

Е.Я. Гречанина, Ю.Б. Гречанина, И.А. Волобуева, О.Ю. Вернигор
 Украинский институт клинической генетики ХНМУ,
 Межобластной специализированный медико-генетический центр —
 центр редких (орфанных) заболеваний

**КРАНИОМЕТАФИЗАРНАЯ ДИСПЛАЗИЯ (ANKH-GEN C.1124-1126DEL
 В СООТВЕТСВИИ С NCBI NM_054027.4, ATG=+1) (P.SER375DEL,
 NTZG) НА ФОНЕ ЛЕГКОЙ ГОМОЦИСТИНУРИИ (MTHFR 677 TT),
 ПОЛИМОРФИЗМОВ MTR 2756 GG, MTRR 66AG, PAI – 675 (5G/4G),
 AGT II 235 TT. ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ БОЛЕЗНЬ?**

Резюме. Генетическая гетерогенность и клинический полиморфизм наследственной патологии в настоящее время приобретает все большее значение в уточняющей диагностике, затрудняя ее эффективность. Успехи молекулярной генетики открыли путь к персонализированной характеристике генетически гетерогенных форм болезней. Среди многочисленных факторов, определяющих геномное здоровье человека, все большее значение приобретает эпигенетический статус. Его исследованию посвящены многочисленные работы отечественных и зарубежных авторов. Утверждение Медавара П. о том, что «генетика предполагает, а эпигенетика располагает» отражает истинное положение дел в уточняющей диагностике. Метилирование признано основным модификатором генома и это дало основание углубить интерес к фолатно-метиониновому циклу, который самым тесным образом связан с метилированием. D. Parachristodoulou et al. (2014) в монографии «Биохимия и молекулярная биология» лаконично охарактеризовал медицинский эффект дефицита фолатов (Medical effects of folate deficiencies), хорошо изученный в мире. В этом свете наше исследование направлено на изучение роли дефицита фолатов в клиническом проявлении моногенных болезней, вызванных «точковыми» мутациями.

В работе представлено наблюдение краниометафизарной дисплазии (КМД) в сочетании с мягкой гомоцистинурией и несколькими полиморфными генами, ассоциированными с дефицитом фолатов. Это уникальное по степени выраженности клинических проявлений тяжелой формы данного синдрома, наблюдение.

Ключевые слова: Краниометафизарная дисплазия; легкая гомоцистинурия; полиморфизмы; дефицит фолатов; феномен синтропии.

Постановка проблемы и ее значение. В процессе уточняющей диагностики наследственной патологии мы все чаще встречаемся с феноменом сочетания клинических проявлений генных («точковых») мутаций и эпимутаций. Поэтому такие понятия как эпигеном (совокупность всех эпигенетических маркеров, которые лежат в основе генной экспрессии), модификации (эпимутации или направленные адаптивные изменения), метилирование цитозинового островков, которое приводит к выключению генов, ацетилованию гистонов, входят в практику клинического генетика.

«Эпигенетика – наука о наследуемых свойствах организма, которые не связаны с изменением собственно нуклеотидной последовательности ДНК и могут быть не прямо, а опосредованно закодированы в геноме. Эпигенетическими механизмами являются: энзиматическое метилирование ДНК, гистоновый код (энзиматические модификации

гистонов – ацетилирование, метилирование, фосфорилирование, убиквитинирование) и замалчивание генов малыми РНК (miRNA, siRNA), все они связаны с изменением структурной и функциональной организации хроматина». Это утверждение Ванюшина Б.Ф. [1], одного из исследователей эпигенетики как науки, как нельзя более ярко отражает сущность изменившихся болезней человека и, в первую очередь, наследственных.

С позиции сегодняшних представлений метилирование ДНК контролирует все генетические процессы, его нарушение параллельно с изменениями других эпигенетических модификаторов не только приводит к развитию рака, диабета, астмы, тяжелых неврологических и психических расстройств, о чем свидетельствует мировой опыт, но и по нашему скромному опыту накладывает отпечаток на клинические проявления наследственной патологии, влияя на их генетическую

гетерогенность и клинический полиморфизм. Нельзя не согласиться с Н. У. Zoghbi и А. Beaudet, что «изучение взаимоотношений генотипа и фенотипа бросает вызов клиницистам и исследователям, поскольку некоторые наблюдения не так просто поддаются объяснению». Изучение случаев редких наследственных болезней приоткрывает роль эпигенома.

