



Случаи из практики / Cases from practice

© ИВАНОШУК Д. Е., ФЕНЬКОВА О. Г., ШАХТШНЕЙДЕР Е. В., МИХАЙЛОВА С. В., ФУРСОВА А. Ж., ВОЕВОДА М. И.

УДК: 617.7-007.681

DOI: 10.20333/2500136-2020-2-87-91

Молекулярно-генетический анализ гена *CYP1B1* при первичной врожденной глаукоме: клинический случай

Д. Е. Иваношук^{1,2}, О. Г. Фенькова³, Е. В. Шахтшнейдер^{1,2}, С. В. Михайлова¹, А. Ж. Фурсова^{1,3}, М. И. Воевода^{1,2}

¹Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск 630090, Российская Федерация

²Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал Федерального исследовательского центра Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск 630089, Российская Федерация

³Государственная Новосибирская областная клиническая больница, Новосибирск 630087, Российская Федерация

Резюме. Первичная врожденная глаукома является аутомсомно-рецессивным заболеванием глаз, манифестирующим, преимущественно, на первом году жизни. Мутации в гене *CYP1B1* являются наиболее частой причиной возникновения заболевания. В данной работе приведен клинический случай двух сибсов-носителей мутаций с.1330 C>T p.(Arg444Ter, rs377049098) и с.1331 G>A p.(Arg444Gln, rs72549376) гена *CYP1B1* в компунд-гетерозиготном состоянии. Проведенное исследование позволяет предположить, что одновременное носительство двух обнаруженных вариантов может обуславливать злокачественный характер течения заболевания.

Ключевые слова: врожденная глаукома, генетика, цитохром P450 1B1, секвенирование, однонуклеотидная замена, мутация.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Иваношук ДЕ, Фенькова ОГ, Шахтшнейдер ЕВ, Михайлова СВ, Фурсова АЖ, Воевода МИ. Молекулярно-генетический анализ гена *CYP1B1* при первичной врожденной глаукоме: клинический случай. *Сибирское медицинское обозрение.* 2020;(2):87-91. DOI: 10.20333/2500136-2020-2-87-91

Molecular genetic analysis of *CYP1B1* gene in primary congenital glaucoma: clinical case

D. E. Ivanoshchuk^{1,2}, O. G. Fenkova³, E. V. Shakhshneider^{1,2}, S. V. Mikhailova¹, A. Z. Fursova¹, M. I. Voevoda^{1,2}

¹Federal research center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk 630090, Russian Federation

²Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk 630089, Russian Federation

³Novosibirsk State Regional Hospital, Novosibirsk 630087, Russia Federation

Abstract. Primary congenital glaucoma is autosomal recessive eye disease that manifests mainly in the first year of life. Mutations in *CYP1B1* gene are the most common cause of the disease. The present paper presents a clinical case of two siblings who are mutation carriers of c.1330 C> T p. (Arg444Ter, rs377049098) and c.1331 G> A p. (Arg444Gln, rs72549376) of *CYP1B1* gene in compound heterozygous state. The study allows to suggest that simultaneous carriage of the two detected variants can determine malignant nature of the course of the disease.

Key words: congenital glaucoma, genetics, cytochrome P450 1B1, sequencing, single nucleotide substitution, mutation.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

Citation: Ivanoshchuk DE, Fenkova OG, Shakhshneider EV, Mikhailova SV, Fursova AZ, Voevoda MI. Molecular genetic analysis of *CYP1B1* gene in primary congenital glaucoma: clinical case. *Siberian Medical Review.* 2020;(2):87-91. DOI: 10.20333/2500136-2020-2-87-91

Первичная врожденная глаукома (ПВГ, OMIM 231300) является одной из причин необратимой слепоты и слабовидения у детей. Основным патогенетическим механизмом ПВГ является врожденная аномалия развития дренажной системы глаза, нарушение ее фильтрующей способности и повышение

внутриглазного давления, влекущее за собой гибель ганглиозных клеток сетчатки и, как следствие, снижение зрительных функций и необратимую слепоту [1]. ПВГ – редкая патология, частота варьируется в пределах 1 случая на 10000-20000 живых новорожденных в западных странах и гораздо чаще (1 на 1250

