

Актуальность медико-генетического консультирования при различных формах абитрофии сетчатки

Б.Э. Малюгин¹, С.А. Борзенко¹, О.В. Хлебникова², М.Ф. Шурыгина¹, П.М. Арбуханова¹, А.Н. Логинова², П.Л. Володин¹, С.А. Зубарева¹

¹ ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, Москва;

² ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва

РЕФЕРАТ

Цель. Ретроспективный анализ результатов медико-генетического консультирования пациентов с наследственной патологией сетчатки.

Материал и методы. Исследование основано на анализе результатов медико-генетического консультирования и молекулярно-генетических исследований образцов ДНК 82 пациентов: центральная абитрофия сетчатки Штаргардта (n=37), абитрофия сетчатки Франческетти (n=34), макулярная вителлиформная ювенильная дегенерация Беста (n=11). Для определения точной формы офтальмопатологии всем пациентам необходимо было пройти комплексное офтальмологическое клиничко-функциональное обследование. Врачом-генетиком проводился генеалогический анализ родословных. Поиск мутаций при каждой клинической форме заболевания осуществлялся после верификации клиничко-генетического варианта. Проводилось изучение кодирующих экзонов и фланкирующих интронных областей с помощью методов анализа полиморфизма длин амплифицированных фрагментов, рестрикционных фрагментов и прямого секвенирования.

Результаты. У пациентов с клиничским диагнозом центральной абитрофии сетчатки Штаргардта искомые патогенные мутации были выявлены у пробандов в 46% случаев и у обоих направленных на анализ членов семей. В гене ELOVL4 мутации не обнаружены. В 46% случаев выяв-

лено одна или несколько патогенных мутаций у пробандов с клиничским диагнозом абитрофии сетчатки Франческетти. Диагноз вителлиформной ювенильной дегенерации Беста молекулярно генетически подтвержден 8 пациентам. Результаты медико-генетического консультирования пациентов с наследственной патологией сетчатки, а также членов их семей показали клиничко-генетическое разнообразие и трудности диагностики этой группы заболеваний в РФ.

Выводы. Комплексное клиничко-функциональное и молекулярно-генетическое обследование как ядерной семьи, так и родителей пробанда позволит увеличить процент выявления клинически не выраженного носительства патогенных мутаций. Выявление наиболее частых мутаций при различной наследственной офтальмопатологии у пациентов Российской Федерации позволит создать «отечественные ДНК-панели» для проведения молекулярно-генетических исследований, что увеличит доступность этих исследований населению, а также приведет к скорейшему внедрению в практическое здравоохранение скринирующих методов ДНК-диагностики.

Ключевые слова: медико-генетическое консультирование, центральная абитрофия сетчатки Штаргардта, абитрофия сетчатки Франческетти, макулярная вителлиформная ювенильная дегенерация Беста. ■

Авторы не имеют финансовых или имущественных интересов в упомянутых материале и методах.

Офтальмохирургия. – 2016. – № 2. – С. 42-46.

ABSTRACT

The relevance of genetic counseling in various forms of hereditary retinal dystrophies

B.E. Malyugin¹, S.A. Borzenok¹, O.V. Khlebnikova², M.F. Shurygina¹, P.M. Arbukhanova¹, A.N. Loginova², P.L. Volodin¹, S.A. Zubareva¹

¹ The S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Moscow;

² The Research Centre for Medical Genetics, Moscow

Purpose. Retrospective genetic counseling analysis of patients with hereditary retinal diseases.

Material and methods. The study is based on an analysis of genetic counseling and molecular genetic studies of DNA samples of 82 patients: Stargardt disease (n=37), Fundus Flavimaculatus (n=34), Best vitelliform macular dystrophy

(n=11). All patients had a comprehensive ophthalmologic clinical and functional examination. Geneticist physician conducted a genealogical analysis. Search for mutations at each clinical form of the disease was carried out after a verification of clinical and genetic disease forms. The exons and flanking intronic regions were studied using methods of

analysis of amplified fragment length polymorphism, restriction fragments and direct sequencing.

Results. The searched pathogenic mutations were identified in pro-bands in 46% of cases in patients with a clinical diagnosis of Stargardt disease and in both of family members aimed at analyzing. Mutations were not detected in the ELOVL4 gene. One or more pathogenic mutations in probands with Fundus Flavimaculatus were revealed in 46% of cases. Diagnosis of Best vitelliform macular dystrophy was molecular genetically confirmed in 8 patients. The results of genetic counseling of patients with hereditary diseases of the retina, as well as members of their families showed a clinical and genetic diversity and difficulties in the diagnosis of this group of diseases in Russia.