Установлено, что метилирование ДНК осуществляется сайт-специфическими ферментами – цитозиновыми ДНК – метилтрансферазой и приводит к возникновению в ней m^5C (остатков 5-метилцитозинов), что сказывается на взаимодействии ДНК с разными белками. При этом метилирование играет двойную роль: или блокирует связывание ДНК с такими белками и тем самым препятствует транскрипции генов, или является обязательным условием для связывания белков, т.е. метилирование ДНК играет как позитивную, так и негативную роль в генной активности. Авторы приводят классификацию эпигенетических болезней, которая включает болезни геномного импринтинга (сестринские синдромы: Прадера – Вилли и Ангельмана; Беквита–Видемана, Сильвера–Рассела, псевдо-гипопаратироидизм). В эту же группу болезней авторы относят нарушения, влияющие на структуру хроматина в *trans*-конфигурации (синдромы Рубинштейна-Тайби, Ретта, сцепленная с X-хромосомой, альфа-талассемия, сопровождающаяся умственной отсталостью; синдром иммунодефицита, нестабильности центромерного участка и лицевых аномалий; спондилоэпифизарная дисплазия Шимке; дефицит метилентетрагидрофолат редуктазы (MTHFR)) и расстройства, влияющие на структуру хроматина в *cis*-конфигурации ($\alpha\delta\beta$ – и $\delta\beta$ -талассемия, синдром ломкой X-хромосомы, плече–лопаточно-лицевая миопатия.). Отнесение дефицита метилентетрагидрофолат редуктазы в категорию эпигенетических болезней позволило нам подойти к оценке ассоциации полиморфизмов ключевого фермента фолатного цикла – MTHFR с многими моногенными заболеваниями, выявленными нами в процессе селективного скрининга больных, с подозрением на наследственную патологию. Представленное наблюдение является одним из 7691 исследований полиморфных вариантов генов ферментов фолатного цикла, проведенных нами в 2008-2014 гг., касается редкого наследственного заболевания – краниометафизарной дисплазии.

Установлено, что важнейшими факторами, которые нарушают эпигенез, являются внешнесредовое воздействие – питание, инфекции, стресс, травмы, курение. А главной эпигенетической меткой и ключевой реакцией эпигенеза является, по свидетельству Allis С.Д. [2], метилирование. Поскольку метионин является универсальным донором метильных

групп, вовлеченность фолатно-метионинового цикла в патогенез многих наследственных заболеваний подтверждено многочисленными исследователями. Механизм такого влияния все еще остается неясным и требует дальнейшего изучения. По данным D. Papachristodoulou et al. [3] дефицит фолатов во время беременности ассоциирован с патологией ЦНС. Фолат является не только носителем групп формила и метилена. Он может содержать определенное число других одноуглеродных групп различной степени окисления. Когда N^5 , N^{10} – метилен FH_4 преобразовывается в N^5 – метил FH_4 , единственным путем вернуть фолат в производные FH_4 является транспортировка метильной группы в гомоцистеин и преобразование ее в метионин, для чего необходим коэнзим, полученный из витамина B_{12} . Эта реакция катализируется метионинсинтазой. Авторы подчеркивают, что дефицит B_{12} может вызвать функциональный дефицит фолата, фолат будет «захвачен» в метилированной форме и не сможет вернуться в пул FH_4 (тетрагидрофолата) для повторного использования при других реакциях при синтезе нуклеотидов. Это всего лишь часть работы фолатного цикла при синтезе нуклеотидов, но даже это утверждение подчеркивает важность дефицита ферментов фолатного цикла в синтезе ДНК. Логичным, с нашей точки зрения, является дальнейший поиск механизмов вовлеченности фолатно-метионинового цикла в формирование генетически гетерогенных форм наследственной патологии.

Представлено наблюдение тяжелого случая краниометафизарной дисплазии, подтвержденной молекулярно-генетическим исследованием (мутация) (ANKH-Gen c.1124-1126del в соответствии с NCBI NM_054027.4, ATG=+1) (p.Ser375del, Htzg) и протекавшего на фоне легкой гомоцистинурии (MTHFR 677 TT), полиморфизмов MTR 2756 GG, MTRR 66AG, PAI-675 (5G/4G), AGT II 235 TT. Тяжесть клинических проявлений, возможно, была так же обусловлена ранним внутриутробным действием триггеров (латентная инфекция беременной), наличием у обоих родителей полиморфизмов (аллелей риска), связанных с метилированием ДНК.

Клинические проявления краниометафизарной дисплазии манифестировали в пренатальном периоде онтогенеза, о чем свидетельствовали ранний гестоз, угроза прерывания беременности, осложненное течение родов. Нарушением биомеханизма родов вследствие тяжелой деформации головы привело к необходимости кесарева сечения.

Фенотип ребенка в раннем детском возрасте соответствовал классической форме краниометафизарной дисплазии, однако диагноз в послеродовом периоде установлен не был. В дальнейшем клиническая симптоматика

тяжелой формы краниометафизарной дисплазии развивалась быстро, присоединившаяся гидроцефалия потребовала хирургической коррекции. Обнаруженная аномалия Арнольда-Киари дала основание для предположения о влиянии на тяжесть клинических проявлений сопутствующих молекулярно-генетических событий.

Отсутствие мутации у матери дает основание предположить наличие новой мутации или феномен гонадного мозаицизма у отца.

Цель исследования: Оценить клинические проявления и некоторые генетические характеристики краниометафизарной дисплазии, ассоциированной с мягкой гомоцистинурией и некоторыми генами риска с позиции взаимодействия генетических и эпигенетических мутаций в манифестации заболевания.

Материалы и методы: С 2008 года по настоящее время проведен селективный скрининг полиморфных вариантов генов ферментов фолатного цикла у 7691 пациента с подозрением на хромосомные, генные и мультифакториальные заболевания. Определены частоты различных генотипов полиморфизмов в популяции, что послужило основанием для сравнения частот. Данные были опубликованы ранее. Для уточняющей диагностики использован широкий спектр дополнительного исследования – клинико-генетический, синдромологический, биохимический, молекулярно-генетический.