новорождённых) в популяциях, где распространены близкородственные браки [1]. ПВГ является генетически гетерогенной, то есть в формировании патологического фенотипа принимают участие различные гены и сочетания их аллелей. Заболевание чаще всего наследуется по аутосомно-рецессивному типу, однако описаны случаи с аутосомно-доминантным типом наследования [2, 3]. Наиболее частая причина развития аутосомно-рецессивной формы ПВГ-мутации в гене *CYP1B1* (OMIM 601771), ими обусловлено до 50 % семейных случаев и до 20 % – спорадических [4].

В данном сообщении мы приводим описание клинического случая сестер с первичной врожденной глаукомой, обусловленного носительством двух редких мутаций в кодоне 444 гена *CYP1B1*.

Описание клинического случая. Пробанд 1, женского пола, 49 лет, диагноз: первичная врожденная глаукома IA, приобретенная миопия средней степени правого глаза; анофтальм слева. У пробанда есть дочь, 20 лет, диагноз врожденной глаукомы у ребенка не подтвержден (рис.). Пробанд находится под наблюдением в офтальмологическом отделении Государственной Новосибирской областной клинической больницы с 2005 г. Диагноз первичной врожденной глаукомы был установлен на 2-м году жизни, в этом же возрасте проведена первая антиглаукомная операция на обоих глазах. При первичном обращении родители пробанда предъявляли жалобы на светобоязнь, помутнение роговиц обоих глаз у ребенка. При обследовании выявлено: гониодистенез I степени, повышение

