

Клинико-генетическая характеристика муколипидоза II и IIIA типов у детей

А.Н. Семячкина¹, Е.Ю. Воскобоева², Т.М. Букина², А.М. Букина², Е.А. Николаева¹, И.С. Данцев¹, М.Н. Харабадзе¹, Ю.И. Давыдова¹

¹ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева» ФГБОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва;

²ФГБУ «Медико-генетический научный центр», Москва, Россия

Clinical and genetic characteristics of mucopolipidosis II and IIIA types in children

A.N. Semyachkina¹, E.Yu. Voskoboeva², T.M. Bukina², A.M. Bukina², E.A. Nikolaeva¹, I.S. Dantsev¹, M.N. Kharabadze¹, Yu.I. Davydova¹

¹Academician Yu.E. Veltishchev Research Clinical Institute of Pediatrics, N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

²Medical Genetics Research Center, Moscow, Russia

Статья посвящена редкой патологии из группы болезней накопления с аутосомно-рецессивным типом наследования – муколипидозу II и IIIA типов. Заболевание отличается большим фенотипическим сходством с мукополисахаридозом.

Цель работы: анализ геофенотипических показателей у российских больных с муколипидозом II и IIIA типов. Активность лизосомных ферментов в плазме (β-глюкуронидазы, общей гексозаминидазы и N-ацетил-альфа-D-глюкозаминидазы) измерялась по стандартной методике с использованием хромогенных и флюорогенных субстратов. Геномная ДНК лейкоцитов периферической крови выделялась с помощью набора реактивов Preb 100 (DIAtom™). Амплификация всех экзонов гена *GNPTAB* проводилась методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим прямым нерадиоактивным секвенированием по Сэнгеру. Обследованы 50 больных в возрасте от 1,5 до 10 лет. Клиническая симптоматика болезни включала: Гурлер-подобный фенотип, задержку роста, поражение скелета, сердца и сосудов, ЦНС. Муколипидоз II типа (I-клеточная болезнь) отличался более тяжелым течением. Клинический диагноз был подтвержден результатами лабораторных методов исследования: нормальными показателями почечной экскреции гликозаминогликанов (GAG), высокой (в 5–15 раз выше нормы) активностью лизосомных гидролаз в плазме крови и выявлением мутаций в гене *GNPTAB*.

Полностью генотипированы 35 пробандов. У 8 больных выявлено только 8 мутантных аллелей; у 7 – мутации не обнаружены. Найдено 6 новых мутаций в экзонах 1 (p.I31N; p.Q36P), 10 (p.L398P), 11 (p.W446X) и 13 (p.S738X; c.2250delT), в том числе частая для российских больных мутация p.S738X (21% аллелей). Наиболее частой (31,4% аллелей) в российской когорте пациентов оказалась известная мелкая делеция c. 3503_3504delTC, приводящая к сдвигу рамки считывания.

Представлено клиническое наблюдение ребенка с муколипидозом II типа (I-клеточная болезнь) с типичной симптоматикой заболевания, обусловленной двумя нонсенс-мутациями гена *GNPTAB*: p.S738X/p.R375X.

В заключение подчеркивается, что идентификация мутаций гена *GNPTAB* обеспечивает прогнозирование тяжести течения болезни, понимание механизмов ее развития, что будет способствовать разработке методов патогенетического лечения, улучшению качества жизни больных и эффективному медико-генетическому консультированию.

Ключевые слова: дети, муколипидоз II типа, муколипидоз III типа, ген *GNPTAB*, мутации p.S738X, c. 3503_3504delTC, лизосомные ферменты, диагностика.

Для цитирования: Семячкина А.Н., Воскобоева Е.Ю., Букина Т.М., Букина А.М., Николаева Е.А., Данцев И.С., Харабадзе М.Н., Давыдова Ю.И. Клинико-генетическая характеристика муколипидоза II и IIIA типов у детей. Рос вестн перинатол и педиатр 2017; 62:(3): 71–78. DOI: 10.21508/1027-4065-2017-62-3-71-78

The article is devoted to a rare pathology from a group of accumulation diseases with an autosomal recessive type of inheritance – mucopolipidosis II and IIIA types. The disease is characterized by a greater phenotypic similarity to mucopolysaccharidosis.

Objective: analysis of genophenotypic parameters in Russian patients with mucopolipidosis II and IIIA types. The activity of lysosomal enzymes in plasma (β-glucuronidase, total hexosaminidase and N-acetyl-α-D-glucosaminidase) was measured using a standard technique using chromogenic and fluorogenic substrates. Genomic DNA of peripheral blood leukocytes was isolated using a set of reagents Preb 100 (DIAtom™). Amplification of all exons of the *GNPTAB* gene was carried out by polymerase chain reaction (PCR) followed by direct non-radioactive sequencing by Sanger.