Результаты и обсуждение: К.Д., 3 г. 11 мес. На момент консультации мама предъявляла жалобы на резкое беспокойство девочки во время сна, которое сопровождается гипертонусом мышц спины, задержку психомоторного и речевого развития, увеличившуюся со временем деформацию черепной и лицевой частей черепа, наличие опухолеподобного образования в левой теменной области.

Анамнез жизни: пробанд от I-й беременности, которая осложнилась угрозой прерывания в сроке 20-21 нед., протекала на фоне анемии, токсикоза в I-м триместре, рецидивирующего трахеобронхита. Роды в сроке гестации 40 недель, осложнились слабостью родовой деятельности, длительным (24 часа) безводным периодом, нарушением биомеханизма родов из-за резкой деформации головки. Проведено кесарево сечение. Вес при рождении 3760 г, рост 55 см.

Анамнез заболевания: ребенок уже при рождении обращал внимание необычным строением головы – гипертелоризм, широкая переносица, квадратная форма ушных раковин, куполообразный череп были резко выражены. Эти признаки вначале были расценены как индивидуальная особенность фенотипа. Однако вскоре было отмечено прогрессирующее проявление аномалий – переносица расширилась,

гипертелоризм нарастал, нос укорачивался, нарастала анемия, отмечена дисплазия тазобедренных суставов, присоединилась патология почек (инфекционная). Ребенок находился на лечении в неврологическом отделении, однако проводимая терапия установленного гипоксически-ишемического поражения ЦНС эффекта не дала, и заболевание продолжало прогрессировать. Появились частые срыгивания, беспокойное поведение, что, к сожалению, не было использовано как показание для обследования метаболизма. Голова увеличивалась в размерах и деформировалась, большой родничок закрылся уже в 4 мес. До года ребенок лечился в соответствии с установленным симптоматическим диагнозом – задержка психического, предречевого, стато-кинетического развития, синдром проксимальной гипотрофии. В 1 год 1 мес. у ребенка был диагностирован гипотиреоз, назначен L-тироксин, а через месяц выявлены МРТ-признаки поражения белого вещества мозга, внутренняя гидроцефалия, мальформация Арнольда-Киари I, частичная атрофия дисков зрительных нервов обоих глаз. Появление аномалии Арнольда-Киари должно было быть еще одним поводом для параллельной оценки фолатно-метионинового цикла как сопутствующего метаболического нарушения. В раннем неонатальном периоде установлено наличие признаков инфицирования мочевыделительных путей, дисплазия тазобедренных суставов.

Ребенку проводилась симптоматическая терапия цераксоном, когитумом, кальцием гопантенатом. К 2-м годам гидроцефалия прогрессировала, сопровождалась сильными головными болями, беспокойством, рвотой. Проведена вентрикулоперинеостомия справа. Проведенное шунтирование дало краткосрочный эффект и потребовало его повторного проведения.

Лечащим врачом высказано предположение о наличии у ребенка кранио-метафизарной дисплазии (Галаган В.А.). Родители обратились в клинику Шарите (Германия), где проведено клинико-генетическое обследование и подтверждена краниометафизарная дисплазия в необычно тяжелой форме, которая по фенотипу напоминает краниодиафизарную дисплазию. Обнаружена известная мутация c.1124_1126del (в соответствии с NCBI NM_054027.4, ATG=+1) (p.Ser375del в гетерозиготном состоянии (Nurnberg et al.2001 Nat. Genet)). Высказано предположение, что вероятнее всего мутация p.Ser375del связана с более тяжелой формой краниометафизарной дисплазии.

В 2013 г. у девочки возникли тонико-клонические судороги. Выявлены пароксизмы острых высокоамплитудных потенциалов, свидетельствующих о судорожной готовности

головного мозга. К этому времени диагноз уже звучал следующим образом: краниометафизарная дисплазия, синдром Арнольда-Киари I, эпилепсия с парциальными и генерализованными тонико-клоническими приступами, состояние после шунтирования, синдром ликворных нарушений, задержка психомоторного развития. Была назначена антиконвульсантная терапия.

Семья направлена в Харьковский специализированный медико-генетический центр (ХСМГЦ) для лечения и реабилитации. При осмотре в ХСМГЦ мы сравнили ее фенотип с «матрицей» фенотипа из каталога Smith's [4] (табл. 1).

Таблица 1

Сравнительные данные о клинических проявлениях признаков КМД

№ п/п	Краниофациальные аномалии	Каталог Smith's	Пациентка Д.
1	Уплотнение свода черепа с плотным основанием черепа, лицевых костей и челюстей	+	+
2	Вариабельная пневматизация	+	+
3	Необычно толстый костный выступ над переносицей	+	+
4	Гипертелоризм	+	+
5	Относительно маленький нос	+	+
6	Вариабельный проптоз глаз	+	+
7	Компрессия отверстий черепных нервов	+	+
8	Головная боль	+	+
9	Узкие носовые ходы с ринитом	+	+
10	Конечности:		
10.1	Вариабельная степень метафизарное расширения с диафизарным склерозом	+	+
10.2	Наиболее очевидны в дистальной части бедер	+	+
10.3	Наружное отклонение голени	+	+
11	Мальформация Киари I	+	+
12	Умственная отсталость	+	+
13	Расширенная венозная сеть на лице	-	+
14	Расширенная венозная сеть верхней части туловища	-	+
15	Судороги	-	+
16	Тяжелые нарушения зрения	+/-	+
17	Двусторонняя тугоухость	+/-	+/-
18	Отсутствие мимики	-	+
19	Ярко-красные поверхности ладоней и стоп	-	+

