

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ БОЛЕЗНИ МЕНКЕСА, ОБУСЛОВЛЕННЫЙ НОВЫМ ВАРИАНТОМ НУКЛЕОТИДНОЙ ЗАМЕНЫ В ГЕНЕ АТР7А

Субоч К.В.¹, Зимовина Т.С.¹, Филипович Е.К.²

¹ Государственное учреждение

«Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя»,

² УО «Белорусский государственный медицинский университет»,

г. Минск, Республика Беларусь

Резюме. Болезнь Менкеса (БМ, OMIM 309400) – мультисистемное заболевание, обусловленное нарушением метаболизма меди в организме. Типичными симптомами болезни являются прогрессирующие нейродегенеративные изменения, эктодермальные нарушения (в том числе, курчавые жесткие волосы), патология опорно-двигательного аппарата. Последний признак обуславливает другое название заболевания – болезнь «курчавых волос». В статье представлено клиническое наблюдение болезни Менкеса, обусловленное вариантом нуклеотидной замены в гене АТР7А (с.4084G>C; р.Ala1362Pro).

Ключевые слова: метаболизм меди, ген АТР7А, курчавые волосы, высокопроизводительное секвенирование

Введение. Первое упоминание БМ принадлежит американскому врачу Менкесу, описавшему в 1962 году нескольких мальчиков в одной семье, у которых наблюдались грубые неврологические нарушения, задержка роста и необычная структура волос.

БМ характеризуется Х-сцепленным рецессивным типом наследования, поэтому клинические проявления определяются у пациентов мужского пола. Распространенность заболевания составляет 1 на 40.000–350.000 человек [1]. В Республике Беларусь представлены единичные наблюдения.

В основе БМ лежат патологические варианты в гене АТР7А. Данный ген состоит из 23 экзонов, картирован в локусе Xq21.1, стартовый кодон ATG расположен во втором экзоне [2]. Крупные делеции в гене АТР7А выявляют в 25 % случаев. Спектр точковых мутаций представлен миссенс-мутациями (33 %), нонсенс-мутациями (16 %), мутациями сайта сплайсинга (16 %), делециями/инсерциями/дупликациями (33 %) [3]. Учитывая вариабельность генетических дефектов, лежащих в основе заболевания, существуют различные патогенетические механизмы нарушения работы медь-транспортирующей АТФазы альфа. Белок экспрессируется во всех тканях организма, но наиболее интенсивно – в клетках эктодермы [4]. Указанный белок обладает двумя важными функциями: связывание ионов меди и их транспортировка через цитоплазматическую мембрану, а также встраивание ионов меди в состав медь-зависимых ферментов в качестве кофакторов. За счет дефицита медь-транспортирующей АТФазы альфа снижается уровень меди в крови и в клетках нервной системы, что приводит к накоплению меди в энтероцитах и недостаточности медь-зависимых ферментов: тирозиназы (снижается синтез меланина), лизилоксидазы (слабость соединительной ткани в результате отсутствия образования связей между коллагеном и эластином), моноаминоксидазы (недостаточное формирование связей кератина и, в результате, возникновение курчавых волос), аскорбатоксидазы (демнерализация костей и цинга), цитохромоксидазы (дефицит энергии, гипотермия) [5].

БМ представлена в двух клинических вариантах: синдром затылочных рогов (СЗР) и классическая форма БМ. Для СЗР характерно преимущественное поражение соединительной ткани. У пациентов с СЗР наблюдаются характерные отложения кальция в области затылочных бугров, дряблая, морщинистая кожа, пупочная и паховая грыжи. В неонатальном периоде часто отмечается гипотония, гипотермия, желтуха, нарушение вскармливания. У пробандов грудного и раннего детского возраста описаны частые эпизоды диареи, рецидивирующие мочевые инфекции, нарушения осанки, деформации грудной клетки, гипермобильность суставов. Волосы могут быть тусклые и грубые на ощупь. Часто диагностируются сосудистые аномалии, в том числе артериальные аневризмы. Продолжительность жизни при СЗР варьирует, пациенты могут доживать до 50 лет [3].

