

ЛИТЕРАТУРА

1. *Аветисов Э.С., Шаповалов С.Л.* Методика клинического комплексного исследования аккомодации: Метод. рекомендации. – М., 1976.
2. *Онуфрийчук О.Н., Розенблюм Ю.З.* Закономерности рефрактогенеза и критерии прогнозирования школьной миопии // Вестн. офтальмол. – 2007. – № 1. – С. 22–24.
3. *Проскурина О.В.* Динамика рефракции, диагностика и принципы очковой коррекции аметропии у детей и подростков // Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – М. – 2007.
4. *Розенблюм Ю.З.* Оптометрия. – 2-е изд. – СПб., 1996.
5. *Тарутта Е.П., Филинова О.Б.* Способ исследования запасов и устойчивости относительной аккомодации. Патент на изобретение. № 2367385 от 20.09.2009 г. (приоритет от 29.05.08.), РФ.
6. *Тарутта Е.П., Филинова О.Б.* Способ определения привычного тонуса аккомодации. Патент на изобретение № 2394469 от 20.07.2010 (приоритет от 27.03.2009), РФ.
7. *Тарутта Е.П., Тарасова Н.А.* Заявка на патент РФ № 20100122469 с приоритетом от 2.06.2010. Способ одновременного исследования прямой и содружественной аккомодации парных глаз.
8. *Шаповалов С.Л.* Клинико-физиологические особенности аб-

солютной аккомодации глаз человека и методы ее исследования. Дис. ... д-ра мед. наук. – М., 1977.

9. *Guthoff R., Ludwig K.* Current Aspects of Human Accommodation. – Heidelberg, 2001. – P. 11–21.

Поступила 10.02.12

Сведения об авторах: *Тарутта Е. П.*, проф., д-р мед. наук, рук. отд. патологии рефракции, бинокулярного зрения и офтальмоэргномики ФГБУ "Московский НИИ глазных болезней им. Гельмгольца" Минздравсоцразвития России; *Филинова О. Б.*, канд. мед. наук, научн. сотр. отд. патологии рефракции, бинокулярного зрения и офтальмоэргномики ФГБУ "Московский НИИ глазных болезней им. Гельмгольца" Минздравсоцразвития России; *Тарасова Н. А.*, врач-офтальмолог отд. патологии рефракции, бинокулярного зрения и офтальмоэргномики ФГБУ "Московский НИИ глазных болезней им. Гельмгольца" Минздравсоцразвития России.

Для контактов: *Тарасова Наталья Алексеевна*, 105062, Москва, ул. Садовая-Черногрозская 14/19; 607-21-03; tar221@yandex.ru

© О.В. ХЛЕБНИКОВА, Е.Л. ДАДАЛИ, 2012
УДК 617.7-055.5/7:577.21.08

О.В. Хлебникова, Е.Л. Дадали

НАУЧНОЕ И ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОФТАЛЬМОЛОГИИ

ФГБУ «Медико-генетический центр» РАМН

Представлены результаты изучения клинического полиморфизма и генетической гетерогенности наследственных заболеваний органа зрения. Определено научное и практическое значение молекулярно-генетических исследований в офтальмологии.

Ключевые слова: наследственные заболевания органа зрения, молекулярно-генетические исследования, генетическая гетерогенность

THE SCIENTIFIC AND PRACTICAL SIGNIFICANCE OF MOLECULAR-GENETIC RESEARCH IN OPHTHALMOLOGY

O.V. Khlebnikova, E.L. Dadali

The results of the investigations into clinical polymorphism and genetic heterogeneity of hereditary eye diseases are presented. The scientific and practical significance of molecular-genetic studies in ophthalmology is discussed.

