

Клиническая ценность секвенирования гена *ATP7B* в диагностике болезни Вильсона—Коновалова

Балашова М.С.¹, Соловьева О.В.¹, Фастовец С.В.², Тулузановская И.Г.¹, Филимонов М.И.¹, Баязутдинова Г.М.³, Жученко Н.А.¹, Игнатова Т.М.¹, Асанов А.Ю.¹

¹ — Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова
Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: zimt@list.ru

² — Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»

³ — Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр»

Болезнь Вильсона—Коновалова (БВК) — наследственное аутосомно-рецессивное заболевание, обусловленное избыточным накоплением меди в тканях. Описано более 800 мутаций гена *ATP7B*, ответственного за выведение меди. Представленное клиническое наблюдение описывает пациентку 22 лет с клинической картиной криптогенного гепатита, олигоменореей и отрицательным результатом тестирования на частые мутации гена *ATP7B*. Секвенирование гена *ATP7B* выявило у пациентки наличие двух мутаций: ранее описанной в литературе мутации с.3190G>A (p.Glu1064Lys) и новой мутации с.3655A>T (p.Ile1219Phe). Таким образом, был подтвержден диагноз БВК, и начата медьэлиминирующая терапия с положительным эффектом.

Ключевые слова: болезнь Вильсона—Коновалова, гепатолентикулярная дегенерация, *ATP7B*, медь, церулоплазмин, Д-пеницилламин, секвенирование

Введение

Болезнь Вильсона—Коновалова (БВК) — наследственное аутосомно-рецессивное заболевание, характеризующееся патологическим накоплением меди в печени, головном мозге и других органах. БВК обусловлена мутациями в гене *ATP7B*, в результате чего нарушается функция АТФазы-7В, которая ответственна за выведение меди из организма. Без лечения БВК является фатальным — пациенты погибают в молодом возрасте. Своевременная диагностика и медьэлиминирующая терапия радикально меняют прогноз [1].

Заболевание характеризуется широким клиническим полиморфизмом и большим числом патогенных мутаций. Клинические проявления БВК могут быть неспецифичны и недостаточны для полной уверенности в диагнозе, а такие основные клинические критерии диагностики БВК, как кольцо Кайзера—Флейшера, снижение уровня церулоплазмينا в сыворотке крови, могут отсутствовать. Это делает генетическое тестирование крайне важной составляющей обследования. Для стандартизации диагностики в 2001 г. была принята Лейпцигская количественная шкала диагностики БВК. Суть ее состоит в том, что основным критериям (мутации в гене *ATP7B*, печеночные и неврологические проявления, кольцо Кайзера—Флейшера, уровень церулоплазмينا и экскреции меди с мочой и др.) присвоены баллы, сумма которых определяет «вероятный» или «определенный» диагноз БВК (таблица) [2].

При этом наличию мутаций в обеих копиях гена присваивается максимальное количество баллов, и такого результата генетического исследования достаточно

для установления диагноза БВК даже в отсутствие ведущих клинических признаков [3].

К настоящему моменту описано более 800 различных мутаций в гене *ATP7B*, причем их спектр значительно варьирует в различных популяциях [4]. Известно, что большинство больных являются компаунд-гетерозиготами, а информативность анализа на 8 частых мутаций, включая мажорную His1069Gln, составляет только 45%. Таким образом, более чем для половины пациентов может оказаться актуальным секвенирование гена *ATP7B*.

На базе клиники нефрологии, внутренних и профессиональных болезней им. Е.М. Тареева наблюдается около 200 пациентов с БВК. Данные, полученные при их обследовании, включая результаты молекулярно-генетического тестирования и семейный анамнез, с 2014 г. заносятся в клинико-генетическую базу данных [5]. Одно из клинических наблюдений, демонстрирующих высокую диагностическую ценность секвенирования гена *ATP7B* в ранней диагностике БВК, представлено ниже.

