

Возможности оказания медицинской помощи в современных условиях на примере семьи с наследственной патологией

Лязина Л.В.¹, Бодюль Н.Н.¹, Вохмянина Н.В.¹, Ефимова А.Г.², Серебрякова Е.А.^{3,7,8}, Иващенко Т.Э.³, Глотов О.С.^{3,7,8}, Глотов А.С.^{3,7,8}, Романова О.В.⁷, Куранова М.Л.⁴, Василишина А.А.⁴, Суспицын Е.Н.⁵, Михайлов А.В.⁶, Сарана А.М.^{7,8}, Щербак С.Г.^{7,8}, Баранов В.С.^{3,8}

¹ Санкт-Петербургское государственное казенное учреждение «Диагностический центр (медико-генетический)», mgccons@mail.ru

² Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Детская городская больница №1»

³ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродукции им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург

⁴ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт цитологии Российской академии наук» Санкт-Петербург

⁵ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет»

⁶ Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Родильный дом №17»

⁷ Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Городская больница № 40», Санкт-Петербург

⁸ Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-Петербург

В статье представлен клинический и лабораторный диагностический путь для уточнения диагноза при редкой наследственной патологии у ребенка — синдрома Ноя—Лаксовой. Показаны современные возможности NGS-секвенирования, молекулярно-генетической пренатальной диагностики наследственной патологии и акушерско-гинекологической помощи при следующей беременности в семье.

Ключевые слова: синдром Ноя—Лаксовой, пренатальная диагностика, акушерско-гинекологическая помощь.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Работа (генетическое исследование) была поддержана грантом РНФ (проект No14-50-00069), Санкт-Петербургский государственный университет. Экзомное секвенирование проводилась в Научном Парке СПбГУ.

Modern opportunities of medical care in a family with hereditary disease: a case report

Liazina L.V.¹, Bodioul N.N.¹, Vochkmianina N.V.¹, Efimova A.G.², Serebryakova E.A.^{3,7,8}, Ivashchenko T.E.³, Glotov O.S.^{3,7,8}, Glotov A.S.^{3,7,8}, Romanova O.V.⁷, Kuranova M.L.⁴, Vasilishina A.A.⁴, Suspitsin E.N.⁵, Mikhailov A.V.⁶, Sarana A.M.^{7,8}, Shcherbak S.G.^{7,8}, Baranov V.S.^{3,8}

¹ State Consulting Health Establishment Diagnostic Centre (Medical Genetics), St-Peterburg

² Children's City Clinical Hospital No.1, St-Peterburg

³ FSBSI «The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O.Ott», St-Petersburg

⁴ Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences, St-Petersburg

⁵ St-Petersburg Pediatric Medical University

⁶ Maternity Clinic No.17, St-Peterburg

⁷ City Hospital No.40, St-Petersburg

⁸ St.Petersburg State University, St-Petersburg

The paper gives an example of «dyagnostic Odyssey» of the patient with rare hereditary condition, Neu—Laxova syndrome. This case report emphasizes the role of Next Generation Sequencing in establishing the difficult diagnosis; also it demonstrates modern approaches to prenatal DNA analysis and obstetric care in pregnancy.

Key words: Neu—Laxova syndrome, prenatal diagnosis, obstetric care.

В настоящее время описано более 6000 моногенных заболеваний. С широким внедрением молекулярно-генетических исследований в медицинскую практику диагностируются новые наследственные болезни или описывается клиническая картина с неярко выраженными симптомами при уже известных наследственных синдромах. В таких случаях трудности клинической диагностики связаны с вариабельностью клинической картины,

атипичностью проявления симптомов, и только с использованием современных методов диагностики возможно уточнение диагноза.

На примере семьи с редкой наследственной патологией представлены сложный и длительный путь диагностики наследственной патологии, возможности современной диагностики, эффективность взаимодействия специалистов медицинских служб разного профиля

в оказании помощи семье с уточненным диагнозом наследственного заболевания.

