

RARE HEREDITARY ECTODERMAL DISEASES: REASONS, MANIFESTATIONS, DIAGNOSIS AND PROPHYLAXIS

Sobol M.V.

РІДКІСНІ СПАДКОВІ ЕКТОДЕРМАЛЬНІ ЗАХВОРЮВАННЯ: ПРИЧИНИ, ПРОЯВИ, ДІАГНОСТИКА ТА ПРОФІЛАКТИКА

В

агато які порушення здоров'я людини мають генетичну основу. Відповідно до цього генетичну спадкову патологію поділяють на три основні групи: хромосомні, моногенні та комплексні, або мультифакторіальні захворювання [1]. Кожна з цих груп деталізується і відповідно поділяється на підгрупи.

Моногенні захворювання складають велику частину генетичної патології та спричинені мутаціями одного гена. Загальна класифікація моногенних захворювань базується на типі хромосом, в яких розташовані мутантні гени, та кількості мутантних алелів, необхідній для прояву захворювання. Відповідно моногенні захворювання поділяються на аутосомні та стать-щеплені, домінантні та рецесивні.

Частота моногенних захворювань різна, однак загальна тенденція є такою, що рецесивні захворювання виникають рідше порівняно з домінантними. На поширення та частоту моногенних захворювань може впливати географічний фактор,

пов'язаний з ефектом засновника, та притаманна певним народам шлюбна ізоляція. Мутації, що спричиняють моногенні захворювання, можуть бути різних типів. До них належать нонсенс/міссенс/сеймсенс та сплайсинг мутації, а також делеції та дуплікації [2].

Особливу групу серед генетично зумовленої патології становлять рідкісні аутосомно-рецесивні генетичні захворювання, частота яких у популяції є невисокою, відповідно зустрічаються вони у лікарській практиці нечасто. Вони мало досліджені та недостатньо описані у спеціалізованій літературі. При появі пацієнта з таким захворюванням можуть виникати труднощі з установленням диференційованого клінічного та лабораторного діагнозу. Тому докладне вивчення та опис рідкісних генетичних захворювань є не менш важливим, ніж дослідження поширених синдромів.

Група аутосомно-рецесивних захворювань охоплює велику кількість різноманітної

СОБОЛЬ М.В.

Національний університет ім. Т.Г. Шевченка, м. Київ, Україна; Упсальський університет, м. Уппсала, Швеція

УДК 575:618.3-06

Ключові слова:
здоров'я популяції,
генетичні захворювання,
ектодермальні
захворювання, діагностика,
профілактика.

РЕДКОСТНЫЕ НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ЭКТОДЕРМАЛЬНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ: ПРИЧИНЫ, ПРОЯВЛЕНИЯ, ДИАГНОСТИКА И ПРОФИЛАКТИКА

Соболь М.В.

Молекулярная диагностика различных типов моногенных заболеваний имеет важное профилактическое значение для своевременного лечения и прогнозирования клинического течения заболеваний. Молекулярно-генетическое обследование супружеских пар в процессе медико-генетического консультирования является необходимым условием для исключения носительства рецессивных мутантных аллелей и эффективного планирования здоровой беременности. При молекулярно-генетическом обследовании для выявления мутаций генов, ассоциированных с различными заболеваниями, используется секвенирование по методу Сенгера и анализ

последовательностей нуклеотидов с использованием соответствующих компьютерных программ. Данная статья дает информацию о двух редких, но четко дифференцированных аутосомно-рецессивных заболеваниях и расширяет информацию о спектре описанных и детализованных эктодермальных заболеваний для отечественных специалистов. На примере синдрома ихтиоза и преждевременного рождения и изолированной дисплазии ногтей рассматривается стратегия выявления мутаций для эффективного лечения и предотвращения моногенных болезней.

Ключевые слова: здоровье популяции, генетические заболевания, эктодермальные заболевания, диагностика, профилактика.

© Соболь М.В. СТАТТЯ, 2011.

7 ENVIRONMENT & HEALTH № 4 2011

спадкової патології, яка супроводжується ураженням будь-яких систем органів. Ураження можуть бути ізольованими або поєднаними з іншими симптомами, внаслідок чого формується патологічні синдроми. Особливість цих захворювань полягає у тому, що вони рідко зустрічаються у популяції, порівняно з групою аутосомно-домінантних генетичних захворювань, тому для деяких, як наприклад для синдрому Нетертона, описано лише кілька десятків випадків, інші більш поширені, приміром, пігментна ксеродерма та фенілкетонурія.

