

РЕЗУЛЬТАТЫ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ НАСЛЕДСТВЕННОГО АНГИОНЕВРОТИЧЕСКОГО ОТЕКА В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

И.Е. Гурьянова, С.О. Шаранова, М.В. Белевцев

Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии

Наследственный ангионевротический отек (НАО) — аутосомно-доминантное заболевание, характеризующееся рецидивирующим ангионевротическим отеком любой области тела. Ранее считалось, что НАО относится к первичным иммунодефицитам. Причина заболевания — снижение функции белка (количественное или функциональное), ингибирующего С1-эстеразу, что приводит к быстрой неконтролируемой активации, преимущественно компонентов комплемента, брадикининового каскада, калликреиновой системы.

Существуют три клинически идентичных типа наследственного ангионевротического отека, определить которые можно лишь при исследовании компонентов комплемента в крови. НАО 1-го типа (85–90% случаев) связан с мутациями в гене, кодирующем С1-ингибитор. При 2-м типе НАО (10–15% пациентов) отеки обусловлены функциональной неполноценностью С1-ингибитора, хотя его вырабатывается в достаточном количестве. Нефункциональный ингибитор не расходуется, накапливается в сыворотке крови и регистрируется в повышенном количестве. НАО 3-го типа описан недавно, и распространенность его неизвестна. Концентрация С1-ингибитора в плазме крови нормальная, механизм заболевания, вероятно, не связан с ингибитором С1. Вероятнее всего этот тип связан с мутациями в гене Factor XII.

Типичные клинические признаки НАО:

- неоднократные беспричинные приступы отеков рук, ног, лица, гортани, половых органов, часто при отсутствии крапивницы, которая встречается в 25% случаев и не сопровождается зудом;
- появление отеков в детстве или подростковом возрасте, ухудшение состояния в период полового созревания;
- повторяющиеся эпизоды беспричинных болей в животе;
- осиплость голоса и затруднение дыхания в случае отека гортани;
- связь возникновения приступов с воспалительными заболеваниями, стрессовыми ситуациями;
- длительность приступов, как правило, от 1 до 4 сут;
- похожие симптомы наблюдают у родственников (в 75% случаев);
- отсутствие адекватного ответа во время приступа на прием антигистаминных средств, глюкокортикостероидов, адреналина (эпинефрина), норадреналина, антибиотиков, противопаразитарных, ферментов, вегетотропиков.

Рецидивирующие отеки бывают различной локализации: кожа лица, шеи, туловища, конечностей, слизистых оболочек верхних отделов дыхательных путей, желудочно-кишечного и урогенитального трактов. У большинства пациентов дебют заболевания возникает до 20 лет (60%), гораздо реже — в среднем и пожилом возрасте. Провоцирующими факторами в развитии отека, как правило, являются травмы, хирургические вмешательства, в т. ч. стоматологические манипуляции, стрессы, беременность, заболевания, некоторые лекарственные средства, например, глюкокортикостероиды. Отек верхних дыхательных путей может возникать остро, с вовлечением пищевода и гортани, в ряде случаев напоминает приступ бронхиальной астмы и прогрессирует вплоть до асфиксии. Многими клиническими проявлениями сопровождаются отеки внутренних органов, например, кишечника: возникают сильные боли, тошнота, рвота, признаки напоминают картину «острого» живота — аппендицита, желчнокаменной болезни, энтерита, кишечной непроходимости.

Пациенты с НАО до установления диагноза, как правило, имеют большое количество выписок с различными диагнозами, в т. ч. из стационаров хирургического профиля. Пациентам проводят лапаротомию, обусловленную отеком внутренних органов (аппендэктомия, холецистэктомия, нефрэктомия, гинекологические операции), а также трахеотомию из-за невозможности купировать отек верхних дыхательных путей. При НАО описан феномен «географического» живота — наличие многочисленных послеоперационных рубцов.

Цель работы — выявление случаев заболевания и молекулярная диагностика НАО.

Материал и методы. Большинство пациентов с НАО были направлены в научно-исследовательский центр по рекомендациям врачей-специалистов региональных больниц или при содействии Национальной организации пациентов с первичными иммунодефицитами для подтверждения предварительного диагноза. Во время диагностических процедур измерялась концентрация С3с/С4, а также концентрация С1-INH (с помощью «Thermo Scientific Konelab Primer 60i» и «Dade Behring BN PROSPEC»). Далее секвенировались последовательности экзонов, которые отличались от контролей по результатам Single Strand Conformation Polymorphism (SSCP) анализа. Секвенирование проводилось на приборе «Applied Biosystems 3130 Genetic Analyzer».