50 patients aged from 1.5 to 10 years were examined. The clinical symptoms of the disease included: a Hurler-like phenotype, growth retardation, skeletal, cardiac and vascular damage, and CNS. Mucopolipidosis type II (I-cell disease) was characterized by a more severe course. The clinical diagnosis was confirmed by the results of laboratory methods of investigation: normal parameters of renal excretion of glycosaminoglycans (GAG), high (5–15 times higher than normal) activity of lysosomal hydrolases in blood plasma and detection of mutations in the *GNPTAB* gene.

35 probands are completely genotyped. In 8 patients only 8 mutant alleles were detected; 7 mutations were not detected. Six new mutations in exons 1 (p.I31N; p.Q36P), 10 (p.L398P), 11 (p.W446X) and 13 (p.S738X; c.2250delT) were found, including a frequent mutation for Russian patients p.S738X (21% alleles). The most common (31.4% alleles) in the Russian cohort of patients was a known small deletion c. 3503_3504delTC, leading to a reading frameshift.

A clinical observation of a child with type 2 mucopolipidosis (I-cell disease) with typical symptomatology of the disease caused by two nonsense mutations of the *GNPTAB* gene is presented: p.S738X / p.R375X.

In conclusion, it is emphasized that the identification of mutations of the *GNPTAB* gene provides prediction of the severity of the disease course, an understanding of the mechanisms of its development that will contribute to the development of pathogenetic treatment methods, improving the quality of life of patients and effective medical and genetic counseling.

Key words: children, type II mucopolipidosis, type III mucopolipidosis, GNPTAB gene, mutations p.S738X, c. 3503_3504delTC, lysosomal enzymes, and diagnosis.

For citation: Semyachkina A.N., Voskoboeva E.Yu., Bukina T.M., Bukina A.M., Nikolaeva E.A., Dantsev I.S., Kharabadze M.N., Davydova Yu.I. Clinical and genetic characteristics of mucopolipidosis II and IIIA types in children. *Ros Vestn Perinatol i Pediatr* 2017; 62:(3): 71–78 (in Russ). DOI: 10.21508/1027-4065-2017-62-3-71-78

Широкий диапазон нозологических форм болезней накопления (около 50), их фенотипическое сходство, а также плохое знание врачами этой большой группы орфанных заболеваний, как правило, приводят к ошибкам в диагностике и неверному медико-генетическому консультированию семей. Среди наследственных болезней накопления особого внимания заслуживают муколипидозы — болезни, не только имеющие поразительное внешнее сходство с мукополисахаридозами, но и занимающие по частоте второе место после них.

Первые сведения о муколипидозах появились в литературе в конце 60-х годов прошлого столетия. Были описаны наблюдения пациентов, имеющих наряду с внешними признаками мукополисахаридозов ряд специфических особенностей, не свойственных данной группе болезней (гиперплазия десен, симптом «вишневой косточки» на глазном дне, мелкие орбиты, экзофтальм и пр.). Вскоре эти заболевания были выделены в самостоятельную группу болезней накопления и получили название муколипидозов. Первая классификация муколипидозов включала 4 типа: I, II, III и IV [1].

У больных с муколипидозом I типа было обнаружено повышенное содержание сиалоолигосахаридов в моче. Несколько позже был выявлен биохимический дефект — недостаточность фермента альфа-N-ацетил-нейраминидазы (сиалидазы), определен ген *NEUI*,

кодирующий данный фермент, и установлена его локализация на коротком плече хромосомы 6 (6p21.33). На основании полученных данных заболевание было отнесено к группе сиалидозов, и в настоящее время термин «муколипидоз, тип I» практически не употребляется.

Муколипидоз IV типа — болезнь накопления, обусловленная нарушением работы кальциевого канала вследствие мутаций в гене *MCOLN1*, расположенного на коротком плече хромосомы 19 (19p13.2). Заболевание, которое в настоящее время относят к группе ганглиозидозов, имеет аутосомно-рецессивный тип наследования и в основном встречается в популяции евреев-ашкенази (80% всех диагностированных случаев).

Таким образом, согласно современной классификации, муколипидозы представлены двумя типами заболевания — муколипидоз II (I-клеточная болезнь) и муколипидоз III [1]. Последний разделяют на два подтипа — муколипидоз IIIA (псевдогурлерполидистрофия) и муколипидоз IIIC. Муколипидозы II и III обусловлены мутациями генов *GNPTAB* и *GNPTG*, кодирующих фермент N-ацетилглюкозамин-1-фосфотрансферазу. В результате недостаточности этого фермента происходит нарушение присоединения маннозо-6-фосфата к лизосомным ферментам. Маннозо-6-фосфат является главным опознающим маркером, который доставляет в лизосомы лизосомные ферменты. При отсутствии связи маннозо-6-фосфата с лизосомными ферментами последние не распознаются клеткой и поэтому не поступают в лизосомы, что приводит к их тотальному дефициту [1]. Фермент N-ацетилглюкозамин-1-фосфотрансфераза представлен гексадимером, состоящим из двух альфа-, двух бета- и двух гамма-субъединиц; он базируется на мембране комплекса Гольджи [2].