В Україні ця група представлена, як і в усьому світі. Однак лише кілька аутосомно-рецесивних захворювань обговорюються активно, решта залишається у тіні. Наприклад, велика увага приділяється фенілкетонурії та муковісцидозу [3-5], і це є абсолютно справедливим, оскільки вони зустрічаються досить часто. Запроваджено кілька державних скринінгових програм для найбільш поширених генетичних захворювань [5-8]. Водночас існує велика кількість моногенних аутосомно-рецесивних захворювань, які рідко зустрічаються у популяції і не є пріоритетними для досліджень. Однак це не зменшує страждань пацієнтів та їхніх родичів, не знімає відповідальності з лікарів у процесі правильної діагностики та впровадженні найбільш ефективних методів лікування та профілактики.

Схему поєднання діагностики та профілактики моногенних захворювань можна розглянути на прикладі аутосомно-рецесивної форми іхтіозу та ектодермальної дисплазії.

Вроджені іхтіози — це велика гетерогенна група захворювань, які пов'язані насамперед з дефектами кератинізації [9, 10]. Частота різних форм вро-

джених іхтіозів варіює від 1/300 (іхтіоз звичайний) до 1/300000 (ламельярний іхтіоз та бульозний іхтіоз) [9, 11]. Ця група захворювань є гетерогенною за своїми проявами та ступенем ураження шкірних покривів та інших систем органів. Деякі вроджені форми, наприклад іхтіоз арлекіна, несумісні з життям і призводять до смерті у пренатальний або ранній неонатальний період.

Ектодермальні дисплазії є великою групою захворювань, які характеризуються вродженими дефектами одного або кількох похідних ектодермального зародкового листка, до яких належать волосся, нігті, зуби та потові залози. Досить часто ці патології можуть поєднуватись у фенотипі з патологіями інших органів ектодермального або мезодермального походження, рідше — ентодермального [12].

На сьогодні описано близько 200 різних видів ектодермальних дисплазій [12, 13], і лише для 62 з них встановлено асоціацію з дефектами певних генів (64 гени) або з хромосомними ділянками (3 випадки) [14]. Ектодермальні дисплазії можуть виникати як спорадичні випадки. Також для цієї групи захворювань описано всі типи спадкування генетично зумовленої патології, а саме: аутосомно-домінантний, аутосомно-рецесивний, Х-зчеплений домінантний та рецесивний. Частота їх виникнення у світі становить приблизно 7 випадків на 10000 новонароджених [12].

Ці дві великі групи захворювань часто переплітаються між собою у сенсі клінічних проявів. Досить часто синдроми, домінуючими проявами яких є дефекти кератинізації, супроводжуються дефектами різних органів та утворень ектодермального походження (наприклад одонто-оніхо-дермальна дисплазія).

Нещодавно у літературі було описано два рідкісні захворювання ектодермального походження: синдром іхтіозу та передчасного народження (СІПН) та ізольована дисплазія нігтів (ІДН) [15, 16]. Для них вперше встановлено генетичні причини виникнення та з'ясовано механізми патогенезу.

Мета роботи — розглянути методологію молекулярно-генетичного обстеження хворих та

їхніх родин на прикладі двох ектодермальних моногенних хвороб для ефективного попередження, лікування та прогнозування моногенних захворювань.

Методи. Молекулярне обстеження пацієнтів та їхніх родичів проводилося на основі встановлення послідовностей нуклеотидів генів, що асоційовані з певним захворюванням. Залежно від спектру відомих мутацій з діагностичною метою могли аналізуватися структури вибіркового ділянок того чи іншого гена або здійснювати повний аналіз усіх екзонів та приекзонних ділянок гену при широкому спектрі мутацій.

Секвенування за методом Сенгера широко використовувалося для встановлення послідовності нуклеотидів різних ділянок генома з метою виявлення мутацій різних генів. Цей метод ґрунтується на використанні ди-деоксинуклеотидів, мічених специфічними флуорофорами, у суміші вільних деоксинуклеотидів для вибудовування фрагмента ДНК [15]. При вибудовуванні у фрагмент ди-деоксинуклеотиди викликають термінацію синтезу фрагмента, внаслідок чого отримують фрагменти з усіма можливими розмірами. Згодом фрагменти розділяють за допомогою гелю або капілярного електрофорезу. Лазер розпізнає специфічний сигнал для кожного флуорофору і таким чином "читається" послідовність ДНК. Використання цього методу є доцільним за наявності інформації про ділянку, яку необхідно секвенувати. У ситуаціях пошуку випадкових варіантів генома використовують екзомне секвенування або повногеномне секвенування. Для пошуку вихідних послідовностей екзонів досліджуваних генів використовуються, наприклад, ресурси бази даних Ensembl. Дизайн праймерів для ПЛР та реакції секвенування можна здійснювати з використанням програми Primer 3.