Результаты и их обсуждение. За четыре года НАО диагностирован у 29 пациентов (17 детей и 12 взрослых) из 17 семей.

У исследованных идентифицировано десять различных мутаций. Шесть из них не были описаны в используемой базе данных (<http://hae.enzim.hu>). Обнаружены две новые небольшие делеции, затрагивающие третий (с. 520-524 del ATCGC, р. I174fsX254) и восьмой экзон (с. 1293 del A, р. T431fsX449).

Эти делеции приводят к сдвигу рамки считывания и образованию преждевременных стоп-кодонов. Выявлена вставка, затрагивающая интрон второго экзона (с. 1-83-84 ins GGGGTG). Выявлены две новые миссенс мутации, одна из которых находится в шестом экзоне (с. 1001 A→C, р. H334P), вторая — в третьем экзоне (с. 289 C→T, р. Q97X). Одна мутация определена в области сплайс-сайта в интроне третьего экзона (с. 550+2T→C).

У 6 пациентов не было выявлено каких-либо изменений в гене SERPING.

Заключение. В Республике Беларусь распространенность симптоматических пациентов с НАО составляет 1:300000, что значительно ниже, чем результаты исследования в Швейцарии по данным общенационального исследования — 1:50000, в Украине — 50 человек, в России — 80, в Польше — более 200, в США — 4300. Такая разница в цифрах свидетельствует о том, что диагностика НАО не достаточная. Вместе с тем за последние два года диагностировано в 4 раза больше случаев по сравнению с предыдущим периодом. Улучшение диагностики заболевания стало возможным благодаря внедрению современных молекулярно-генетических и иммунологических методов исследования. Для пациентов с подозрением на НАО рекомендуется в первую очередь измерять количество C₁ и C₄, затем применять функциональный тест для C₁ и только после этого приступать к молекулярно-генетическому анализу либо гена SERPING, либо гена F12.



Фотографии одной и той же женщины, страдающей НАО: А — когда нет приступа, В — во время приступа

HEREDITARY ANGIOEDEMA NATIONWIDE STUDY IN BELARUS

I.E. Guryanova, S.O. Sharapova, M.V. Belevtsev

Most of the HAE patients were directed to the Research Center by regional hospital physicians OR with the assistance of the National Organization of Patients with Primary Immunodeficiency to confirm their preliminary diagnosis. During the diagnostic procedures, the levels of C3c/C4 as well as the level of C1-INH are being determined (using “Thermo Scientific Konelab Primer 60i” and «Dade Behring BN ProSpec»). Next, based on the results of Single Strand Conformation Polymorphism (SSCP), a sequence analysis of exons that look interesting to us are being made with the “Applied Biosystems 3130 Genetic Analyzer”.

We have been working on the molecular-genetic analysis of HAE patients in Belarus for over four years. In total, 29 patients (17 children and 12 adults) from 17 families were examined.

- 10 different types of mutations have been identified. 6 of them have been found that were not described in the consulted database (<http://hae.enzim.hu>).

- 2 new small deletions affecting exon 3 (с. 520-524 del ATCGC, р. I174fsX254) and exon 8 (с. 1293 del A, р. T431fsX449) have been discovered. All of them are producing frame-shifts leading to premature stop codons, one new insertion affecting exon 1 (с. 1-83-84 ins GGGGTG).

- Among them two new missense mutations were found, one affected exon 6 (с. 1001 A→C, р. H334P), one affected exon 3 (с. 289 C→T, р. Q97X).

- One new mutation that affects the splice acceptor site in exon 3 (с. 550+2T→C) has been identified.

- 6 patients did not show any alteration in C1-inhibitor coding sequence gene.

The ratio of symptomatic of patients in Belarus is about 1:300.000 (which is lower than, for example, 1:50.000 reported by a nationwide study in Switzerland). Nearly four times more HAE patients have been diagnosed over the past two years than before, which shows the overall improvement of diagnostics.

Літэратура

1. C1 inhibitor deficiency: consensus document / M.M. Gompels [et al.] // Clin. Exp. Immunol. — 2005. — Vol. 139, № 3. — P. 379–394.
2. Canadian 2003 International consensus algorithm for the diagnosis, therapy and management of hereditary angioedema / T. Bowen [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. — 2004. — Vol. 114. — P. 629–637.
3. 8th C1 inhibitor deficiency workshop 2013. — Budapest, 2013. — 84 p.