

# Аутосомно-рецессивная форма катаракты (STRCT18) в Якутии: результаты молекулярно-генетических исследований

Барашков Н.А.,<sup>1,2\*</sup> Коновалов Ф.А.,<sup>3</sup> Чердонова А.М.,<sup>2</sup> Борисова Т.В.,<sup>2</sup> Соловьев А.В.,<sup>1,2</sup> Терютин Ф.М.,<sup>1,2</sup> Пшенникова В.Г.,<sup>1,2</sup> Сапожникова Н.В.,<sup>4</sup> Вычюжина Л.С.,<sup>5</sup> Бурцева Т.Е.,<sup>1,2</sup> Платонов Ф.А.,<sup>2</sup> Хуснутдинова Э.К.,<sup>6</sup> Посух О.Л.,<sup>7</sup> Федорова С.А.<sup>1,2</sup>

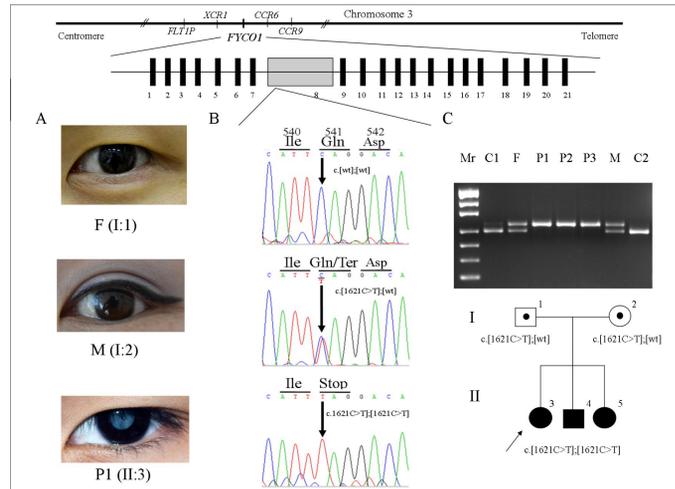
<sup>1</sup> – Якутский научный центр комплексных медицинских проблем, г. Якутск  
<sup>2</sup> – Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, г. Якутск  
<sup>3</sup> – Лаборатория клинической биоинформатики, г. Москва  
 центр Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск  
<sup>4</sup> – Республиканская школа-интернат для слепых и слабовидящих детей, г. Якутск  
<sup>5</sup> – Республиканская больница №1 – Национальный центр медицины, г. Якутск  
<sup>6</sup> – Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, г. Уфа  
<sup>7</sup> – Федеральный исследовательский

<sup>4</sup> – Республиканская школа-интернат для слепых и слабовидящих детей, г. Якутск  
<sup>5</sup> – Республиканская больница №1 – Национальный центр медицины, г. Якутск  
<sup>6</sup> – Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, г. Уфа  
<sup>7</sup> – Федеральный исследовательский

## Результаты

### Идентификация с.1621C>T (p.Gln541\*) в гене *FYCO1*

Для поиска молекулярно-генетических причин аутосомно-рецессивной формы катаракты нами было проведено полноэкзомное секвенирование (Illumina NextSeq 500) одного образца геномной ДНК пациента с врожденной катарактой. Полноэкзомный анализ выявил гомозиготную трансзицию с.1621C>T (p.Gln541\*) в 8-ом экзоне гена *FYCO1* (FYVE and coiled-coil domain containing 1 protein) (chr3:46009205G>A). Ген *FYCO1* находится на хромосоме 3 (3p21.31) и состоит из 21 экзона. Присутствие гомозиготного варианта с.1621C>T у этого пациента было верифицировано с помощью прямого секвенирования по Сэнгеру и ПЦР-ПДРФ анализа фрагмента 8-го экзона гена *FYCO1*. Кроме того, вариант с.1621C>T был обнаружен в гомозиготном состоянии у двух других пораженных сибсов из этой семьи и в гетерозиготном состоянии - у их здоровых родителей (Рис. 2).



