

Эффект родительского происхождения мутации в гене *RB1* при наследственной ретинобластоме с низкой пенетрантностью

Алексеева Е.А.^{1,2}, Бабенко О.В.¹, Козлова В.М.³, Ушакова Т.Л.³, Казубская Т.П.³,
Саакян С.В.⁴, Танас А.С.^{1,5}, Залетаев Д.В.^{1,2}, Стрельников В.В.^{1,5}

- 1 — ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»
115522, г. Москва, ул. Москворечье д., 1
- 2 — ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова
Министерства здравоохранения Российской Федерации
119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2
- 3 — ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
115478, Москва, Каширское шоссе, д. 24
- 4 — ФГБУ «Московский научно-исследовательский институт глазных болезней имени Гельмгольца»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
105062, Москва, ул. Садовая-Черногрозская, д. 14/19
- 5 — ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1

Актуальность. При наследственной ретинобластоме герминальная мутация в одном из аллелей гена *RB1* обуславливает предрасположенность к заболеванию и его семейную передачу. Наследственная ретинобластома манифестирует в более раннем возрасте по сравнению со спорадической формой и носит в большинстве случаев мультифокальный и билатеральный характер. Однако некоторые семьи с ретинобластомой (два и более носителя одинаковой герминальной мутации в родословной) демонстрируют более мягкий фенотип с неполной пенетрантностью (у части носителей герминальной мутации заболевание не развивается) и вариабельной экспрессивностью (одинаковая мутация у разных членов семьи может проявляться уни- или билатеральной формой заболевания). Выявление низкопенетрантных мутаций в гене *RB1* и изучение характера их наследования способствует пониманию механизмов, лежащих в основе развития наследственной ретинобластомы с низкой пенетрантностью, и крайне важно как для дальнейшего расширения знаний о молекулярной генетике ретинобластомы, так и для медико-генетического консультирования и последующего клинического ведения семей с такой формой заболевания.

Цель. Установить спектр генетических нарушений в гене *RB1* у больных с наследственной ретинобластомой с неполной пенетрантностью и вариабельной экспрессивностью в выборке российских пациентов и определить влияние родительского происхождения мутации в *RB1* на её фенотипическое проявление.

Методы. Методом высокопроизводительного параллельного секвенирования проведено молекулярно-генетическое обследование 332 неродственных больных с ретинобластомой. Для верификации выявленных точковых мутаций и анализа их сегрегации в родословных использовали секвенирование по Сэнгеру.

Результаты. В группе пациентов без семейного анамнеза ретинобластомы у 3,5% больных определен наследственный характер заболевания, при котором один из родителей являлся бессимптомным носителем герминальной мутации в гене *RB1*. Выявлено 10 низкопенетрантных мутаций в гене *RB1* и установлен спектр мутаций, приводящих к развитию наследственной ретинобластомы с низкой пенетрантностью. В 91,7% случаев наследственной ретинобластомы с низкой пенетрантностью мутантный аллель получен пробандом от отца, у которого отсутствовали клинические признаки заболевания или наблюдалась более легкая форма.

Выводы. Полученные результаты подтверждают ранее высказанные предположения, что низкопенетрантные герминальные мутации в гене *RB1*, унаследованные от отца, чаще приводят к развитию ретинобластомы, и в более тяжелой форме по сравнению с таковыми, унаследованными от матери.

Ключевые слова: наследственная ретинобластома, ген *RB1*, пенетрантность, экспрессивность, высокопроизводительное параллельное секвенирование ДНК, низкопенетрантная мутация.

Для цитирования: Алексеева Е.А., Бабенко О.В., Козлова В.М., Ушакова Т.Л., Казубская Т.П., Саакян С.В., Танас А.С., Залетаев Д.В., Стрельников В.В. Эффект родительского происхождения мутации в гене *RB1* при наследственной ретинобластоме с низкой пенетрантностью. *Медицинская генетика* 2019; 18(8): 21-28

DOI: 10.25557/2073-7998.2019.08.21-28

Автор для корреспонденции: Стрельников Владимир Викторович, e-mail: vstrel@list.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

The effect of parental origin of RB1 mutations in hereditary retinoblastoma with low penetrance

Alekseeva E.A.^{1,2}, Babenko O.V.¹, Kozlova V.M.³, Ushakova T.L.³, Kazubskaya T.P.³, Sahakyan S.V.⁴, Tanas A.C.^{1,5}, Zaletaev D.V.^{1,2}, Strelnikov V.V.^{1,5}

1 — Research Centre for Medical Genetics

Moskvorechie str. 1, 115522 Moscow, Russian Federation

2 — I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation

Trubetskaya str. 8, 119991, Moscow, Russian Federation

3 — N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation

Kashirskoe highway 24, 115478 Moscow, Russian Federation

4 — Helmholtz Moscow Research Institute of Eye Diseases

Sadovaya-Chernogryazskaya str. 14/19, 105062 Moscow, Russian Federation

5 — Pirogov Russian National Research Medical University

Ostrovityanova str. 1, 117997 Moscow, Russia.

