

О.В. Хлебникова, Е.Л. Дадали

АЛГОРИТМ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ МОНОГЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ РОГОВИЦЫ

ФГБУ «Медико-генетический научный центр» РАМН, 115478, Москва

Представлены результаты изучения клинического полиморфизма и генетической гетерогенности наследственных заболеваний роговицы в виде алгоритма дифференциальной диагностики этой группы заболеваний. Определено практическое значение молекулярно-генетических исследований.

Ключевые слова: наследственные заболевания роговицы, молекулярно-генетические исследования

O.V. Khlebnikova, E.L. Dadali

ALGORITHMS FOR THE DIFFERENTIAL DIAGNOSTICS OF MONOGENIC DISEASES OF THE CORNEA

State budgetary educational institution «Research Centre of Medical Genetics», Russian Academy of Medical Sciences, 115478, Moscow, Russian Federation

The results of investigations into clinical polymorphism and genetic heterogeneity of hereditary diseases of the cornea are presented with special reference to the algorithms for differential diagnostics of this group of pathologies. The practical significance of molecular genetic research is discussed.

Key words: hereditary diseases of the cornea, molecular genetic investigations, genetic heterogeneity

Патология роговицы — группа инвалидизирующих заболеваний, характеризующихся значительным разнообразием этиологических и клинических форм. Однако до настоящего времени в РФ не определена доля генетически обусловленных заболеваний роговицы в общей этиологической структуре этой патологии, недостаточно изучены спектр мутаций, приводящий к моногенным формам дистрофий и, как следствие этого, не определены клинические критерии дифференциальной диагностики клинико-генетического вариантов заболевания.

Большинство авторов изучают клинические особенности наследственных заболеваний роговицы (НЗР), в том числе и стромальных [1—4]. Среди пациентов офтальмологических стационаров пациенты с этой формой заболевания составляют 7,7% от общего числа больных с патологией роговицы, среди них 43,2% имеют решетчатые дистрофии. Ю.Ф. Майчук и соавт. отмечают важность точного определения нозологической формы НЗР для разработки ранней адекватной тактики лечения различных ее форм [3]. Уделяется большое внимание созданию этиопатогенетической классификации наследственных дистрофий роговицы [5, 6]. За рубежом широко проводятся изучения спектра мутаций приводящих к появлению этой патологии [7, 8]. В Украине проводят молекулярно-генетические исследования пациентов со стромальными формами дистрофий роговицы. Авторы отмечают важность определения генетического варианта для уточнения нозологической формы и медико-генетического консультирования [7].

Следует отметить, что 79% клинико-генетических форм НЗР наследуются аутосомно-доминантно, генетический риск для последующих поколений составляет 50% и большая часть нозологических форм заболевания приводит к инвалидности в возрасте до 20 лет. В тоже время мало изучены тактика, результаты хирургического лечения и профилактики НЗР.

Это значительно повышает актуальность проведения клинико-молекулярно-генетических исследований НЗР для разработки методов профилактики и лечения, обуславливает необходимость точной диагностики клинико-генетического варианта с использованием методов ДНК-анализа с целью проведения дородовой диагностики.