Впервые семья обратилась на консультацию к врачу-генетику в Медико-генетический центр Санкт-Петербурга (СПБ ГКУЗ МГЦ) в феврале 2014 года по прогнозу потомства в связи с наличием расщелины мягкого и частично твердого неба и блуждающей почки справа у матери. Для супружеской пары беременность первая, на момент обращения в МГЦ срок беременности 9/10 недель. Родители молодые, 24 и 25 лет, для обоих брак первый, не родственный. Отец страдает аллергией, у матери — хронический пиелонефрит. У отца консультируемой пациентки также диагностирована блуждающая правая почка. В результате консультации были определены риски по рождению ребёнка с наследственной патологией до 5%, по врождённому пороку развития нёба до 2%, по хромосомной патологии 1/700. При проведении ультразвукового исследования (УЗИ) плода в сроке 11/12 недель в МГЦ врождённых пороков развития и эхографических маркеров хромосомной патологии не выявлено. По результату биохимического скрининга I триместра (значения PAPP-A — 1,37 МЕ/л (0,62 MOM)), HCGb — 29,50 МЕ/л (0,59 MOM), риски по трисомиям 21, 18, 13 — низкие. При повторном проведении УЗИ на сроке 19 недель 3 дней диагностирована задержка внутриутробного развития плода (симметричная форма?) (ЗВУР), по

фетометрическим показателям плод соответствовал 17/18 неделям, размеры мозжечка соответствовали 16 неделям беременности. Была проведена инвазивная пренатальная диагностика; кариотип клеток плаценты 46,XY. При контрольном УЗИ в сроке 22/23 нед. сохранялось отставание в развитии плода на 2 недели.

Повторная консультация семьи врачом-генетиком МГЦ состоялась в октябре 2014 года по приглашению врача Детской городской больницы №1 Санкт-Петербурга на 26 день жизни ребенка. Из особенностей анамнеза: во время беременности развился сахарный диабет беременных, безводный период 22ч. 50 мин., роды на 38/39 неделе. При рождении длина тела 43 см., масса тела 1 920 г, окружности головы 28 см, груди — 28 см. Отмечалась гемолитическая болезнь новорожденных. Выявлена врожденная катаракта. На серии МР-томограмм головного мозга определялась мальформация головного мозга: микрогирия, лиссэнцефалия, агирия, аплазия мозолистого тела; наружная гидроцефалия в структуре вторичных атрофических изменений головного мозга. При осмотре обращали на себя внимание: задержка физического развития, микроцефалия, крупный прямой нос, микрогения, высокое небо, диспластичные ушные раковины, короткая шея, длинные пальцы кистей, ограничение разгибания в локтевых суставах, стопа-качалка. Фенотип ребёнка представлен на рис. 1, 2. Пациент получал противосудорожную терапию. Был поставлен предварительный диагноз: *Микроцефалия в структуре наследственного синдрома. Синдром Секкеля?* Родители были информированы о возможном высоком риске для сибсов — 25%.

Синдром Секкеля характеризуется ЗВУР, микроцефалией, большим клювовидным носом, микрогенией; описаны аномалии головного мозга [1, 2]. Данная патология имеет аутосомно-рецессивный тип наследования. Для исключения синдрома Секкеля типа I сотрудника лаборатории радиационной цитологии ФГБУН Института цитологии Российской академии наук у ребёнка был взят биоптат кожи и методом непрямой иммунофлуоресценции проведено исследование. В ядрах клеток дермальных фибробластов пробанда после действия детерминирующего агента — рентгеновского излучения в дозе 2 Грея (установка РАП-150-300-14) была детектирована активная форма протеинкиназы ATR-phospho-ATR (Ser428), что свидетельствует о нормальном функционировании протеинкиназы ATR, кодируемой геном *ATR*. При синдроме Секкеля типа I (ОМIM:#210600) функционирование данной протеинкиназы нарушено.

