

ASSOCIATION OF ABCA4 GENE VARIANTS IN PATIENTS WITH AUTOSOMAL RECESSIVE CONE-ROD DYSTROPHY AND RETINITIS PIGMENTOSA COHORTS FROM SOUTH INDIA

K.R. RAJENDRAN^{1,4}, P. CHERMAKANI^{1,4},
R. ANJANAMURTHY², C.F. RENCILIN³,
P. SUNDARESAN^{1,4*}

¹ Department of Genetics, Aravind Medical Research Foundation-Madurai, Tamil Nadu, India

² Paediatric Ophthalmology & Adult Strabismus Services, Aravind Eye Hospital-Madurai, Tamil Nadu, India

³ Department of Biotechnology, Kalasalingam Academy of Research and Education, Krishnankoil, Tamil Nadu, India

⁴ Department of Molecular Biology, Aravind Medical Research Foundation – Affiliated to Alagappa University, Karaikudi, Tamil Nadu, India

E-mail: sundar@aravind.org

The purpose of this study is to determine the genetic association and compare the distribution of ABCA4 gene variants in patients with various inherited retinal dystrophies, including autosomal recessive cone-rod dystrophy (AR-CRD) autosomal recessive retinitis pigmentosa (AR-RP) in the South Indian cohorts. This study included nineteen probands, ophthalmic examination of all the probands were carefully evaluated by the Paediatric Ophthalmologist. Eleven of the nineteen probands had the clinical phenotype of AR-CRD, eight showed AR-RP-like clinical phenotype. Genomic DNA was extracted from their peripheral blood, the exon and intronic boundaries of the ABCA4 gene were screened using the Sanger sequencing to identify the genetic association of these two retinal dystrophies. Sanger sequencing results revealed that only 18 % (2/11) of AR-CRD probands had disease-causing ABCA4 mutations, while the remaining 9 AR-CRD, 8 AR-RP were negative for the pathogenic variant associated with ABCA4. Furthermore, this study identified 18 common SNPs of the ABCA4 (2 missense, 3 synonymous, 13 intronic variants) and found them associated with AR-CRD and AR-RP probands. This is the first study to show that two missense variants in the ABCA4 (c.302T>C, c.1319A>G) are associated with AR-CRD probands and two rare NNCS variants (c.3191-10G>T, c.3814-5G>A) associated with AR-RP patients from the South Indian population.

© ІНСТИТУТ КЛІТИННОЇ БІОЛОГІЇ ТА ГЕНЕТИЧНОЇ ІНЖЕНЕРІЇ НАН УКРАЇНИ, 2023

Key words: ABCA4, AR-CRD, AR-RP, Intronic variants, Alamut visual (v.1.1, Biointeractive Software, France), South Indian cohort.

ЗВ'ЯЗОК МІЖ ВАРІАНТАМИ ГЕНУ ABCA4 У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ПІВДЕННОЇ ІНДІЇ З АУТОСОМНО-РЕЦЕСИВНОЮ ДИСТРОФІЄЮ КОЛБОЧОК І ПАЛИЧОК І ПІГМЕНТНОЮ ДИСТРОФІЄЮ СІТКІВКИ

Мета цього дослідження полягала у визначенні генетичного зв'язку та порівнянні розповсюдження варіантів гену ABCA4 серед пацієнтів із різними спадковими дистрофіями сітківки, зокрема аутосомно-рецесивною дистрофією колбочок і паличок (AR-CRD) та аутосомно-рецесивною пігментною дистрофією сітківки у когортах із південної Індії. У цьому дослідженні було використано дев'ятнадцять пробандів, офтальмологічний огляд усіх пробандів був ретельно оцінений дитячим офтальмологом. Одинадцять із дев'ятнадцяти пробандів мали клінічний фенотип AR-CRD, вісім показали AR-RP-подібний клінічний фенотип. Геному ДНК вилучали з їхньої периферичної крові, екзонно-інтронні кордони гену ABCA4 перевіряли за допомогою секвенування по Сенгеру для встановлення генетичного зв'язку між цими двома ретинальними дистрофіями. Результати секвенування по Сенгеру продемонстрували, що лише 18 % (2/11) з пробандів AR-CRD мали хвороботворні мутації ABCA4, а інші 9 AR-CRD, 8 AR-RP мали негативний результат стосовно патогенного варіанту, пов'язаного з ABCA4. Більше того, у дослідженні було визначено 18 звичайних одонуклеотидних поліморфізмів (SNP) ABCA4 (2 міссенси, 3 синонімічні, 13 інтронних варіантів) і виявлено їхній зв'язок з пробандами AR-CRD та AR-RP. Це перше дослідження, яке продемонструвало, що два міссенсні варіанти в ABCA4 (с.302T>C, с.1319A>G) пов'язані з пробандами AR-CRD і два рідкісні варіанти NNCS (с.3191-10G>T, с.3814-5G>A) пов'язані з AR-RP пацієнтами з південної Індії.