У наших дослідженнях ми спочатку ампліфікували кожен екзон за допомогою полімеразно-ланцюгової реакції, продукт якої згодом використовується для секвенування. Послідовність нуклеотидів була отримана з використанням Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing chemistry (Applied Biosystems) та ABI 3730 DNA Analyzer (Applied Biosys-

RARE HEREDITARY ECTODERMAL DISEASES: REASONS, MANIFESTATIONS, DIAGNOSIS AND PROPHYLAXIS

Sobol M.V.

Molecular diagnostic of different types of monogenic disorders is very important for correct treatment and clinical prognosis of disorders.

Molecular and genetic investigation of couples is necessary for determining of carriers of recessive mutations and successful planning of healthy

pregnancy. Sanger sequencing technique is widely used for detection of gene mutations associated with certain disorders. Presented paper includes the information about two rare and defined autosomal-recessive diseases. It updates the knowledge of local specialists about the spectrum of ectodermal diseases.

Keywords: health, genetic diseases, ectodermal diseases, diagnostic, prevention.

stems) згідно зі стандартними рекомендаціями компанії виробника. Генерація результативних даних здійснювалась за допомогою Sequencing Analysis v 5.2 (Applied Biosystems). Аналіз масиву даних проводився з використанням програми Sequencer software, version 4.1 (Gene Codes Corporation).

Результати та обговорення. Синдром іхтіозу та передчасного народження є вродженим спадковим захворюванням, для якого характерна наявність тріади основних симптомів: передчасне народження, щільний казеозний сквамозний епітелій та неонатальна асфіксія [16, 17]. СІПН спричиняється різними мутаціями гена ацил-КоА-синтетази FATP4. Спектр мутацій цього гена є досить широким. Серед хворих на СІПН описано 11 різних його мутацій: дві нонсенс (p.G35X; p.C168X), сім міссенс (p.A92T; p.S247P; p.Q300R; p.R374C; p.V477D; p.R504H; p.R583H) та дві сплайсинг мутації (c.716-1g>a; c.988-2a>g) [16, 19, 20]. Автором цієї статті вперше виявлено три мутації з наведеного вище списку: p.G35X, p.V477D та p.R504H [19]. З метою спростування або підтвердження випадковості факту асоціації наведених змін з патологічним фенотипом було перевірено наявність змін нуклеотидної послідовності серед 100 контрольних зразків ДНК, отриманих від здорових донорів. Не було виявлено згаданих змін нуклеотидної послідовності у зразках ДНК від 100 осіб контрольної групи. Також мутації було виключено як загальні варіанти або поліморфізми шляхом порівняння з базою даних поліморфізмів dbSNP 131.

Пошук мутацій проводився за стандартними протоколами секвенування за методом Сенгера. З використанням комп'ютерної програми Sequencer software

v. 4.1 проаналізовано послідовності нуклеотидів та виявлено наведені зміни. Більшість носіїв мутацій має скандинавське походження, хоча встановлено кілька випадків мутацій FATP4 в осіб з південної Європи та північної Африки [16]. Домінуючою за частотою є нонсенс-мутація p.C168X, яка у гомозиготному або компаунд-гетерозиготному стані наявна у більшості описаних пацієнтів.

В епідермісі хворих на СІПН порушене співвідношення довгих та дуже довгих жирних кислот. Спостерігається знижена активація дуже довгих жирних кислот порівняно з довгими жирними кислотами, що виявляється у зниженому проценті вбудовування дуже довгих жирних кислот у комплексні ліпіди (холестеролів, тригліцеридів, фосфоліпідів) порівняно з контролем [16]. Наслідком таких змін стає порушення бар'єрних функцій шкіри, адже дуже довгі жирні кислоти є складовими найважливіших ліпідів у роговому шарі епідермісу.

