

Делеция экзона 50 гена *COL1A2* у плода второго триместра с несовершенным остеогенезом 2 типа

Новикова И.В., Венчикова Н.А., Соловьева И.В., Гусина А.А.

ГУ Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя»,
Минск, Беларусь, i.novikova@mail.ru

Приведено описание случая несовершенного остеогенеза 2 типа, выявленного у плода 20 недель гестации. Диагноз верифицирован при постабортном патологоанатомическом исследовании. При молекулярно-генетическом исследовании выявлена делеция экзона 50 гена *COL1A2*.

Ключевые слова: несовершенный остеогенез, ген *COL1A2*

Введение

Несовершенный остеогенез (НОГ) или ломкость костей является врожденным пороком костеобразования. Согласно классификации системных заболеваний скелета 2010 года, выделяют пять типов НОГ [1]. НОГ 2 типа (регистрационный номер по каталогу моногенных заболеваний OMIM — 166210) — неонатальная летальная форма болезни, характеризующаяся очень ранними, пренатальными проявлениями в виде множественных внутриутробных переломов ребер и конечностей, внутричерепными кровоизлияниями и нарушением дыхания, что приводит к смерти новорожденных.

При скрининговом ультразвуковом исследовании (УЗИ), которое обычно проводят во втором триместре беременности, у плода выявляются гипоминерализация черепа разной степени, а также укорочение и искривление вследствие множественных переломов всех трубчатых костей и ребер [2].

В 80% случаев возникновение НОГ 2 типа детерминировано новыми доминантными мутациями генов *COL1A1* и *COL1A2*, картированных на хромосомах 17 (17q21.31-q22) и 7 (7q22.1), которые кодируют синтез $\alpha 1(1)$ и $\alpha 2(1)$ цепей коллагена I типа, играющего важную роль в нормальном развитии кожи и костей [3].

Случаи НОГ 2 типа редко являются объектами генетических исследований из-за пренатальной летальности, поэтому вклад определенных мутаций и гено-фенотипические корреляции при этом типе НОГ остаются неизвестными.

В представленном наблюдении приведен случай, выявленный при безвыборочном ультразвуковом обследовании на 21-й неделе беременности, верифицированный при патологоанатомическом исследовании постабортного материала как НОГ 2 В типа, у которого установлена ранее не описанная мутация — делеция экзона 50 гена *COL1A2*.

Материал и методы

Спорадический случай НОГ 2 типа был выявлен при безвыборочном ультразвуковом обследовании беременных, проводимом в г.Минске с 1996 г по настоящее время (июнь 2016 года). УЗИ проводилось в отделении пренатальной диагностики РНПЦ «Мать и дитя» на аппарате Voluson 730 Expert трансабдоминальным (4—8 МГц) и трансвагинальным (4—9 МГц) датчиками с использованием режима 3D реконструкции. В I триместре помимо выявления анатомических дефектов, измеряли толщину воротникового пространства. После прерывания беременности диагноз верифицирован при патоморфологическом исследовании. Молекулярную диагностику наличия крупных делеций-дупликаций гена *COL1A2* выполняли методом мультиплексной амплификации лигированных зондов (MLPA) с применением набора реагентов P272-COL1A2 (MRC-Holland, лот 0509) в соответствии с рекомендациями производителя. В качестве материала для исследования использовали образец ДНК, выделенный из мышечной ткани abortированного плода методом солевой экстракции [4]. Фрагментный анализ MLPA-продуктов выполняли на генетическом анализаторе ABI Prism 3500 (Applied Biosystems). Компьютерную обработку данных проводили относительно трех референсных образцов ДНК, полученных от здоровых лиц, с помощью программного обеспечения Coffalyser v.140721.1958. (MRC-Holland). Для того чтобы выяснить, является ли обнаруженное повреждение гена *COL1A2* новым, был проведен поиск в базе данных о мутациях при НОГ [5].

Результаты

Наблюдение №3255/2016. Беременная М., 26 лет. Настоящая беременность первая. Наследственность не отягощена. УЗИ проводилось дважды в сроке беременности 11 недель 5 дней и 20 недель 2 дня. При измерении шейной прозрачности у плода увеличения отмечено не было:



Рис. 1. Беременность 20 недель 2 дня. Гипоминаерализация костей свода черепа (А), укорочение и искривление плечевой кости (Б) и ангуляция голени (В) у плода с НОГ 2 типа

при первом сканировании (КТР — 50,8 мм) она составляла 1,2 мм. В 20 недель 2 дня гестации отмечалось укорочение всех длинных трубчатых костей. Длина плечевой кости (23 мм) соответствовала 17 неделям, локтевой (22 мм) — 17 неделям 5 дням, лучевой (19 мм) — 16 неделям 5 дням, бедренной, справа (22 мм) — 16 неделям 3 дням, слева (19 мм) — 15 неделям 4 дням, большеберцовой (16,9 мм) — 15 неделям 6 дням, малоберцовой (12,6 мм) — 14 неделям 1 дню. Отмечалось сужение грудной клетки, деформация ребер с обеих сторон, выраженное искривление костей голени. Кости свода черепа были без нарушений оссификации (рис. 1, А—В).