Ребенку наложена гастростома, в анализах крови стала отмечаться лейкопения. Было обращено внимание на суховатость кожных покровов. Родители были обеспечены планированием следующей беременности и настоятельно обращались за помощью. По фенотипу проводился дифференциальный диагноз между синдромами Секкеля, MOPD (microcephalic osteodysplastic primordial dwarfism), COFS (cerebrooculofacioskeletal syndrome). Синдром MOPD (ОМIM:#210710) — патология



Рис. 1. Фенотип ребенка.



Рис. 2. Фенотип ребенка.

с аутосомно-рецессивным типом наследования, характеризующаяся сочетанием ЗВУР, микроцефалии, задержкой умственного развития, аномалиями развития головного мозга (лиссэнцефалия, агенезия мозолистого тела, агирия), сухостью кожных покровов, лицевым дисморфизмом, контрактурами суставов. В отличие от синдрома Секкеля при MOPD отмечаются диспластические изменения костной системы, укорочение конечностей [3]. Синдром COFS (OMIM:#214150) — заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, проявляется врождённой микроцефалией, катарактой, задержкой умственного развития, лицевым дисморфизмом, артрогрипозом, но постнатальной задержкой роста [4–6].

На кафедре медицинской генетики СПбГПМУ в феврале 2015 г. было проведено прямое секвенирование гена *RNU4ATAC* (OMIM*601428), ответственного за развитие синдрома MOPD1. Мутации, приводящие к развитию синдрома MOPD1 (OMIM#210710), не выявлены. Учитывая предположение о синдроме Секкеля в семье, биологический материал ребёнка и родителей, а также данные по фенотипу ребенка были переданы для молекулярно-генетической диагностики синдрома в Институт генетики и молекулярной медицины Эдинбургского Университета, где проводятся исследование по синдрому Секкеля. Материал был отправлен в апреле 2015 года.

В августе 2015 года началась совместная работа СПб ГКУЗ МГЦ, ГБ40, СПбГУ и лаборатории пренатальной диагностики наследственных врожденных болезней НИИАГиР им. Д.О.Отта (ЛПД НИИАГиР) по молекулярно-генетической диагностике первичных микроцефалий. Исследование проводилось методом полноэкзомного NGS-секвенирования с последующей верификацией по Сэнгеру. В связи с неуточнённым диагнозом было получено письменное информированное согласие родителей на участие в исследовании и взята кровь для последующего выделения ДНК у обследуемой семьи. ДНК выделяли из 400 мкл крови на станции QIAasymphony SP (QIAGEN) с использованием набора QIAasymphony DNA Midi Kit. Концентрацию ДНК определяли флуориметрически на приборе Quantus (Promega) с использованием набора QuantiFluor dsDNA System. Контроль качества выделения осуществляли спектрофотометрически на приборе NanoDrop 2.0 по соотношению поглощения при длинах волн 260 нм и 280 нм. Допустимым считали соотношение $260/280 \geq 1,8$. Для контроля качества ДНК использовали электрофорез в 1% агарозном геле в буфере SB. Образцы ДНК хорошего качества мигрировали в геле узким фронтом. Считали допустимой деградацию ДНК, при которой доля основной полосы ДНК составляет не менее 70% от всей ДНК на дорожке. Приготовление библиотек экзомной ДНК осуществляли с использованием набора TruSeq Exome Library Prep Kit или его аналогов. Контроль качества полученных библиотек проводили путем капиллярного электрофореза на системе QIAxcel

