

СПЕКТР МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ И РАЗНООБРАЗИЕ КЛИНИЧЕСКИХ ФОРМ БОЛЕЗНИ ШТАРГАРДТА

Наталья Леонидовна ШЕРЕМЕТ¹, Ирина Григорьевна ГРУШКЭ¹,
Нино Владимировна ЖОРЖОЛАДЗЕ¹, Ирина Адольфовна РОНЗИНА¹,
Азнив Ашотовна МИКАЕЛЯН¹, Сергей Александрович КУРБАТОВ²,
Виталий Викторович КАДЫШЕВ³, Кирилл Игоревич АНОШКИН³,
Владимир Викторович СТРЕЛЬНИКОВ³

¹ НИИ глазных болезней

119021, г. Москва, ул. Россолимо, 11, корп. А, Б

² Воронежский областной клинический консультативно-диагностический центр

394018, г. Воронеж, пл. Ленина, 5а

³ Медико-генетический научный центр

115522, г. Москва, ул. Москворечье, 1

Цель исследования – оценить спектр молекулярно-генетических нарушений и разнообразие клинических форм у пациентов с болезнью Штаргардта. **Материал и методы.** В исследование включены 56 пациентов в возрасте на момент обследования от 15 до 74 лет, которым в анамнезе или при осмотре был поставлен диагноз болезнь Штаргардта. Всем больным проводили стандартные и дополнительные офтальмологические методы исследования, а также высокопроизводительное параллельное секвенирование кодирующих последовательностей и прилежащих участков интронов генов *ABCA4*, *ELOVL4*, *PROM1* и *CNGB3*, а также минорных экзонов гена *ABCA4*. **Результаты.** Мутации в одном из четырех генов (*ABCA4*, *ELOVL4*, *PROM1* и *CNGB3*) обнаружены у 46 из 56 обследованных (82,1 %). Выявлена обратная корреляция между длительностью заболевания и потерей остроты зрения в год для трех групп ($k = -0,86$, $k = -0,93$, $k = -0,63$, $p < 0,05$ соответственно при дебюте болезни Штаргардта в возрасте менее 10 лет, 11–30 лет и более 31 года). Частая мутация гена *ABCA4* p.G1961E обнаружена у 18 пациентов и в 83 % случаев (15 человек) ассоциирована с легким течением болезни Штаргардта. Комплексная мутация [p.L541P, p.A1038V] выявлена у 17 больных, в 53 % случаев (9 человек) определяет тяжелое течение заболевания. Однако в компаунд-гетерозиготном состоянии с миссенс-мутацией p.G1961E в гене *ABCA4* отмечено относительно легкое течение болезни Штаргардта. **Заключение.** Потеря зрительных функций при болезни Штаргардта зависит от тяжести генетического дефекта в каждом конкретном случае и от длительности заболевания в общем по выборке.

Ключевые слова: болезнь Штаргардта, палочко-колбочковая дистрофия, мутации, высокопроизводительное параллельное секвенирование, *ABCA4*, *ELOVL4*, *PROM1*, *CNGB3*.

Шеремет Н.Л. – д.м.н., ведущий научный сотрудник отделения клинических исследований в офтальмологии, e-mail: sheremet_n@mail.ru

Грушкэ И.Г. – аспирант, e-mail: irina.grusca@mail.ru

Жоржолодзе Н.В. – к.м.н., младший научный сотрудник, e-mail: nino1998@mail.ru

Ронзина И.А. – к.м.н., научный сотрудник отделения функциональных методов исследования, e-mail: ronzinirina@yandex.ru

Микаелян А.А. – аспирант, e-mail: asia-07@mail.ru

Курбатов С.А. – врач-нейрогенетик, e-mail: kurbatov80@list.ru

Кадышев В.В. – старший научный сотрудник лаборатории генетической эпидемиологии, e-mail: Vvh.kad@gmail.com

Аношкин К.И. – научный сотрудник лаборатории эпигенетики, e-mail: Anoshkin@epigenetic.ru

Стрельников В.В. – д.б.н., проф., зав. лабораторией эпигенетики, e-mail: vstrel@list.ru