Установлено, что ген *GNPTAB* расположен на длинном плече хромосомы 12 в локусе 12q23.3, имеет размер 85 тыс. пар нуклеотидов, состоит из 21 экзона, разделенных 20 интронами. Ген *GNPTAB* кодирует альфа- и бета-субъединицы фермента N-ацетилглюкозамин-1-фосфотрансферазы, и мутации в этом гене ответственны за формирование клинической картины муколипидозов II (I-клеточная болезнь) и IIIA (псевдогурлерполидистрофия) типов [3]. В настоящее время в гене *GNPTAB* описано 169 мутаций, среди которых почти половину (78) составляют миссенс- и нонсенс-мутации; 70 мутаций представлены мелкими делециями и вставками, на долю сайта-сплайсинга приходится 18 мутаций, тогда как крупных делеций и дупликаций известно всего 3.

© Коллектив авторов, 2017

Адрес для корреспонденции: Семьякина Алла Николаевна — д.м.н., гл. научн. сотр. отдела психоневрологии и наследственных заболеваний с нарушением психики НИКИ педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева
Николаева Екатерина Александровна — д.м.н., рук. отдела психоневрологии и наследственных заболеваний с нарушением психики НИКИ педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева

Данцев Илья Сергеевич — врач отделения врожденных и наследственных заболеваний с поражением центральной нервной системы с нарушением психики у детей НИКИ педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева
Харабадзе Малвина Нодариевна — к.м.н., зав. отделением врожденных и наследственных заболеваний с поражением центральной нервной системы с нарушением психики у детей НИКИ педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева

Давыдова Юлия Игоревна — врач отделения врожденных и наследственных заболеваний с поражением центральной нервной системы с нарушением психики у детей НИКИ педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева
125412 Москва, ул. Талдомская, д. 2

Воскобоева Елена Юрьевна — к.м.н., вед. научн. сотр. лаборатории генетики наследственных болезней обмена веществ Медико-генетического научного центра

Букина Татьяна Михайловна — к.б.н., ст. научн. сотр. лаборатории генетики наследственных болезней обмена веществ Медико-генетического научного центра

Букина Анна Михайловна — научн. сотр. лаборатории генетики наследственных болезней обмена веществ Медико-генетического научного центра
115478 Москва, ул. Москворечье, д. 1

Ген *GNPTG* локализован на коротком плече хромосомы 16 в локусе 16p13.3. Мутации в гене *GNPTG*, избирательно кодирующем гамма-субъединицу фермента N-ацетилглюкозамин-1-фосфотрансферазы, ведут к развитию муколипидоза ППС (или III-гамма) типа [4].

Муколипидоз II типа (I-клеточная болезнь) впервые описан J. Leغو и R. Demars в 1967 г. Манифестация заболевания начинается с рождения. Клинические проявления во многом сходны с симптоматикой мукополисахаридоза I типа — синдромом Гурлер. Больные резко отстают в росте, имеют выраженные изменения костей черепа и скелета (короткая шея и грудная клетка, врожденный вывих бедра, контрактуры суставов, мелкие глазницы, приводящие, как правило, к умеренному экзофтальму). Наряду с этими признаками, обращают также на себя внимание грубые черты лица, отекающие веки, гиперплазия десен, паховые, пахово-мошоночные и пупочные грыжи, глубокая умственная отсталость. Гепатоспленомегалия и помутнение роговицы обычно отсутствуют или выражены незначительно.

У большинства больных диагностируется поражение сердца. Следует обратить внимание, что у новорожденных детей с муколипидозом нередко первым признаком заболевания может быть кардиомегалия с развитием застойной сердечной недостаточности. Имеются также сообщения о формировании obstructивной (септальной) гипертрофической кардиомиопатии, приводящей к внезапной смерти ребенка. Для детей более старшего возраста наиболее характерно поражение аортального и митрального клапанов с соответствующей клинической симптоматикой.

Для I-клеточной болезни свойственно прогрессирующее течение. Дети с этой формой, как правило, погибают на втором—третьем году жизни от тяжелого поражения бронхолегочной и сердечно-сосудистой систем [1].