(QIAGEN). Готовые библиотеки секвенировали на системе высокопроизводительного секвенирования Illumina HiSeq 2500 в режиме парноконцевого секвенирования 2x100 (набор TruSeq SBS Kit v3 — HS (200-cycles)), или 2x125 (набор HiSeq® SBS Kit v4 (250 cycles)), т.е. по 100 или 125 нуклеотидов с каждого конца фрагмента. После демультиплексирования и перевода результатов секвенирования в формат fastq в программе bcl2fastq получали отдельные группы файлов в формате fastq для каждого образца. Эти файлы использовали для дальнейшего биоинформатического анализа. Обработка результатов секвенирования образцов ДНК производилась с использованием программных пакетов bwa (<http://bio-bwa.sourceforge.net/>) и Genome Analysis ToolKit (<https://software.broadinstitute.org/gatk/>). Аннотация производилась с использованием базы dbNSFP (<https://sites.google.com/site/jprogen/dbNSFP>), с использованием программ SnpEff и SnpSift (<http://snpeff.sourceforge.net/>). Фильтрация и интерпретация вариантов производилась при помощи программы SNVViewer (<http://genome.ifmo.ru/snviewer/>). Верификацию полученных данных проводили методом прямого секвенирования на приборе «Genetic Analyzer 3130» («Applied Biosystems», США).

Мать неоднократно обращалась по планированию следующей беременности. Осенью 2016 года практически одновременно из двух лабораторий (зарубежной и НИИАГиР) получены ответы о выявлении замен в гене *PHGDH*. У ребенка выявлены варианты в компаунд-гетерозиготном состоянии: с.242A>T, р.Asp81Val + с.851T>G, р.Leu284Arg. При этом у отца выявлена гетерозиготная замена с.242A>T, р.Asp81Val, у матери — гетерозиготный вариант с.851T>G, р.Leu284Arg. Мутации в данном гене ассоциированы с двумя заболеваниями: синдромом Ноя—Лаксовой (OMIM:#256520) и дефицитом фосфоглицератдегидрогеназы (OMIM:#601815).

При анализе полученных данных следует отметить, что у ребенка не было классического фенотипа синдрома Ноя—Лаксовой. При данном синдроме описаны: короткая продолжительность жизни (первые дни), ЗВУР, микроцефалия, лиссэнцефалия, агенезия мозолистого тела, скошенный лоб, экзофтальм, плоский нос, рот с толстыми вывернутыми губами, тонкая, шелушащаяся кожа, отечная подкожная клетчатка, ихтиоз, катаракта, стопа-качалка [7]. Для дефицита фосфоглицератдегидрогеназы характерны врождённая микроцефалия, постнатальная задержка роста, гипогонадизм, гипертонус, задержка психомоторного развития, врожденная катаракта, нарушение миелинизации головного мозга, судороги, снижение уровня серина и глицина в цереброспинальной жидкости и плазме [8]. Однако в доступной литературе не было описано случаев лиссэнцефалии при дефиците фосфоглицератдегидрогеназы. Также следует отметить, что при дефиците фосфоглицератдегидрогеназы имеется случай успешного внутриутробного лечения патологии при выявлении уменьшении размеров головы у плода на позднем сроке беременности путём

введения матери больших доз серина и дальнейшего постнатального лечения [9]. Ребенок находится в доме ребенка, где его постоянно навещают родители. В 2 года рост ребенка составил 75 см, вес, 10 кг, окружность головы 36,0 см, окружность груди 55,5 см. Грубая ЗПМР, практически не обладает никакими навыками, высказывает мимикой радость и недовольство. Кожные покровы эластичные. Шелушение в области волосяного покрова головы. Избыточного питания. Деформация черепа вследствие постоянного нахождения в положении лежа, микроцефалия. Исследование аминокислотного состава крови пробанда в биохимической лаборатории СПб ГКУЗ МГЦ показало уровень серина — 31,5 нмоль/л при норме 80—120 нмоль/л и глицина 139,1 нмоль/л (норма 154—250 нмоль/л). Аминокислотный спектр крови у родителей показал у отца значения серина — 63,2 нмоль/л и глицина — 193,1 нмоль/л, у матери соответственно 76,0 нмоль/л и 195,2 нмоль/л при норме серина — 80—120 нмоль/л и глицина 154—250 нмоль/л. По совокупности всех данных поставлен диагноз синдром Ноя—Лаксовой, неполная форма. При данном диагнозе возможность внутриутробного лечения не описана.