Классическая форма БМ характеризуется прогрессирующими нейродегенеративными нарушениями и значительным поражением соединительной ткани. Как правило, младенцы с БМ рождаются в срок, с нормальными росто-весовыми показателями, без признаков синдромальной патологии. В неонатальном периоде у части пациентов описаны неспецифические проявления: кефалогематомы, спонтанные переломы, затяжная желтуха, гипогликемия, гипотермия, нарушения вскармливания, деформации грудной клетки, пупочная или паховые грыжи, низкий мышечный тонус. В возрасте 1–2 месяцев появляются некоторые характерные фенотипические особенности: волосы становятся редкими, тусклыми, кожа бледнеет, контурируются лобные и затылочные бугры. Данные проявления при отсутствии других симптомов часто не вызывают беспокойства и не являются поводом для обращения к врачу. Психомоторное развитие ребенка в первые месяцы жизни соответствует возрастной норме либо может определяться низкий мышечный тонус. В возрасте 2–3 месяцев могут дебютировать эпилептические приступы, плохо поддающиеся фармакологической терапии. С 5–6 месяцев становится заметным отставание в наборе моторных и психоречевых навыков, потеря ранее приобретенных навыков, низкий тонус сменяется спастичностью в конечностях, снижается общая двигательная активность, дети становятся вялыми и сонливыми. Также определяются задержка роста, проблемы с кормлением, частые рвоты и нарушения стула.

С 6 месяцев БМ может быть заподозрена благодаря характерному изменению волос. Они становятся грубыми, гипо/депигментированными, спутанными и редкими, особенно в областях, чаще подвергающихся трению. При микроскопическом исследовании визуализируются характерные структурные изменения стержней волос: они приобретают узловатую или веретенообразную форму.

В раннем детском возрасте доминирующими проявлениями становятся неврологические нарушения, патология опорно-двигательного аппарата (скелетные деформации, спонтанные переломы на фоне выраженного остеопороза), гипермобильность суставов, дряблость кожи, сосудистые аномалии. На поздних стадиях болезни развивается слепота, дыхательная недостаточность. Большинство пациентов умирают до 3-летнего возраста вследствие инфекций, массивных церебральных кровотечений или нейродегенеративных процессов.

Для диагностики БМ используют биохимический и молекулярно-генетический методы. Биохимическим маркером БМ является снижение уровня меди и церулоплазмينا в сыворотке крови, позволяющее с большой степенью вероятности предположить заболевание. Церулоплазмин является белком-транспортёром меди, который снижается в ответ на низкий уровень меди. Сниженные значения меди

и церулоплазмина также характерны для болезни Вильсона-Коновалова, однако в отличие от БМ при данной болезни происходит избыточное накопление меди в органах нервной системы и печени, оказывающей токсический эффект. Данный метод не позволяет с точностью говорить о наличии БМ у ребенка, особенно в неонатальном периоде, так как в этом возрасте снижение уровней меди и церулоплазмина является нормой. Однако при наличии у ребенка других характерных симптомов заболевания необходимо обязательно проводить данное лабораторное исследование.

Современные методы молекулярно-генетической диагностики дефектов в гене АТР7А являются неотъемлемой частью подтверждения диагноза БМ.

Эффективного этиотропного лечения БМ на сегодняшний день не разработано. В литературе предлагаются патогенетические подходы в терапии. Так, представлен положительный эффект в отношении замедления нейродегенеративных процессов при подкожном введении гистидината меди. Наилучшие результаты при использовании данного препарата достигаются в случае раннего начала терапии до появления неврологических нарушений [6].

Цель работы: представить наблюдение БМ у ребенка с целью ранней диагностики данной нозологии и повышения качества медико-генетического консультирования.

Материалы и методы. Пробанд – мальчик 2 лет 10 месяцев, которому проведены ультразвуковое исследование органов брюшной полости, электроэнцефалография, магнитно-резонансная томография (МРТ) головного мозга, исследование уровня меди и церулоплазмина в крови, молекулярно-генетическое исследование. Материалом для молекулярно-генетического исследования послужил образец геномной ДНК пробанда. Выделение ДНК из лейкоцитов периферической крови выполнено методом солевой экстракции. Высокопроизводительное секвенирование проведено на оборудовании NextSeq550 (Illumina, США) с использованием набора для секвенирования NextSeq 550 System Mid-Output Kit (Illumina, США). Для подготовки ДНК «библиотек» использовали набор реагентов Clinical Exome Solution V2 (SOPHiA GENETICS, Швейцария) по протоколу, рекомендованному производителем. Биоинформатический анализ полученных данных проводили с помощью платформы SOPHiA-DDM-v4 (SOPHiA GENETICS, Швейцария). По результатам инструментальных и лабораторных исследований проведено медико-генетическое консультирование семьи с комплексной оценкой полученных данных.