Муколипидоз IIIA типа (псевдогурлерполидистрофия) был впервые описан V. McKusick и соавт. в 1965 г. Этот тип муколипидоза отличается от I-клеточной болезни более поздней манифестацией (чаще на втором году жизни), менее тяжелым течением, нормальным или незначительным снижением интеллекта (у 50% больных), благоприятным жизненным прогнозом (больные обычно доживают до зрелого или пожилого возраста). Заболеванию свойственны: низкий рост, укорочение туловища и верхних конечностей, тугоподвижность суставов, сколиоз, утолщение ключиц, грубые черты лица, помутнение роговицы, грыжи. Вовлечение в патологический процесс сердечно-сосудистой системы характеризуется, как правило, повреждением клапанного аппарата сердца с развитием аортальной недостаточности, реже — аортального стеноза [5].

Муколипидоз ППС типа — наиболее легкая и доброкачественная форма болезни.

Цель работы: анализ генофенотипических показателей у российских больных с муколипидозом II и IIIA типов.

Характеристика детей и методы исследования

Под наблюдением находились 50 больных с муколипидозом II и IIIA типов (19 мальчиков, 31 девочка, возраст больных от 1 года 6 мес до 10 лет). Диагноз был поставлен на основании совокупности фенотипических признаков, результатов биохимических и молекулярно-генетических методов исследования (мутации в гене *GNPTAB*).

Первый этап биохимической диагностики муколипидозов II и IIIA типов базировался на определении показателей почечной экскреции гликозаминогликанов. Нормальное содержание гликозаминогликанов в моче больных свидетельствовало о правильности предполагаемого диагноза муколипидоза и позволяло исключить у больных фенотипически сходные болезни накопления — мукополисахаридозы.

Вторым этапом биохимической диагностики муколипидозов было определение активности ряда лизосомных ферментов в плазме крови. Среди таких ферментов наиболее информативными оказались следующие: бета-D-глюкуронидаза, N-ацетил-альфа-D-глюкозаминидаза и гексозаминидаза (общая). Повышение активности перечисленных лизосомных гидролаз в 5—15 раз служило важным диагностически подтверждающим маркером муколипидоза.

Измерение активности лизосомных ферментов — бета-глюкуронидазы, гексозаминидазы (общей) и N-ацетил-альфа-D-глюкозаминидазы проводилось в плазме пациентов по стандартной методике с использованием хромогенных и флюорогенных субстратов [6]. Полученные значения сравнивали с референсными значениями активности ферментов.

Завершающим этапом диагностики являлось молекулярно-генетическое исследование — поиск мутаций в гене *GNPTAB*. Геномную ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови пациентов с помощью набора реактивов для выделения DNA Prep100 (DIAtom™) по инструкции производителя. Амплификацию всех экзонов гена *GNPTAB* проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим прямым нерадиоактивным секвенированием по Сэнгеру.

Результаты и обсуждение

Молекулярно-генетический анализ был проведен у всех 50 наблюдавшихся больных с муколипидозом, среди которых полностью генотипировать удалось 35 пробандов. У этих 35 детей было выявлено 70 мутантных аллелей. Восемь больных были генотипированы частично — у каждого пациента обнаружен только 1 мутантный аллель. У 7 пациентов мутаций найти не удалось, что возможно связано с наличием протяженных делеций или перестроек

в гене *GNPTAB*, для обнаружения которых необходимы специальные методы исследования. Анализ выявленных мутаций в гене *GNPTAB* у российских больных суммирован в табл. 1.

В табл. 1 продемонстрировано, что мутация p.S738X, не зарегистрированная в Международной базе данных и впервые выявленная у наблюдавшихся нами больных, может быть отнесена к частым мутациям у детей из России (21% аллелей). Как правило, она ассоциирована с более тяжелой формой болезни – муколипидозом II типа. Мутация приводит к образованию стоп-кодона в середине экзона 13 гена *GNPTAB*, вследствие чего не происходит синтез бета-цепи фермента. Однако при наличии второй, более «легкой» мутации, например, миссенс или микроделеции/дупликации, не приводящей к сдвигу рамки считывания, заболевание может протекать в более благоприятном варианте – муколипидоз IIIA типа.

На рис.1 представлены фенотипические признаки и генотип sibсов 2,5 и 4 лет с клинической симптоматикой муколипидоза IIIA типа. Относительно «мягкий» Гурлер-подобный фенотип, нормальный интеллект и нормальное моторное развитие детей обусловлены, вероятнее всего, наличием миссенс-мутации – p.Q36P, частично компенсирующей патогенность другой, нонсенс-мутации p.S738X.

Самой частой мутацией, обнаруженной в обследованной выборке больных, была мелкая делеция c.3503–3504delTC, приводящая к сдвигу рамки считывания.