Семье, по результатам диагностики, проведено медико-генетическое консультирование в декабре 2016 года и дана информация о возможностях пренатальной диагностики. Сотрудниками НИИАГиР была создана тест-система на основе ПЦР-ПДРФ для быстрой диагностики выявленных мутаций.

Повторно семья обратилась в феврале 2017 года в связи с беременностью, наступившей естественным путем. При проведении УЗИ первого триместра диагностирована дихориальная диамниотическая двойня. УЗИ плода и кариотипирование обоих плодов проводилось в СПб ГКУЗ МГЦ. Молекулярно-генетическое исследование плодов показало:

Плод I. УЗИ на сроке 13—14 недель. ТВП 3,3 мм. Картиотип 46,XY. Методом ПЦР-ПДРФ было проведено исследование и выявлены мутации с.851T>G и с.242A>T в гене PHGDH в компаундном состоянии. Диагноз *синдром Ноя—Лаксовой* подтвержден. Прогноз для ребенка крайне неблагоприятный. Методов лечения не разработано.

Плод II. УЗИ на сроке 13—14 недель без патологии. Картиотип 46,XX. Методом ПЦР-ПДРФ было проведено

исследование и мутаций с.851T>G и с.242A>T в гене PHGDH не выявлено.

Проведена редукция большого плода в сроке беременности 16/17 недель. Беременность здоровым плодом продолжается. УЗИ плода на сроке 32 недель показало нормальное развитие. Ожидаемый срок родов — октябрь 2017 года.

Тернистый путь диагностики патологии у первого ребенка и течения второй беременности, будем надеяться, закончится благополучно для семьи. Заинтересованность специалистов разных служб в оказании помощи семье позволит семье осуществить их мечту иметь здорового ребенка.

Список литературы

1. Faivre L, Le Merrer M, Lyonnet S, et al. Clinical and genetic heterogeneity of Seckel syndrome. *Am. J. Med. Genet.* 2002 Nov 1;112(4):369-383.
2. Shanske A, Caride DG, Menasse-Palmer L, et al. Central nervous system anomalies in Seckel syndrome: report of a new family and review of the literature. *Am. J. Med. Genet.* 1997 May 16;70(2):155-158.
3. Klinge L, Schaper J, Wiczorek D, Voit T. Microlissencephaly in microcephalic osteodysplastic primordial dwarfism: a case report and review of the literature. *Neuropediatrics* 2002;33(6):309-313.
4. Pena SDJ, Shokeir MNK. Autosomal recessive cerebro-oculo-facio-skeletal (COFS) syndrome. *Clin. Genet.* 1974 Apr; 5(4):285-293.
5. Del Bigio MR, Greenberg CR, Rorke LB, et al. Neuropathological findings in eight children with cerebro-oculo-facio-skeletal (COFS) syndrome. *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 1997 Oct; 56(10):1147-1157.
6. Abdel-Salam GMH, Abdel-Hamid MS, Issa M, et al. Expanding the phenotypic and mutational spectrum in microcephalic osteodysplastic primordial dwarfism type I. *Am. J. Med. Genet.* 2012 Jun;158A(6): 1455-1461.
7. Manning MA, Cunniff CM, Colby CE, et al. Neu-Laxova syndrome: detailed prenatal diagnostic and post-mortem findings and literature review. *Am. J. Med. Genet.* 2004 Mar15;125A(3): 240-249.
8. Jaeken J, Detheux M, Van Maldergem L, et al. E. 3-Phosphoglycerate dehydrogenase deficiency: an inborn error of serine biosynthesis. *Arch. Dis. Child.* 1996 Jun;74(6):542-545.
9. de Koning TJ, Klomp LWJ, van Oppen ACC, et al. Prenatal and early postnatal treatment in 3-phosphoglycerate-dehydrogenase deficiency. *The Lancet* 2004 Dec 18;364(9452):2221-2222.