Conclusion. Complex clinical, functional and molecular genetic testing all members of proband's family allows to increase the rate of detection in carriers of pathogenic mutations without any clinical appearance of the disease. Identification of the most frequent mutations in different genetic ophthalmic pathology in patients of the Russian Federation allows to create the «DNA panel» for genetic studies, which increase an availability of such studies for the population, as well as lead to a speedy implementation of screening methods of DNA diagnosis in the practical healthcare.

Key words: genetic counseling, Stargardt disease, Fundus Flavimaculatus, Best vitelliform macular dystrophy. ■

No author has a financial or proprietary interest in any material or method mentioned.

The Fyodorov Journal of Ophthalmic Surgery.– 2016.– No. 2.– P. 42-46.

В последние 15-20 лет произошел резкий рывок в развитии молекулярной генетики в области офтальмологии. Открыто и картировано около 400 генов, мутации в которых приводят к различным формам изолированной офтальмопатологии. Соответственно, всё более подробно изучается этиология и патогенез каждого отдельного заболевания. Новое высокотехнологическое диагностическое оборудование позволяет выявлять изменения в структуре или функции пораженной ткани или органа даже на доклиническом этапе формирования патологии.

Наследственные заболевания органа зрения являются одной из наиболее часто встречающихся патологий в различных популяциях Российской Федерации [1, 3].

Наследственная абитрофия сетчатки привлекает большое внимание офтальмологов как одна из наиболее частых причин инвалидности по зрению [2]. Направление пациента в специализированные офтальмологические клиники и медико-генетическую консультацию повысит процент постановки правильного клинико-генетического диагноза, обнаружение носителей патогенных мутаций, выявление до- и ранней клинической стадии заболевания, проведение корректного хирургического или консервативного лечения.

После открытия гена ABCA4 было доказано, что абитрофии сетчатки Штаргардта и Франческетти являются аллельными вариантами мутаций в гене ABCA4 с различными звеньями развития патологическо-

го процесса и клинической картиной. Также известно, что мутации в гене ABCA4 могут приводить к появлению центральной и смешанной пигментной абитрофии сетчатки [8, 10, 12, 14]. К 2014 г. выявлено более 800 патогенных мутаций в гене ABCA4, приводящих к клиническим проявлениям одной из 4-х вышеуказанных абитрофий.

Наследственные абитрофии сетчатки представляют собой большую группу клинически и генетически гетерогенных нарушений, характеризующихся прогрессирующим ухудшением центрального зрения и дегенеративными изменениями в макулярной области, в основе которых лежит патология фоторецепторов и/или пигментного эпителия сетчатки [6].

ЦЕЛЬ

Ретроспективный анализ результатов медико-генетического консультирования пациентов с наследственной патологией сетчатки.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Наше исследование основано на анализе результатов медико-генетического консультирования и молекулярно-генетического исследования образцов ДНК 82 пациентов со следующими клиническими диагнозами: центральная абитрофия сетчатки Штаргардта (n=37), абитрофия сетчатки Франческетти (n=34), макулярная вителлиформная ювенильная дегенерация Беста (n=11).

Для определения точной формы офтальмопатологии всем пациентам необходимо было пройти комплексное офтальмологическое клинико-функциональное обследование (во многих случаях дообследование). Врачом-генетиком проводился генеалогический анализ родословных.

Клинико-функциональные результаты исследований показали, что большинство пациентов имело типичную клиническую картину той или иной формы наследственной патологии сетчатки [5].

Поиск мутаций при каждой клинической форме заболевания осуществлялся после верификации клинико-генетического варианта. Проводилось изучение кодирующих экзонов и фланкирующих интронных областей с помощью методов анализа полиморфизма длин амплифицированных фрагментов, рестрикционных фрагментов и прямого секвенирования.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Из 37 пациентов с клиническим диагнозом центральной абитрофии сетчатки Штаргардта 35 пробандов (пробанд – пациент, обратившийся на консультацию к генетику; мужчин – 20, женщин – 15), в 2 случаях проводился генетический анализ членам семьи пробанда. Принимая во внимание данные зарубежной литературы и процент обнаружения мутаций при данной патологии в соответствующих генах, были выбраны два гена-кандидата: ABCA4, ELOVL4 [7, 11, 16].