Болезнь Штаргардта (БШ) – это *ABCA4*-ассоциированная дистрофия сетчатки, являющаяся наиболее распространенным заболеванием среди наследственных дистрофий, наследуется по аутомно-рецессивному типу (для генетического подтверждения диагноза необходимо обнаружение двух мутаций) и характеризуется высокой клинической и генетической гетерогенностью. Частота встречаемости варьирует в разных популяциях, в среднем оценивается как 1 : 8000–10000. Клинические проявления БШ отличаются широкими вариациями по возрасту начала и тяжести фенотипа. Чаще всего заболевание возникает в возрасте 7–15 лет, однако может дебютировать у пациентов старшего возраста, в редких случаях даже после 50 лет. Клиническая картина характеризуется двухсторонним снижением остроты зрения, дисхроматопсией, формированием центральной скотомы, атрофического очага в макулярной зоне с локализованными вокруг очага или распространенными по всему главному дну желто-белыми пятнами. Степень и скорость прогрессирования морфофункциональных нарушений вариабельны: от умеренных и медленных изменений до значительного снижения зрительных функций, выраженных атрофических изменений в хориоретинальном комплексе, которые приводят к развитию выраженной географической атрофии. Лучший прогноз обычно ассоциирован с поздним началом, при котором снижение остроты зрения происходит более медленно. Однако и в этих случаях при длительном наблюдении потеря зрительных функций аналогична БШ с ранним началом [14]. Различный фенотип зависит от генетического варианта мутации и степени остаточных функций гена.

Изучение молекулярно-генетической основы БШ позволило выявить в настоящее время и другие гены (*ELOVL4*, *PROM1*, *CNGB3*), мутации которых приводят к сходным клиническим проявлениям и ассоциированы с «Штаргардтоподобным заболеванием» [8]. Цель настоящего исследования – оценить спектр молекулярно-генетических нарушений и разнообразие клинических форм у пациентов с БШ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование включены 56 пациентов из 51 неродственной семьи в возрасте на момент обследования от 15 до 74 лет, которым в анамнезе и при осмотре был поставлен диагноз БШ на основании данных офтальмоскопической, аутофлуоресцентной картины, оптической когерентной томографии и электрофизиологических исследований (подробное описание представлено в

статье Н.Л. Шеремет и соавт.) [3]. Критерием исключения из исследования было наличие других глазных заболеваний, кроме БШ, которые могли повлиять на изменение функции зрения и анализ результатов обследования. От всех пациентов получено письменное информированное согласие на участие в исследованиях.

Клинические исследования включали стандартные и дополнительные офтальмологические методы (кинетическую и статическую периметрию в пределах 60° поля зрения, спектральную оптическую когерентную томографию сетчатки, аутофлуоресценцию, регистрацию максимальной ганцфельд-электроретинографии и мультифокальной электроретинографии).

Материалом для генетического анализа служила ДНК, выделенная из клеток периферической крови пациентов и их родственников. Забор крови производился из локтевой вены в вакуумные пробирки для клинических исследований цельной крови с ЭДТА. Выделение ДНК проводили стандартным методом фенол-хлороформной экстракции. Высокопроизводительное параллельное секвенирование кодирующих (экзонных) последовательностей и прилежащих участков интронов генов *ABCA4*, *ELOVL4*, *PROM1*, *CNGB3* проводили на приборе Ion Torrent PGM (Life Technologies, США). Для обогащения образцов ДНК фрагментами целевых участков генома методом AmpliSeq разработали два пула праймеров (в общей сложности 294 пары), обеспечивающих полное покрытие экзонов *ABCA4*, *ELOVL4*, *PROM1* и *CNGB3* и 99%-е покрытие прилежащих интронных последовательностей протяженностью не менее 100 п.н. В состав разработанной панели включили 33 пары праймеров для секвенирования известных на сегодняшний день минорных экзонов *ABCA4* [1].

Результаты секвенирования анализировали с использованием программного обеспечения Torrent Suite в составе: Base Caller (первичный анализ результатов секвенирования), Torrent Mapping Alignment Program – TMAP (выравнивание последовательностей относительно референсного генома NCBI build 37 – hg19), Variant Caller (выявление вариаций нуклеотидных последовательностей). Аннотацию функционального значения генетических вариаций и фильтрацию известных полиморфизмов проводили с помощью компьютерной программы ANNOVAR [16]. Визуальный анализ данных, ручную фильтрацию артефактов секвенирования и выравнивание последовательностей осуществляли с применением программы Integrative Genomic Viewer – IGV [12]. Достоверность выявления мутаций валидирована секвенированием ДНК по Сэнгеру. Секвенирова-

ние по Сэнгеру использовали также для анализа сегрегации генетических вариантов в семьях, в том числе для определения *цис/транс*-положения мутаций p.L541P и p.A1038V, зачастую располагающихся на одном аллеле и составляющих в таком случае гаплотип или комплексную мутацию.

