

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра генетики

БУРАК
Елена Александровна

**СПЕКТР МУТАЦИЙ В ГЕНЕ *FBN1* И ИХ
ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ РЕАЛИЗАЦИЯ У ПАЦИЕНТОВ С
СИНДРОМОМ МАРФАНА**

Аннотация
к дипломной работе

Научный руководитель:
доцент Института генетики и
цитологии НАН Беларуси,
кандидат биологических наук,
Н. Н. Чакова

Минск, 2024

РЕФЕРАТ

Дипломная работа содержит 58 страниц, 11 рисунков, 5 таблиц, 94 использованных источника.

Ключевые слова: Синдром Марфана (СМ), ген *FBN1*, аневризма аорты, патогенные варианты, кальций-связывающий EGF-подобный домен (cbEGF).

Объект исследования: 21 неродственный белорусский пациент, госпитализированный с клиническим диагнозом синдром Марфана.

Цель работы: определить спектр и распространенность клинически значимых вариантов в гене *FBN1* и их фенотипическое проявление у белорусских пациентов с диагнозом синдрома Марфана.

Методы исследования: выделение ДНК из замороженной крови фенол-хлороформным методом, поиск мутаций в кодирующих последовательностях гена *FBN1* методом высокопроизводительного секвенирования (NGS), аннотирование результатов секвенирования с использованием программного обеспечения ANNOVAR, подтверждение найденных диагностически значимых замен методом прямого секвенирования по Сэнгеру, оценка патогенности выявленных вариантов с использованием баз данных (ClinVar, HGMD) и критериев Американского сообщества медицинских генетиков (ACMG, 2015 г.).

Полученные результаты: у 47,62% пациентов с клиническим диагнозом синдрома Марфана методом NGS выявлено 10 редких вариантов в гене *FBN1*, 9 (90 %) из которых являлись патогенными согласно критериям ACMG. Выявленные генетические варианты были миссенс-мутациями, за исключением одной делеции, приводящей к появлению преждевременного стоп-кодона. Обнаруженные варианты находились в семи экзонах (25, 29, 31, 48, 57, 62 и 64), при этом локализация в гене *FBN1* была не равномерной: 50% патогенных вариантов концентрировались в 62-64 экзонах, соответствующих С-концу белка, в то время как мутаций в 1-21 экзоне, оказывающих влияние на N-конец белка, не обнаружено. Шесть (60 %) из 10 выявленных миссенс-вариантов затрагивали аминокислоту цистеин.

Обнаружено три новых миссенс-замены: с.3838G>C (p.Asp1280His), с.7694G>C (p.Cys2565Ser), с.7849T>C (p.Cys2617Arg). Варианты были патогенными по предикторам *in silico* и приводили к тяжелому течению синдрома Марфана, что указывает на их диагностическую значимость.

Семейная форма синдрома Марфана наблюдалась у 5 пациентов (50%) с мутациями в 62 и 64 экзонах гена *FBN1*, соответствующих С-концу белка. У всех пациентов клинические проявления затрагивали сердечно-сосудистую систему. Наиболее тяжелое течение заболевания обнаружено у пациентов с вариантами в экзонах 29 и 31.

РЭФЕРАТ

Дыпломная праца змяшчае 58 старонак, 11 малюнкаў, 5 табліц, 94 выкарыстаныя крыніцы.

Ключавыя словы: Сіндром Марфана (СМ), ген *FBN1*, анеўрызма аорты, патагенны варыянт, кальцый-связуючы EGF-падобны дамен (cbEGF).

Аб'ект даследавання: 21 няроднасны беларускі пацыент, гаспіталізаваны з пастаўленым дыягназам сіндромам Марфана.

Мэта працы: вызначыць спектр і распаўсюджанасць клінічна значных варыянтаў у гене *FBN1* і іх фенатыпічнае праяўленне ў беларускіх пацыентаў з дыягназам сіндром Марфана.

Метады даследавання: вылучэнне ДНК з замарожанай крыві фенол-хлараформным метадам, пошук мутацый у кадавальных паслядоўнасцях гена *FBN1* метадам высокапрадукцыйнага секвеніравання (NGS), анатаванне вынікаў секвеніравання з выкарыстаннем праграмага забеспячэння ANNOVAR, пацвярджэнне знойдзеных дыягнастычна значных замен метадам прамога секвеніравання па Сэнгеру, ацэнка патагеннасці выяўленых варыянтаў з выкарыстаннем баз дадзеных (ClinVar, HGMD) і крытэрыяў Амерыканскага супольнасці медыцынскіх генетыкаў (ACMG, 2015 г.).