Был заподозрен НОГ, нельзя было исключить кампомелическую дисплазию. После медико-генетического консультирования по решению семьи беременность была прервана во втором триместре.

При наружном осмотре у абортрованного плода женского пола массой 340 г определялось диспропорциональное телосложение: крупная голова (окружность головы — 16,5 см), выраженное укорочение конечностей с искривлением предплечий, бедер, а также ангуляция голени. Грудная клетка была сужена (окружность грудной клетки 14 см). В закладках свода черепа имелись первичные центры оссификации (рис. 2, А).

На рентгенограмме определялась гипоминаерализация закладок свода черепа, деформация длинных трубчатых костей за счет множественных внутриутробных переломов, ангуляция костей голени под прямым углом, тонкие ребра с внутриутробными переломами, характерные для НОГ 2, В типа (рис. 2, Б).

При молекулярно-генетическом исследовании методом MLPA у плода было выявлено уменьшение пика, соответствующего экзону 50 гена *COL1A2* (рис. 3). Ко-

личественное соотношение величин этого пика и контрольных фрагментов составило 0,55, что свидетельствует о наличии гетерозиготной делеции экзона 50 гена *COL1A2*.

Обсуждение

НОГ 2 типа — клинически гетерогенен. В зависимости от клинко-рентгенологических данных в НОГ 2 выделяют три типа: 2 А (отсутствие оссификации свода черепа, гармошкообразные бедра, четкообразные ребра, ангуляция большеберцовой кости), 2 В (минерализация свода черепа приближается к нормальной, гармошкообразные бедра, ангуляция голени, нормальные или слегка четкообразные ребра) и 2 С (гипоминаерализация свода черепа, тонкие короткие длинные кости с переломами, тонкие ребра с переломами или слегка четкообразные) [6]. Патоморфологические и рентгенологические данные в нашем случае соответствовали НОГ 2 В типа.

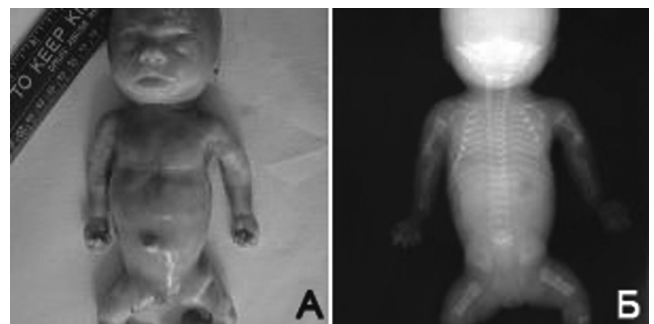


Рис. 2. Внешний вид (А) и рентгенограмма (Б) плода с НОГ 2 типа (описание в тексте)

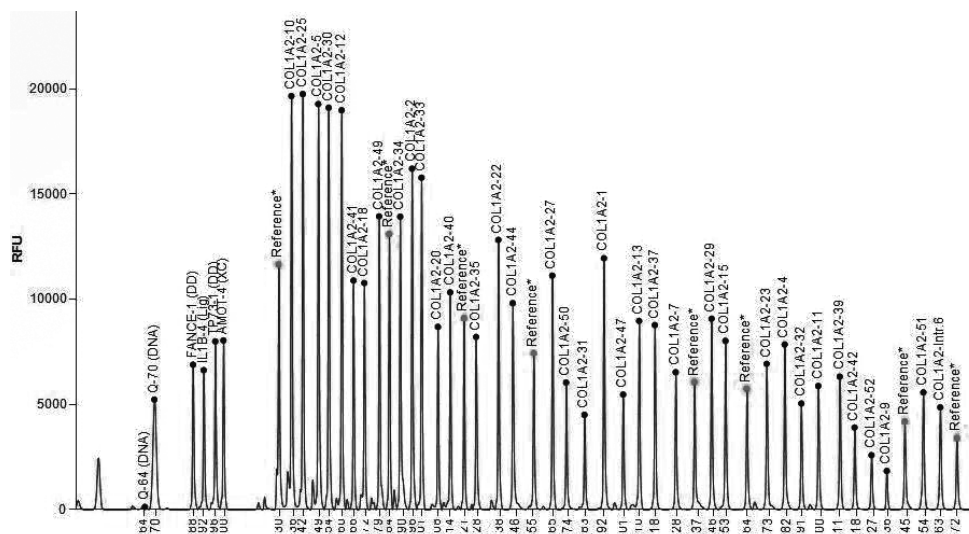


Рис. 3. Результаты MLPA. По оси ординат — относительные единицы флуоресценции, по оси абсцисс — последовательное расположение локусов, включенных в набор.