По международной базе данных эта мутация ответственна за формирование клинической картины муколипидоза II типа (I-клеточной болезни) [3, 7]. Однако исследования М. Plante и соавт. [8] констатировали, что клиническая симптоматика I-клеточной болезни формируется при наличии у пробанда этой делеции только в гомозиготном состоянии, а также если вторая мутация представлена нонсенс-мутацией или мутацией со сдвигом рамки считывания. По данным этих же исследователей, сочетание делеции c.3503–3504delTC с миссенс-мутацией обуславливало симптоматику муколипидоза IIIA типа.

В нашей выборке ряд больных с указанной делецией в гетерозиготном состоянии также имел и более легкий симптомокомплекс, соответствующий муколипидозу IIIA типа. Объяснить подобный феномен благоприятным действием второй мутации не представляется возможным, так как у этих пациентов обнаружить таковую пока не удалось. На рис. 2 представлены фенотипы двух детей с одинаковой мутацией c.3503–3504/delTC, но разной клинической симптоматикой – муколипидозом IIIA (см. рис.2) и II типов (см. рис. 2).

Подобная ситуация, по-видимому, типична и для следующей частой мутации, выявленной у российских больных, – p.R375X, приводящей к образованию стоп-кодона в 10-м экзоне гена *GNPTAB*. Наличие вторых, более «легких» мутаций существенно снижает тяжесть клинической сим-

Таблица 1. Анализ выявленных мутаций в гене *GNPTAB* у российских больных ($n=43$) с муколипидозом II и IIIA типов
Table 1. The analysis of mutations in *GNPTAB* gene in the Russian patients ($n=43$) with mucopolipidosis II and IIIA

Выявленная мутация	Регистрация в Международной базе данных	Количество аллелей у больных из России, абс. (%)	Фенотип по зарегистрированным мутациям, соответствующий Международной базе данных	Фенотип обследованных российских больных
p.S738X (нонсенс-мутация)	Отсутствует	18 (21)	Нет сведений	Муколипидоз тип II; муколипидоз тип IIIA
c.3503-3504del TC (делеция, приводящая к сдвигу рамки считывания)	Имеется	27 (31,4)	Муколипидоз тип II	То же
p.R375X (нонсенс-мутация)	Имеется	16 (18,6)	То же	То же
Другие единичные миссенс- и нонсенс-мутации (p.R364X; p.C505Y; p.S399Phe)	Имеется	5 (5,8)	То же	То же
Другие единичные миссенс- и нонсенс-мутации (p.I31N, p.Q36P, p.L398P, p.W446X)	Отсутствует	5 (5,8)	Нет сведений	То же
Другие мелкие делеции и вставки (c.1399delG c.1581delC c.3428dupA)	Имеется	6 (6,9)	Муколипидоз тип II	То же
Другие мелкие делеции и вставки (c.2250delT)	Отсутствует	1 (1,2)	Нет сведений	Муколипидоз тип II
Не обнаружено мутаций	–	8 (9,3)	–	–

птоматики болезни и способствует формированию доброкачественной формы патологии — муколипидоза IIIA типа [9].

В связи с редкостью патологии, недостаточным знанием врачами данного орфанного заболевания, его фенотипическим сходством с другими болезнями накопления, в первую очередь с мукополисахаридозами, важностью своевременной диагностики для эффективного медико-генетического консультирования семей приводим клиническое наблюдение, тактику диагностики и симптоматического лечения муколипидоза II типа (I-клеточной болезни) у девочки 1 года 6 мес.

Клиническое наблюдение.

Девочка К., 1 год 6 мес, поступила в клинику психоневрологии и наследственных заболеваний с нарушением психики впервые с жалобами родителей на задержку психоречевого, моторного и физического развития. При анализе родословной установлено, что брак неродственный, родители молодые и здоровые, в семье есть еще здоровая девочка 11 лет.

Акушерский анамнез матери отягощен рождением от первой беременности доношенного (на 40-й неделе гестации) мертвого мальчика. Причину внутриутробной смерти ребенка установить не удалось.

Пробанд от восьмой беременности, третьих родов в срок (в анамнезе матери 5 медицинских абортов). Беременность протекала с задержкой внутриутробного развития и хронической гипоксией плода. Масса тела при рождении 2550 г, длина — 42 см. Девочка с первых дней жизни по тяжести состояния находилась на искусственном вскармливании. Раннее психомоторное развитие протекало с грубой задержкой: голову держит с 4 мес жизни, самостоятельно не сидит, не ходит, отдельные слоги произносит с 7 мес жизни, первые зубы появились только в 1 год 4 мес.

Согласно медицинской документации, Гурлер-подобный фенотип был отмечен врачами по месту жительства с первых дней жизни ребенка. При совместном осмотре девочки неврологом и генетиком было высказано предположение о наличии у нее мукополисахаридоза I типа, и для уточнения диагноза ребенок был направлен в клинику психоневрологии и наследственных заболеваний с нарушением психики.