Background. In hereditary retinoblastoma, a germline mutation in one of the alleles of the *RB1* gene causes a predisposition to the disease and its transmission within the pedigree. Hereditary retinoblastoma manifests at an earlier age compared with the sporadic form and in most cases is multifocal and bilateral. However, some families with retinoblastoma (two or more carriers of the same germline mutation in the pedigree) exhibit a milder phenotype with incomplete penetrance (some carriers of the germline mutation are asymptomatic) and variable expressivity (the same mutation in different family members may manifest as either a unilateral or bilateral form). Identification of low-penetrant mutations in the *RB1* gene and studying their inheritance in pedigrees contributes to understanding the mechanisms underlying the development of retinoblastoma with low penetrance. It is extremely important both for further expansion of knowledge in the field of molecular genetics of retinoblastoma, and for competent genetic counseling and subsequent clinical management of families with this form of the disease.

Objective. To establish the spectrum of genetic disorders in the *RB1* gene in Russian patients with hereditary retinoblastoma with incomplete penetrance and variable expressivity and to determine the effect of the parental origin of the *RB1* mutation on its phenotypic manifestation.

Methods. Using high-performance parallel sequencing, a molecular genetic survey of 332 unrelated patients with retinoblastoma was performed. Sanger sequencing was used to verify the identified point mutations and analyze their segregation in pedigrees.

Results. In the group of patients without a family history of retinoblastoma, in 3.5% the hereditary nature of the disease was determined, where one of the parents was an asymptomatic carrier of a germline mutation in the *RB1* gene. Ten low-penetrant mutations in the *RB1* gene were identified. In 91.7% of cases of hereditary retinoblastoma with low penetrance, the mutant allele was obtained by a proband from a father with no clinical signs of the disease or with a milder form.

Conclusion. The results confirm the previously suggested assumptions that low-penetrant germline mutations in the *RB1* gene inherited from the father more often lead to the development of retinoblastoma, and in a more severe form than those inherited from the mother.

Keywords: hereditary retinoblastoma, *RB1*, penetrance, expressivity, NGS, low-penetrant mutation.

For citation: Alekseeva E.A., Babenko O.V., Kozlova V.M., Ushakova T.L., Kazubskaya T.P., Sahakyan S.V., Tanas A.C., Zaletaev D.V., Strelnikov V.V. The effect of parental origin of *RB1* mutations in hereditary retinoblastoma with low penetrance. *Medical genetics* 2019; 18(8):21-28. [In Rus]

DOI: 10.25557/2073-7998.2019.08.21-28

Corresponding author. Strelnikov Vladimir, e-mail vstrel@list.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

Введение

Ретинобластома — наиболее частая детская интраокулярная злокачественная опухоль сетчатки глаза, составляющая 3% всех опухолей детского возраста [1,2]. Опухоль возникает из клеток-предшественников колбочек с частотой 1:16000-18000 новорожденных и характеризуется высокой степенью злокачественности, инвазивностью и способностью быстро метастазировать в соседние органы и ткани [3, 4].

В основе молекулярных событий, приводящих к развитию ретинобластомы, лежит биаллельная инактивация супрессорного гена *RB1* в клетках опухоли [5, 6]. При sporadic (наследственной) ретинобластоме, которая составляет 60% случаев, обе мутации являются соматическими, то есть происходят в одной и той же клетке-предшественнице сетчатки. Sporadic форма проявляется как унилатеральная опухоль и диагностируется, как правило, в возрасте после 2 лет, в большинстве случаев — до 4 лет жизни [7].

При наследственной ретинобластоме герминальная мутация в одном из аллелей гена *RB1* обуславливает предрасположенность к заболеванию и его семейную передачу, а развитие опухоли инициируется соматической мутацией в другом аллеле гена в клетке сетчатки, которая происходит в период внутриутробного развития или в раннем детстве. Наследственная ретинобластома манифестирует в более раннем возрасте по сравнению со sporadic формой (средний возраст постановки диагноза составляет 12 месяцев) и носит в большинстве случаев мультифокальный и билатеральный характер. Заболевание наследуется аутосомно-доминантно с пенетрантностью более 90%. Кроме того, у носителей герминальной мутации повышен риск развития других первичных опухолей различной локализации. Наследственная ретинобластома составляет 40% случаев заболевания, причем большая её часть обусловлена мутациями *de novo*, частота семейных случаев при этой опухоли достаточно высока — 10–12% [8].

Однако некоторые семьи с ретинобластомой (два и более носителя одинаковой герминальной мутации в родословной) демонстрируют более мягкий фенотип с неполной пенетрантностью (у части носителей герминальной мутации заболевание не развивается) и вариабельной экспрессивностью (одинаковая мутация у разных членов семьи может проявляться уни- или билатеральной формой заболевания) [8–10].

