матки. В 5 лет она была прооперирована по поводу птоза верхних век. Из особенностей фенотипа наблюдались низко посаженные гипоплазированные ушные раковины и обратный эпикант. Родители пробанда не были обследованы, но со слов обратившейся не имели никаких фенотипических особенностей.

У трех женщин с первичным бесплодием, птозом, обратным эпикантом/телекантом были выявлены три ранее не описанные мутации, приводящие к потере функций белка: две делеции одного нуклеотида с.230delT (p.Leu77Argfs*73); с.677delC (p.Ala226Valfs*45) и нонсенс-мутация с.558C>A (p.Tyr186Stop).

Обсуждение

Ген *FOXL2* активно экспрессируется в эмбриогенезе в мезенхиме глазных век и обеспечивает их правильное формирование, а после периода эмбрионального развития экспрессируется лишь в фолликулах яичников [5]. Ген *FOXL2* состоит всего из одного экзона, кодирующего белок, состоящий из 376 аминокислот. Критическим для правильного функционирования данного белка является булавочный домен, расположенный между кодонами 59 и 139. Миссенс-мутации, затрагивающие эти аминокислотные остатки, приводят к возникновению БПЭС 1 типа, связанного с женским бесплодием [6], в то время как миссенс-замены в других участках гена ответственны лишь за фенотипические особенности: блефарофимоз, птоз, эпикант/телекант, низко посаженные гипоплазированные ушные раковины – БПЭС 2 типа. Взаимосвязи между положением нонсенс-мутаций и мутаций со сдвигом рамки считывания, приводящим к удлинению или укорочению

Таблица 2

Характеристика выявленных мутаций в гене *FOXL2*

№№	Пол пациента	Возраст пациента	Тип наследования	Мутации в гене <i>FOXL2</i>	Источник
1	♂♂♀	51, 30, 2	АД	с.54_53delCA p.Pro18Argfs*77	De Baere, 2001
2	♂	6	<i>de novo</i>	с.843_853del11 p.Ala283Serfs*247	данное исследование
3	♂♂♀	32, 8, 7 мес	АД	с.[804delC];[=] p.Gly269Alafs*2	Beysen, 2008
4	♀	9 мес	ИС	с.1011delC p.Thr338Profs*18	данное исследование
5	♀	24	ИС	с.[855_871del17];[=] p.Pro287Alafs*241	Yamada, 2001
6	♀	27	ИС	с.[804delC];[=] p.Gly269Alafs*2	Beysen, 2008
7	♀	6 мес	<i>de novo</i>	с.[965_978del14];[=] p.Leu322Profs*207	данное исследование
8	♀	17	ИС	с.[558C>A];[=] (p.Tyr186Stop/N)	данное исследование
9	♀	28	ИС	с.[230delT];[=] p.Leu77Argfs*73	данное исследование
10	♀	30	неизвестно	с.[677delC];[=] p.Ala226Valfs*45	данное исследование
11	♂	2	ИС	нет	
12	♀	5	ИС	нет	
13	♂♂	52, 31	АД	нет	
14	♂	6 мес	ИС	нет	
15	♂	4	ИС	нет	
16	♂	3	ИС	нет	
17	♀	31	ИС	нет	
18	♂	14	ИС	нет	
19	♀	4	ИС	нет	

Примечание: АД – аутосомно-доминантный тип наследования, ИС – изолированный случай.

чению протеина, и типом БПЭС на сегодняшний день не обнаружено [3].

В данной работе мутации гена *FOXL2* были выявлены у 9 пробандов женского пола, однако только пятеро из них достигли возраста половой зрелости. У всех этих женщин диагностирован БПЭС 1 типа, связанный с женским бесплодием. Все семейные случаи синдрома были связаны с передачей заболевания от отцов.

По данным литературы мутации гена *FOXL2* выявляются у 70-80% больных с БПЭС [2-4, 7], однако среди обследованных нами семей мутации были найдены лишь в 10 семьях из 19 обследованных. Однако при более подробном анализе клинического описания пациентов без мутаций обнаружено, что типичный фенотип наблюдался лишь в трёх семьях. Во всех остальных случаях на исследование были направлены больные лишь с одним из признаков синдрома (4 случая), либо больные с целым комплексом лицевых дизморфий в сочетании с неврологической симптоматикой (2 случая). Таким образом, среди 13 случаев типичного синдрома БПЭС мутации были выявлены в 10, что полностью соответствует литературным данным.

Список литературы/ References

1. Zlotogora J, Sagi M, Cohen T. The blepharophimosis, ptosis, and epicanthus inversus syndrome: delineation of two types. *Am J Hum Genet.* 1983 Sep;35(5):1020-7.
2. De Baere E, Dixon MJ, Small KW, Jabs EW, Leroy BP, Devriendt K, et al. Spectrum of FOXL2 gene mutations in blepharophimosis-ptosis-epicanthus inversus (BPES) families demonstrates a genotype--phenotype correlation. *Hum Mol Genet.* 2001 Jul 15;10(15):1591-600.
3. De Baere E, Beysen D, Oley C, Lorenz B, Cocquet J, De Sutter P, et al. FOXL2 and BPES: mutational hotspots, phenotypic variability, and revision of the genotype-phenotype correlation. *Am J Hum Genet.* 2003 Feb;72(2):478-87. Epub 2003 Jan 14. PubMed PMID: 12529855; PubMed Central PMCID: PMC379240.
4. Beysen D, De Jaegere S, Amor D, Bouchard P, Christin-Maitre S, Fellous M, et al. Identification of 34 novel and 56 known FOXL2 mutations in patients with Blepharophimosis syndrome. *Hum Mutat.* 2008 Nov;29(11):E205-19. doi: 10.1002/humu.20819.
5. Cocquet J, De Baere E, Gareil M, Pannetier M, Xia X, Fellous M, Veitia RA. Structure, evolution and expression of the FOXL2 transcription unit. *Cytogenet Genome Res.* 2003;101(3-4):206-11.
6. Elzaïat M, Todeschini AL, Caburet S, Veitia RA. The genetic make-up of ovarian development and function: the focus on the transcription factor FOXL2. *Clin Genet.* 2017 Feb;91(2):173-182. doi: 10.1111/cge.12862.
7. Lin B, Zeng B, Zhao J, Xu T, Wang Y, Hu B, et al. Seven Novel and Three Known Mutations in FOXL2 in 10 Chinese Families with Blepharophimosis Syndrome. *Curr Mol Med.* 2018;18(3):152-159. doi:10.2174/1566524018666180907162619. PubMed PMID: 30198434.