Ключові слова: ABCA4, AR-CRD, AR-RP, інтронні варіанти, Alamut visual (v.1.1, Biointeractive Software, France), південноіндійська когорта.

REFERENCES

- Abramowicz A, Gos M (2018) Splicing mutations in human genetic disorders: examples, detection, and confirmation, J Appl Genet 59(3):253–268. <https://doi.org/10.1007/s13353-018-0444-7>.
- Aguirre-Lamban J, González-Aguilera JJ, Riveiro-Alvarez R, Cantalapiedra D, Avila-Fernandez A, Villaverde-Montero C, Corton M, Blanco-Kelly F, Garcia-Sandoval B, Ayuso C (2011) Further associations

- between mutations and polymorphisms in the ABCA4 gene: clinical implication of allelic variants and their role as protector/risk factors. *Invest Ophthalmol Visual Sci* 52(9):6206–6212. <https://doi.org/10.1167/iovs.10-5743>.
- Aguirre-Lamban J, González-Aguilera JJ, Riveiro-Alvarez R, Cantalapiedra D, Avila-Fernandez A, Villaverde-Montero C, Corton M, Blanco-Kelly F, Garcia-Sandoval B, Ayuso C (2011) Further associations between mutations and polymorphisms in the ABCA4 gene: clinical implication of allelic variants and their role as protector/risk factors. *Invest Ophthalmol Visual Sci* 52(9):6206–6212. <https://doi.org/10.1167/iovs.10-5743>.
- Battu R, Verma A, Hariharan R, Krishna S, Kiran R, Jacob J, Ganapathy A, Ramprasad VL, Kumaramanickavel G, Jeyabalan N, Ghosh A (2015) Identification of novel mutations in ABCA4 gene: clinical and genetic analysis of Indian patients with Stargardt disease. *Biomed Res Inter* 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/940864>.
- Bauwens M, Garanto A, Sangermano R, Naessens S, Weisschuh N, De Zaeytijd J, Khan M, Sadler F, Balikova I, Van Cauwenbergh C, Rosseel T (2019) ABCA4-associated disease as a model for missing heritability in autosomal recessive disorders: novel noncoding splice, cis-regulatory, structural, and recurrent hypomorphic variants. *Genet Med* 21(8):1761–1771. <https://doi.org/10.1038/s41436-018-0420-y>.
- Chen R, Davydov EV, Sirota M, Butte AJ (2010) Non-synonymous and synonymous coding SNPs show similar likelihood and effect size of human disease association. *Plos One* 5(10):e13574. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013574>.
- Cornelis SS, Bax NM, Zernant J, Allikmets R, Fritsche LG, den Dunnen JT, Ajmal M, Hoyng CB, Cremers FP (2017) *In silico* functional meta-analysis of 5,962 ABCA4 variants in 3,928 retinal dystrophy cases. *Human Mutation* 38(4):400–408. <https://doi.org/10.1002/humu.23165>.
- Duncan Jacque L et al (2018) Inherited Retinal Degenerations: Current Landscape and Knowledge Gaps. *Translat Vision Sci Technol* 7(4):6–6. <https://doi.org/10.1167/tvst.7.4.6>.
- Fadaie Z, Khan M, Del Pozo-Valero M, Cornelis SS, Ayuso C, Cremers FP, Roosing S (2019) ABCA4 Study Group., Identification of splice defects due to noncanonical splice site or deep-intronic variants in ABCA4. *Hum Mutat* 40(12):2365–2376. <https://doi.org/10.1002/humu.23890>.
- Frappier V, Chartier M, Najmanovich RJ (2015) ENCoM server: exploring protein conformational space and the effect of mutations on protein function and stability. *Nucl Acid Res* 43(W1):W395–W400. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv343>.
- 10 Gill JS, Georgiou M, Kalitzeos A, Moore AT, Michaelides M (2019) Progressive cone and cone-rod dystrophies: clinical features, molecular genetics and prospects for therapy. *British J Ophthalmol* 103(5):711–720. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2018-313278>.
- Hanany M, Rivolta C, Sharon D (2022) Worldwide carrier frequency and genetic prevalence of autosomal recessive inherited retinal diseases. *Proc Natl Acad Sci USA* 117(5):2710–2716. <https://doi.org/10.1073/pnas.1913179117>.
- Hu Fang-Yuan et al (2019) ABCA4 gene screening in a Chinese cohort with Stargardt disease: Identification of 37 novel variants. *Front Genet* 10:773. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00773> 2019.
- Jubb HC, Higuero AP, Ochoa-Montaco B, Pitt WR, Ascher DB, Blundell TL (2017) Arpeggio: a web server for calculating and visualising interatomic interactions in protein structures. *J Mol Biol* 429(3):365–371. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2016.12.004>.
- MWer S, Dykes D, Polesky H (1998) A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acid Res* 16(3):1215. <https://doi.org/10.1093/nar/16.3.1215>.
- Nassisi M, Mohand-Sand S, Andrieu C, Antonio A, Condroyer C, Méjécase C, Varin J, Wohlschlegel J, Dhaenens CM, Sahel JA, Zeitz C (2019) Prevalence of ABCA4 deep-intronic variants and related phenotype in an unsolved «one-hit» cohort with Stargardt disease. *Inter J Mol Sci* 20(20):5053. <https://doi.org/10.3390/ijms20205053>.
- Raj RK, Dhoble P, Anjanamurthy R, Chermakani P, Kumar M, Devarajan B, Sundaresan P (2020) Genetic characterization of Stargardt clinical phenotype in South Indian patients using Sanger and targeted sequencing. *Eye Vision* 7(1):1–10. <https://doi.org/10.1186/s40662-019-0168-8>.
- Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, Grody WW, Hegde M, Lyon E, Spector E, Voelkerding K (2015) Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 17(5):405–423. <https://doi.org/10.1038/gim.2015.30>.
- Rodrigues CH, Pires DE, Ascher DB (2018) DynaMut: predicting the impact of mutations on protein conformation, flexibility and stability. *Nucl Acid Res* 46(W1):W350–W355. <https://doi.org/10.1093/nar/gky300>.
- Rozet Jean-Michel et al (1998) Spectrum of ABCR gene mutations in autosomal recessive macular dystrophies. *Europ J Hum Genet* 6(3):291–295. <https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5200221>.
- 20 Schmid F, Glaus E, Barthelmes D, Fliegauf M, Gaspar H, Nürnberg G, Nürnberg P, Omran H,