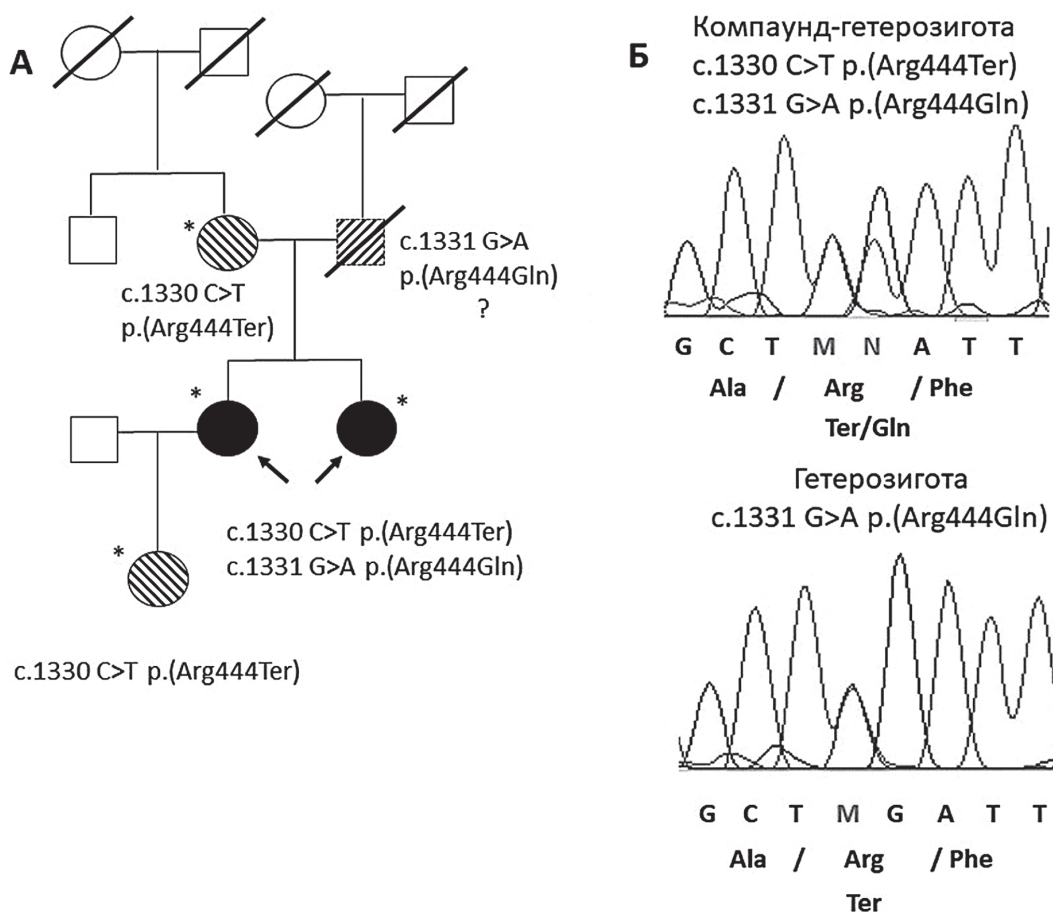


Рисунок. А – Родословная и обнаруженные варианты гена *CYP1B1* в семье с врожденной глаукомой, *обследованные носители мутаций гена *CYP1B1*; Б – Фрагмент электрофореграммы сибсов и родственников с последовательностью ДНК и мутациями с. 1330 C>T p.(Arg444Ter, rs377049098) и с.1331 G>A p.(Arg444Gln, rs72549376) гена *CYP1B1*.

Figure. A – Pedigree and detected variants of *CYP1B1* gene in a family with congenital glaucoma, * examined carriers of *CYP1B1* gene mutations; B – Fragment of electrophoregram of siblings and relatives with DNA sequence and mutations of c. 1330 C> T p. (Arg444Ter, rs377049098) and c. 1331 G> A p. (Arg444Gln, rs72549376) of *CYP1B1* gene.

внутриглазного давления до 28 мм рт. ст., глаукомная экскавация диска зрительного нерва – 0,5-0,6. За период с 1968 г. по 2007 г. было выполнено 12 антиглаукомных операций. В 2007 г., в связи отсутствием компенсации глаукомного процесса на левом глазу (первичная врожденная глаукома IIIС, уровень внутриглазного давления 41 мм рт. ст.), была выполнена имплантация клапана Achmed (New World Medical, USA). Послеоперационный период был отягощен увеитом, отсутствием снижения внутриглазного давления, выраженным болевым синдромом, в связи с чем, была выполнена энуклеация левого глаза (2007 г.). В настоящий период наблюдение пробанда 1 осуществляется с кратностью – 1 раз в 6 месяцев, глаукомный процесс на правом глазу полностью компенсирован (местная гипотензивная терапия – селективный β -блокатор). Пробанд 2, женского пола, 45 лет, сестра пробанда 1. Диагноз: первичная врожденная глаукома ШАВ, приобретенная миопия высокой степени, периферическая витреохориоретинальная дистрофия правого глаза; анофтальм слева. Диагноз врожденной глаукомы установлен на 4-м месяце жизни. Родители пробанда обратили внимание на увеличение размеров глаз (макрокорнеа), помутнение роговиц, светобоязнь, беспокойное поведение ребенка. При первичном обследовании: повышение внутриглазного давления до 36-40 мм рт. ст., макрокорнеа, стрии Хааба, помутнение роговицы, гониодисгенез II степени, глаукомная экскавация диска зрительного нерва до 0,6-0,7. Первая антиглаукомная операция обоих глаз была выполнена на 1-м году жизни. Далее на левом глазу, в период с 1980 г. по 2002 г., было выполнено 3 антиглаукомные операции. В 2002 г. на левом глазу развилась регматогенная отслойка сетчатки, в связи с чем, было выполнено 5 оперативных вмешательств (цирклиж, экстрасклеральное пломбирование, витрэктомия, тампонада витреальной полости). В 2010 г. на левом глазу отмечено развитие вторичной дистрофии роговицы, что привело к потере зрения и развитию болевого синдрома, в связи с чем, была выполнена энуклеация. На правом глазу 2 повторные антиглаукомные операции были выполнены в период с 1991 г. по 1997 г. В настоящее время глаукомный процесс на правом глазу, на фоне комбинированной гипотензивной терапии (аналог простагландинов, селективный β -блокатор), относительно скомпенсирован: уровень внутриглазного давления колеблется

от 20 до 23 мм рт. ст., острота зрения и морфометрические параметры диска зрительного нерва стабильны (суммарная толщина слоя нервных волокон (RNFL Thickness) – 84 μm , площадь нейроретинального ободка (Rim Area) – 0,97 mm^2 , объем экскавации (Cup Volume) – 0,491, соотношение Cup/Disk vertical ratio – 0,74) в течение 9 лет, оценить динамику изменения центрального поля зрения у пробанда не представляется возможным, в связи с низкой скорректированной остротой зрения – 0,05. У матери пробандов в настоящее время признаков первичной врожденной глаукомы не выявлено (рис.).