Key words: hereditary eye diseases, molecular-genetic investigations, genetic heterogeneity

Использование молекулярно-генетических методов в офтальмологии привело к значительному увеличению доли наследственных заболеваний в общей этиологической структуре патологии органа зрения [1]. Идентификация определенного генетического варианта наследственного заболевания с использованием молекулярно-генетических методов дает возможность не только уточнить диагноз заболевания, но и произвести расчет риска рождения больного ребенка в семье с отягощенным анамнезом, определить вероятность появления патологии у родственников больного и осуществить дородовую диагностику на ранних сроках беременности, позволяющую предотвратить рождение ребенка с заболеваниями органа зрения. Комплексная оценка груза наследственной изолированной патологии глаз в 12 популяциях РФ с различной генетической структурой показала, что наследственная этиология выявляется не менее чем у 30% пациентов с заболеваниями глаз, а в структуре слепоты и слабовидения ее доля значитель-

но выше и составляет в различных популяциях от 42 до 84%, при этом частота общей отягощенности варьирует в регионах РФ от 8,39 до 3,0 на 10 тыс. населения [4]. Спектр нозологических форм наследственных болезней органа зрения (НБОЗ), а также их генетические характеристики различаются между популяциями и во многом зависят от их структуры [1, 7, 8]. Так, в Кировской области впервые установлена нозологическая структура спектра, в котором преобладают моногенные врожденные пороки развития органа зрения (ВПРОЗ) (31,3%) [2]. Отягощенность детского населения Ростовской области моногенными формами ВПРОЗ составила 1,3 на 10 тыс. [3]. В большинстве изученных популяций основную часть груза НБОЗ составляют наследственные заболевания сетчатки, зрительного нерва и хрусталика. Становится очевидным, что медицинская генетика приобретает в офтальмологии все большее значение как фундаментальная наука, изучающая этиологию, патогенез и обеспечивающая разработку этиопатогенетиче-

ских методов профилактики и лечения НБОЗ. Наряду с этим в настоящее время недостаточно четко описаны особенности фенотипических проявлений отдельных клинико-генетических единиц патологии органа зрения. Отсутствие современного дифференцированного этиопатогенетического подхода к ранней диагностике, профилактике, диспансеризации и определению тактики лечения патологии органа зрения приводит к тому, что в рамках одной нозологической формы могут рассматриваться заболевания с различной генетической природой, патогенетическими механизмами развития и типом наследования. Следует отметить большие трудности в формулировании диагноза НБОЗ, вызванные использованием генетиками и офтальмологами разной терминологии при обозначении отдельных нозологических форм НБОЗ [6].

Цель наших исследований - провести систематизацию, изучить размах клинического полиморфизма и генетической гетерогенности изолированных моногенных вариантов НБОЗ и оценить значение использования методов ДНК-анализа в практической офтальмологии.

Материал и методы. Проведен анализ литературных данных, направленный на изучение размаха клинического полиморфизма и генетической гетерогенности, и молекулярно-генетические исследования 80 семей с различной патологией органа зрения. Для анализа клинических особенностей отдельного клинико-генетического варианта использован современный стандартный комплекс офтальмологических исследований. Молекулярно-генетические исследования проводили стандартными методами в лаборатории ДНК-диагностики (проф. А.В. Поляков) и в лаборатории генетической эпидемиологии ФГБУ «МГНЦ» РАМН (проф. Р.А. Зинченко).

Результаты и обсуждение. В результате анализа клинико-генетических корреляций в настоящее время можно выделить 171 нозологическую форму НБОЗ, которым соответствует 340 генетических вариантов. (см. таблицу). Для удобства поиска клинико-генетической единицы, нами определены 8 классов нозологических форм НБОЗ и необходимые клинические критерии диагностики для каждой клинико-генетической единицы, предложено формализованное описание клинических портретов, вклю-

чающее изложение особенностей клинических проявлений и течения заболевания, параклинических признаков, этиопатогенеза и набор используемых диагностических критериев.

Различия в количестве выделяемых клиницистами нозологических форм заболеваний и их генетических вариантов обусловлены существованием значимой генетической гетерогенности НБОЗ, как локусной, так и аллельной. Под генетической гетерогенностью наследственных болезней понимают феномен, сущность которого состоит в том, что клинически единое заболевание может быть обусловлено мутациями в разных генах (локусная гетерогенность), или, напротив, мутации в одном гене обуславливают разные по клиническим проявлениям заболевания или различные по тяжести формы одного и того же заболевания (аллельная гетерогенность). Таким образом, в рамках одной, традиционно выделяемой офтальмологами клинической формы, как правило, существуют несколько генетических вариантов, обусловленных как мутациями в различных генах, так и различными мутациями в одном и том же гене. Кроме того, единая нозологическая форма может иметь различные типы наследования, и, следовательно, ее возникновение может быть результатом мутаций как в различных генах, так и в одном и том же гене в гетерозиготном или гомозиготном состоянии. Идентифицированы варианты заболеваний с аутосомно-доминантным, аутосомно-рецессивным, X-сцепленным рецессивным, X-сцепленным доминантным и митохондриальным типом наследования. Описаны заболевания с так называемым дигенным наследованием, при которых возникновение клинических симптомов обусловлено мутациями в двух различных генах в гетерозиготном состоянии.