Результаты и их обсуждение. Из анамнеза известно: ребенок от 1 беременности, 1 срочных родов, у клинически здоровых родителей в неродственном браке. Масса тела мальчика при рождении составила 2440 г, длина тела – 47 см. После рождения, с учетом показателей физического развития, ребенок в течение месяца находился на втором этапе выхаживания с диагнозом белково-энергетическая недостаточность.

Первичный осмотр генетика проведен в возрасте 18 месяцев. Показатели физического развития мальчика: масса тела – 9 кг (-1,77 SD), длина тела – 84 см (+0,61SD), окружность головы – 46 см (-1,05 SD). Из анамнеза известно, что на первом году жизни пробанд развивался с задержкой моторного развития: удерживал голову с 3-х месяцев, не сидел, не ползал, не ходил. Наблюдалась выраженная диффузная мышечная гипотония и задержка психо-речевого развития. С учетом преобладающей неврологической симптоматики первично были выполнены лабораторные (генетические) исследования: tandemная масс-спектрометрия (сухие пятна крови), селективный скрининг мочи, молекулярно-генетическая диагностика спинальной

мышечной атрофии, митохондриальных заболеваний, исследование активности лизосомных ферментов в лейкоцитах. По результатам проведенных исследований патологических изменений не было установлено.

В 2 года состояние ребенка ухудшилось: у мальчика появились частые миоклонии, в связи с чем проведено повторное медико-генетическое консультирование. Учитывая прогрессирующий характер заболевания, тяжесть и неспецифичность клинической картины было принято решение о проведении пациенту экзомного секвенирования.

Полученные в результате массового параллельного секвенирования данные прошли биоинформационную обработку, включающую в себя ключевые этапы: оценку качества прочтений, удаление адаптеров и тримминга последовательности, преобразование в bam-файлы, их сортировку и преобразование в vcf формат.

По результатам секвенирования была выявлена нуклеотидная замена c.4084G>C (p.Ala1362Pro) в 21 экзоне гена ATP7A в гемизиготном состоянии. Алгоритм предсказания патогенности SOPHiA-DDM-v4 расценивает данный вариант как вероятно патогенный. Выявленный вариант нуклеотидной замены ранее не описан в литературе, но альтернативные варианты замен в этом кодоне классифицированы как патогенные и описаны при БМ.

Дополнительная оценка патогенетической значимости выявленного варианта проводилась в соответствии с рекомендованным протоколом «Руководство по интерпретации данных последовательности ДНК человека, полученных методами массового параллельного секвенирования» [7].

С учетом полученных результатов NGS для сопоставления данных молекулярно-генетического исследования и фенотипа выполнена повторная консультация невролога и генетика с целью назначения дополнительных лабораторных и функциональных исследований в отношении БМ.

При осмотре ребенка в возрасте 2 лет 10 месяцев определяются черепно-лицевые дисморфии: брахицефалическая форма головы, редкие, тусклые, ломкие волосы, двусторонний птоз век, высокое небо, легкая ретрогнатия; кожа в местах складок дряблая, сухая, гиперпигментированная, слабо развитая подкожная жировая клетчатка, запавшая грудная клетка, крыловидные лопатки. Показатели физического развития: масса тела – 10,5 кг (-2,71 SD), длина тела – 103 см (+1,43 SD), окружность головы – 47 см (-1,79 SD). При оценке неврологического статуса определяется, что ребенок продуктивному контакту недоступен, в речи присутствуют отдельные звуки, взгляд на предмете практически не фиксирует. Наблюдается непостоянное сходящееся косоглазие обоих глаз, поперхивание при глотании; установочное положение головы с поворотом вправо; сухожильно-периостальные рефлексy живые. Отмечается выраженная диффузная гипотрофия, аксиальная мышечная гипотония, прогрессирующий дистальный спастический тетрапарез. Объем пассивных движений в лучезапястных, тазобедренных и голеностопных суставах несколько ограничен вследствие формирующихся мышечных контрактур.

По результатам МРТ головного мозга обнаружены резидуальные глиозные изменения в белом веществе обоих полушарий, уменьшение размеров с участками измененного сигнала в обоих таламусах, минимальное расширение ликворных пространств. Патологии сосудов головного мозга по данным МРТ не обнаружено.

По данным электроэнцефалографии выявлены эпилептиформные изменения в виде частых высокоамплитудных всплеск острых-медленных волн, всплеск полипик-волновой активности.

По результатам офтальмологического осмотра выставлен диагноз: оптиконеуропатия обоих глаз, частичная атрофия зрительных нервов обоих глаз.