Синдром іхтіозу та передчасного народження є потенційно летальним синдромом, оскільки супроводжується асфіксією новонароджених та можливими бронхіальними ускладненнями [18]. Тому важливою для нього може стати пренатальна діагностика, що надасть змогу лікарям вчасно провести інтубацію новонародженого, своєчасне впровадження якої значно зменшує ймовірність летальності. Також рання молекулярна діагностика СІПН та відповідно встановлення диференційованого діагнозу надасть змогу прогнозувати перебіг захворювання та надавати вичерпні відповіді щодо можливих ускладнень протягом життя хворого.

Симптомами ізольованої дисплазії нігтів є гіпертрофія нігтьових пластинок пальців рук

та ніг, відшарування нігтьових пластинок від нігтьового ложа. Також у хворих спостерігається деформація форми нігтів з розвитком кігтьоподібних утворень. Це захворювання не поєднане у фенотипі з порушеннями будь-яких інших ектодермальних утворень та органів (волосся, зубів, потових залоз або шкіри). У хворих не фіксується розладів слуху або неврологічних симптомів. При обстеженні двох родин пакистанського походження було визначено асоціацію успадкування ІДН з успадкуванням мутації гена FZD6 [17]. Шляхом секвенування за методом Сенгера всіх кодуючих екзонів гена FZD6 було встановлено послідовності нуклеотидів. У результаті аналізу послідовностей описано два різних типи мутацій цього гена: нонсенс-мутація p.E584X та міссенс-мутація p.R511C. Для цих змін було виключено зустрічність у здоровій популяції шляхом секвенування відповідних екзонів гена FZD6 у 94 контрольних зразках ДНК донорів пакистанського походження та 110 зразках ДНК здорових осіб європейського походження. Також мутації були виключені як загальні варіанти або поліморфізми з використанням бази даних поліморфізмів dbSNP 131.

Докладний опис сегрегації мутацій у межах кожної з обстежених родин та позиціювання мутацій відносно структури білка FZD6 наведено у статті [17]. У всіх пацієнтів спостерігається кореляція між фенотиповими проявами захворювання та типом мутації. Так, нонсенс-мутація пов'язана з тяжкою формою перебігу дисплазії нігтів, у той час як міссенс-мутація корелювала зі слабшими проявами ІДН.

У випадку ізольованої дисплазії нігтів важливі органи та системи не є ураженими, тому