Клиническое наблюдение

Больная Б., 23 года. С 9 летнего возраста отмечается 1,5—2-кратное повышение активности сывороточных трансаминаз, увеличение размеров печени, по данным ультразвукового исследования. В возрасте 18 лет (в 2011 г.) в связи с жалобами на повышенную утомляемость и повышением АСТ до 74 МЕ, АЛТ до 176 МЕ впервые подробно обследована. Исключены вирусная и токсическая этиология заболевания печени, аутоиммунные формы поражения печени. Уровень церулоплазмينا был снижен лишь незначительно (0,11 г/л при норме

Таблица

Лейпцигская количественная шкала диагностики БВК

Признак	Выраженность	Балл
Кольцо Кайзера—Флейшнера	Присутствует	2
	Отсутствует	0
Неврологические проявления	Тяжелые	2
	Легкие	1
	Отсутствуют	0
Концентрация сывороточного церулоплазмينا	Нормальная (более 0,2 г/л или 200 мг/л)	0
	0,1 — 0,2 г/л (или 100-200 мг/л)	1
	Менее 0,1 г/л	2
Кумбс-негативная анемия	Присутствует	1
	Отсутствует	0
Содержание меди в сухом веществе печени	Более 4 мкмоль/г (в 5 раз выше верхней границы нормы)	2
	0,8 — 4 мкмоль/г	1
	Нормальное (менее 0,8 мкмоль/г или 50 мкг/г)	-1
	Наличие роданин-позитивных гранул (при отсутствии возможности количественного определения меди)	1
Экскреция меди с мочой	Норма (менее 0,9 мкмоль/сут. x 1,73 м ² или <57 мкг/сут. x 1,73 м ²)	0
	Менее чем в 2 раза выше верхней границы нормы	1
	Более чем в 2 раза выше верхней границы нормы	2
	Норма, однако более 5N после пробы с Д-пенициллинамина	2
Генетический анализ	Выявлена мутация на хромосоме 1	1
	Выявлены мутации на обеих хромосомах	4
	Мутаций не выявлено	0
Итого:		
4 балла и более — диагноз БВК подтвержден		
3 балла — диагноз БВК вероятен, требуется дальнейшее обследование		
Менее 2 баллов — диагноз БВК маловероятен		

0,2—0,6 г/л), что не позволило установить диагноз БВК. Этиология заболевания оставалась неуточненной. С 20-летнего возраста отмечено нарушение менструального цикла — олигоменорея, сохранялось повышение активности трансаминаз, при эластометрии печени выявлена стадия фиброза F1.

В 2014 году больная впервые консультирована врачом-генетиком, в ходе консультации было рекомендовано генетическое тестирование на БВК. Анализ на 8 частых мутаций в гене *ATP7B* дал отрицательный результат, в связи с чем проведено секвенирование гена *ATP7B*. Были выявлены в гетерозиготной форме мутации:

- с.3190G>A (p.Glu1064Lys) — ранее описана в литературе (располагается в АТФ-связывающем домене белка);

- с.3655A>T (p.Ile1219Phe) — ранее не описана.

Вывод о патогенности последней мутации был сделан с помощью программ «Mutation Taster», «PolyPhen-2» «SIFT+Provean». Таким образом секвенирование гена *ATP7B* установило, что пациентка является компаунд-гетерозиготой.

В январе 2015 г. она была впервые госпитализирована в клинику нефрологии, внутренних и профессиональных болезней им. Е.М. Тареева с жалобами на общую слабость, тремор рук на фоне стрессовых ситуаций, ощущение тяжести в голове. В семейном анамнезе отягощенности по наследственным заболеваниям, патологии печени не выявлено. При обследовании выявлено небольшое увеличение печени, повышение активности АСТ (47 МЕ), АЛТ (82 МЕ) в отсутствие других отклонений в биохимическом анализе крови. Экскреция меди с мочой в пределах нормы — 37,2 мкг/л, суточная экскреция меди в пределах нормы — 44,6 мкг/сут., уровень церулоплазмينا в сыворотке — 0,15 г/л при норме 0,2—0,6 г/л (1 балл по Лейпцигской шкале), при биомикроскопии переднего отрезка глазного яблока в свете щелевой лампы кольца Кайзера—Флейшера не выявлено. При МРТ головного мозга патологии не обнаружено. Диагноз абдоминальной формы БВК (на стадии хронического гепатита) установлен только на основании результатов генетического анализа (4 балла по Лейпцигской шкале) и полного исключения других этиологических форм поражения печени.