Признаки болезни видны в неонатальном периоде и при AR и при АД формах. У взрослых с АД формой типичные черепно-лицевые проявления менее очевидны. Клинические проявления более мягкие и включают сдавление 7 и 8 черепно-мозговых нервов. Склероз швов может быть единственным следствием при аутосомно – рецессивной форме, черепно-лицевые нарушения развиваются прогрессивно. Основание черепа становится более склерозированным и свод черепа с постепенно нарастающим гиперостозом с костными разрастаниями вокруг орбит и носовых костей. В этих случаях наблюдаются тяжелые нарушения зрения и двусторонняя тугоухость. Прогнатизм становится более выраженным с возрастом. Развивается стволовая атаксия. Оба аутосомно–доминантные и аутосомно–рецессивные

типы заболевания были описаны, причем последний более тяжелые по степени проявления.

Со стороны нервной системы отмечены тяжелые нарушения: аномалия Арнольда – Киари, задержка стато-кинетического, психо-речевого развития.

Обращали на себя внимание отсутствие мимики, значительно расширенная просвечивающаяся через кожу поверхностная крупного калибра венозная сеть на голове, грудной клетке; ярко красные поверхности ладоней и стоп. Голова деформирована как в черепной, так и в лицевой части: куполообразно приподнятый череп. У ребенка гиперостозы в корне носа и нижней челюсти. Носовое дыхание затруднено, отсутствует возможность жевания и правильной речи.



Рис. 1а. Фенотип пацієнтки в різному віці.



Рис. 1б. Резко знижено зривня, відсутня його фіксація, рот завжди приоткрит. Лицо: морфологічна довжина збільшена, виражена деформація нижньої щелепи з гіперостозами, різке обмеження її подвижності.

Кожа – широка сеть расширенных вен в области лба, шеи, грудной клетки, просвечивающихся через тонкую, эластичную кожу. Определяются локальные участки сухой кожи, яркие гиперемизированные ладони и подошвы, соответствующие микроангиопатии.

Туловище характеризуется астеничностью, снижением роста.

При аускультации легких – везикулярное дыхание, хрипов нет. Тоны сердца ритмичные, чистые. Живот мягкий, безболезненный. Двигательная активность у ребенка сохранена,

но ходит только за ручку. Развитие ребенка, несмотря на сложность оценки, представляется соответствующим возрасту.

В неврологическом статусе: пациентка труднодоступна контакту, тревожна, отмечаются спонтанные движения, сидит самостоятельно, может ходить при поддержке, произносит отдельные слова, плохо фиксирует взгляд, сходящееся косоглазие. Мышечный тонус снижен, сухожильные рефлексы вызываются.

УЗИ органов брюшной полости, почек: в 2г. 7 мес. печень не увеличена, контуры ровные,

четкие, экзогенность паренхимы незначительно равномерно повышена, умеренное уплотнение стенок внутривисцеральных желчных ходов и сосудов системы портальной вены. Желчный пузырь не увеличен, перегиб в области шейки. Поджелудочная железа визуализируется полностью, увеличена, структура однородна, экзогенность паренхимы незначительно повышена. Почки расположены типично, экзогенность паренхимы обычная, чашечно-лоханочная система незначительно уплотнена.

Заключение логопеда: ребенок практически недоступен контакту, инструкции не выполняет, не видит, реагирует на голос, капризничает, произносит 2 слова – «папа», «мама». Ребенок отстает в психическом развитии. Диагноз: Задержка развития речи.

ЭЭГ – доминирование тета – активности и низкочастотного альфа-ритма, явления дизаритмии и дезорганизации, специфическая эпилептическая активность.

ЭКГ – синусовая тахикардия. ЧСС (152-182 уд/мин). Отклонение электрической оси сердца вправо: (98°). Умеренные обменные изменения в миокарде.

Рентген черепа в двух проекциях: выраженные костные деформации лицевого и мозгового черепа; с выраженными полосатыми гиперостозами нижней челюсти с двух сторон.

УЗИ сердца: правые отделы сердца не увеличены. В полости левого желудочка определяется дополнительная хорда. При доплер-ЭХО кардиографии показатели кровотока в пределах нормы.

УЗИ тазобедренных суставов: костная крыша – несколько недостаточна, хрящевая крыша – прямоугольная; костный эркер – закругленный; головки бедер централизованы в вертлужных впадинах; ядро окостенения – намечается. Диагноз: задержка формирования тазобедренных суставов.

Офтальмологический статус: расходящееся косоглазие правого глаза. Веки птозированы. Конъюктива несколько раздражена. Роговица гладкая, глянцевая. Радужная оболочка соответствует возрасту. Диск зрительного нерва бледный. Полученные данные позволили считать, что у ребенка имеет место атрофия зрительного нерва, резко снижена острота зрения, подозрение на дисплазию и механическое сужение зрительного канала. Не получены доказательства нарушения проводимости зрительных путей. Нейрофизиологическая функция зрительного анализатора нестабильная с выраженной редукцией и признаками повреждения структур проводникового уровня, в динамике – без изменений.