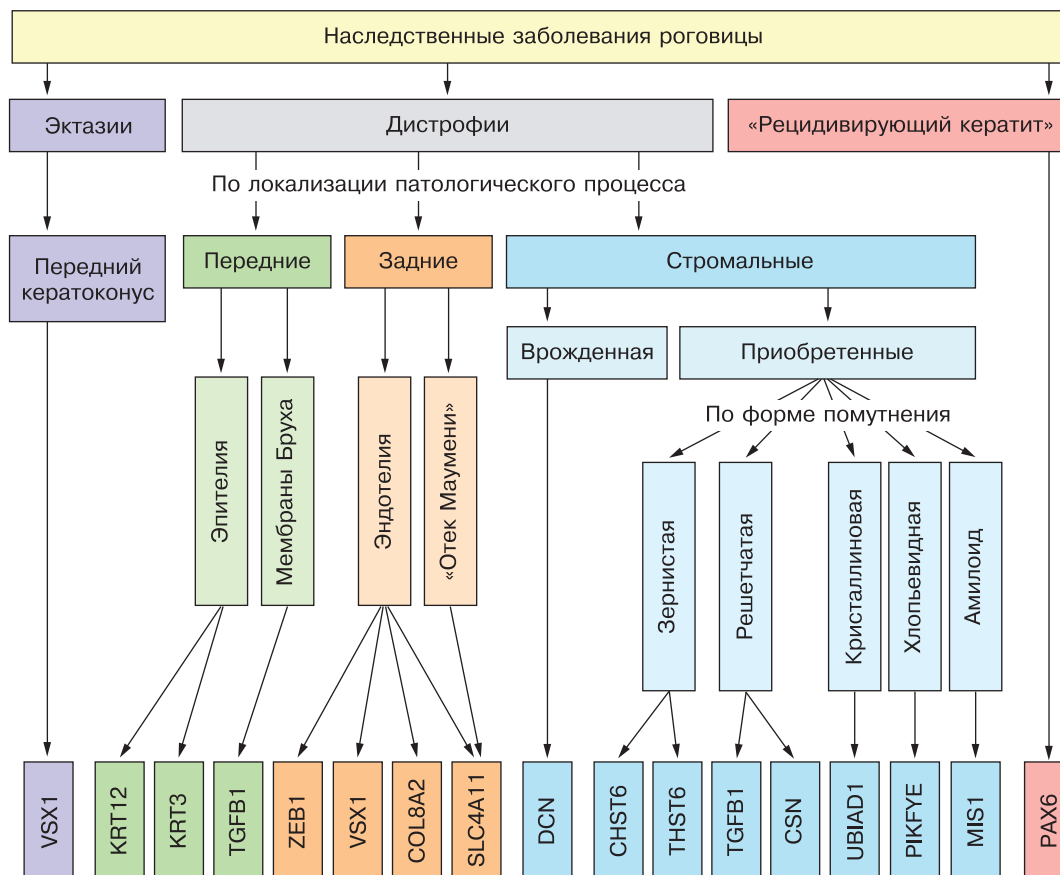
Следует отметить, что значительное количество нозологических форм НЗР может протекать бессимптомно на первых этапах патологического процесса, что затрудняет определение возраста появления НЗР. Считаем целесообразным обратить внимание детских офтальмологов на все формы НЗР.

Цель работы — создать алгоритм дифференциальной диагностики и разработать тактику выбора прямой ДНК-диагностики НЗР для определения тактики хирургического лечения и пренатальной диагностики этого заболевания.

Материал и методы. Для достижения поставленной цели нами проведен анализ собственных наблюдений и данных литературы о генетической гетерогенности, клиническом полиморфизме и особенностях этиопатогенеза отдельных генетических вариантов НЗР.

Результаты и обсуждение. В результате анализа клинического полиморфизма и генетической гетерогенности НЗР можно выделить 27 нозологических форм моногенных заболеваний и врожденных пороков развития, представленных 49 генетическими вариантами. Определена хромосомная локализация 31 гена, ответственного за возникновение этой группы патологии, 18 из которых идентифицированы. Установлены белковые продукты экспрессии выявленных генов и определены их функции. Одни из них являются тканеспецифическими и, экспрессируясь в различных слоях роговицы, формируют ее структуру, другие выполняют транспортные или специфические ферментативные функции, третьи, являясь транскрипци-

Алгоритм выбора генетического варианта НЗР



онными факторами, участвуют в формировании различных органов и тканей в эмбриогенезе или входят в состав соединительнотканых структур глаза.

Таким образом, наследственная патология роговицы, представленная дистрофиями, эктазиями и врожденными пороками развития — это группа заболеваний, этиологическая диагностика которых вызывает значительные трудности у офтальмологов и врачей генетиков.

В настоящее время известно около 35 клинико-генетических форм наследственных дистрофических заболеваний роговицы, которые характеризуются значительным клиническим полиморфизмом и генетической гетерогенностью.

Описаны 3 типа наследования НЗР: аутосомно-доминантный, аутосомно-рецессивный и X-сцепленный рецессивный. К настоящему времени картировано 24 гена, мутации в которых приводят к НЗР.