Понимание механизмов, лежащих в основе развития наследственной ретинобластомы с низкой пенетрантностью, крайне важно как для дальнейшего расширения знаний о молекулярной генетике ретинобластомы, так и для медико-генетического консуль-

тирования и последующего клинического ведения семей с такой формой заболевания.

Считается, что фенотипическое проявление наследственной ретинобластомы зависит от функционального типа герминальной мутации в гене *RB1* [10]. В свою очередь, молекулярные механизмы варьирующей экспрессивности фенотипического проявления одинаковой мутации у разных членов семьи в настоящий момент объясняются эффектом родительского происхождения мутации в *RB1* [9,11].

Цель работы

Установить спектр генетических нарушений в гене *RB1* у больных с наследственной ретинобластомой с неполной пенетрантностью и вариабельной экспрессивностью в выборке российских пациентов и определить влияние родительского происхождения мутации в *RB1* на её фенотипическое проявление.

Методы

Клинический материал

Материалом для исследования послужила ДНК, выделенная из лимфоцитов крови 332 неродственных пациентов с ретинобластомой, наблюдавшихся в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина», среди которых 226 пациентов были с унилатеральной формой и 106 — с билатеральной. Среди исследованных пациентов 15 (4,5%) имели семейный анамнез заболевания (2 пациента с унилатеральной формой ретинобластомы, 13 — с билатеральной).

Распределение пациентов по полу составило: 46,1% (153/332) мужчин, 53,9% (179/332) женщин. Средний возраст постановки диагноза унилатеральных sporadic случаев составил 15,5 месяцев, билатеральных sporadic случаев — 7,5 месяцев и семейных случаев — 6 месяцев.

Скрининг точковых мутаций, малых инсерций/делеций в гене *RB1* осуществляли методом высокопроизводительного параллельного секвенирования на приборах Ion Torrent PGM или Ion S5 (Life Technologies, США). С целью верификации выявленных изменений применяли секвенирование по Сэнгеру с предварительной амплификацией целевых фрагментов генов методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Скрининг протяженных делеций в гене *RB1* проводили методом MLPA.

При обнаружении молекулярного изменения у пробанда образцы ДНК родителей и сибсов исследовались на наличие идентифицированной молекулярной патологии методом секвенирования по Сэнгеру.

Выделение ДНК, высокопроизводительное параллельное секвенирование гена *RB1*, секвенирование по Сэнгеру с целью верификации выявленных точковых мутаций, MLPA проводили в полном соответствии с ранее разработанной авторами медицинской технологией комплексной ДНК-диагностики ретинобластомы [12].

Результаты

В настоящей работе методом высокопроизводительного параллельного секвенирования обследованы

15 семей с наследственной ретинобластомой, среди которых в 5 семьях (33,3%) была ретинобластома с низкой пенетрантностью и/или вариабельной экспрессивностью (семьи №№ 319, 286, 261, 437, 360; номера семей даны в соответствии с нумерацией лабораторной коллекции образцов) (табл. 1).

В исследованной группе пациентов без семейного анамнеза ретинобластомы (317 пробандов) у 11 (3,5%) установлен наследственный характер заболевания (табл. 2), из них в 72,7% (7/11) семей один из родителей является бессимптомным носителем герминальной мутации в гене *RB1*. В семье № 482 выявлен моза-

Таблица 1

Клинико-генетические данные больных с семейным анамнезом ретинобластомы

№ семьи	Мутация	Тип мутации	Расположение	Форма ретино-бластомы у пробанда	Другие носители герминальной мутации в семье (форма ретинобластомы у них)
164	c.32_63del	сдвиг рамки считывания	1 экзон	билатеральная	мать (билатеральная)
319	c.45_76del	сдвиг рамки считывания	1 экзон	унилатеральная	отец — бессимптомный носитель мутации; полусибс отца (унилатеральная); по отцовской линии — множественные случаи
347	c.54_76del	сдвиг рамки считывания	1 экзон	билатеральная	отец (билатеральная)
286	c.380+1G>A	сайт сплайсинга	3 экзон	билатеральная	отец (унилатеральная)
409	c.608-12T>G*	сайт сплайсинга	6 интрон	билатеральная	мать (билатеральная)
261	c.939G>A	сайт сплайсинга (миссенс-сплайс)	9 экзон	унилатеральная	отец (бессимптомный носитель мутации); полусибс отца (унилатеральная); дед (бессимптомный носитель мутации)
323	c.958C>T	нонсенс	10 экзон	билатеральная	отец (билатеральная)
327	c.958C>T	нонсенс	10 экзон	билатеральная	мать (билатеральная)
306	c.1072C>T	нонсенс	11 экзон	билатеральная	отец (билатеральная)
539	c.1233_1254ins TAAAGAACTG CACAGTGAATCC	сдвиг рамки считывания	13 экзон	билатеральная	отец (билатеральная)
394	c.1654C>T	нонсенс	17 экзон	билатеральная	отец (билатеральная)
437	c.1695+5G>T*	сайт сплайсинга	17 интрон	билатеральная	отец (унилатеральная в 36 лет)
360	c.1696-2A>G	сайт сплайсинга	17 интрон	билатеральная	отец (унилатеральная); сибс отца (неизвестна)
398	c.1724del	сдвиг рамки считывания	18 экзон	билатеральная	отец (билатеральная); сибс (билатеральная)
372	c.1735C>T	нонсенс	18 экзон	билатеральная	мать (билатеральная)