Методом прямого автоматического секвенирования по Сэнгеру у пробандов и доступных членов их семьи – матери пробандов и дочери пробанда 1 были проанализированы экзоны и прилегающие сайты сплайсинга гена *CYP11B1*. В результате у сестер были обнаружены два гетерозиготных варианта с.1330 C>T p.(Arg444Ter, rs377049098) и с.1331 G>A p.(Arg444Gln, rs72549376), локализованные в 444 кодоне гена *CYP11B1*. Наличие обеих мутаций было подтверждено также методом ПЦР-ПДРФ. Мать пробандов и дочь одного из пробанда являлись гетерозиготными носителями варианта с.1330 C>T p.(Arg444Ter, rs377049098) и не имели признаков офтальмопатологии. Предполагаемым носителем с.1331 G>A p.(Arg444Gln, rs72549376) является умерший отец пробандов. Со слов матери пробандов – отец девочек не страдал офтальмологическими заболеваниями и работал пожарным. Таким образом, лишь носительство обоих вариантов сегрегировало с появлением ПВГ.

Ген *CYP11B1* расположен на коротком плече 2-ой хромосомы и кодирует белок цитохром P450 11B1. Экспрессия гена *CYP11B1* выявлена на всем протяжении эмбрионального развития глаза и в постнатальном периоде. Известно, что продукт этого гена является одним из важных факторов детоксикации ксенобиотиков, часть из которых обладает тератогенным эффектом. Таким образом, нарушение функции этого белка может приводить к ослаблению защитных функций организма против тератогенных факторов и обуславливать формирование пороков угла передней камеры глаза [5]. В нашем исследовании обнаружено 2 мутации, которые в компаунд-гетерозиготе приводят к развитию фенотипа ПВГ. Предсказано, что аминокислота Arg444 крайне важна для структурной стабилизации белка. Замена на Gln приводит

к исчезновению контакта аминокислоты в этой позиции с атомами кислорода аминокислот Trp434 и Asp439 внутри молекулы, что может дестабилизировать этот структурный фрагмент и повлиять на гем-связывающие и окислительно-восстановительные функции *CYP1B1* [6]. В случае появления терминирующего стоп-кодона Arg444Ter образуется укороченная форма белка.

Представленный семейный случай первичной врожденной глаукомы демонстрирует некоторые особенности клинического течения данного заболевания, связанного с одновременным носительством мутаций 1330 C>T p.(Arg444Ter, rs377049098) и с.1331 G>A p.(Arg444Gln, rs72549376) гена *CYP1B1*. Показано, что пациентам-носителям патогенных вариантов в гене *CYP1B1* требуется больше хирургических процедур для коррекции внутриглазного давления и более тщательное постоперационное сопровождение (по сравнению с пациентами ПВГ без мутаций в гене *CYP1B1*) [7]. Проведенное исследование позволяет предположить, что одновременное носительство двух обнаруженных вариантов, меняющих структуру белка, может осложнять характер течения заболевания. Для клинической картины врожденной глаукомы, возникновение которой связано с одновременным носительством мутаций 1330 C>T p.(Arg444Ter, rs377049098) и с.1331 G>A p.(Arg444Gln, rs72549376) гена *CYP1B1*, наблюдалось достаточно быстрое прогрессирование глаукомного процесса с последующей потерей зрения и глаза, как органа, несмотря на активно проводимое лечение (более 5 антиглаукомных операций в анамнезе). Более позднее выявление дебюта врожденной глаукомы у пробанда 1, наиболее вероятно, связано с меньшей выраженностью аномалии угла передней камеры глаза (гониодисгенез I степени), а также отсутствием медицинской настороженности в отношении данного заболевания. Таким образом, при выявлении случаев первичной врожденной глаукомы, необходимо проведение медико-генетического консультирования пациентов с данным заболеванием с целью прогнозирования характера течения глаукомного процесса и оптимизации проводимого лечения, а именно, первичное использование антиглаукомных дренажей во время хирургического вмешательства, а также обязательное соблюдение кратности офтальмологических осмотров на этапе амбулаторно-поликлинического и стационарного звена.