Таблица 2

Динамика ЯМРТ, КТ головного мозга

№ п/п	Возраст	Описание ЯМРТ, КТ головного мозга
1	4 мес.	Субдуральные гидромы лобно-височных долей с обеих сторон
2	1 год 2 мес.	МРТ-признаки поражения белого вещества мозга, вероятно гипоксически-ишемического генеза в пренатальном периоде. Данные за внутреннюю гидроцефалию, мальформацию Арнольда-Киари I
3	1 год 10 мес.	КТ-признаки гидроцефалии, краниостеноза, гиперостоза костей черепа, нарастающей внутричерепной гидроцефалии, остаточные явления гипоксически-ишемического поражения мозга.
4	1 год 11 мес.	Краниостеноз, состояние после шунтирования
5	2 года 3 мес.	При КТ: почти полное отсутствие придаточных пазух носа и сосцевидного отростка. В правом боковом желудочке и в правой затылочной кости определяется катетер. Внутренняя гидроцефалия. Низкое расположение миндалин, мозжечка, признаки свежего кровоизлияния не выявлены. Фиброзная дисплазия. Краниосиностоз.
6	2 года 5 мес.	Краниостеноз. Вариант Арнольда-Киари I.
7	3 года 1 мес.	КТ-признаки краниостеноза, гиперостоза костей черепа, внутричерепной гипертензии

МОНОГЕННІ ХВОРОБИ

В результате обследования в ХСМГЦ получены следующие данные (табл. 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9).

Таблица 3

Биохимический профиль

№ п/п	Метаболиты	Результат	Референтные значения
1	Щелочная фосфатаза	4833↑ Ед/л	До 720
2	Общий холестерин	7,31↑ ммоль/л	2,95-5,25
3	АСТ	55,91↑ Ед/л	0-48
4	Триглицериды	1,45 ↑ ммоль/л	0,4-1,24
5	Креатинин	22,53↓мкм/л	27-62
6	ЛДГ	714,6 ↑Ед/л	До 395
7	Общий белок	83,53↑ г/л	60-78

Как видно из представленных данных биохимического профиля (табл.3) метаболические нарушения очевидны и, по-видимому, ассоциированы с недостаточностью ключевого фермента фолатного цикла метилентетрагидрофолат редуктазы и метионин синтазы.

Таблица 4

Результаты дополнительных методов исследования

№ п/п	Показатель	Результат	Референтные значения
1	Гомоцистеин	7,51↑ ммоль/л	до 5
2	Фолиевая кислота	51,28 ммоль/л	52,55-119,59
3	Витамин В ₁₂	0,225 нмоль/л	0,20-0,40
4	Витамин В ₁	41,38 нмоль/л	40,0-80,0
5	Витамин В ₂	90,66↓ нмоль/л	100,0-150,0
6	Витамин В ₃	3,92↓ ммоль/л	4,70-8,34
7	Витамин В ₆	20 нмоль/л	14,6-72,8

Показатели уровня гомоцистеина (табл. 4) свидетельствуют в пользу легкой гомоцистинурии, а снижение уровней витамина В₂ и В₃, скорее всего, не являются клинически значимыми.

Таблица 5

ДНК-анализ генетической предрасположенности

№ п/п	Наименование гена	Аббревиатура	Генотип
1	Метилентетрагидрофолат-редуктаза	MTHFR C677T	TT
2	Метионин-синтезаредуктаза	MTRR A66G	AG
3	Метионин-синтеза	MTR A2756G	GG
4	Протромбин (коагуляционный фактор II)	F II – G20210A	GG
5	Фактор Ляйдена (фактор V)	F V – G1691A	GG
6	Ген VII – фактора свертывания крови ингибитора активатора плазминогена	PAI – 675(5G/4G)	5G/4G
7	Ангиотензиноген	AGT I – C521T AGT II – T704C	CC CC

МОНОГЕННІ ХВОРОБИ

ДНКанализ генетической предрасположенности (табл. 5) свидетельствует в пользу недостаточности ключевого фермента фолатного цикла MTHFR, что соответствует мягкой гомоцистинурии.