База данных о мутациях при НОГ и синдроме Элерса—Данло (СЭД) содержит сведения о повреждениях 19 генов, включая *COL1A1*, *COL1A2*, *CRTAP*, *LEPRE1*, *PIIB*, *FKBP10*, *SERPINH1*, дефекты которых являются причиной развития НОГ I—V типов [5]. Большинство мутаций в этих генах описано у живых индивидуумов. У 90% пациентов с НОГ выявляются дефекты генов *COL1A1* и *COL1A2* [3]. Возникновение аутосомно-доминантной перинатальной летальной формы НОГ также связано с мутациями генов *COL1A1* и *COL1A2*.

В настоящее время в базе данных о мутациях в гене *COL1A2* зарегистрированы сведения о 966 мутациях, из которых 566 (58,6%) являются уникальными. Мутации в *COL1A2* преимущественно нелетальные (80%) [7, 8]. Большая часть повреждений гена *COL1A2* — (93,6%) — замены оснований, которые локализованы в кодирующей последовательности (87,6%) и интронах (11,6%) гена. В гене *COL1A2* описаны также 39 (4,0%) делеций, 16 (1,6%) дупликаций, 5 (0,5%) инсерций-делеций. Наибольшее количество мутаций (114, т.е. 11,8%) обнаружено в экзоне 19 гена. В экзоне 50 *COL1A2* выявлены 8 мутаций, из которых 4 являются патогенными и связаны с развитием фенотипа НОГ 1 и 4 типов и СЭД. В базе данных о мутациях в гене *COL1A2* приведена информация о 168 мутациях, наличие которых приводит к возникновению НОГ 2 типа, однако дефекты экзона 50 среди них не отмечены. Среди повреждений гена *COL1A2*, которые проявляются фенотипом НОГ 2 типа, преобладают замены оснований (77,3%), мутации сплайсинга (10,7%), доля делеций также относительно высока — 8,3% (14 случаев). Однако делеции экзонов описаны только в двух случаях: делеция 4,5 т.п.н. между интронами 33—40 гена *COL1A2* [9] и делеция 398 нуклеотидов в интроне 19, что сопровождается удалением из транскрипта экзона 20 [10]. Таким образом, описываемый

случай представляется уникальным, поскольку делеции экзонов являются весьма редкой причиной НОГ 2 типа, а повреждения экзона 50 при этом заболевании ранее описаны не были.

Список литературы

1. Warman ML, Cormier-Daire V, Hall C, et al. Nosology and classification of genetic skeletal disorders: 2010 revision. Am J Med Genet Part A. 2011; 155:943-968.
2. Romero R. Prenatal Diagnosis of Congenital Anomalies: Norwalk, CT Appleton and Lange, 1988.
3. Steiner RD, Adsit J, Basel D. (2013) COL1A1/2-Related Osteogenesis Imperfecta / GeneReviews [Electronic resource] — 2016 — Режим доступа Дата доступа: 18.07.2016
4. Salah MA, Martinez I. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. Nucleic Acids Res. 1997; 25 (22):4692-4693.
5. Osteogenesis imperfecta variant database, collagen, type I, alpha 2 (COL1A2) / Osteogenesis imperfecta & Ehlers-Danlos syndrome variant databases [Electronic resource] — 2016 — Режим доступа <http://www.le.ac.uk/genetics/collagen/> Дата доступа: 18.07.2016
6. Silience DO, Barlow KK, Garber AP, et al. Osteogenesis imperfecta type II delineation of the phenotype with reference to genetic heterogeneity. Am J Med Genet. 1984; 17(2):407-423.
7. Marini JC, Forlino A, Cabral WA, et al. Consortium for osteogenesis imperfecta mutations in the helical domain of type I collagen: regions rich in lethal mutations align with collagen binding sites for integrins and proteoglycans. Hum Mutat. 2007; 28: 209-221.
8. Bodian DL, Chan T-F, Poon A, et al. Mutation and polymorphism spectrum in osteogenesis imperfecta type II: implications for genotype-phenotype relationships. Hum Mol Genet. 2009; 18: 463-471.
9. Willing MC, Cohn DH, Starman B, et al. Heterozygosity for a large deletion in the $\alpha 2(I)$ collagen gene has a dramatic effect on type I collagen secretion and produces perinatal lethal osteogenesis imperfecta. J Biol Chem. 1988; 263 (17):8396-8404.
10. Pollitt R, McMahon R, Nunn J, et al. Mutation analysis of COL1A1 and COL1A2 in patients diagnosed with osteogenesis imperfecta type I-IV. Hum Mutat. 2006; 27 (7):716, doi: 10.1002/humu.9430.

**Identification of a *COL1A2* deletion in exon 50
in a 2nd trimester fetus with osteogenesis imperfecta type 2**

Novikova I.V., Venchikova N.A., Solovyeva I.V., Gusina A.A.

Belorussian State Scientific Practical Center «Mother and child», Minsk, Belarus, i.novikova@mail.ru

A case of osteogenesis imperfecta type 2 in a 20 weeks fetus aborted after prenatal diagnosis is reported. Prenatal diagnosis was verified after termination of pregnancy. Molecular analysis by multiplex ligation-dependent probe amplification revealed a *COL1A2* deletion in exon 50.

Key words: osteogenesis imperfecta type 2, gene *COL1A2*