При поступлении ребенка в клинику его состояние расценивалось как среднетяжелое по основному заболеванию. Показатели физического развития были дисгармоничными: длина тела — 78 см, соответствовала 25–50-му перцентилю; масса тела — 6 кг 450 г (10–25-й перцентили). Обращали на себя внимание выраженные фенотипические особенности (рис. 3): грубые черты лица, запавшее переносье, полные губы, гиперплазия десен, макроглоссия, мелкие орбиты, умеренный экзофтальм, мегалоцефалия, короткая шея, тугоподвижность крупных и мелких суставов. Волосы очень светлые, глаза серые; роговица с визуальными

признаками помутнения. Психомоторное развитие девочки резко снижено: речь практически отсутствует (говорит несколько слов и слоги), сидит с поддержкой, самостоятельно не стоит, не ходит. Мышечный тонус низкий; ограничение активных и пассивных движений в крупных суставах. Сухожильные рефлексы с рук и ног равномерно снижены.

Обследование сердца с помощью функциональных методов выявило синусовую тахикардию с частотой сердечных сокращений 146–154 в минуту; вертикальное положение электрической оси сердца; неполную блокаду правой ножки пучка Гиса; диффузное нарушение процессов реполяризации миокарда



Рис. 1. Фенотип и генотип сибсов 2,5 лет (слева) и 4 лет (справа) с муколипидозом IIIA типа.

Гурлер-подобный фенотип, тугоподвижность локтевых и межфаланговых суставов, нормальный интеллект, генотип p.Q36P/p.S738X. Согласие родителей на публикацию фото детей получено.

Fig. 1. Phenotype and genotype of sibs 2,5 (at the left) and 4 years (on the right) with mucopolidosis IIIA type: «Hurler-like» phenotype, rigidity of elbow and interfalangeal joints, normal intelligence, genotype p.Q36P/p.S738X. The consent of parents to the publication of a photo of the children is received.

во II, III, aVF и V4–V6 отведениях в виде сглаженности/инверсии зубца T. На эхокардиограмме констатированы дегенеративные изменения аортального клапана с недостаточностью I-й степени; митральная регургитация 1,5+ (нельзя исключить краевой миксоматоз створок); тенденция к дилатации левого желудочка без нарушения систолической функции; повышение трабекулярности левого желудочка.

Ультразвуковое сканирование органов брюшной полости и почек позволило обнаружить нормальные размеры печени с обычной эхогенностью паренхимы; увеличение размеров селезенки: 6,5 x 2,4 см, объем 34,5 см³. Почки расположены в типичном месте, их подвижность и размеры в пределах нормы; паренхима обычной эхогенности, дифференцирована, не утолщена. Лоханки не расширены.



При магнитно-резонансной томографии (МРТ) головного мозга диагностирована умеренная смешанная гидроцефалия, зоны перивентрикулярного повышения МР-сигнала, вероятнее всего, гипоксически-ишеми-



Рис. 2. Фенотип больных с одинаковой делецией (с.3503–3504delTC) в экзоне 19 гена *GNPTAB*, но разной клинической симптоматикой – муколипидозом IIIA (а) и II (б) типов.

Согласие родителей на публикацию фото детей получено.

Fig. 2. Phenotype of patients with the same deletion (с.3503–3504delTC) in the exon 19th of the *GNPTAB* gene, but different clinical symptomatology – with mucopolipidosis IIIA (a) and mucopolipidosis II (б). The consent of parents to the publication of a photo of the children is received.

ческого генеза. МРТ грудного отдела позвоночника выявила сглаженность поясничного лордоза, формирование кифотического искривления на уровне ThXI–LII, угловую деформацию на уровне LIII–LIV с углом, открытым кпереди. Форма тел позвонков не изменена, структура их не нарушена. Межпозвонковые пространства равномерны. Протрузий дисков нет. Спинальный мозг однородной структуры. Поясничное утолщение хорошо выражено, расположено на уровне ThXII. Дуральное пространство несколько расширено и изменено в терминальном отделе. Конечные ветви спинного мозга, передняя продольная связка и паравертебральные мягкие ткани не изменены.

Рентгенологические исследования шейного отдела позвоночника и черепа констатировали его гидроцефальную форму с уплощением основания, нормальным турецким седлом, склерозированием костей основания черепа и уплощением покровных костей. Наряду с этим, отмечено выпрямление физиологического лордоза, отсутствие визуализации точки окостенения бугорка передней дуги атланта, смещение зубовидного отростка кзади; резкое уплощение тел позвонков, подчеркнутость их плотной замыкательной пластинки, значительное расширение межпозвоночных дисков и смещение тел позвонков.

Полученные результаты свидетельствовали о нестабильности костных элементов в краниоцервикальном отделе.