Атрыманыя вынікі: у 47,62% пацыентаў з клінічным дыягназам сіндромам Марфана метадам NGS выяўлена 10 рэдкіх варыянтаў у гене *FBN1*, 9 (90 %) з якіх з'яўляліся патагеннымі згодна крытэрам ACMG. Выяўленыя генетычныя варыянты былі міссенс-мутацыямі, за выключэннем адной дзялеццыі, якая прыводзіць да з'яўлення заўчаснага стоп-кодона. Выяўленыя варыянты знаходзіліся ў сямі экзонах (25, 29, 31, 48, 57, 62 і 64), пры гэтым лакалізацыя ў гене *FBN1* была нераўнамернай: 50% патагенных варыянтаў канцэнтраваліся ў 62-64 экзонах, адпаведных С-канцу бялка, у той час як мутацый у 1-21 экзоне, якія ўплываюць на N-канец бялка, не выяўлены. Шэсць (60 %) з 10 выяўленых міссенс-варыянтаў закраналі амінакіслату цистеін.

Выяўлена тры новых місэнс-замены: с.3838G> C (p.Asp1280His), с.7694G> C (p.Cys2565Ser), с.7849T> C (p.Cys2617Arg). Дадзеныя варыянты былі патагеннымі па прэдыктарам *in silico* і прыводзілі да цяжкай формы сіндрому Марфана, што паказвае на іх дыягнастычную значнасць.

Сямейная форма сіндрому Марфана назіралася ў 5 пацыентаў (50%) з мутацыямі ў 62 і 64 экзона гена *FBN1*, якія адпавядаюць С-канцу бялка. Ва ўсіх пацыентаў клінічныя праявы закраналі сардэчна-сасудзістую сістэму.

Найбольш цяжкая форма захворвання выяўлена ў пацыентаў з варыянтамі ў экзонах 29 і 31.

ABSTRAKT

Diploma thesis contains 58 pages, 11 figures, 5 tables, 94 used sources.

Key words: Marfan syndrome (MS), *FBN1* gene, aortic aneurysm, pathogenic variants, calcium-binding EGF-like domain (cbEGF).

Object of the study: 21 unrelated Belarusian patients hospitalized with a clinical diagnosis of Marfan syndrome.

Purpose of work: to determine the spectrum and prevalence of clinically significant variants in *FBN1* gene and their phenotypic manifestation in Belarusian patients diagnosed with Marfan syndrome.

Methods of research: DNA isolation from frozen blood by phenol-chloroform method, search for mutations in coding sequences of *FBN1* gene by high-throughput sequencing (NGS), annotation of sequencing results using ANNOVAR software, confirmation of found diagnostically significant substitutions by Sanger direct sequencing, assessment of pathogenicity of identified variants using databases (ClinVar, HGMD) and criteria of the American Community of Medical Geneticists (ACMG, 2015).).

Results: In 47.62% of patients with a clinical diagnosis of Marfan syndrome, the NGS method revealed 10 rare variants in the *FBN1* gene, 9 (90%) of which were pathogenic according to ACMG criteria. The identified genetic variants were missense mutations, with the exception of one deletion leading to the appearance of a premature stop codon. The detected variants were found in seven exons (25, 29, 31, 48, 57, 62 and 64), while localization in the *FBN1* gene was not uniform: 50% of pathogenic variants were concentrated in 62-64 exons corresponding to the C-terminus of the protein, while mutations in 1-21 exons affecting N- end of protein, not detected. Six (60%) of the 10 identified missense variants affected the amino acid cysteine.

Three new missense substitutions have been discovered: c.3838G>C (p.Asp1280His), c.7694G>C (p.Cys2565Ser), c.7849T>C (p.Cys2617Arg). These variants were pathogenic by in silico predictors and resulted in a severe course of Marfan syndrome, indicating their diagnostic significance.

The familial form of Marfan syndrome was observed in 5 patients (50%) with mutations in exons 62 and 64 of the *FBN1* gene corresponding to the C-terminal protein. In all patients, clinical manifestations involved the cardiovascular system.

The most severe course of the disease was found in patients with variants in exons 29 and 31.