Таблица 6

Исследование органических кислот мочи

№ п/п	Показатель	Результат	Референтные значения
1	Метаболиты цикла Кребса и состояния активности ферментов дыхательной цепи		
1.1.	Citric	23.48 ↓	25.7 – 678.3 ммоль/моль KREA
2	Метаболиты обмена серы: индикаторы активности витаминов B12 и фолиевой кислоты; недостаточности молибдена; индикаторы цистина, метионина, нарушения процессов метилирования		
2.1	3-Hydroxybutyric (B ₁₂)	0.49 ↑	n.d. ммоль/моль KREA
2.2	5-Oxoproline (Cys)	26.91	30.02 – 74.57 Umol/mmol KREA
3.	Кетоновые тела, метаболиты окисления жирных кислот		
3.1	2-Hydroxybutyric	1.72 ↑	0 – 1.67 ммоль/моль KREA
4	Метаболиты грибов и дрожжей		
4.1	Проба на индикан	н.сл. ↑	отрицательная
5	Метаболиты бактерий		
5.1	3-Hydroxyphenylacetic (Phe, Tyr)	348.68 ↑	5.72 – 120.58 Umol/mmol KREA
5.2	3-hydroxyhippuric (Phe, Tyr)	165.18 ↑	0–49.8 Umol/mmol KREA
5.3	4-hydroxybenzoic (Phe, Tyr)	297.35 ↑	28.56 – 233.38 Umol/mmol KREA
5.4	Hippuric (Phe, Tyr)	3279.84 ↑	50.26 – 3067.48 Umol/mmol KREA
5.5	5-Hydroxyindoleacetic (Trp)	17.48 ↓	43.4 – 463.14 Umol/mmol KREA
5.6	5 – Oxoproline	26.91 ↓	30.02 – 74.57 ммоль/моль KREA
6	Метаболиты костной и соединительной ткани, нарушении обмена АК пролина (Pro), глицина (Gly)		
6.1	5-Oxoproline	26.91 ↓	30.02 – 74.57 ммоль/моль KREA
6.2	Hippuric (Gly)	3279.84 ↑	50.26 – 3067.48 Umol/mmol KREA
7.	Метаболиты нейротрансмиттеров		
7.1	5-Hydroxyindoleacetic (Серотонин)	17.48 ↓	43.4 – 463.14 Umol/mmol KREA
8.	Метаболиты АК фенилаланина (Phe), тирозина (Tyr)		
8.1	4-hydroxybenzoic (Phe, Tyr)	297.35 ↑	28.56 – 233.38 Umol/mmol KREA
8.2	3-hydroxyhippuric (Phe, Tyr)	165.18 ↑	0 – 49.8 Umol/mmol KREA
8.3	Hippuric (Phe, Tyr)	3279.84 ↑	50.26 – 3067.48 Umol/mmol KREA
9	Метаболиты АК триптофана (Trp), лизина (Lys), гистидина (His), аргинина (Arg)		
9.1	5-Hydroxyindoleacetic (Trp)	17.48 ↓	43.4 – 463.14 Umol/mmol KREA
10	Кетоз; метаболиты АК с разветвленной цепью: лейцина (Leu), изолейцина (Ile), валина (Val)		
10.1	Erythronilic (Ile)	142.21 ↑	0 – 76.19 Umol/mmol KREA
10.2	2-Ethylhydracrylic (Ile)	31.77 ↑	0 – 12.76 Umol/mmol KREA
10.3	3-Hydroxyisobutyric (Val, тимин)	18.45 ↑	1.26 – 13.73 Umol/mmol KREA
11.	Метаболиты АК глутамина (Gln), глутаминовой кислоты (Glu), аспарагиновой кислоты (Asp), истощения глутатиона		
11.1	5-Oxoproline (↓glutathione)	26.91 ↓	30.02 – 74.57 ммоль/моль KREA
11.2	Citric (↓glutathione)	23.48 ↓	25.7 – 678.3 ммоль/моль KREA
12.	Индикаторы активности витаминов B₁ (тиамина), B₃ (никотинамида, PP), магния (Mg), хрома (Cr), ванадия (V)		
12.1	2-Hydroxybutyric (B ₁ , B ₃)	1.72 ↑	0 – 1.67 ммоль/моль KREA
12.2	5-Oxoproline	26.91 ↓	30.02 – 74.57 ммоль/моль KREA
13.	Индикаторы активности коэнзима Q₁₀		
13.1	2-Hydroxybutyric	1.72 ↑	0 – 1.67 ммоль/моль KREA
14.	Метаболиты, которые могут быть повышены при отравлении		
14.1	5-Oxoproline	26.91 ↓	30.02 – 74.57 ммоль/моль KREA
14.2	Citric (↓glutathione)	23.48 ↓	25.7 – 678.3 ммоль/моль KREA
14.3	Phenoxyacetic (отравление пестицидами; прием пенициллина V)	114.9 ↑	0 – 1.85 ммоль/моль KREA
15	Метаболиты приема полифенолов и флавоноидов с пищей		
15.1	Hippuric	3279.84 ↑	50.26 – 3067.48 Umol/mmol KREA

МОНОГЕННІ ХВОРОБИ

При исследовании органических кислот мочи (табл. 6) выявлены изменения метаболитов: истощения глутатиона, нельзя исключить недостаточность серотонина или триптофана, нарушения микрофлоры ЖКТ.

Таблица 7

Аминокислотный анализ сыворотки крови

Аминокислоты	Кол-во, мг	Норма, мг крови	% по мг	Норма, мг/%
Лизин	3,276 ↑	1,825-3,106	10,55 ↑	9,04
Гистидин	1,051	0,517-1,562	3,39	5,15
Аргинин	1,800 ↑	0,256-1,740	5,80	5,97
Орнитин	2,805 ↑	0,345-1,008	9,04	3,42
Аспарагиновая к-та	1,313 ↑	0,044-0,334	4,23	0,77
Треонин	1,641 ↑	0,890-1,483	5,29	5,74
Серин	2,371 ↑	0,879-1,871	7,64	5,70
Глутаминовая к-та	1,021	0,344-1,415	3,29	2,32
Пролин	1,438	1,027-3,044	4,63	8,73
Глицин	2,703 ↑	1,106-2,120	8,71	7,11
Аланин	3,776	2,163-3,922	12,17	12,32
Цистин	0,333	0,324-1,200	1,07	3,86
Валин	2,194	2,065-2,950	7,07	10,50
Метионин	0,344	0,167-0,400	1,11	1,32
Изолейцин	0,595	0,484-0,936	1,92	2,99
Лейцин	1,474	1,275-2,009	4,75	6,30
Тирозин	1,437	0,835-1,733	4,63	5,08
Фенилаланин	1,464 ↑	0,750-1,442	4,72	3,67
Сумма	31,034			
Глутамин	11,993 ↑	5,500-10,610		
Аммиак	1,576 ↑	0,382-1,147		

Аминокислотный анализ сыворотки крови (табл. 7) характеризуется нерезко выраженными изменениями, не свидетельствующими о наличии самостоятельной нозологической единицы нарушения обмена аминокислот. Показатели уровня метионина соответствуют референтным значениям нормы и это не противоречит высказанном предположении о мягкой гомоцистинурии.