Примечание: * — генетические варианты c.608-12T>G и c.1695+5G>T, согласно базе данных LOVD являющиеся вариантами с неясным клиническим значением, в настоящем исследовании обнаружены при семейных случаях ретинобластомы, при которых никаких других изменений в гене *RB1* найдено не было, что является вспомогательным критерием патогенности. К этим генетическим вариантам применим средний критерий патогенности, заключающийся в их отсутствии в контрольных выборках. В совокупности этих критериев недостаточно для классификации c.608-12T>G и c.1695+5G>T как патогенных мутаций. Для этих генетических вариантов уточнение патогенности станет возможным по результатам анализа *in vitro* влияния на сплайсинг и стабильность мРНК гена *RB1*.

ичный вариант мутации у матери (с.887del: дикий тип — 85%; делеция — 15%), что обуславливает у нее отсутствие клинических признаков заболевания [13]. В семьях №№ 472, 359 и 594 у матерей-носительниц гетерозиготных герминальных нонсенс-мутаций в гене *RB1* (с.1345G>T, с.1363C>T и с.2293_2297del, соответственно) при осмотре глазного дна обнаружена ретинома в стадии самопроизвольной инволюции. Считается, что развитие ретиномы может быть связано с отсутствием дополнительных молекулярных событий, необходимых для прогрессии ретинобластомы [14, 15].

В общей сложности, в исследованной выборке пациентов с ретинобластомой, включающей как семейные случаи заболевания, так и случаи без семейного анамнеза, выявлено 15 мутаций, которые приводили к развитию заболевания с неполной пенетрантностью в 16 семьях (в двух семьях выявлены одинаковые мутации). Из них в 11 семьях пробанд с ретинобластомой наследовал мутацию гена *RB1* от отца, являвшегося бессимптомным носителем мутации или имевшего более легкую форму заболевания (поздний дебют и/или унилатеральная форма), и в 5 семьях — от матери без выраженных клинических признаков ретинобластомы или со стертыми проявлениями. Дополнительные клинические и молекулярно-генетические исследования матерей, являвшихся бессимптомными носителями мутаций, выявили в трех семьях ретиному в

стадии инволюции и в одной семье — мозаичный вариант мутации с низкой представленностью мутантного аллеля. Таким образом, среди случаев неполной пенетрантности заболевания подавляющее большинство наблюдалось при наследовании пробандами от отцов (11 семей против 1 семьи с наследованием пробандом мутации от матери).

Среди выявленных мутаций с низкой пенетрантностью, унаследованных пробандами с ретинобластомой от отцов, 50% (5/10) были мутациями сайтов сплайсинга, 30% (3/10) — миссенс-мутациями, 20% (2/10) — делециями, приводящими к сдвигу рамки считывания (рис. 1).

Считается, что фенотипическое проявление наследственной ретинобластомы зависит от типа герминальной (первой) мутации в одном из аллелей гена *RB1* [16,17]. Выделяют три типа мутаций в *RB1* в зависимости от функциональной активности белка pRB. Первый тип — мутации, приводящие к отсутствию белкового продукта гена *RB1* и, следовательно, потере его функции в клетке (нонсенс-мутации, мутации сдвига рамки считывания) [16]. Такие мутации являются причиной преждевременной терминации транскрипции с последующим нонсенс-опосредованным распадом дефектной мРНК [18]. У больных, несущих этот тип герминальной мутации, наблюдается полная пенетрантность и билатеральная форма заболевания

Таблица 2

**Случаи семейной ретинобластомы с носителями мутаций в гене *RB1*
без выраженных клинических признаков заболевания или со стертыми проявлениями**