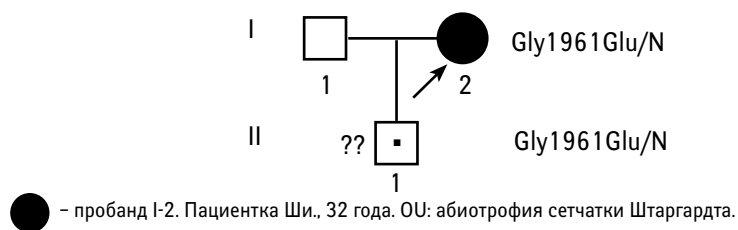


Рис. 1. Родословная семьи Ши., два поколения

При проведении ДНК-анализа у 2 родственников пациентов с клиническим диагнозом центральной абитрофии сетчатки Штаргардта, не предъявляющих активных жалоб на зрение, в обоих случаях выявлены те же патогенные мутации, что и у пробандов.

В одном случае в семье Ши. у ребенка в возрасте 3 лет определена патогенная мутация в гене ABCA4 в гетерозиготном состоянии (рис. 1). Та же мутация выявлена у его матери (пробанд, 32 года) с манифестацией центральной абитрофии сетчатки Штаргардта в возрасте 28 лет. На момент осмотра ребенка органической патологии на глазном дне не выявлено. Учитывая, что на момент обследования ребенок находился в возрасте до типичной клинической манифестации патологического процесса (7-15 лет), он был направлен на диспансерный учет у офтальмолога с рекомендацией каждый год проходить углубленное клинико-функциональное обследование сетчатки.

Во втором случае в семье Ша., при обнаружении идентичной пробанду (19 лет) патогенной мутации у счи-

тавшегося здоровым сибса (17 лет), проведено комплексное клиническое обследование и выявлена ранняя клиническая стадия центральной абитрофии сетчатки Штаргардта.

Таким образом, при проведении молекулярно-генетического анализа у пациентов с клиническим диагнозом центральной абитрофии сетчатки Штаргардта искомые патогенные мутации были выявлены у пробандов в 46% случаев (у 16 из 35) и у обоих направленных на анализ членов семей. В гене ELOVL4 мутации не обнаружены (табл.). У пациентов с мутациями в гене ABCA4 с большой долей вероятности подтвержден аутосомно-рецессивный тип наследования.

В группе из 34 пациентов с диагнозом абитрофии сетчатки Франческетти 26 были пробанды (мужчин – 13, женщин – 13) и 8 членов их семей. Принимая во внимание данные зарубежной литературы и процент обнаружения мутаций при данной патологии, в соответствующих генах был выбран ген-кандидат: ABCA4. Таким образом, всем 34 пациентам проводился поиск мутаций в гене ABCA4.

Весьма наглядный пример семьи С. (пробанд, II-2, 10 лет; сибс, II-1, 22 года, два родителя, I-1, I-2), в которой у всех членов семьи выявлены патогенные мутации в гене ABCA4 (у родителей и сибса в гетерозиготном, у пробанда – в гомозиготном состоянии, рис. 2). У пробанда манифестация абитрофии сетчатки Франческетти в возрасте 6 лет. При комплексном клинико-функциональном обследовании всех членов семьи у матери в возрасте 45 лет впервые выявлена ранее не диагностированная редкая форма абитрофии сетчатки Франческетти без вовлечения фовеа. Учитывая результаты клинико-функциональных исследований, пациентке была поставлена развитая стадия заболевания. Отец и сибс пробанда, являясь носителями патогенных мутаций, на момент осмотра клинически здоровы. Учитывая, что нам не известен возраст манифестации патологического процесса у матери пробанда (I-2), старший ребенок в семье (II-1), являясь носителем патогенных мутаций, поставлен на диспансерный учет у офтальмолога. В данном случае нами была диагностирована редкая форма абитрофии сетчатки Франческетти, выявляемая, как правило, как случайная находка при профосмотре пациентов.