Статистический анализ результатов проводили с использованием непараметрических статистик (критерий Краскела – Уоллиса, гамма-корреляция).

РЕЗУЛЬТАТЫ

По результатам высокопроизводительного параллельного секвенирования генов *ABCA4*, *ELOVL4*, *PROM1* и *CNGB3* мутации в одном из них обнаружены у 46 из 56 больных (82,1 %). Мутации в гене *ABCA4* выявлены в 71,4 % случаев (40 пациентов), из них полное молекулярно-генетическое подтверждение клинического диагноза БШ (две мутации) получено в 82,5 % (33 пациента), один патогенный аллель гена *ABCA4* обнаружен у семи больных (17,5 %). Мутации в гене *PROM1* выявлены у четырех пациентов (7,1 %), в гене *CNGB3* – у двух (3,6 %), у 10 пациентов (17,8 %) мутации не обнаружены. В настоящем исследовании выявлено семь ранее не описанных мутаций в гене *ABCA4*, в том числе две миссенс-мутации (p.P1088T и p.G1977C), одна нонсенс-мутация (p.L737X), одна инсерция нуклеотида со сдвигом рамки считывания (p.L1902fs) и три мутации сайтов сплайсинга (с.570+2T>C, с.4540–1G>A и с.4634+1G>–). Все мутации, выявленные в гене *PROM1*, за исключением p.R373C, описаны нами впервые. Все мутации, обнаруженные нами в гене *CNGB3*, ранее были описаны в литературе и в базах данных мутаций.

Средний возраст начала заболевания составил $18,5 \pm 12,5$ (от 6 лет до 61 года). В 37,5 % случаев (21 человек) отмечено раннее начало (менее 10 лет), в 42,9 % (24 человека) – более позднее (11–30 лет) и в 19,6 % (11 человек) – позднее начало (более 31 года). Острота зрения, дли-

тельность заболевания, потеря остроты зрения в год, а также показатели средней световой чувствительности (MS) и среднего дефекта световой чувствительности (MD) в зависимости от дебюта наследственного заболевания сетчатки (НЗС) представлены в табл. 1. Пациенты с более поздним началом заболевания отличались по его длительности от первых двух групп, однако по остальным показателям различия не были выявлены. Установлена обратная корреляция между длительностью заболевания и потерей остроты зрения в год для всех трех групп (соответственно $k = -0,86$, $k = -0,93$, $k = -0,63$, $p < 0,05$). Корреляция остроты зрения и потери зрения в год с дебютом НЗС была отмечена только для группы пациентов с поздним развитием заболевания ($k = 0,43$, $k = -0,56$, $p < 0,05$), что свидетельствует о более высокой остроте зрения при более позднем начале заболевания.

В нашей выборке пациентов отмечено разнообразие мутаций гена *ABCA4*, которые приводят к всевозможным фенотипическим проявлениям. Выявлены 35 различных мутаций (миссенс, нонсенс, сплайсинга, делеции со сдвигом рамки считывания) в гене *ABCA4*, из них наиболее частыми, действительно распространенными в выборке российских больных с БШ, являются три – p.L541P, p.A1038V и p.G1961E (31 человек) (табл. 2) [2]. Наиболее часто встречающаяся мутация гена *ABCA4* p.G1961E обнаружена у 18 пациентов и в 83 % случаев (15 человек) ассоциирована с легким течением БШ, даже при наличии второй тяжелой мутации, приводящей к значительным нарушениям или к полной утрате функции белка. Однако в редких случаях (три человека) выявлен более тяжелый фенотип при мутации p.G1961E, что, вероятно, обусловлено другими генетическими факторами.