На схеме представлен алгоритм диагностики НЗР, в которых мы выделили 3 группы. Две группы имеют по одной патологии. Так, эктазии роговицы представлены передним кератоконусом, к возникновению которого приводят мутации в гене VSX1, а, так называемый «рецидивирующий кератит», является заболеванием из группы аллельных вариантов, обусловленных мутациями в гене PAX6. Наиболее многочисленной группой являются дистрофии роговицы, которые включают 3 подгруппы. Выделяют передние, задние и стромальные дистрофии роговицы. Для определения алгоритма молекулярно-генетического анализа ведущее значение имеют особенности локализации патологического процесса. Так, при передних и задних дистрофиях рого-

вицы необходимо определить поражен ли только эпителиальный или эндотелиальный слой или мембрана Бруха, а также определить наличие «отека Маумени». Как видно из схемы, эти патологии обусловлены мутациями в различных генах. При диагностике стромальных дистрофий роговицы в первую очередь необходимо определить возраст начала патологического процесса. Возникновение врожденной патологии показано только при наличии мутаций в гене DCN. При возникновении дистрофии роговицы после периода ее нормального функционирования определение гена («приобретенные»), в котором должен быть проведен поиск мутаций, основан на анализе формы помутнения. Показано, что появление зернистой, амилоидной, решетчатой, кристаллоидной и хлопьевидной форм обусловлено мутациями в различных генах.

Показательным является выбор клинико-генетического варианта НЗР в русской семье К.

Офтальмологическое обследование как больных, так и здоровых членов семьи проводилось офтальмологом на базе ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, а выбор клинико-генетического варианта заболевания и поиск мутаций в соответствующих генах — в ФГБУ «Медико-генетический научный центр» РАМН.

У одного из двух монозиготных близнецов в возрасте 1 года появилось покраснение глаз и ребенок находился на лечении по поводу вирусного конъюнктивита. В возрасте 1 года 5 мес было замечено снижение центральной остроты зрения на оба глаза и впервые обнаружена дистрофия роговицы обоих глаз.

У его брата в возрасте 1 года 8 мес при профилактическом осмотре установлена дистрофия роговицы обоих глаз. При обследовании у 2 sibсов определяется диффузное помутнение роговицы в виде «матового стекла» разной степени тяжести.

В результате сопоставления особенностей клинических проявлений, возраста манифестации заболевания и данных клинико-генетических корреляций для дифференциальной диагностики выбраны 4 клинико-генетических варианта НЗР: врожденная стромальная дистрофия, эндотелиальная дистрофия Фукса 1 тип и 4 тип и эндотелиальная дистрофия, «отек Маумени». Таким образом, в группу дифференциальной диагностики вошли как стромальные, так и эндотелиальные формы дистрофии роговицы.

Нами определены наиболее вероятные гены, мутации в которых могли быть причиной появления заболевания в этой семье: в генах COL8A2 эндотелиальной дистрофии роговицы Фукса 4 типа или SLC4A11 «отек Маумени» тип 2. Методом прямого автоматического секвенирования проведено исследование образца ДНК пациента с целью поиска мутаций в этих генах в Центре Молекулярной Генетики (ген. директор доктор биол. наук, проф. А.В. Поляков).

Выявлены 2, ранее не описанные мутации в гене SLC4A11 замены в экзонах 13 и 14, приводящие к аминокислотным заменам Ser532Leu и Ser609Pro соответственно. При исследовании 100 здоровых контролей (200 хромосом данные замены не обнаружены). Это позволяет предположить, что данные изменения являются патологическими мутациями, приводящими к дистрофии роговицы.

Продукт гена SLC4A11 контролирует транспорт бикарбоната натрия через клеточную мембрану, регулируя pH внутриклеточной среды. В мировой литературе описано 8 мутаций, 5 из которых миссенс (Arg755Gln, Ser489Leu, Gln464Asp, Arg869Cys, Arg869His), одна нонсенс (Arg869Ter) и одна представлена сочетанием делеции и инсерции в сплайсинг-акцепторном сайте интрона 15.

Таким образом, у пациентов установлена эндотелиальная дистрофия роговицы Маумени тип 2, которая наследуется аутосомно-рецессивно, характеризуется врожденным помутнением роговицы, с развитием васкулярной атрофии эндотелия. Типично появление отека эндотелия роговицы на первых месяцах жизни ребенка, затем развивается диффузное помутнение стромы. Глаукома возникает в подростковом возрасте как осложнение. Таким детям ошибочно ставится диагноз кератоувеита или врожденной глаукомы.

В возрасте 30 лет возможно появление сфероидальной дегенерации, атрофии передней стромы, нерегулярного помутнения ее, атрофии эпителия роговицы в центре, субэпителиального фиброза, кальцификатов в роговице как правило нет. В возрасте старше 50 лет появляется вторичная васкулярная глаукома. Врожденных пороков развития переднего отрезка глаза нет.

Эта форма дистрофии роговицы возникает в результате врожденной аномалии развития эндотелия роговицы.