Заключение

Изученный нами семейный случай первичной врожденной глаукомы, связанный с одновременным носительством мутаций 1330 C>T p.(Arg444Ter, rs377049098) и с.1331 G>A p.(Arg444Gln, rs72549376) гена *CYP1B1*, и анализ особенностей его клинического течения, показывает необходимость персонализированного подхода к диагностике и лечению данного заболевания.

Работа выполнена в рамках госзадания АААА-А17-117072710029-7 и РФФИ №18-315-00297.

Литература/ References

1. Badawi AH, Al-Muhaylib AA, Al Owaifeer AM, Al-Essa RS, Al-Shahwan SA. Primary congenital glaucoma: An updated review. *Saudi Journal of Ophthalmology*. 2019;33(4):382-388. DOI: 10.1016/j.sjopt.2019.10.002
2. Fan BJ, Wiggs JL. Glaucoma: genes, phenotypes, and new directions for therapy. *Journal of Clinical Investigation*. 2010; 120(9): 3064–3072. DOI: 10.1172/JCI43085
3. Souma T, Tompson SW, Thomson BR, Siggs OM, Kizhatil K, Yamaguchi S, Feng L, Limviphuvadh V, Whisenhunt KN, Maurer-Stroh S, Yanovitch TL, Kalaydjieva L, Azmanov DN, Finzi S, Mauri L, Javadiyan S, Souzeau E, Zhou T, Hewitt AW, Kloss B, Burdon KP, Mackey DA, Allen KF, Ruddle JB, Lim SH, Rozen S, Tran-Viet KN, Liu X, John S, Wiggs JL, Pasutto F, Craig JE, Jin J, Quaggin SE, Young TL. Angiopoietin receptor TEK mutations underlie primary congenital glaucoma with variable expressivity. *Journal of Clinical Investigation*. 2016;126(7): 2575–2587. DOI: 10.1172/JCI85830
4. Sarfarazi M, Stoilov I. Molecular genetics of primary congenital glaucoma. *Eye (London)*.2000;(Pt 3B):422-8. DOI: 10.1038/eye.2000.126
5. Kaur K, Mandal AK, Chakrabarti S. Primary Congenital Glaucoma and the Involvement of CYP1B1. *Middle East African Journal of Ophthalmology*. 2011;(18):7–16. DOI: 10.4103/0974-9233.75878
6. Mashima Y, Suzuki Y, Sergeev Y, Ohtake Y, Tani-no T, Kimura I, Miyata H, Aihara M, Tanihara H, Inatani M, Azuma N, Iwata T, Araie M. Novel cytochrome P4501B1 (*CYP1B1*) gene mutations in Japanese patients with primary congenital glaucoma. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 2001;42(12):2211–2216.

7. Abu-Amero KK, Osman EA, Mousa A, Wheeler J, Whigham B, Allingham RR, Hauser MA, Al-Obeidan SA. Screening of CYP1B1 and LTBP2 genes in Saudi families with primary congenital glaucoma: genotype-phenotype correlation. *Molecular Vision*. 2011; (17): 2911–2919.