**Рис. 2.** Идентификация трансзиции с.1621C>T (p.Gln541\*) гена *FYCO1* в якутской семье с врожденной катарактой. **Примечание:** А – Фотографии глаз членов семьи с врожденной катарактой: К1 - здоровый контроль, М - Мать пробанда (I:2), P1 - пробанд I (II:3); Б – Идентификация с.1621C>T (p.Gln541\*) с помощью прямого секвенирования по Сэнгеру фрагмента 8-го экзона гена *FYCO1*: сверху - норма, посередине - гетерозигота, внизу - гомозигота. В – Результаты ПЦР-ПДРФ анализа (4% агарозный гель) и фрагмент родословной обследованной семьи: Mr - маркер молекулярного веса *PUC19/MspI*; K1 - генотип с.[wt];[wt] (контроль 1); F - генотип с.[1621C>T];[wt] (отец пробандов I:1); P1, P2 и P3 - генотип с.[1621C>T];[1621C>T] (пробанд II:3, пробанд II:4 и пробанд II:5; М - генотип с.[1621C>T];[wt] (мать пробандов I:2); K2 - генотип с.[wt];[wt] (контроль 2).

### Частота гетерозиготного носительства с.1621C>T (p.Gln541\*) гена *FYCO1*

Анализ частоты гетерозиготного носительства с.1621C>T (p.Gln541\*) среди 424 здоровых индивидов из 7 этнических популяций Восточной Сибири показал, что с наибольшей частотой данная мутация обнаруживается в популяции якутов (7.9%), с наименьшей - у эвенов (2.0%) и эвенков (1.7%) и отсутствует у русских, юкагиров, долган и чукчей (Табл.).

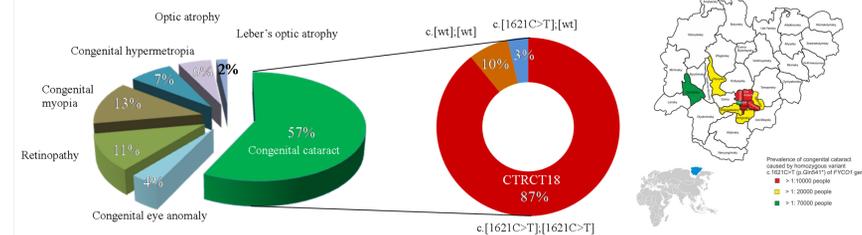
При распределении выборки якутов по этнотерриториальным группам (центральные, вилюйские и северные якуты) максимальная частота гетерозиготного носительства варианта с.1621C>T была выявлена у центральных якутов (11.1%). У вилюйских якутов частота гетерозиготного носительства этой мутации была почти в два раза ниже (6.4%), а у северной группы якутов данная мутация не была обнаружена (Табл.).

Таблица Частота гетерозиготного носительства мутации с.1621C>T (p.Gln541\*) гена *FYCO1* в семи популяциях Восточной Сибири

Population	Linguistic affiliation (family/group)	Anthropologic affiliation	Population number in Sakha Republic	Number of heterozygote / number of subjects	Carrier frequency
Russians	Indo-European / Slavic	Caucasian	390 671	0/101	-
Yakuts	Altaic / Turkic	Asian	432 290	10/126	7.9%
Dolgans	Altaic / Turkic	Asian	1 272	0/35	-
Evenks	Altaic / Tungusic	Asian	18 232	1/58	1.7%
Evens	Altaic / Tungusic	Asian	11 657	1/50	2.0%
Yukaghirs	Paleo-Asiatic or Uralic / Isolated language	Asian	1 097	0/36	-
Chukchi	Paleo-Asiatic / Isolated language	Asian	<1000	0/18	-
Total				12/424	2.8%

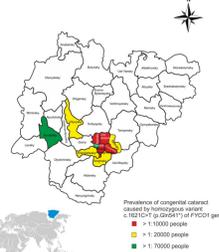
### Скрининг варианта с.1621C>T (p.Gln541\*) гена *FYCO1* у пациентов с врожденной катарактой