Концепция «мягких», «умеренных» и «тяжелых» мутаций (mild/moderate/severe mutations) предложена группой Ф. Кремерса [15] вскоре после того, как был картирован ген *ABCA4* и доказана роль его повреждений в этиологии некоторых

Таблица 1

Характеристика НЗС в зависимости от дебюта заболевания

Начало НЗС	Длительность	Острота зрения	Потеря остроты зрения в год	MS	MD
Менее 10 лет	$28,38 \pm 14,94$	$0,11 \pm 0,11$	$0,04 \pm 0,02$	$13,04 \pm 8,26$	$18,07 \pm 8,70$
11–30 лет	$24,47 \pm 12,79^*$	$0,14 \pm 0,09$	$0,04 \pm 0,02$	$15,84 \pm 8,64$	$14,61 \pm 8,12$
Более 31 года	$15,50 \pm 6,37^\#$	$0,24 \pm 0,31$	$0,05 \pm 0,03$	$10,60 \pm 8,20$	$17,95 \pm 8,95$

Примечание. Расчет остроты зрения, потери остроты зрения в год, MS и MD осуществляли для пациентов с длительностью заболевания от 9 лет и более; обозначены статистически значимые отличия ($p < 0,05$) от величин соответствующих показателей: * – пациентов с дебютом НЗС в возрасте менее 10 лет, # – в возрасте 11–30 лет.

Таблица 2

Частота встречаемости мутаций *ABCA4*, *PROM1*, *CNGB3* у пациентов с генетически верифицированной БШ

Ген	Мутация		Количество пациентов	Начало НЗС, лет
<i>ABCA4</i>	p.G1961E	p.A1038V/ p.L541P	6	10–21
	p.G1961E	p.R1640W	1	43
		p.N1805D	1	33
		p.P1380L	1	32
		c.4540-1G>A	1	9
		p.V256V	1	18
		p.L1902fs	1	11
		p.P1088T	1	37
		p.L541P	1	18
		p.V1973X	1	15
		p.R1640Q	1	43
		–	2	16; 35
	p.A1038V/ p.L541P	p.R212C	1	7
		p.S404X	1	8
		c.4634+1G>-	2	6
		c.4540-2A>G	1	7
		p.G1977C	1	7
		p.C1490Y	1	8
		p.G863A	1	18
	–	3	13–23	
	p.Q625X	p.G863A; p.R943Q	1	25
	p.L541P	p.Q635K	1	7
		c.5461-10T>C	1	7
	p.L1126H	p.Q876X	2	7;15
	p.L737X	p.P62L	1	15
	c.5714+5C>T	p.L1902fs	1	10
p.G2074V	–	2	41; 46	
p.Y603H	c.5196+1137C>T	1	21	
c.570+2T>C	p.Q635K	1	7	
<i>PROM1</i>	p.Q372X	p.Q372X	1	6
	p.R373C	–	1	25
	p.Y634X	–	1	17
	c.1301+2T>C	p.R202X	1	8
<i>CNGB3</i>	p.V770F	p.A807G	1	17
	p.T383fs	p.P273fs	1	7
Мутации не выявлены		10		
Всего		56		

наследственных форм дистрофии сетчатки, для объяснения клинического полиморфизма *ABCA4*-ассоциированных заболеваний. Ф. Кремерс с коллегами заложили основу модели клинико-генетических корреляций для больных с мутациями *ABCA4*, которая неоднократно, в том числе и в настоящей работе, доказывала свою справедливость для значительной доли пациентов. Использование такой классификации мутаций для

этой группы заболеваний является в настоящее время общепринятым [5, 13] и позволяет унифицировать профессиональный язык генетиков и офтальмологов, изучающих вопросы клинико-генетических корреляций в контексте *ABCA4*-ассоциированных заболеваний.

Мутации p.L541P, p.A1038V выявлены у 20 пациентов, у 17 (85 %) из которых они составляют гаплотип, т.е. представляют собой единую,

комплексную, мутацию, которая в 53 % случаев (9 человек) определяет тяжелое течение. Однако в компаунд-гетерозиготном состоянии с миссенс-мутацией p.G1961E обнаружено относительно легкое течение БШ. Необходимо отметить, что выявление у пробанда одной мутации в гене *ABCA4* не исключает рецессивную сегрегацию БШ в связи с возможным наличием трудной в детекции второй патогенной мутации, находящейся в регуляторной нуклеотидной последовательности, или протяженной делеции/дупликации. В таких случаях всегда стоит вопрос о проведении корректного медико-генетического консультирования.