передження та лікування моногенної патології. Ця стаття надає інформацію про два рідкісні, але чітко диференційовані, аутосомно-рецесивні ектодермальні захворювання та розширює інформацію про спектр описаних і деталізованих ектодермальних захворювань для вітчизняних фахівців.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бочков Н.П. Клиническая генетика / Н.П. Бочков. — М.: Гэотар-Мед, 2002. — 448 с.
2. Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика / И.Ф. Жимулев. — Новосибирск: Сибирское университетское издательство, 2003. — 478 с.
3. Соловйов О.О. Скрининг мутантних варіантів 5, 7, 12 гена фенілаланінгідроксилази з використанням денатуруючого градієнтного гель-електрофорезу / О.О. Соловйов, Л.А. Лівшиць // Цитология и генетика. — 2009. — Т. 43, № 4. — С. 20-24.
4. Кашин О.І. Особливості розподілу крапкових нуклеотидних поліморфізмів гена ІЛ-10 при муковісцидозі / О.І. Кашин, Д.В. Заставна, Г.В. Макух // Цитология и генетика. — 2006. — Т. 40, № 3. — С. 40-44.
5. Озерова Л.С. Селективный скрининг на муковісцидоз / Л.С. Озерова // Актуальні проблеми акушерства і гінекології, клінічної імунології та медичної генетики. — 2010. — Вип. 19. — С. 354-357.
6. Пічкур Н.О. Лікування спадкових метаболічних захворювань: досвід та перспективи / Н.О. Пічкур, Н.В. Ольхович, Н.Г. Горovenko // Актуальні проблеми акушерства і гінекології, клінічної імунології та медичної генетики. — 2010. — Вип. 19. — С. 381-390.
7. Горovenko Н.Г. Диспансеризація хворих на муковісцидоз та членів їхніх сімей / Н.Г. Горovenko // Український медичний часопис. — 2000. — № 1 (15). — № 3. — С. 107-111.
8. Князевич В.М. Розвиток національної системи охорони здоров'я: стан, перспективи та шляхи розбудови / В. М. Князевич // Східноєвропейський журнал громадського здоров'я. — 2008. — № 3. — С. 23-37.
9. Vahlquist A Congenital ichthyosis: an overview of current and emerging therapies / A. Vahlquist, A. Ganemo, M. Virtanen // Acta Derm Venereol. — 2008. — Vol. 88 (1). — P.4-14.
10. Федота А.М. Цитогенетический анализ ихтиоза / А.М. Федота, Т.М. Ткачова // Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія: біологія. — 2010. — Вип. 11, № 905. — С. 111-119.
11. Krug M. Ichthyoses-Part 2: Congenital ichthyoses / M. Krug, V. Oji, H. Traupe et al. // J. Dtsch. Dermatol Ges. — 2009. — Vol. 7 (7). — P. 577-88.
12. Itin P.H. Ectodermal dysplasias / P.H. Itin, S.K. Fistarol // Am. J. Med. Genet. C. Semin. Med. Genet. — 2004. — Vol. 131, C (1). — P. 45-51.
13. Irvine A.D. Towards a unified classification of the ectodermal dysplasias: opportunities outweigh challenges / A.D. Irvine // Am. J. Med. Genet. — 2009. — Vol. 149 A (9). — P. 1970-2.
14. Visinoni A.F. Ectodermal dysplasias: clinical and molecular review / A.F. Visinoni, T. Lisboa-Costa, N.A. Pagnan et al. // Am. J. Med. Genet. — 2009. — Vol. 149 A (9). — P. 1980-2002.
15. Sanger F. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors / F. Sanger, S. Nicklen, A.R. Coulson // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1977. — Vol. 74 (12). — P. 5463-7.
16. Klar J. Mutations in the fatty acid transport protein 4 gene cause the ichthyosis prematurity syndrome / J. Klar, M. Schweiger, R. Zimmerman et al. // Am. J. Hum. Genet. — 2009. — Vol. 85 (2). — P. 248-53.
17. Frojmark A.-S. Mutations in Frizzled 6 Cause Isolated Autosomal-Recessive Nail Dysplasia / A.-S. Frojmark, J. Schuster, M. Sobol et al. // Am. J. Hum. Genet. — 2011. — Vol. 88 (6). — P. 852-860.
18. Brusasco A Ichthyosis congenita type IV: a new case resembling diffuse cutaneous mastocytosis / A. Brusasco, C. Gelmetti, G. Tadini et al. // Br. J. Dermatol. — 1997. — Vol. 136 (3). — P. 377-9.
19. Sobol M. FATP4 missense and nonsense mutations cause similar features in Ichthyosis Prematurity Syndrome / M. Sobol, N. Dahl, J. Klar // BMC Research Notes. — 2011. — Vol. 4 (9). — <http://www.biomedcentral.com/1756-0500/4/90>.
20. Morice-Picard F A novel mutation in the fatty acid transport protein 4 gene in a patient initially described as affected by self-healing congenital verruciform hyperkeratosis / F. Morice-Picard, C. Leaute-Labreze, A. Decor et al. // Am. J. Med. Genet. — 2010. — Vol. 152 A (10). — P. 2664-5.

Надійшла до редакції 12.04.2011.

це захворювання є сумісним з життям. Його прояви мають переважно негативний косметичний характер. Рання молекулярна діагностика ІДН допоможе лікарям прогнозувати перебіг захворювання та виключити ймовірність пізньої маніфестації будь-яких інших симптомів.

Важливим аспектом для обох наведених генетично зумовлених захворювань є генетичне консультування родин, в яких зустрічалися сімейні або спорадичні випадки цих патологій. Молекулярне обстеження подружньої пари, що вже має хвору дитину, на наявність мутацій, характерних для захворювання, надасть можливість оцінити спорадичність або сімейний характер хвороби у межах цієї родини. Відповідно знання про наявність мутації в одного з батьків може допомогти у плануванні та реалізації здорової вагітності. Обстеження подружніх пар на факт носійства різних рецесивних мутацій, за бажанням обох членів родини, які планують першу вагітність, може також сприяти плануванню вагітності та народженню здорової дитини. Така схема медико-генетичного консультування може розглядатись як своєрідний профілактичний захід для моногенних захворювань.

Висновки

Молекулярна діагностика різних типів моногенних захворювань має надзвичайно важливе профілактичне значення для своєчасного лікування та прогнозування клінічного перебігу хвороб. Молекулярно-генетичне обстеження подружніх пар у процесі медико-генетичного консультування є необхідною умовою для виключення носійства рецесивних мутантних алелів та ефективного планування здорової вагітності. Ці дві складові є необхідними для процесу по-