№ семьи	Мутация	Тип мутации	Располо-жение	Форма ретинобла-стомы у пробанда	Бессимптомные носители в семье
485	с.83del	сдвиг рамки считывания	1 экзон	унилатеральная	отец
393	с.607+1G>T	сайт сплайсинга	6 интрон	унилатеральная	отец
533	с.607+1G>T	сайт сплайсинга	6 интрон	унилатеральная	отец
522	с.861G>C	сайт сплайсинга (миссенс-сплайс)	8 экзон	билатеральная	мать
482	с.887del	сдвиг рамки считывания	9 экзон	билатеральная	мать (мозаик)
472	с.1345G>T	нонсенс	14 экзон	билатеральная	мать (ретинома в стадии ин-волюции)
359	с.1363C>T	нонсенс	14 экзон	билатеральная	мать (ретинома в стадии ин-волюции)
255	с. 1364G>C	миссенс	14 экзон	унилатеральная	отец
545	с.1573G>A	миссенс	17 экзон	унилатеральная	отец
424	с.1981C>T	миссенс	20 экзон	унилатеральная	отец
594	с.2293_2297del	сдвиг рамки считывания	22 экзон	билатеральная	мать (ретинома в стадии ин-волюции)

с мультифокальным поражением сетчатки [16]. Вторым тип — мутации, приводящие к уменьшению количества нормального pRB (мутации в промоторном регионе гена, мутации сайтов сплайсинга) [10]. Третий тип — мутации, частично инактивирующие pRB (миссенс-мутации, делеции/инсерции, не приводящие к сдвигу рамки считывания). Последние располагаются в кодирующем регионе гена, однако не приводят

к преждевременной термации транскрипции, а являются причиной частичной потери его функции, например, за счет дестабилизации белка или потери его дополнительных активностей. Мутации второго и третьего типов могут приводить в семьях к развитию ретинобластомы с неполной пенетрантностью, а опухоль, как правило, проявляется меньшим количеством фокусов [10,16].

В настоящий момент молекулярные механизмы, лежащие в основе варибельного фенотипического проявления одинаковой мутации у разных членов семьи с наследственной ретинобластомой объясняются эффектом родительского происхождения мутации в гене *RB1* [9,11,16].

В гене *RB1* идентифицирован импринтированный регион (1,2 т. п. н.) — CpG-островок (CpG 85), расположенный во втором интроне гена, который дифференциально метилирован в зависимости от родительского происхождения аллеля: регион метилирован на материнской хромосоме и неметилирован на отцовской. Кроме того, ген *RB1* содержит еще два CpG-островка: CpG 106 и CpG 42. Островок CpG 106, захватывающий промотор и 1-й экзон гена, является биаллельно неметилированным, за счет чего обеспечивается экспрессия основного транскрипта, кодирующего белок pRB, с обеих аллелей гена. Островок CpG 42, располагающийся во 2-м интроне гена, метилирован на обеих хромосомах и не обладает регуляторной активностью (рис. 2) [11,16].

Установлено, что CpG 85 является частью 5'-усеченного процессированного псевдогена, образовавшегося из белок-кодирующего гена *KIAA0649*, расположенного на хромосоме 9 и интегрированного в *RB1* в обратной ориентации. CpG 85 выступает в качестве промотора для альтернативного транскрипта гена *RB1*, который экспрессируется только с неметили-



Рис. 1. Распределение по типам мутаций, приводящих к развитию наследственной ретинобластомы с низкой пенетрантностью и/или варибельной экспрессивностью (выявлены в семьях с наследованием пробандом мутации гена *RB1* от отца — бессимптомного носителя мутации либо от отца с клинически более легкой формой заболевания).

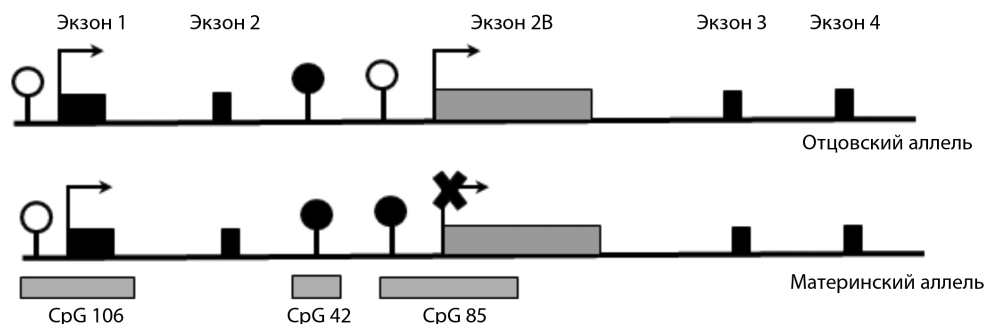


Рис. 2. Схематическое изображение 5'-региона гена *RB1* и локализация в нем CpG-островков (CpG 106, CpG 42, CpG 85). Экзоны 1–4 — регулярные экзоны гена *RB1*, экзон 2B — стартовый экзон для альтернативного транскрипта гена (первый экзон альтернативного транскрипта 2B соединяется с третьим регулярным экзона гена *RB1*). Белыми кружками обозначены неметилированные CpG-островки, черными — метилированные; стрелки указывают направление транскрипции.