- Berger W, Neidhardt J (2011) U1 snRNA-mediated gene therapeutic correction of splice defects caused by an exceptionally mild BBS mutation. *Human Mutat* 32(7):815–824. <https://doi.org/10.1002/humu.21509>.
- Singh HP, Jalali S, Narayanan R, Kannabiran C (2009) Genetic analysis of Indian families with autosomal recessive retinitis pigmentosa by homozygosity screening. *Invest Ophthalmol Visual Sci* 50(9):4065–4071. <https://doi.org/10.1167/iovs.09-3479>.
- Valverde D, Riveiro-Alvarez R, Aguirre-Lamban J, Baiget M, Carballo M, Antinolo G, Millán JM, Sandoval BG, Ayuso C (2007) Spectrum of the ABCA4 gene mutations implicated in severe retinopathies in Spanish patients. *Invest Ophthalmol Visual Sci* 48(3):985–990. <https://doi.org/10.1167/iovs.06-0307>.
- Verbakel SK, van Huet RA, Boon CJ, den Hollander AI, Collin RW, Klaver CC, Hoyng CB, Roepman R, Klevering BJ (2018) Non-syndromic retinitis pigmentosa. *Prog Retinal Eye Res* 66:157–186. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2018.03.005>.
- Yang J, Yan R, Roy A, Xu D, Poisson J, Zhang Y (2015) The I-TASSER Suite: protein structure and function prediction. *Nat Meth* 12(1):7–8. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3213>.
- Zernant J, Schubert C, Im KM, Burke T, Brown CM, Fishman GA, Tsang SH, Gouras P, Dean M, Allikmets R (2011) Analysis of the ABCA4 gene by next-generation sequencing. *Invest Ophthalmol Visual Sci* 52(11):8479–8487. <https://doi.org/10.1167/iovs.11-8182>.
- Zhuang Y, Weiner AM (1986) A compensatory base change in U1 snRNA suppresses a 5' splice site mutation. *Cell* 46(6):827–835. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(86\)90064-4](https://doi.org/10.1016/0092-8674(86)90064-4).

Received November 11, 2021

Received April 02, 2022

Accepted May 18, 2023