Рентгенография голеней и коленных суставов показала варусную деформацию костей голеней, их укорочение, выраженный системный остеопороз. Эпифизы не изменены, зоны роста четкие, соотношение костей в суставах сохранное. Рентгенологическое исследование тазобедренных суставов выявило расширение крыльев и гипоплазию основания подвздошных костей, дисплазию эпифизов, истончение шеек, деформацию диафизов бедер, остеопороз. Обнаружены также расширения пространства в ацетабулярных суставах, входа в малый таз и передней щели симфиза. Диагностированы недоразвитие костной минерализации и шеечно-диафизарная варусная деформация. Все перечисленные рентгенологические изменения, по заключению врача-рентгенолога, свойственны муколипидозам, в большей степени II типа.

Осмотр окулиста выявил помутнение роговицы обоих глаз.

Клинические анализы крови и мочи были без патологических изменений. Биохимические показатели, отражающие состояние основных видов обмена веществ, нормальные. Результаты исследования

Таблица 2. Показатели активности (в нмоль/мл/ч) трех плазменных лизосомных ферментов у больного ребенка
 Table 2. Activity (nM/ml/h) of three plasma lysosomal enzymes in the patient

Лизосомный фермент	Выявлено	Норма
Бета-D-глюкуронидаза	1497,6	38,3-126,5
N-ацетил-альфа-D-глюкозаминидаза	2115,9	257,9-611,1
Гексозаминидаза (общая)	5014,4	523,1 – 1865,1

аминокислотного спектра сыворотки крови и мочи соответствовали физиологическим значениям. Уровень гормонов щитовидной железы, тиретропного гормона и соматомедина С в сыворотке крови не превышал установленных норм.

Таким образом, анамнестические данные (пренатальное формирование основных симптомов болезни), совокупность фенотипических признаков (низкие показатели массы и длины тела при рождении, Гурлер-подобный фенотип, грубая задержка психоречевого и моторного развития, гиперплазия десен, контрактуры крупных и мелких суставов, помутнение роговицы) и результаты проведенного обследования (дегенеративные изменения аортального клапана, недостаточность I степени; пролапс и миксоматоз митрального клапана, показатели рентгенографических методов исследования) более всего соответствовали диагнозу муколипидоза II типа, или I-клеточной болезни. Требовалось проведение дифференциального диагноза с болезнями, характеризующимися сходной клинической симптоматикой.

Наличие у пробанда уже при рождении Гурлер-подобного фенотипа позволило врачам по месту жительства ребенка заподозрить одну из наиболее частых форм болезней накопления с аутосомно-рецессивным типом наследования – мукополисахаридоз I типа, или синдром Гурлер. Исследование показателей почечной экскреции гликозаминогликанов констатировало их нормальные значения, что позволило окончательно исключить все типы мукополисахаридозов, включая синдром Гурлер.

Однако Гурлер-подобный фенотип характерен также для другой болезни накопления, в первую очередь, муколипидоза, особенно II типа (I-клеточная болезнь). Для уточнения диагноза в плазме крови ребенка была определена активность трех лизосомных гидролаз: бета-D-глюкуронидазы, N-ацетил-альфа-D-глюкозаминидазы и гексозаминидазы (общей). Установлено повышение активности в плазме крови всех трех лизосомных гидролаз более чем в 5–10 раз от средних физиологических значений (табл. 2). Результаты данного исследования убедительно свидетельствовали о наличии у ребенка орфанной болезни накопления – муколипидоза II типа (I-клеточной болезни).

Завершающим этапом диагностики послужило молекулярно-генетическое исследование – поиск мутаций в гене *GNPTAB*. При проведении молекулярно-генетического анализа обнаружены две

нонсенс-мутации гена *GNPTAB*, одна из которых – p.S738X, как уже отмечалось выше (см. табл. 1), не описана в Международной базе данных, но оказалась частой у российских больных (21% аллелей). Сведения о второй нонсенс-мутации p.R375X имеются в литературе. Установлено, что у больных из России она встречается также достаточно часто и на ее долю приходится 18,6% аллелей. Очевидно, что наличие у ребенка двух нонсенс-мутаций (p.R375 и p.S738X) обусловило формирование наиболее тяжелой формы заболевания – муколипидоза II типа, или I-клеточной болезни.

В клинике девочка получала медикаментозные препараты, направленные на улучшение сердечно-сосудистой деятельности (панангин, предуктал, магнерот), ЦНС (пикамилон), опорно-двигательного аппарата (альфаD₃-Тева, остеогенон). Курс лечения включал также общий лечебный массаж и физиотерапию (электростимуляция мышц спины).