Таким образом, выявление в 46% случаев (у 12 из 26 пациентов) одной или нескольких патогенных мутаций у пробандов с клиническим диагнозом абитрофии сетчатки Франче-

Для корреспонденции:

Малюгин Борис Эдуардович, докт. мед. наук, профессор, зам. ген. директора по научной работе;

Борзенко Сергей Анатольевич, докт. мед. наук, академик РАЕН, зав. Центром фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем;

Шурыгина Мария Федоровна, канд. мед. наук, мл. науч. сотрудник Центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем;

Арбуханова Патимат Магомедовна, канд. мед. наук, мл. науч. сотрудник Центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем;

Володин Павел Львович, докт. мед. наук, зав. отделом микрохирургии и функциональной реабилитации глаза у детей;

Зубарева Светлана Анатольевна, врач-офтальмолог отдела микрохирургии и функциональной реабилитации глаза у детей ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России

Адрес: 127486, Москва, Бескудниковский бульвар, 59а

Тел.: (495) 484-7298. E-mail: nauka@mntk.ru

Хлебникова Ольга Вадимовна, докт. мед. наук, ведущ. науч. сотрудник лаборатории генетической эпидемиологии;

Логинова Анна Николаевна, канд. мед. наук, науч. сотрудник лаборатории ДНК-диагностики

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр»

Адрес: 115478, Москва, ул. Москворечье, 1

Тел.: (499) 612-8607

скетти (табл.) и у 6 из 8 обследуемых членов их семей является хорошим результатом, учитывая два клинико-генетических варианта этой абитрофии и 800 возможных патогенных мутаций только в гене ABCA4. В семьях с единичными случаями заболевания и выявленными мутациями в гене ABCA4 с большой долей вероятности подтвержден аутосомно-рецессивный тип наследования.

Из 11 направленных на генетический анализ пациентов с клиническим диагнозом вителлиформной ювенильной дегенерации Беста было 9 пробандов (мужчин – 5, женщин – 4) и 2 члена семьи (родители одного пробанда). Для дегенерации Беста установлен аутосомно-доминантный тип наследования [5].

Всем пациентам проводился поиск мутаций всей кодирующей части гена BEST1. Патогенные мутации в гене BEST1 были выявлены у 6 из 9 пациентов с клиническим диагнозом (66,7%) и у 2 членов семьи Ж. (табл.). Следует отметить, что у 3 из 9 обратившихся пробандов только по клинической картине не представлялось возможным провести дифференциальную диагностику между абитрофией Беста и вторичным центральным хориоретинитом неясной этиологии, и ДНК-диагностика была необходима для уточнения клинико-генетического диагноза [9].

В семье П. за медико-генетическим консультированием с целью рождения здорового потомства обратилась пациентка П. (29 лет) с клиническим диагнозом вителлиформной ювенильной дегенерации Беста. В результате офтальмологического обследования всех членов семьи типичная клиническая картина центральной ювенильной абитрофии Беста обнаружена у матери, брата, сестры и у считавшегося здоровым племянника пробанда (1,7 лет) (рис. 3). Следует отметить, что диагностика этого заболевания на первых годах жизни пациентов крайне редко описывается в литературе. У ребенка на обоих глазах выявлены патологические рефлексы в макуле, желтоватый фокус с проминенцией в фовеа. Проведено молекулярно-генетическое обследование образцов ДНК всех больных членов семьи. У всех обследуемых выявлена патогенная мутация в гене BEST1(V235L/N). С пациенткой

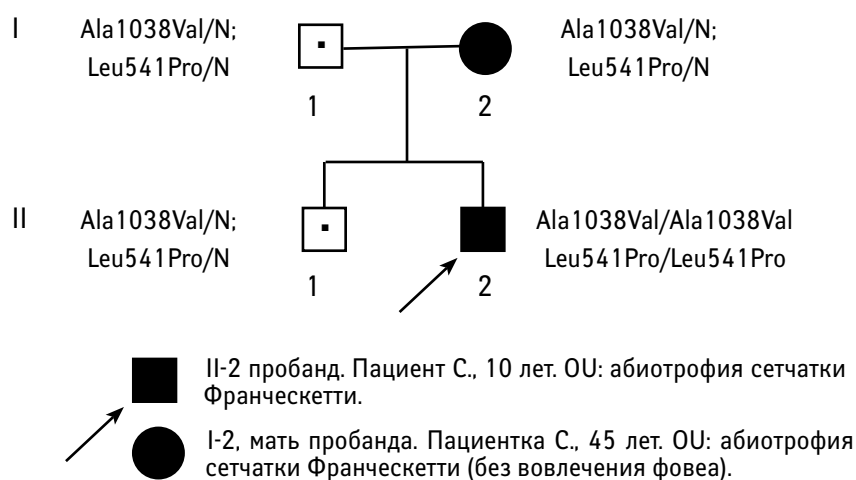


Рис. 2. Родословная семьи С.