У пациентов с мутациями в генах *PROM1* и *CNGB3* отмечены фенотипические проявления различной тяжести: у двух больных с двумя мутациями в гене *PROM1* и у одного человека с двумя мутациями со сдвигом рамки считывания в *CNGB3* фенотип ассоциирован с тяжелой формой заболевания, типичной для палочко-колбочковой дистрофии (ПКД); у двух пациентов с одной выявленной мутацией в гене *PROM1* и одного больного с миссенс-мутациями в *CNGB3* – более легкий фенотип.

ОБСУЖДЕНИЕ

Помимо классической клинической картины с дебютом заболевания в первые два десятилетия жизни, в некоторых случаях БШ может дебютировать и у пациентов более старшего возраста, в редких случаях после 50 лет [17]. Как показало данное исследование, позднее начало заболевания БШ отмечено у 19,6 % пациентов. Однако тяжесть заболевания в нашей выборке практически не зависит от возраста дебюта заболеваемости, что согласуется с отдельными клиническими примерами: более легкие формы течения БШ при достаточно раннем начале и быстро прогрессирующее течение НЗС с выраженными морфофункциональными изменениями при позднем развитии заболевания. В то же время получена обратная корреляция тяжести проявлений БШ с длительностью заболевания для всех трех групп, свидетельствующая о прогрессировании дистрофии сетчатки в большинстве случаев.

Известно, что тяжесть фенотипа зависит от тяжести мутации. В данном исследовании ранний дебют заболевания (менее 10 лет) отмечен в большинстве случаев при двух тяжелых мутациях гена *ABCA4* (p.A1038V/p.L541P в гетерозиготном состоянии с p.S404X, p.R212C, c.4634+1G>-, p.G1977C, p.C1490Y, c.4540-2A>G; p.L541P в сочетании с p.Q635K, c.5461-10T>C; c.570+2T>C в гетерозиготном состоянии с p.Q635K). В таких

случаях изначальная БШ может прогрессировать с течением времени в тяжелую распространенную дегенерацию, диагностируемую как ПКД [6, 9, 18]. Более позднее начало заболевания отмечено при мягких/умеренных мутациях и ассоциировано в большинстве случаев с локальными поражениями сетчатки [4,7]. Поздний дебют, по данным нашего исследования, был замечен преимущественно у пациентов с мутацией p.G1961E. С одной стороны, позднее начало заболевания можно оценивать как благоприятный показатель, однако при тяжелых мутациях в некоторых случаях с течением времени зрительные функции при позднем начале снижаются также быстро, как и при раннем дебюте заболевания.

Различные мутации в гене *PROM1* и их сочетание в зависимости от тяжести мутантного аллеля обуславливают разнообразие фенотипических проявлений НЗС от легкой формы БШ до ПКД и пигментной абийотрофии. Миссенс-мутация p.R373C (выявлена у одного пациента) – единственная известная миссенс-мутация в гене *PROM1*, ассоциированная с аутосомно-доминантной макулопатией или «Штаргардтоподобным заболеванием» [10]. Нонсенс-мутации сайта сплайсинга и мутации со сдвигом рамки считывания в гене *PROM1* обычно ассоциируются с аутосомно-рецессивной пигментной абийотрофии и тяжелой формой ПКД [11]. В целом молекулярная патология гена *PROM1* при НЗС изучена недостаточно, количество научных работ по их мутационному профилированию на фоне «мажорного» гена *ABCA4* незначительно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Потеря зрительных функций при болезни Штаргардта зависит от тяжести генетического дефекта в каждом конкретном случае и от длительности заболевания в общем по выборке.

Работа выполнена в рамках государственного задания на выполнение НИР в 2018 г.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Карандашева К.О., Жоржолодзе Н.В., Шеремет Н.Л., Кузнецова Е.Б., Танас А.С., Аношкин К.И., Залтаев Д.В., Стрельников В.В. Мутации криптогенных сайтов сплайсинга в некодирующих областях гена *ABCA4* при болезни Штаргардта // Мед. генетика. 2016. 15. (6). 31–36.
2. Шеремет Н.Л., Жоржолодзе Н.В., Ронзина И.А., Грушкэ И.Г., Курбатов С.А., Чухрова А.Л., Логинова А.Н., Щербакова П.О., Танас А.С., Поляков А.В., Стрельников В.В. Молекулярно-генетическая диагностика болезни Штаргардта // Вестн. офтальмологии. 2017. 133. (4). 4–11.