Учитывая сегрегацию найденного гомозиготного нового варианта с.1621C>T (p.Gln541\*) с катарактой в якутской семье с тремя пораженными сибсами, мы провели скрининг 1621C>T (p.Gln541\*) у других 29 пациентов из 28 семей с врожденной катарактой. У 25 пораженных индивидов (24 семьи) вариант с.1621C>T (p.Gln541\*) был выявлен в гомозиготном состоянии и сегрегировал с фенотипами здоровых родственников. У одного пациента замена с.1621C>T была выявлена в гетерозиготном состоянии, у 3 пациентов этой замены не было обнаружено. Таким образом, для четырех пациентов (4/32, 12.5%) ДНК-диагностика, основанная на выявлении варианта с.1621C>T в гене *FYCO1*, оказалась неинформативной. Возможно, у этих пациентов могут быть как другие изменения нуклеотидной последовательности в гене *FYCO1*, так и патогенетические варианты в других генах, ассоциированных с катарактой, что требует проведения дальнейшего молекулярно-генетического исследования. В целом (включая ранее исследованную семью), у 28 из 32 пациентов с врожденной катарактой в Якутии трансзиция с.1621C>T (p.Gln541\*) в гене *FYCO1* была обнаружена в гомозиготном состоянии, что позволило подтвердить диагноз наследственной аутосомно-рецессивной катаракты в 87.5% обследованных пациентов (STRCT18, OMIM 610019) (Рис. 3).



**Рис. 3.** Вклад трансзиции с.1621C>T (p.Gln541\*) гена *FYCO1* в этиологию врожденной катаракты у пациентов из Якутии.

Анализ территориального распространения выявленной формы катаракты (STRCT18) на территории Якутии показал, что «очаги накопления» обнаруживаются преимущественно в Чурапчинском и Намском улусах (районах), где частота этого заболевания, обусловленного гомозиготной трансзицией с.1621C>T (p.Gln541\*), была выше чем 1 на 10000 жителей (Рис.4). Оба района (улуса) являются местом проживания центральной этнотерриториальной группы якутов.



**Рис.4.** Распространенность Аутосомно-рецессивной формы катаракты (STRCT18), обусловленной гомозиготным вариантом гена *FYCO1*

### Анализ гаплотипов

Гаплотипический анализ 6 STR-маркеров был проведен у 25 пациентов с врожденной катарактой, у которых мутация с.1621C>T была идентифицирована в гомозиготном состоянии (группа 1) и 114 здоровых неродственных индивидов, у которых с.1621C>T не была выявлена (группа 2). Для идентифицированных аллелей 5 маркеров (D3S3512, D3S3685, D3S3582, D3S3561, D3S1289) было выявлено статистически значимое неравновесие по сцеплению (Рис.5). Отсутствие сцепления с исследованным хромосомным регионом отмечено для наиболее удаленного маркера D3S3698 (Рис.5).

### «Возраст» мутации с.1621C>T (p.Gln541\*)

Датировка времени (q) начала распространения гаплотипа основателя для с.1621C>T в популяции якутов по данным трех STR-маркеров (D3S3685, D3S3582 и D3S3561) составила ~ 7.4, 12.7 и 11.1 поколений (Рис.5). Время, за которое произошла экспансия хромосом, несущих с.1621C>T (p.Gln541\*), находится в интервале от 185 до 317 лет (с учетом продолжительности одного поколения в 25 лет). Таким образом, средний «возраст» гаплотипа-основателя с мутацией с.1621C>T (p.Gln541\*) в популяции якутов составляет ~ 10.4±2.6 поколений (260±65.0 лет).

### Выводы

Полученные результаты свидетельствуют о том, что выявленная с помощью полноэкзомного секвенирования новая трансзиция с.1621C>T (p.Gln541\*) гена *FYCO1* является основной причиной врожденной аутосомно-рецессивной катаракты (STRCT18), которая распространилась в Якутии в результате эффекта основателя, преимущественно среди центральных якутов Лено-Амгинского междуречья, приблизительно в середине XVIII в.

**Рис.5** Анализ гаплотипов хромосом с мутацией с.1621C>T (p.Gln541\*) гена *FYCO1* (3p21.31). **Примечание.** А - Физическое расстояние STR-маркера от с.1621C>T (p.Gln541\*). Б - STR-генотипы гомозигот по с.1621C>T (p.Gln541\*). Зеленым цветом выделена предполагаемая область гаплотипа-основателя. Группа 1 – частота аллеля у пациентов с мутацией с.1621C>T в гомозиготном состоянии (n=50 хромосом), группа 2 – частота аллеля в популяционной выборке якутов без с.1621C>T (n=228 хромосом); анализ неравновесия по сцеплению выполнен для мажорных аллелей STR-маркеров (MA); (+) – наличие с.1621C>T на хромосоме, (-) – отсутствие с.1621C>T.  $\chi^2$  – значение неравновесия по сцеплению, p – значимость отличий, q – число поколений с момента появления мутации с.1621C>T (p.Gln541\*).