рованной отцовской хромосомы. Кроме того показано, что, несмотря на ожидаемо более высокий общий уровень экспрессии мРНК транскриптов с отцовского аллеля по сравнению с таковым с материнского, уровень экспрессии с отцовского аллеля ниже в 2-3 раза за счет интерференции транскрипции, вызванной совместной экспрессией регулярного и альтернативного транскриптов [11,16].

Показано, что деметилирование CpG 85 в лимфобластных клеточных линиях путём обработки 5-аза-2'-дезоксидитидином приводит к выравниванию уровня экспрессии мРНК транскриптов с обоих аллелей гена *RB1*, поскольку после обработки деметилирующим агентом профиль экспрессии материнского аллеля становится похожим на отцовский [11].

Кроме того, установлено, что у мышей не наблюдается дисбаланс уровней экспрессии *RB1* с отцовского и материнского аллелей. В гене *RB1* мыши отсутствует CpG-островок, гомологичный CpG 85 человека. Это указывает на то, что смещение аллельной экспрессии гена *RB1* человека обусловлено дифференциально метилированным CpG 85 [11].

В настоящее время считается, что уменьшение экспрессии отцовского аллеля гена *RB1* по сравнению с материнским происходит за счет интерференции транскрипции. Интерференция транскрипции — это механизм, при котором транскрипция одного гена подавляет транскрипцию другого гена [16]. Транскрипционный комплекс альтернативного транскрипта гена *RB1*, который связывается с неметилированным островком CpG 85 на отцовской хромосоме, выступает в качестве блока для прохождения транскрипционного комплекса основного транскрипта на том же аллеле, что приводит к уменьшению уровня экспрессии с отцовской хромосомы. Таким образом, приведенные данные свидетельствуют об эпигенетической регуляции экспрессии гена *RB1* в зависимости от родительского происхождения аллеля [11,16].

Корреляция пола трансмиттера герминальной мутации в гене *RB1* и пенетрантности заболевания была подтверждена в работах других авторов [9,19,20]. Так, согласно опубликованным ранее результатам, низкопенетрантные герминальные мутации в гене *RB1*, унаследованные от отца, приводят к развитию ретинобластомы чаще и в более тяжелой форме чем унаследованные от матери. Считается, что при наследовании низкопенетрантной мутации по материнской линии опухолевой супрессорной активности pRB достаточно для предотвращения развития ретинобластомы. Напротив, при передаче мутантного аллеля от отца низкая остаточная активность белка за счет более низкой экспрессии бу-

дет имитировать мутацию, приводящую к отсутствию белка, что приведет к развитию заболевания [9].

Заключение

В исследованной нами выборке в семьях с неполной пенетрантностью в 66,7% (8/12) случаев пораженные пробанды с унилатеральной формой ретинобластомы унаследовали мутантный аллель гена *RB1* от отца без клинических признаков заболевания. В 25,0% (3/12) случаев отцы с унилатеральной формой ретинобластомы передали своим детям мутантный аллель, что привело к развитию билатеральной формы ретинобластомы. В 8,3% (1/12) развитие билатеральной формы заболевания обусловлено передачей мутантного аллеля гена *RB1* от бессимптомной матери-носительницы. Таким образом, в 91,7% (11/12) случаев пораженные пробанды унаследовали мутантный аллель от отца, что привело к развитию ретинобластомы, причем в более тяжелой форме по сравнению с отцом. Это наблюдение подтверждает ранее высказанные предположения, что низкопенетрантные герминальные мутации в гене *RB1*, унаследованные от отца, чаще приводят к развитию ретинобластомы и в более тяжелой форме по сравнению с таковыми, унаследованными от матери.

Список литературы

1. Singh L., Kashyap S. Update on pathology of retinoblastoma. *Int J Ophthalmol* 2018; 11(12): 2011-2016. doi: 10.18240/ijo.2018.12.22.
2. McEvoy J.D., Dyer M.A. Genetic and Epigenetic Discoveries in Human Retinoblastoma. *Crit Rev Oncog* 2015; 20(3-4): 217-225.
3. Dimaras H., Corson T.W., Cobrinik D., White A., Zhao J., Munier F.L. et al. Retinoblastoma. *Nat Rev Dis Primers* 2015; 1: 15021. doi: 10.1038/nrdp.2015.21.
4. Залетаев Д.В., Стрельников В.В., Немцова М.В., Бабенко О.В., Кузнецова Е.Б., Землякова В.В. и др. Структурно-функциональный анализ опухолевых геномов и разработка тест-систем для ранней диагностики, прогноза течения и оптимизации терапии злокачественных новообразований. *Вестник Российской академии медицинских наук* 2013; 68(9): 7-14.
5. Babenko O.V., Zemlyakova V.V., Saakyan S.V., Brovkina A.F., Strel'nikov V.V., Zaletaev D.V., Nemtsova M.V. RB1 and CDKN2A functional defects resulting in retinoblastoma. *Molecular Biology* 2002; 36(5): 625-630.
6. Babenko O.V., Saakyan S.V., Brovkina A.F., Kozlova V.M., Strel'nikov V.V., Zaletaev D.V., Nemtsova M.V. Spectrum and frequencies of RB1 structural defects in retinoblastoma. *Molecular Biology* 2002; 36(4): 487-492.
7. Козлова, В.М., Казубская, Т.П., Соколова И.Н., Алексеева Е.А., Бабенко О.В., Блинец Е.А. и др. Ретинобластома: диагностика и генетическое консультирование. *Онкопедиатрия* 2015; 2(1): 30-38. doi: 10.15690/onco.v2.i1.1504.
8. Казубская Т.П., Козлова В.М., Ушакова Т.Л., Алексеева Е.А., Стрельников В.В., Яровая В.А. и др. Изучение пенетрантности и фенотипа ретинобластомы. *Вопросы онкологии* 2018; 64(2): 234-241.