3. Шеремет Н.Л., Ронзина И.А., Жоржолодзе Н.В., Стрельников В.В. Взаимосвязь структурных и функциональных изменений сетчатки при болезни Штаргардта // Вестн. офтальмологии. 2016. 132. (3). 42–48.
4. Battu R., Verma A., Hariharan R., Krishna S., Kiran R., Jacob J., Ganapathy A., Ramprasad V.L., Kumaramanickavel G., Jeyabalan N., Ghosh A. Identification of novel mutations in *ABCA4* gene: Clinical and genetic analysis of Indian patients with Stargardt disease // Biomed. Res. Int. 2015. 2015. 940864.
5. Cornelis S.S., Bax N.M., Zernant J., Allikmets R., Fritsche L.G., den Dunnen J.T., Ajmal M., Hoyng C.B., Cremers F.P. In silico functional meta-analysis of 5,962 *ABCA4* variants in 3,928 retinal dystrophy cases // Hum. Mutat. 2017. 38. (4). 400–408.
6. Fakin A., Robson A.G., Fujinami K., Moore A.T., Michaelides M., Pei-Wen Chiang J., Holder G., Webster A.R. Phenotype and progression of retinal degeneration associated with nullizigosity of *ABCA4* // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2016. 57. (11). 4668–4678.
7. Gemenetzi M., Lotery A.J. Phenotype/genotype correlation in a case series of Stargardt's patients identifies novel mutations in the *ABCA4* gene // Eye (Lond). 2013. 27. (11). 1316–1369.
8. Imani S., Cheng J., Shasaltaneh M.D., Wei C., Yang L., Fu S., Zou H., Khan M.A., Zhang X., Chen H., Zhang D., Duan C., Lv H., Li Y., Chen R., Fu J. Genetic identification and molecular modeling characterization reveal a novel *PROM1* mutation in Stargardt4-like macular dystrophy // Oncotarget. 2018. 9. (1). 122–141.
9. Maia-Lopes S., Aguirre-Lamban J., Castelo-Branco M., Riveiro-Alvarez R., Ayuso C., Silva E.D. *ABCA4* mutations in Portuguese Stargardt patients: identification of new mutations and their phenotypic analysis // Mol. Vis. 2009. 15. 584–591.
10. Michaelides M., Gaillard M.C., Escher P., Tiab L., Bedell M., Borruat F.X., Barthelmes D., Carmona R., Zhang K., White E., Mc. Clements M., Robson A.G., Holder G.E., Bradshaw K., Hunt D.M., Webster A.R., Moore A.T., Schorderet D.F., Munier F.L. The *PROM1* mutation p.R373C causes an autosomal dominant bull's eye maculopathy associated with rod, rod-cone, and macular dystrophy // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2010. 51. (9). 4771–4780.
11. Permanyer J., Navarro R., Friedman J., Pomares E., Castro-Navarro J., Marfany G., Swaroop A., González-Duarte R. Autosomal recessive retinitis pigmentosa with early macular affection caused by premature truncation in *PROM1* // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2010. 51. (5). 2656–2663.
12. Robinson J.T., Thorvaldsdóttir H., Winckler W., Guttman M., Lander E.S., Getz G., Mesirov J.P. Integrative genomics viewer // Nat. Biotechnol. 2011. 29. (1). 24–26.
13. Sangermano R., Khan M., Cornelis S.S., Richelle V., Albert S., Garanto A., Elmelik D., Qamar R., Lugtenberg D., van den Born L.I., Collin R.W.J., Cremers F.P.M. *ABCA4* midgenes reveal the full splice spectrum of all reported noncanonical splice site variants in Stargardt disease // Genome Res. 2018. 28. (1). 100–110.
14. Tanna P., Strauss R.W., Fujinami K., Michaelides M. Stargardt disease: clinical features, molecular genetics, animal models and therapeutic options // Br. J. Ophthalmol. 2017. 101. (1). 25–30.
15. Van Driel M.A., Maugeri A., Klevering B.J., Hoyng C.B., Cremers F.P. ABCR unites what ophthalmologists divide(s) // Ophthalmic. Genet. 1998. 19. (3). 117–122.
16. Wang K., Li M., Hakonarson H. ANNOVAR: functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data // Nucleic Acids Res. 2010. 38. (16). e164.
17. Westeneng-van Haften S.C., Boon C.J., Cremers F.P., Hoefsloot L.H., den Hollander A.I., Hoyng C.B. Clinical and genetic characteristics of late-onset Stargardt's disease // Ophthalmology. 2012. 119. (6). 1199–1210.
18. Xi Q., Li L., Traboulsi E.I., Wang Q.K. Novel *ABCA4* compound heterozygous mutations cause severe progressive autosomal recessive cone-rod dystrophy presenting as Stargardt disease // Mol. Vis. 2009. 15. 638–645.

