

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

Щагина О.А., Демина Н.А., Бессонова Л.А., Бескоровайная 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., Бескоровайная 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.

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

У двух неродственных пробандов нами был выявлен описанный ранее Beysen с соавт. патогенный вариант с.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 с.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 с.53\_54delCA [2], приводящая на уровне протеина к образованию преждевременно-го стоп-кодона p.Pro18Argfs\*77.

Вариант с.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 с.965\_978del14, также приводящая к удлинению и изменению аминокислотного состава протеина, начинающаяся с лейцина в положении 322 (p.Leu322Profs\*207),

Таблица 1

### Последовательности праймеров и условия амплификации

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

была выявлена у недоношенной шестимесячной девочки с блефарофимозом, птозом и низко посаженными диспластичными ушными раковинами. Описанный ранее Yamada патогенный вариант c.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 c.230delT (p.Leu77Argfs\*73); c.677delC (p.Ala226Valfs\*45) и нонсенс-мутация c.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	c.54_53delCA p.Pro18Argfs*77	De Baere, 2001
2	♂	6	<i>de novo</i>	c.843_853del11 p.Ala283Serfs*247	данное исследование
3	♂♂♀	32, 8, 7 мес	АД	c.[804delC];[=] p.Gly269Alafs*2	Beysen, 2008
4	♀	9 мес	ИС	c.1011delC p.Thr338Profs*18	данное исследование
5	♀	24	ИС	c.[855_871del17];[=] p.Pro287Alafs*241	Yamada, 2001
6	♀	27	ИС	c.[804delC];[=] p.Gly269Alafs*2	Beysen, 2008
7	♀	6 мес	<i>de novo</i>	c.[965_978del14];[=] p.Leu322Profs*207	данное исследование
8	♀	17	ИС	c.[558C>A];[=] (p.Tyr186Stop/N)	данное исследование
9	♀	28	ИС	c.[230delT];[=] p.Leu77Argfs*73	данное исследование
10	♀	30	неизвестно	c.[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.