Четвертый вариант дистрофии роговицы Фукса обусловлен мутациями также в гене SLC4A11, возникает в более позднем возрасте — до 5 лет, но имеет аутосомно-доминантный тип наследования. Гистологически определяются нерегулярные и многоядерные клетки эндотелия с пониженной или нормальной

плотностью. Фибриллярные изменения десцеметовой мембраны более характерны для аутосомно-доминантного типа наследования. В этом случае выявляется утолщение передних слоев базальной мембраны.

С помощью клинико-молекулярно-генетических исследований в семье К. установлена одна из форм врожденной эндотелиальной дистрофии — аутосомно-рецессивная эндотелиальная дистрофия роговицы, «отек Маумени», вызванная мутацией в гене SLC4A11. Это позволило определить тактику хирургического лечения, клинический и генетический прогноз. В данной семье возможна пренатальная диагностика дистрофии роговицы.

Выводы

1. Разработан алгоритм клинико-молекулярно-генетической диагностики различных генетических вариантов НЗР, в основу которого положены различия в особенностях клинических проявлений и частоты их встречаемости.
2. Использование этих алгоритмов в практической работе врачей офтальмологов и генетиков позволит осуществлять раннюю диагностику и оптимизировать процесс профилактики, лечения и диспансерного наблюденияотягощенных семей.
3. Целесообразно проводить осмотр всех членовотягощенных семей с помощью щелевой лампы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кански Д. Клиническая офтальмология: систематизированный подход: Пер. с англ. М.: Логосфера; 2006.
2. Крачмер Д., Пэлэй Д. Роговица: Атлас. М.: Логосфера; 2007.
3. Майчук Ю.Ф., Ларина Л.А. Наследственные дистрофии роговицы. В кн.: Вопросы офтальмогенетики: Материалы научно-практической конференции. М.; 2005: 92—7.
4. Рапуано К.Дж., Ви-Джин Хенг. Роговица. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2010.
5. Klintworth G.K. Corneal dystrophies. Orphanet. J. Rare Dis. 2009; 4: 7 doi: 10.1186/1750-1172-4-7.
6. Weiss J.S., Møller H.U., Lisch PhD. W., Kinoshita S., Aldave A.J., Belin Ml.W. et al. The IC3D classification of the corneal dystrophies. Cornea. 2008; 27 (Suppl. 2): S1—41.
7. Пампуха В.Н., Дрожжина Г.И., Лившиц Л.А. Анализ мутаций гена TGFB1 с наследственной дистрофией роговицы. В кн.: Вопросы офтальмогенетики. Материалы научно-практической конференции. М.; 2005: 108—14.
8. McKusick V.A. Online Mendelian inheritance in man. Catalogs of Human Genes and Genetic Disorders. Baltimore; London: John Hopkins, Univ. press; 2010. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/OMIM>.

REFERENCES

1. Kanski D. Clinical ophthalmology: the systematized approach. (Translation from English). Moscow: Logosfera; 2006 (in Russian).
2. Krachmer D., Pjelje D. Cornea: Atlas. (Translation from English). Moscow: Logosfera; 2007 (in Russian).
3. Majchuk Ju.F., Larina L.A. Hereditary dystrophies of a cornea. In: Questions of Ophthalmogenetics: Sci. Conf. Moscow; 2005: 92—7 (in Russian).
4. Rapuano K.Dzh., Vi-Dzhin Heng. Cornea: Atlas. (Translation from English). Moscow: GJeOTAR-Media; 2010 (in Russian).
5. Klintworth G.K. Corneal dystrophies. Orphanet. J. Rare Dis. 2009; 4: 7 doi: 10.1186/1750-1172-4-7.
6. Weiss J.S., Møller H.U., Lisch PhD. W., Kinoshita S., Aldave A.J., Belin Ml.W. et al. The IC3D classification of the corneal dystrophies. Cornea. 2008; 27 (Suppl. 2): S1—41.
7. Pampuha V.N., Drozhzhina G.I., Livshic L.A. The analysis of mutations of a gene of TGFB1 with hereditary dystrophy of a cornea. In: Questions of Ophthalmogenetics: Sci. Conf. Moscow; 2005: 108—14 (in Russian).
8. McKusick V.A. Online Mendelian inheritance in man. Catalogs of Human Genes and Genetic Disorders. Baltimore; London: John Hopkins, Univ. press; 2010. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/OMIM>.

Поступила 30.04.13