Сведения об авторах

Иванович Динара Евгеньевна, младший научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук; адрес: Российская Федерация, 630090, Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 10; научный сотрудник, Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал Федерального исследовательского центра Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук; адрес: Российская Федерация, 630089, Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1; тел.: +7(961)8741216; e-mail: dinara2084@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0403-545X>

Фенькова Ольга Геннадьевна, к.м.н., Государственная Новосибирская областная клиническая больница; адрес: Российская Федерация, 630087, Новосибирск, ул. Немировича-Данченко, д.130; тел.: +7(913)4569883; e-mail: olga.fenkova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8048-943X>

Шахтинейдер Елена Владимировна, к.м.н., зам. руководителя, Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук; адрес: Российская Федерация, 630090, Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 10; руководитель сектора изучения моногенных форм распространенных заболеваний человека, Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал Федерального исследовательского центра Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук; адрес: Российская Федерация, 630089, Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1; тел.: +7(383)37309826; e-mail: 2117409@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6108-1025>

Михайлова Светлана Владимировна, к.б.н., научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук; адрес: Российская Федерация, 630090, Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 10; тел.: +7(913)9102463; e-mail: mikhaill@bionet.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0897-5473>

Фурсова Анжела Жановна, д.м.н., ведущий научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук; адрес: Российская Федерация, 630090, Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 10; тел.: +7(383)3634963; e-mail: FursovaAZ@icg.sbras.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6311-5452>

Воевода Михаил Иванович, д.м.н., профессор, заместитель директора по научной работе, академик РАН, Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук; адрес: Российская Федерация, 630090, Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 10; руководитель научного направления

фундаментальных и клинических исследований, Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал Федерального исследовательского центра Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук; адрес: Российская Федерация, 630089, Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1; телефон: +7(383)3730983, e-mail: mvovoda@ya.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9425-413X>

Author information

Dinara E. Ivanoshchuk, junior researcher, Federal research center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences; Address: 10, Prospekt Lavrentyeva, Novosibirsk, Russian Federation 630090; Researcher, Institute of Internal and Preventive Medicine – a branch of the Institute of Cytology and Genetics, the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; Address: 175/1, Bogatkova Str., Novosibirsk, Russian Federation 630089; Phone: +7(961)8741216; e-mail: dinara2084@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0403-545X>

Olga G. Fenkova, Cand.Med.Sci., Novosibirsk State Regional Hospital; Address: 130, Nemirovicha-Danchenko St., Novosibirsk, Russian Federation 630008; Phone: +7(913)4569883; e-mail: olga.fenkova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8048-943X>

Elena V. Shakhshneider, Cand.Med.Sci., deputy head of research, Institute of Internal and Preventive Medicine – a branch of the Institute of Cytology and Genetics, the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; Address: 175/1, Bogatkova Str., Novosibirsk, Russian Federation 630089; leader group of monogenic forms of common disease, Federal research center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences; Address: 10, Prospekt Lavrentyeva, Novosibirsk, Russian Federation 630090; тел.: +7(383)37309826; e-mail: 2117409@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6108-1025>

Svetlana V. Mikhailova, Cand.Bio.Sci., researcher, Federal research center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences; Address: 10, Prospekt Lavrentyeva, Novosibirsk, Russian Federation 630090; Phone: +7(913)9102463, e-mail: mikhaill@bionet.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0897-5473>

Anzhella Z. Fursova, Dr.Med.Sci., Leader researcher, Federal research center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences; Address: 10, Prospekt Lavrentyeva, Novosibirsk, Russian Federation 630090; Phone: +7(383)3634963, e-mail: FursovaAZ@icg.sbras.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6311-5452>

Mikhail I. Voevoda, Dr.Med.Sci., Professor, a member of the Russian Academy of Sciences, ScD, Federal research center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences; Address: 10, Prospekt Lavrentyeva, Novosibirsk, Russian Federation 630090.; head of the scientific field of basic and clinical research, Institute of Internal and Preventive Medicine – a branch of the Institute of Cytology and Genetics, the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; Address: 175/1, Bogatkova Str., Novosibirsk, Russian Federation 630089; Phone: +7(383)3730983, e-mail: mvovoda@ya.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9425-413X>

Дата поступления 29.01.2020 г.

Дата рецензирования 18.02.2020 г.

Принята к печати 03.03.2020 г.

Received 29 January 2020

Revision Received 18 February 2020

Accepted 03 March 2020



This work is licensed under the Creative Commons Attribution 4.0 International License. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.