9. Eloy P., Dehainault C., Sefta M., Aerts I., Doz F., Cassoux N. et al. A Parent-of-Origin Effect Impacts the Phenotype in Low Penetrance Retinoblastoma Families Segregating the c.1981C>T/p.Arg661Ttp Mutation of RB1. *PLoS Genet* 2016; 12(2):e1005888. doi: 10.1371/journal.pgen.1005888.
10. Harbour J.W. Molecular Basis of Low-Penetrance Retinoblastoma. *Arch Ophthalmol* 2001; 119: 1699-1704. doi: 10.1001/archophth.119.11.1699
11. Kanber D., Berulava T., Ammerpohl O., Mitter D., Richter J., Siebert R. et al. The Human Retinoblastoma Gene Is Imprinted. *PLoS Genet* 2009; 5(12): e1000790. doi: 10.1371/journal.pgen.1000790.
12. Алексеева Е.А., Бабенко О.В., Козлова В.М., Ушакова Т.Л., Саакян С.В., Танас А.С. и др. Результаты использования новой медицинской технологии комплексной ДНК-диагностики ретинобластомы. *Медицинская генетика* 2017; 16(10): 41-46.
13. Biesecker L.G., Spinner N.B. A genomic view of mosaicism and human disease. *Nat Rev Genet* 2013; 14(5): 307-320. doi: 10.1038/nrg3424.
14. Dimaras H., Chetan V., Halliday W., Orlic M., Prigoda N.L., Piovesan B. et al. Loss of RB1 induces non-proliferative retinoma: increasing genomic instability correlates with progression to retinoblastoma. *Hum Mol Genet* 2008; 17(10): 1363-1372. doi: 10.1093/hmg/ddn024.
15. Theriault B.L., Dimaras H., Gallie B.L., Corson T.W. The genomic landscape of retinoblastoma: a review. *Clin. Exp. Ophthalmol.* 2014; 42(1): 33-52. doi: 10.1111/ceo.12132.
16. Buiting K., Kanber D., Horsthemke B., Lohmann D. Imprinting of *RB1* (the new kid on the block). *Brief Funct Genomics* 2010; 9(4): 347-353. doi: 10.1093/bfpg/elq014.
17. Cooper D.N., Krawczak M., Polychronakos C., Tyler-Smith C., Kehrer-Sawatzki H. Where genotype is not predictive of phenotype: towards an understanding of the molecular basis of reduced penetrance in human inherited disease. *Hum Genet* 2013; 132(10): 1077-1130. doi: 10.1007/s00439-013-1331-2.
18. Baker K.E., Parker R. Nonsense-mediated mRNA decay: terminating erroneous gene expression. *Curr Opin Cell Biol* 2004; 16(3): 292-299. doi: 10.1016/j.ceb.2004.03.003.
19. Klutz M., Brockmann D., Lohmann D.R. A parent-of-origin effect in two families with retinoblastoma is associated with a distinct splice mutation in the RB1 gene. *Am J Hum Genet* 2002; 7(1): 174-179. doi: 10.1086/341284.
20. Taylor M., Dehainault C., Desjardins L., Doz F., Levy C., Sastre X. et al. Genotype-phenotype correlations in hereditary familial retinoblastoma. *Hum Mutat* 2007; 28: 284-293. doi: 10.1002/humu.20443.
5. Babenko O.V., Zemlyakova V.V., Saakyan S.V., Brovkina A.F., Strel'nikov V.V., Zaletaev D.V., Nemtsova M.V. RB1 and CDKN2A functional defects resulting in retinoblastoma. *Molecular Biology* 2002; 36(5): 625-630.
6. Babenko O.V., Saakyan S.V., Brovkina A.F., Kozlova V.M., Strel'nikov V.V., Zaletaev D.V., Nemtsova M.V. Spectrum and frequencies of RB1 structural defects in retinoblastoma. *Molecular Biology* 2002; 36(4): 487-492.
7. Kozlova V.M., Kazubskaya T.P., Sokolova I.N., Alekseeva E.A., Babenko O.V., Bliznetz E.A. et al. Retinoblastoma: Diagnostics and Genetic Counseling. *Oncopediatrics* 2015; 2(1): 30-38. doi: 10.15690/onco.v2.i1.1504.
8. Kazubskaya T.P., Kozlova V.M., Ushakova T.L., Alekseeva E.A., Strel'nikov V.V., Yarovaya V.A. et al. Study of retinoblastoma penetrance and phenotype. *Problems in Oncology* 2018; 64(2): 234-241.