Для определения тактики адекватной медико-генетической помощи семьям мы изучили особенности спектра мутаций в отдельных генах, приводящих к появлению НБОЗ в различных странах (по данным литературы). Такие исследования в нашей стране единичны. Известно, что спектр мутаций в генах, приводящих к возникновению отдельных нозологических форм, может быть специфичным для отдельных популяций.

Примером особенностей спектра мутаций у русских могут служить результаты исследований мутаций в гене *ABCA4*. Нами было проведено исследование 24 русских пациентов с клиническими фенотипами, которые предположительно могли быть обусловлены мутациями в гене *ABCA4*. Среди 24 пациентов после комплексного клинического обследования были поставлены следующие диагнозы: у 9 человек – центральная абиотрофия сетчатки Штаргардта, у 6 человек – абиотрофия сетчатки типа Франческетти, у 7 – смешанная пигментная абиотрофия (пигментный ретинит 19-го типа), у 2 – центральная пигментная дегенерация (колбочково-палочковая дистрофия 3-го типа,). У 10 пациентов выявлена мутация Ala1038Val. Аллельная частота мутации Ala1038Val в исследованной группе пациентов оказалась равной 25%, что выше значения, полученного зарубежными авторами [5], у которых она составила 9,25% от всех найденных мутаций. Особый интерес представляет то, что эта мутация, по данным зарубежных исследователей, с наибольшей частотой обуславливает классический фенотип «болезни Штаргардта», в то время как в нашем исследовании она обнаружена только у 2 пациентов с предварительным диагнозом «болезнь

Классы, количество нозологических форм и генетических вариантов моногенных изолированных НБОЗ

Класс	Количество	
	клинические формы	генетические варианты
Моногенные ВПП собственно глазного яблока	5	12
Моногенные ВПП и НБ придаточного аппарата глаза	8	21
Моногенные ВПП и НБ роговицы	27	49
Моногенные ВПП и НБ хрусталика	33	63
Моногенные ВПП и НБ сосудистой оболочки	15	20
Моногенные ВПП и НБ зрительного нерва	14	14
Наследственные изолированные глаукомы	10	32
Всего	171	340

Примечание. ВПП – врожденные пороки развития, НБ – наследственные болезни.

Штаргардта». Примечательно и то, что мутации Gly863-Ala и Gly1961Glu, также с наибольшей частотой являющиеся причиной развития «болезни Штаргардта» в других популяциях, не обнаружены у пациентов с данным фенотипом в нашем исследовании. Учитывая частоту мутации Ala1038Val в исследованной выборке пациентов, равную 25%, расчетная частота выявления мутации в гомозиготном состоянии будет приблизительно равна 6%, в гетерозиготном – 37,5%, т. е. в целом одна из наиболее частых мутаций в гене *ABCA4* будет выявляться более чем у 40% пациентов с данной патологией.

Кроме того, при исследовании генов *SLC4A11* и *CJA8*, ответственных за возникновение эндотелиальной дистрофии роговицы Маумени и зонулярной катаракты соответственно, нами выявлены мутации, ранее не описанные в литературе. Так, в семье К. у двух монозиготных сибсов с эндотелиальной **дистрофией роговицы** (отек Маумени) выявлены не описанные в гене *SLC4A11* замены Ser532Leu и Ser609Pro, обусловленные миссенс-мутациями в экзонах 13 и 14 соответственно. Определение мутации в гене *SLC4A11* позволило точно установить тип дистрофии роговицы (начало заболевания с эндотелия роговицы) и повлияло на выбор хирургической тактики лечения и ведение послеоперационного периода.