Результаты молекулярно-генетических исследований в различных нозологических группах		
Нозологическая форма	Поиск в генах	Найденные мутации
Абитрофия Штаргардта	ABCA4 ELOVL4	Leu541Pro, Ala1038Val, Gly1961Glu –
Абитрофия Франческетти	ABCA4	Leu541Pro, Gly863Ala, Ala1038Val, Gly1961Glu
Дегенерация Беста	BEST1	V235L, del 7-10, del 7-10/del 7-10ex

проведена беседа о рисках наследования заболевания её потомками.

Таким образом, результаты медико-генетического консультирования пациентов с наследственной патологией сетчатки, а также членов их семей показали клинико-генетическое разнообразие и трудности диагностики этой группы заболеваний в РФ.

ОБСУЖДЕНИЕ

У 16 пациентов (46%) с абитрофией Штаргардта и у 12 с абитрофией Франческетти (46%), с единичными случаями заболевания в семье и выявленными мутациями в гене ABCA4, с большой долей вероятности установлен аутосомно-рецессивный тип наследования заболевания. Врачом-генетиком были разъяснены риски наследования заболевания в семье.

Диагноз вителлиформной ювенильной дегенерации Беста моле-

кулярно-генетически подтвержден 8 пациентам. В семьях с единичными случаями заболевания установлен аутосомно-доминантный тип наследования, разъяснен риск наследования мутаций последующими поколениями (50%). Пациенты информированы о возможности проведения дородовой диагностики плода. Всем больным рекомендована симптоматическая терапия для уменьшения степени тяжести проявления заболевания. Случай в семье П. еще раз подтверждает необходимость осмотра всех членов семьи независимо от возраста.

Трем обратившимся на консультацию пациентам с не подтвержденным молекулярно-генетическим исследованием диагнозом вителлиформной ювенильной дегенерации Беста рекомендовано провести клинико-функциональное дообследование в специализированных офтальмологических центрах с последую-

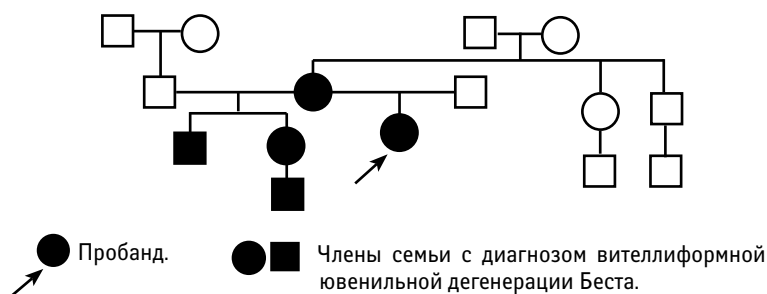


Рис. 3. Родословная семьи П.

щим повторным проведением медико-генетического консультирования.

Во всех обратившихся семьях исследуемой выборки врачом-генетиком был уточнен клинический диагноз, при необходимости пациенты направлялись на клиническо-функциональное дообследование. Был определен риск наследования заболевания последующими поколениями как у пробандов, так и членов их семей с обнаруженными патогенными мутациями, разъяснена возможность проведения пренатальной диагностики при планируемых беременностях, в каждом отдельном случае даны рекомендации по возможной медико-социальной реабилитации. Все вышеуказанные меры должны привести к уменьшению частоты и степени тяжести инвалидов детства.

Определение мажорных для Российской Федерации мутаций в каждой нозологической группе наследственной офтальмопатологии (табл.) позволит сделать их доступными большему количеству пациентов, внедрять современные скринирующие методы ДНК-диагностики в повседневной практике как в родильных домах, так и детских больницах. Накопление базы данных об особенностях спектра мутаций в Российской Федерации также позволит установить фенотипические корреляции и приступить в ближайшем будущем к разработке этиопатогенетически ориентированной терапии [4, 13, 15].

ВЫВОДЫ

1. Комплексное клиническо-функциональное и молекулярно-генетическое обследование ядерной семьи (кровных братьев и сестер), так и родите-

лей пробанда (пациента обратившегося за консультацией), а в некоторых случаях – и дальних родственников, позволит увеличить процент выявления клинически не выраженного носительства патогенных мутаций, что позволит своевременно информировать этих пациентов о риске передачи мутации или болезни детям.