9. Eloy P., Dehainault C., Sefta M., Aerts I., Doz F., Cassoux N. et al. A Parent-of-Origin Effect Impacts the Phenotype in Low Penetrance Retinoblastoma Families Segregating the c.1981C>T/p.Arg661Ttp Mutation of RB1. *PLoS Genet* 2016; 12(2):e1005888. doi: 10.1371/journal.pgen.1005888.
10. Harbour J.W. Molecular Basis of Low-Penetrance Retinoblastoma. *Arch Ophthalmol* 2001; 119: 1699-1704. doi: 10.1001/archophth.119.11.1699
11. Kanber D., Berulava T., Ammerpohl O., Mitter D., Richter J., Siebert R. et al. The Human Retinoblastoma Gene Is Imprinted. *PLoS Genet* 2009; 5(12): e1000790. doi: 10.1371/journal.pgen.1000790.
12. Alekseeva E.A., Babenko O.V., Kozlova V.M., Ushakova T.L., Saakyan S.V., Tanas A.S. et al. The results of the use of new medical technology for comprehensive DNA analysis in retinoblastoma. *Medical Genetics* 2017; 16(10): 41-46.
13. Biesecker L.G., Spinner N.B. A genomic view of mosaicism and human disease. *Nat Rev Genet* 2013; 14(5): 307-320. doi: 10.1038/nrg3424.
14. Dimaras H., Chetan V., Halliday W., Orlic M., Prigoda N.L., Piovesan B. et al. Loss of RB1 induces non-proliferative retinoma: increasing genomic instability correlates with progression to retinoblastoma. *Hum Mol Genet* 2008; 17(10): 1363-1372. doi: 10.1093/hmg/ddn024.
15. Theriault B.L., Dimaras H., Gallie B.L., Corson T.W. The genomic landscape of retinoblastoma: a review. *Clin. Exp. Ophthalmol.* 2014; 42(1): 33-52. doi: 10.1111/ceo.12132.
16. Buiting K., Kanber D., Horsthemke B., Lohmann D. Imprinting of *RB1* (the new kid on the block). *Brief Funct Genomics* 2010; 9(4): 347-353. doi: 10.1093/bfpg/elq014.
17. Cooper D.N., Krawczak M., Polychronakos C., Tyler-Smith C., Kehrer-Sawatzki H. Where genotype is not predictive of phenotype: towards an understanding of the molecular basis of reduced penetrance in human inherited disease. *Hum Genet* 2013; 132(10): 1077-1130. doi: 10.1007/s00439-013-1331-2.
18. Baker K.E., Parker R. Nonsense-mediated mRNA decay: terminating erroneous gene expression. *Curr Opin Cell Biol* 2004; 16(3): 292-299. doi: 10.1016/j.ceb.2004.03.003.
19. Klutz M., Brockmann D., Lohmann D.R. A parent-of-origin effect in two families with retinoblastoma is associated with a distinct splice mutation in the RB1 gene. *Am J Hum Genet* 2002; 7(1): 174-179. doi: 10.1086/341284.
20. Taylor M., Dehainault C., Desjardins L., Doz F., Levy C., Sastre X. et al. Genotype-phenotype correlations in hereditary familial retinoblastoma. *Hum Mutat* 2007; 28: 284-293. doi: 10.1002/humu.20443.

References

1. Singh L., Kashyap S. Update on pathology of retinoblastoma. *Int J Ophthalmol* 2018; 11(12): 2011-2016. doi: 10.18240/ijo.2018.12.22.
2. McEvoy J.D., Dyer M.A. Genetic and Epigenetic Discoveries in Human Retinoblastoma. *Crit Rev Oncog* 2015; 20(3-4): 217-225.
3. Dimaras H., Corson T.W., Cobrinik D., White A., Zhao J., Munier F.L. et al. Retinoblastoma. *Nat Rev Dis Primers* 2015; 1: 15021. doi: 10.1038/nrdp.2015.21.
4. Zaletaev D.V., Strel'nikov V.V., Nemtsova M.V., Babenko O.V., Kuznetsova E.B., Zemliakova V.V. et al. Structural and Functional Analysis of Tumor Genomes and the Development of Test Systems for Early Diagnosis, Prognosis and Cancer Therapy Optimization. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences* 2013; 9: 7-14.