В биохимическом анализе крови выявлено снижение уровня меди в сыворотке крови – 59,7 мкв % (референсные значения 70–140 мкв %) и уровня церулоплазмينا – 60,6 мг/л (референсные значения 172–231 мг/л).

По результатам инструментальных, биохимических и молекулярно-генетических исследований, данных, полученных при клиническом осмотре, ребенку установлен диагноз – БМ.

Заключение. БМ – редкая тяжелая болезнь обмена с нейродегенеративными нарушениями. Учитывая гетерогенность и неспецифичность клинических проявлений, ранняя диагностика БМ крайне затруднена.

В случаях развития фармакорезистентных эпилептических приступов с регрессом психомоторных навыков в раннем возрасте, важно иметь настороженность в отношении БМ и оценить дополнительные критерии: изменение внешнего вида и структуры волос, дряблость и сухость кожи, гипотрофия, скелетные деформации и биохимические маркеры.

Современные возможности молекулярно-генетических исследований позволяют установить этиологию заболевания, что является важной составляющей для возможности назначения патогенетической терапии пациенту, а также повышения качества медико-генетического консультирования с оценкой прогноза для сибсов и планированием объема диагностических мероприятий в следующую беременность.

Литература

1. Vairo, F.P.E., Chwal, B.C., Perini, S., Ferreira, M.A.P., de Freitas Lopes, A.C., Saute, J.A.M. A systematic review and evidence-based guideline for diagnosis and treatment of Menkes disease / F.P.E. Vairo [et al.] // *Mol Genet Metab.* – 2019. – Т. 126. – № 1. – pp. 6-13.
2. Tümer, Z., Vural, B., Tønnesen, T., Chelly, J., Monaco, A.P., Horn, N. Characterization of the exon structure of the Menkes disease gene using vectorette PCR / Z. Tümer [et al.] // *Genomics.* – 1995. – Т. 26. – № 3. – pp. 437–442.
3. Tümer, Z., Møller, L.B. Menkes disease / Z. Tümer, L.B. Møller // *Eur J Hum Genet.* – 2010. – Т. 18. – № 5. – pp. 511–518.
4. Fagerberg, L., Hallström, B.M., Oksvold, P., Kampf, C., Djureinovic, D., Odeberg, J., Habuka, M., Tahmasebpour, S., Danielsson, A., Edlund, K., Asplund, A., Sjöstedt, E., Lundberg, E., Szigartyo, C.A., Skogs, M., Takanen, J.O., Berling, H., Tegel, H., Mulder, J., Nilsson, P. Analysis of the human tissue-specific expression by genome-wide integration of transcriptomics and antibody-based proteomics / L. Fagerberg [et al.] // *Mol Cell Proteomics.* – 2014. – Т. 13. – № 2. – pp. 397–406.
5. Притчард, Д.Дж., Корф, Б.Р. Наглядная медицинская генетика / Д.Дж. Притчард, Б.Р. Корф. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2018. – С. 205;
6. Olivares, J.L., Bueno, I., Gallati, S., Ramos, F.J. Late-onset treatment in Menkes disease: is there a correlation between genotype and response to therapy? / J.L. Olivares [et al.] // *Clinical Genetics.* – 2006. – Т. 69. – № 4. – pp. 363–366.
7. Рыжкова, О.П., Кардымон, О.Л., Прохорчук, Е.Б. Руководство по интерпретации данных последовательности ДНК человека, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) (редакция 2018, версия 2) / О.П. Рыжкова, О.Л. Кардымон, Е.Б. Прохорчук // *Медицинская генетика.* – 2019. – Т. 18. – № 2. – С. 3–23.

CLINICAL CASE OF MENKES DISEASE ASSOCIATED WITH A NEW NUCLEOTIDE SUBSTITUTION VARIANT IN THE ATP7A GENE

Suboch K.V.¹, Zimovina T.S.¹, Filipovich E.K.²

¹ *State institution «Republican Scientific and Practical Centre «Mother and Child»,*

² *Belarusian State Medical University,
Minsk, Republic of Belarus*

Menkes disease (OMIM 309400) is a multisystem disorder associated with impaired copper metabolism. The most typical symptoms of the disease are progressive neurodegeneration, connective tissue disturbances and curly, sparse and lusterless hair. The latter symptom gives rise to another name for the disease – «kinky hair» disease. The article presents a clinical case of Menkes disease caused by a likely pathogenic variant in ATP7A gene (c.4084G>C; p.Ala1362Pro).

Keywords: copper metabolism, ATP7A gene, massive parallel sequencing, curly hair.

Поступила 13.10.2023