Была начата медьэлиминирующая терапии. В связи с неудовлетворительной переносимостью терапевтических доз Д-пенициллина (кожные высыпания, тошнота) проводилась сочетанная терапия низкими дозами Д-пенициллина и сульфатом цинка. В результате лечения отмечено повышение суточной экскреции меди с мочой более чем в 5 раз по сравнению с исходным уровнем (2932,7 мкг/сут.), в течение нескольких месяцев произошла полная и стойкая нормализация активности печеночных трансаминаз, улучшилось самочувствие, восстановился менструальный цикл. Динамика экскреции меди с мочой (2 балла по Лейпцигской шкале) и улучшение состояния больной послужили дополнительным подтверждением диагноза БВК.

В настоящее время лечение продолжается, больная ведет активный образ жизни.

Заключение

Данное наблюдение демонстрирует сложности диагностики БВК на ранних стадиях заболевания, когда еще отсутствуют отложения меди в центральной нервной системе и роговице глаза, а у части больных, как в данном наблюдении, снижение уровня церулоплазмينا незначительно [6]. Трудности диагностики были связаны и с отсутствием частых мутаций гена *ATP7B*. Решающее значение в установлении «определенного» диагноза БВК у пациентки Б. сыграло секвенирование гена. Своевременная диагностика и начатая медьэлиминиру-

ющая терапия позволяют рассчитывать на благоприятный прогноз у данной больной.

Раннее начало и непрерывность лечения при БВК позволяют избежать прогрессирования заболевания, увеличить продолжительность и качество жизни пациентов с БВК, а современные молекулярные методы исследования становятся необходимыми и доступными для применения в клинической практике.

Список литературы

1. Розина Т.П., Игнатова Т.М., Соловьева О.В. Болезнь Вильсона—Коновалова у 3 сестер: радикальное изменение прогноза при своевременной диагностике // Терапевтический архив. — 2014. — №4. — С. 80—84.
2. Асанов А.Ю., Соколов А.А., Волгина С.Я. и др. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению болезни Вильсона—Коновалова (гепатолентикулярная дегенерация). — М., 2013.
3. EASL Clinical Practice Guidelines: Wilson's disease // Journal of Hepatology. — 2012. — Vol. 56.
4. Amanda G., George V.D. Geographic distribution of *ATP7B* mutations in Wilson disease // Annals of Human Biology. — 2016. — Vol. 43, №1. — P. 1—8.
5. Балашова М.С., Соловьева О.В., Жученко Н.А. и др. Создание клинко-генетической базы данных пациентов с болезнью Вильсона—Коновалова // Медицинская генетика. — 2015. — №2 — С. 18.
6. Stephanian A. S., Alexandre R.F., Eleonora D. T. F. et al. Wilson's disease in children and adolescents: diagnosis and treatment // Rev. paul. Pediatr. — 2010. — Vol. 28, №2. — P. 134—140.

The clinical value of *ATP7B* sequencing in the diagnosis of Wilson's disease

Balashova M.S.¹, Solov`eva O.V.¹, Fastovets S.V.², Tulusanovskaya I.G.¹, Filimonov M.I.¹, Bayazutdinova G.M.³, Zhuchenko N.A.¹, Ignatova T.M.¹, Asanov A.Yu.¹

¹ — The State Education Institution of Higher Professional Training The First Sechenov Moscow State Medical University under Ministry of Health of the Russian Federation. 8-2, Trubetskaya street, Moscow, 119992

² — Lomonosov Moscow State University, 1, Leninskie Gory, 119991

³ — Federal State Budgetary Institution «Research Centre of medical Genetics». 1, Moskvorechie street, Moscow, 115478

Wilson disease (WD) is an autosomal recessive copper accumulation disorder. *ATP7B* gene codes a protein which transports copper. Over 800 mutations has been identified in this gene. We present a case of 22 years old woman with clinical picture of cryptogenic hepatitis, oligomenorrhea and negative results of test for 8 frequent mutations. The sequencing of gene *ATP7B* had performed, and two mutations were identified: known mutation c.3190G>A (p.Glu1064Lys) and novel mutation c.3655A>T (p.Ile1219Phe). Therefore, WD diagnosis was confirmed and then copper helation therapy was started with positive effect.

Key words: Wilson's disease, hepatolenticular degeneration, *ATP7B*, copper, ceruloplasmin, D-penicillamine, sequencing