Таблица 8

Клинический анализ крови

№ п/п	Показатель	Результат	Референтные значения
1	Лейкоциты	10,7 ↑	4,5-10,0 10×10^9 клеток/л
2	Эритроциты	4,87 ↑	3,5-4,5 $\times 10^{12}$ клеток/л
3	Гемоглобин	132 г/л	110-145 г/л
4	Среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH)	27,3 пг ↓	28-32 пг
5	Тромбоциты	485 ↑	160-390 клеток/л 10×10^9
6	Ширина распределения тромбоцитов по объемам	9,6% ↓	10,0-20,0 %
7	Лимфоциты	45,6 %	26-60%
8	Эозинофилы	5,3%	0,5-7,0%

В клиническом анализе крови (табл. 8) повышено количество тромбоцитов, что может быть ассоциировано с наличием аллелей риска наследственной тромбофилии (MTR 2756 GG, MTRR 66AG, PAI – 675 (5G/4G), AGT II 235 TT).

Динамика содержания гормонов в крови

№ п/п	Возраст	Тесты	Результат	Референтные значения
1	8 мес.	T ₄ свободный	11,9 пмоль/л	11,5-23,0
		ТТГ	1,48 млод/л	0,17-4,05
2	11 мес.	T ₄ свободный	16,8 пмоль/л	11,5-23,0
		ТТГ	0,39 млод/л	0,17-4,05
3	1 год 1 мес.	T ₄ свободный	11,3 пмоль/л	11,5-23,0
		ТТГ	0,64 млод/л	0,17-4,05
4	1 год 3 мес.	T ₄ свободный	1,498 пмоль/л	11,5-23,0
		ТТГ	1,01 млод/л	0,17-4,05
5	1 год 6 мес.	T ₄ свободный	10,8 пмоль/л	11,5-23,0
		ТТГ	0,79 млод/л	0,17-4,05
6	1 год 10 мес.	T ₄ свободный	13,7 пмоль/л	11,5-23,0
		ТТГ	0,48 млод/л	0,17-4,05
7	2 года 2 мес.	T ₄ свободный	11,0 пмоль/л	11,5-23,0
		ТТГ	0,4 млод/л	0,17-4,05
8	3 года 5 мес.	T ₄ свободный	11,2 пмоль/л	11,5-23,0
		ТТГ	0,68 млод/л	0,17-4,05

Учитывая, что в институте Chiari de Barcelona dr. Mignel B. Rojo Salvador успешно оперирует больных с синдромом Арнольда – Киари, в чем мы убедились, посетив ранее его клинику, мы обратились к нему за помощью и профессор выразил готовность к незамедлительной помощи – операции после предварительной МРТ спинного мозга (торакальной и люмбосакральной области).

Однако при первой же попытке МРТ спинного мозга была затруднена интубация, которую не удалось провести вследствие сложного порока гортани. На этом этапе операцию пришлось отложить и продолжать комплексную симптоматическую реабилитацию в соответствии с установленным диагнозом: Краниометафизарная дисплазия. Гомоцистинурия. Генетический гомозиготный компаунд MTHFR 677TT/MTR 2756GG. Аллели риска наследственной тромбофилии (MTR 2756GG, MTRR 66AG, PAI-675 (5G/4G), AGT II 235TT). Вторичная митохондропатия. Гипотиреоз. Хронический пиелонефрит. Рецидивирующий бронхит. Симптоматическая (патогенетическая) терапия в значительной степени дала положительный эффект в развитии ребенка – девочка заговорила, стала активно двигаться, проявлять интерес к окружающему миру и его познанию.

Анализ данного наблюдения в реальном масштабе времени позволил нам предположить, что у ребенка на фоне генетической мутации проявились клинически значимые признаки другой мутации, оказавшей, по-видимому, аддитивный эффект. Вовлеченность ключевого фермента фолатно-метионинового цикла, участвующего в биосинтезе нуклеотидов и в обеспечении главного модификатора генома – метилирования, дало нам основание предположить, что в представленном наблюдении заболевание можно отнести к кате-

гории не только генетических, но и эпигенетических.

Заключение: Ежедневные консультации больных с наследственной патологией ставят нас перед вызовом, когда мы пытаемся обнаружить с помощью молекулярно-генетических методов мутационную основу заболевания. Практически всегда мы наталкиваемся на наличие тех или иных триггеров, сильных факторов внешней среды, влияющих на фенотипические характеристики того или иного наследственного заболевания. Поскольку установлено, что такие моногенные расстройства как синдромы Ангельмана, Видеманна-Беквита, Рассела-Сильвера могут быть вызваны либо геномными мутациями, либо мутациями, которые влияют на эпигеном и могут быть как возникшими de novo или унаследованными, все чаще нам приходится выяснять, не лежат ли такие молекулярные вариации в основе и других наследственных нарушений. Для ответов на эти вопросы мы встали на длинный путь исследования взаимодействия генетики и эпигенетики и находимся лишь в его начале. Накопление наблюдений и детальное изучение их клинических, биохимических, эпигенетических и молекулярных характеристик позволит двигаться быстрее навстречу пониманию. Приведенное наблюдение нам представляется убедительным доказательством вовлеченности генетических и эпигенетических мутаций в клинические проявления сложных фенотипов.