2. Выявление наиболее частых мутаций при различной наследственной офтальмопатологии у пациентов Российской Федерации позволит создать «отечественные ДНК-панели» для проведения молекулярно-генетических исследований, что увеличит доступность этих исследований населению, а также приведет к скорейшему внедрению в практическое здравоохранение скринирующих методов ДНК-диагностики.

3. Накопление знаний об особенностях спектра мутаций в Российской Федерации также позволит установить фенотипические корреляции и приступить в ближайшем будущем к разработке этиопатогенетически ориентированной терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гинтер Е. К., Балановская Е. В., Букина А. М. и др. Наследственные болезни в популяциях человека. – М.: Медицина, 2002. – 303 с.
2. Хватова А.В., Арестова Н.Н., Кравцов К.Г. Современные тенденции изменения нозологической структуры слепоты и слабовидения у детей-инвалидов по зрению с детства // Российская педиатрическая офтальмология. – 2008. – № 1. – С. 13-16.
3. Хлебникова О.В., Дадали Е.Л. Наследственная патология органа зрения. – М.: Авторская академия, 2014. – 304 с.
4. Cioffi C.L., Dobri N., Freeman E.E. et al. Design, synthesis, and evaluation of nonretinoid retinol binding protein 4 antagonists for the potential treatment

of atrophic age-related macular degeneration and Stargardt disease // J. Med. Chem. – 2014. – Vol. 57, № 18. – P. 7731-7757.

5. Katz M.S., Walsb E.K., Medow N.B. Vitelliform macular dystrophy // JAMA Ophthalmol. – 2014. – Vol. 132, № 9. – P. 1098.

6. Krill A.E., Deutman A. The various categories of juvenile macular degeneration // Trans. Am. Ophthalm. Soc. – 1972. – Vol. 70. – P. 220-245.

7. Molday L.L., Rabin A.R., Molday R.S. ABCR expression in foveal cone photoreceptors and its role in Stargardt macular dystrophy // Nature genetics. – 2000. – Vol. 25. – P. 257-259.

8. Noble K.G., Carr R.E. Stargardt's disease and fundus flavimaculatus // Arch. Ophthalmol. – 1979. – Vol. 97. – P. 1281-1285.

9. Parodi M.B., Iacono P., Campa C. et al. Fundus autofluorescence patterns in Best vitelliform macular dystrophy // Am. J. Ophthalmol. – 2014. – Vol. 158, № 5. – P. 1086-1092.

10. Rivera A., White K., Stohr H. et al. A comprehensive survey of sequence variation in the ABCA4 (ABCR) gene in Stargardt disease and age-related macular degeneration // Am. J. Hum. Genet. – 2000. – Vol. 67. – P. 800-813.

11. Rozet J.M., Gerber S., Souied E. et al. Spectrum of ABCR gene mutations in autosomal recessive macular dystrophies // Eur. J. Hum. Genet. – 1998. – Vol. 6. – P. 291-295.

12. Ryan S.J., Schachar A.P., Wilkinson C.P. et al. Retina. – 5th Edition. – Elsevier Health Sciences, 2012. – 2564 p.

13. Sabirzhanova I., Lopes P.M., Rapino D. et al. Rescuing Trafficking Mutants of the ATP-binding Cassette Protein, ABCA4, with Small Molecule Correctors as a Treatment for Stargardt Eye Disease // J. Biol. Chem. – 2015. – Vol. 290, № 32. – P. 19743-19755.

14. Testa F., Melillo P., Di Iorio V., Orrico A., Attanasio M., Rossi S., Simonelli F. Macular function and morphologic features in juvenile stargardt disease: longitudinal study // Ophthalmology. – 2014. – Vol. 121, № 12. – P. 2399-2405.

15. Trapani I., Toriello E., de Simone S. et al. Improved dual AAV vectors with reduced expression of truncated proteins are safe and effective in the retina of a mouse model of Stargardt disease // Hum. Mol. Genet. – 2015. – Vol. 24, № 23. – P. 6811-6825.

16. Westeneng-van Haaften S.C., Boon C.J.F., Cremers F.P.M. et al. Clinical and Genetic Characteristics of Late-onset Stargardt's Disease // Ophthalmology. – 2012. – Vol. 119, № 6. – P. 1199-1210.

Поступила 01.12.2015