Семье проведено эффективное медико-генетическое консультирование, сообщено о высоком (25%) риске повторного рождения у супружеской пары детей с муколипидозом II типа. Запланировано проведение молекулярно-генетического обследования сибса пробанда с целью определения гетерозиготного носительства мутантного аллеля гена *GNPTAB*.



Рис. 3. Девочка 1 год 6 мес с I-клеточной болезнью (муколипидоз II типа).

Описание в тексте. Согласие родителей на публикацию фото ребенка получено.

Fig. 3. The girl of 1 y. 6 months with an I-cell disease (mucopolidosis II). The description is in the text. The consent of parents to the publication of a photo of the child is received.

Заключение

Таким образом, следует подчеркнуть, что муколипидозы относятся к группе орфанных болезней накопления, которые требуют внимания педиатров, генетиков, кардиологов, невропатологов, ортопедов и врачей других специальностей. Основные клинические проявления заболевания довольно специфичны, что дает возможность раннего установления диагноза после проведения дифференциальной диагностики с фенотипически сходными патологическими состояниями, в первую очередь с мукополисахаридозами.

ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Kornfield S., Sly W.S. I-cell disease and pseudo-hurler polydystrophy: disorders of lysosomal enzyme phosphorylation and localization. In: C.R. Scriver, A.L. Beaudet, W.S. Sly, D. Valle (eds) *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. McGraw-Hill, New-York 2001; 3469–3482.
2. Tiede S., Storch S., Lubke T., Henrissat B., Bargal R., Raas-Rothschild A., Braukle T. Mucopolipidosis II is caused by mutations in GNPTA encoding the alpha/beta GlcNAc-1-phosphotransferase. *Nat Med* 2005; 11: 1109–1112. DOI: 10.1038/nm1305.
3. Kudo M., Brem M.S., Canfield W.M. Mucopolipidosis II (I-cell disease) and mucopolipidosis IIIA (classical pseudo-hurler polydystrophy) are caused by mutations in the GlcNAc-1-phosphotransferase alpha/beta -subunits precursor gene. *Am J Hum Genet* 2006; 78(3): 451–463. DOI: 10.1086/500849.
4. Tiede S., Cantz M., Raas-Rothschild A., Muschol N., Bürgler F., Ullrich K., Braulke T. A novel mutations in UDP-N-acetylglucosamine-1-phosphotransferase gamma subunit (GNPTAG) in two siblings with mucopolipidosis type III alters a used glucosylation site. *Hum Mutat* 2004; 24: 535–536. DOI: 10.1002/humu.9293.
5. Tiede S., Muschol N., Reutter G., Cantz M., Ullrich K., Braulke T. Missense mutations in N-acetylglucosamine-1-phosphotransferase alpha/beta subunit gene in a patient with mucopolipidosis III and mild clinical phenotype. *Am J Med Genet A* 2005; 137A(3): 235–240. DOI: 10.1002/ajmg.a.30868
6. Blau N., Duran M., Gibson K.M. Laboratory guide to the methods in biochemical genetics. Springer book, Springer Verlag Berlin Heiderberg, 2008; 860.
7. Bell C.J., Dinwiddie D.L., Miller N.A., Hateley S.L., Ganusova E.E., Mudge J., Langley R.J., Zhang L. et al. Carrier testing for severe childhood recessive diseases by next-generation sequencing. *Sci Transl Med* 2011; 3(65): 65ra4. DOI: 10.1126/scitranslmed.3001756.
8. Plante M., Claveau S., Lepage P., Lavoie E.M., Brunet S., Roquis D., Morin C., Vézina H., Laprise C. et al. Mucopolipidosis II: a single causal mutation in the N-acetylglucosamine-1-phosphotransferase gene (GNPTAB) in a French Canadian founder populations. *Clin Genet* 2008; 73(3): 236–244. DOI: 10.1111/j.1399-0004.2007.00954.x.
9. Tappino B., Chuzhanova N.A., Regis S., Dardis A., Corsolini F., Stroppiano M., Tonoli E., Beccari T. et al. Molecular characterization of 22 novel UDP-N-acetylglucosamine-1-phosphate transferase alpha- and beta-subunit (GNPTAB) gene mutations causing mucopolipidosis types IIalpha/beta and II-1alpha/beta in 46 patients. *Hum Mutat* 2009; 30(11): E956–973. DOI: 10.1002/humu.21099.

Поступила 14.04.17

Received on 2017.04.17

Конфликт интересов:

Работа выполнена в рамках финансирования Госзадания «Генетический полиморфизм и патогенез наследственных болезней обмена веществ у детей»; № госрегистрации 115022070015.

Conflict of interest:

The work was carried out with funding within the framework of the State «Genetic polymorphism and pathogenesis of hereditary metabolic diseases in children»; number of state registration 115022070015.

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие иного конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

The authors of this article confirmed the absence another conflict of interests which should be reported.