Мы приносим искреннюю признательность родителям нашей пациентки, которые мужественно и настойчиво делают все для своей дочери, чтобы улучшить ее жизненный комфорт. Они передали всю информацию о ней с искренним стремлением обогатить знания врачей.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРЫ:

1. Ванюшин Б.Ф. Эпигенетика сегодня и завтра. Вавиловский журнал генетики и селекции, 2013. – Том 17, № 4/2 С.805-832.
2. Эллис С.Д.. Эпигенетика. М.: Техносфера, 2010. – 496 с.
3. D. Papachristodoulou et al. Biochemistry and Molecular biology 5th edition, Oxford University press, 2014. – 591 P.
4. Kenneth Lyons Jones. Smith's Recognizable patterns of human malformation. 6th edition, Philadelphia. – 2006. – 954 P

О.Я. Гречанина, Ю.Б. Гречанина, І.А. Волобуєва, О.Ю. Вернігор

Краніометафізарна дисплазія (ANKH-Gen c.1124-1126del відповідно до NCBI NM_054027.4, ATG=+1) (p.Ser375del, Htzg) на фоні легкої гомоцистинурії (MTHFR 677 TT), поліморфізмів MTR 2756 GG, MTRR 66AG, PAI – 675 (5G/4G), AGT II 235 TT. Епігенетична хвороба?

Резюме. Генетична гетерогенність і клінічний поліморфізм на дослідній патології в даний час набуває все більше значення в уточненій діагностиці, затруднюючи її ефективність. Успіхи молекулярної генетики відкривають путь до персоналізованої характеристики генетично гетерогенних форм хвороб. Серед багатьох чинників, які визначають геномне здоров'я людини, все більше значення набуває епігенетичний статус. Його дослідженню присвячені багато робіт вітчизняних і зарубіжних авторів. Твердження Медавара П. про те, що «генетика предполагає, а епігенетика располає» відображає справжній стан справ в уточнюючій діагностиці. Метилування визнано основним модифікатором геному і це дає підстави для поглиблення інтересу до фолатно-метіонінового циклу. D. Papachristodoulou et al. (2014) в монографії «Біохімія і молекулярна біологія», лаконічно охарактеризував медичний ефект дефіциту фолатів, добре вивчений у світі. У цьому світі наше дослідження направлено на вивчення ролі дефіциту фолатів в клінічному прояві моногенних хвороб, викликаних «точковими» мутаціями.

У роботі представлено спостереження краніометафізарної дисплазії (КМД) в поєднаннях з м'якою гомоцистинурією і декількома поліморфними генами, асоційованими з дефіцитом фолатів. Це унікальне за ступенем вираженості клінічних проявів важкої форми даного синдрому, спостереження.

Ключові слова: Краніометафізарная дисплазія; легка гомоцистинурія; поліморфізми; дефіцит фолатів; феномен синтропії.

Е.Ya. Grechanina , Yu.B. Grechanina, I.A. Volobueva, O.Yu. Vernigor

Craniometaphyseal dysplasia (ANKH-Gen c .1124-1126del in accordance with NCBI NM_054027.4, ATG=+1) (p.Ser375del, Htzg) against the background of mild homocystinuria (MTHFR 677 TT), MTR 2756 GG, MTRR 66AG, PAI – 675 (5G/4G), AGT II 235 TT polymorphisms. Epigenetic disease?

Abstract: Genetic heterogeneity and clinical polymorphism of hereditary diseases are now becoming increasingly important in specifying the diagnosis, hampering its effectiveness. Advances in molecular genetics have opened the way to personalized characterization of genetically heterogeneous forms of diseases. Among the many factors that determine the genomic human health, epigenetic status is becoming increasingly important. The numerous works of native and foreign authors are dedicated to his study. P. Medawar's quotation that "genetics proposes, epigenetics disposes." And that, perhaps, reflects the true state of affairs. Methylation is considered as a key modifier of the genome and this was the basis for deepening interest in the folate-methionine cycle, which is closely associated with methylation. D. Papachristodoulou et al. (2014) in the book "Biochemistry and Molecular Biology" described in a concise way the medical effect of folate deficiency (Medical effects of folate deficiencies), a well-studied in the world. In this light, our study aims to examine the role of folate deficiency in the clinical manifestation of monogenic diseases caused by "point" mutations.

In this work, the observation of craniometaphyseal dysplasia (CMD) in combination with mild homocystinuria and several polymorphic genes associated with folate deficiency is shown. This is the first in literature that is unique in the degree of severity of the clinical manifestations of a severe form of the syndrome.

Keywords: craniometaphyseal dysplasia; mild homocystinuria; polymorphisms; folate deficiency; syntropy phenomenon.

Надійшло до редакції 26.11.2018р.

Підписано до друку 17.12.2018р.