European Journal of Human Genetics  
 Full text available at: <https://doi.org/10.1038/s41431-021-00833-w>  
 Barashkov, N.A., Kononov, F.A., Borisova, T.V. et al. Autosomal recessive cataract (STRCT18) in the Yakut population isolate of Eastern Siberia: a novel founder variant in the *FYCO1* gene. *Eur J Hum Genet* 29, 965–976 (2021).  
<https://doi.org/10.1038/s41431-021-00833-w>

## Введение

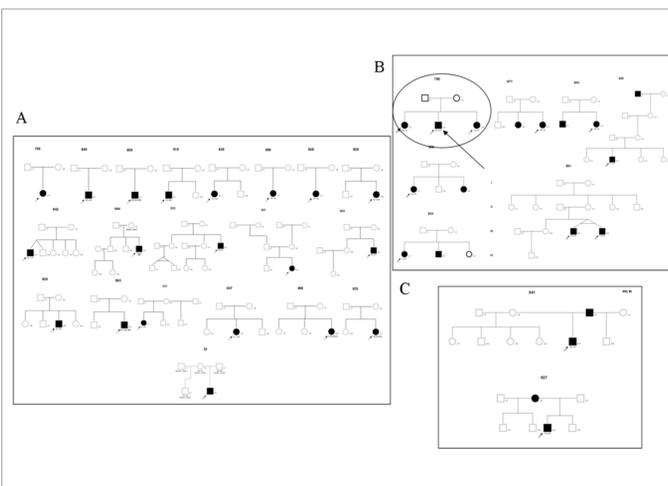
Врожденная катаракта признана основной причиной детской слепоты во многих популяциях мира, поскольку вызывает физическое помутнение хрусталика глаза, что впоследствии может привести к различным расстройствам зрения вплоть до полной его утраты [1]. Врожденная катаракта встречается с частотой 1-6 на 10000 новорожденных [2]. Считается, что до 25% всех случаев врожденной катаракты являются наследственными [3-5]. В Якутии врожденная катаракта является одним из наиболее частых орфанных заболеваний с неустановленной генетической природой.

В связи с этим, целью настоящей работы являлся поиск молекулярно-генетических причин врожденной аутосомно-рецессивной формы катаракты, распространенной в Якутии, с применением высокопроизводительных методов секвенирования ДНК.

## Материалы и методы

Всего было обследовано 57 учащихся школы-интерната для слабовидящих и слепых детей, из которых 29 были с врожденной катарактой (г. Якутск). Материалом для анализа частоты гетерозиготного носительства выявленного варианта с.1621C>T (p.Gln541\*) в гене *FYCO1* послужили образцы ДНК (n=424) взрослых индивидов без признаков нарушения зрения из биобанка УНУ «Геном Якутии» (ЯНЦ КМП).

Полноэкзомный анализ (WES) проведен методом парно-концевого чтения (2x151 п.о.) со средним покрытием не менее 70-100x. Для пробоподготовки была использована методика селективного захвата участков ДНК, относящихся к кодирующим областям генов человека. Таргетное секвенирование по Сэнгеру фрагмента 8-го экзона гена *FYCO1* было проведено у членов 29 семей с врожденной катарактой. Амплифицированные фрагменты очищали от компонентов ПЦР на магнитных частицах AMPure XP и проводили реакцию секвенирования по Сэнгеру с использованием BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, USA). Один пациент из якутской семьи (Рис.1Б, семья отмечена кружком) с рецессивно наследуемой врожденной катарактой (здоровые родители, три больных ребенка) был выбран для проведения полноэкзомного анализа ДНК.



**Рис.1.** Клинико-генеалогический анализ учащихся школы слабовидящих и слепых детей с диагнозом «врожденная катаракта» (г. Якутск, ноябрь 2015 - май 2016 гг.). **Примечание:** А – семьи без отягощенной наследственности по врожденной катаракте, Б – семьи с предположительно аутосомно-доминантным типом наследования катаракты, В – семьи с предположительно аутосомно-рецессивным типом наследования катаракты. Маленькими стрелками показаны обследуемые пациенты, большой стрелкой – пробанд из якутской семьи (выделена кружком), у которого было проведено полноэкзомное секвенирование.