SPECTRUM OF MOLECULAR GENETIC ALTERATIONS AND DIVERSITY OF CLINICAL FORMS OF STARGARDT DISEASE

Nataliya Leonidovna SHEREMET¹, Irina Grigoryevna GRUSHKE¹,
Nino Vladimirovna ZHORZHOLADZE¹, Irina Adolfovna RONZINA¹,
Azniv Ashotovna MIKAELIAN¹, Sergey Aleksandrovich KURBATOV²,
Vitaliy Viktorovich KADYSHEV³, Kirill Igorevich ANOSHKIN³,
Vladimir Viktorovich STRELNIKOV³

¹ Scientific Research Institute of Eye Diseases
119021, Moscow, Rossolimo str., 11, bldg. A, B

² Voronezh Regional Medical Diagnostic Centre
394018, Voronezh, Lenin av., 5a

³ Research Centre for Medical Genetics
115522, Moscow, Moskvorech'e str., 1

Purpose of the study was to assess the spectrum of molecular genetic disorders and the variety of clinical forms in patients with Stargardt disease. **Material and methods.** 56 patients aged 15–44 years who had been diagnosed with Stargardt disease in a history or at the time of the examination were included in the study. All patients underwent standard complete ophthalmic examination, as well as high-performance parallel sequencing of the coding sequences and adjacent areas of the introns of the *ABCA4*, *ELOVL4*, *PROM1* and *CNGB3* genes, as well as of the minor exons of the *ABCA4* gene. **Results.** Mutations in one of 4 genes (*ABCA4*, *ELOVL4*, *PROM1* and *CNGB3*) were detected in 46 of 56 patients (82.1 %). An inverse correlation was found between the duration of the disease and the loss of visual acuity per year for the three groups ($k = -0.86$, $k = -0.93$, $k = -0.63$, $p < 0.05$, respectively, with the debut of the Stargardt disease at 10 year, 11–30 year and > 31 year). A frequent mutation of the *ABCA4* gene, p.G1961E was detected in 18 patients and in 83 % of cases (15 patients) is associated with a mild course of Stargardt disease. Complex mutation [p.L541P, p.A1038V] was detected in 17 patients, in 53 % (9 people) of cases was associated with more severe phenotype. However, in the compound heterozygous state with the missense mutation p.G1961E, a relatively mild course of the disease was observed. **Conclusions.** The loss of visual functions in Stargardt disease depends on the severity of the genetic defect in each case and on the disease's duration in general.

Key words: Stargardt disease, cone-rod dystrophy, mutation, high-performance parallel sequencing, *ABCA4*, *ELOVL4*, *PROM1*, *CNGB3*.

Sheremet N.L. – doctor of medical sciences, leading researcher of department of clinical research in ophthalmology, e-mail: sheremet_n@mail.ru

Grushke I.G. – postgraduate student, e-mail: irina.grusca@mail.ru

Zhorzholadze N.V. – candidate of medical sciences, junior researcher, e-mail: nino1998@mail.ru

Ronzina I.A. – candidate of medical sciences, researcher of department of clinical research in ophthalmology, e-mail: ronzinirina@yandex.ru

Mikaelyan A.A. – postgraduate student, e-mail: asia-07@mail.ru

Kurbatov S.A. – neurogeneticist, e-mail: kurbatov80@list.ru

Kadyshev V.V. – senior researcher of laboratory for genetic epidemiology, e-mail: Vvh.kad@gmail.com

Anoshkin K.I. – researcher of epigenetics laboratory, e-mail: Anoshkin@epigenetic.ru

Strelnikov V.V. – doctor of biological sciences, professor, head of the epigenetics laboratory, e-mail: vstrel@list.ru