В другой русской семье А. с аутосомно-доминантной **зонулярной катарактой** обнаружена новая, третья из известных на сегодняшний день в мире мутация в гене *CJA8*. Мутация Ile247Met, обнаруженная нами, нарушает аминокислотную последовательность последнего внутриклеточного домена белка. В отличие от ранее описанных в литературе эта мутация привела к появлению катаракты с трехлетнего возраста, а не с рождения, быстрому прогрессированию помутнений хрусталиковых масс, наличию вакуолей и более интенсивного помутнения задних кортикальных слоев и задней капсулы хрусталика.

В русской семье Ч. с врожденной непрогрессирующей атипичной формой аутосомно-рецессивной **хориоретинальной дистрофии** с дефектами пигментного эпителия посредством непрямой ДНК-диагностики нами обнаружена новая мутация delA481 в гене *PNR(NR2E3)*, приводящая к сдвигу рамки считывания начиная с кодона 161 и образованию преждевременного стоп-кодона через 18 аминокислотных остатков. К сожалению, нами выявлена только одна мутация в исследованной семье. Возможно, вторая мутация в данной семье расположена в интроне гена *PNR* или довольно далеко в 5' области гена. В результате этой мутации синтезируется укороченный мутантный белок с полной потерей функции взаимодействия со своими лигандами. Таким образом, описанная нами мутация должна приводить не к частичной потере функции белка, как во всех ранее известных случаях, а к постоянной репрессии генов-мишеней. На наш взгляд именно этим механизмом обусловлены клинические особенности хориоретинальной дистрофии в изученной нами семье Ч.

Нами описана семья К. – татары с предположительным диагнозом «**Х-сцепленная рецессивная хориоретинальная атрофия**», основные признаки которой включают снижение центральной остроты зрения, концентрическое сужение полей зрения, гемералопия, атрофию хориоидеи, периферическую пигментную дегенерацию сетчатки, нарушение цветного зрения, мио-

пию слабой или средней степени, возникшую в возрасте 5–6 лет. Особенностью данной семьи являлось то, что у одной из гетерозиготных носительниц поврежденного гена наблюдалась развернутая клиническая картина заболевания, что нехарактерно для Х-сцепленных рецессивных заболеваний, однако манифестация патологического процесса у данной пациентки произошла на 15 лет позже, чем у больных мальчиков в семье. При этом у остальных женщин-носительниц клинические признаки заболевания были выражены слабо или полностью отсутствовали. У некоторых пациенток отмечались изменения электрофизиологических показателей. Такая вариабельная экспрессивность признака в семье осложнила определение типа наследования заболевания при диагностике Х-сцепленной рецессивной хориоретинальной атрофии сетчатки. При анализе гена *RP2* обнаружена не описанная ранее делеция трех нуклеотидов с 10-12delTTC. Определение гетерозиготного носительства патологического гена в семье позволяет также проводить мероприятия по пренатальной диагностике НБОЗ.

В некоторых русских семьях нами обнаружены ранее описанные в литературе мутации, однако вариабельность клинических проявлений заболеваний глаз в одной семье значительно затрудняли выбор клинико-генетического варианта. Так, в семье П. с центральной абиотрофией сетчатки **Беста** в двух поколениях с жалобами на снижение остроты зрения на 1-м и 2-м десятилетиях жизни обнаружены явления внутрисемейного клинического полиморфизма патологии макулярной области: симметрично расположенные фокусы субретинального экссудата, гиперрефлексия в парамакулярной и макулярной области множественные рубцовые изменения, кисты незначительно проминирующие в виде звезды с четкими границами. При осмотре впервые у ребенка 1,5 лет в макулярной области обнаружена на обоих глазах симметрично расположенная субретинальная киста размером с фовеа с желтым содержанием. В этой семье определена ранее описанная мутация в гене *BEST1* - Val235Leu.

В семье В. значительные трудности определения клинико-генетического варианта вызвало наличие изменений глазного дна, характерных для Х-рецессивной **хориодермии** у брата и сестры. Однако у сестры отсутствовали изменения результатов электрофизиологических исследований (ЭФИ) и компьютерной периметрии. У брата-пробанда обнаружена характерная для Х-сцепленной рецессивной хориодермии мутация в гене *CHM*-Arg253Ter. В результате проведенного исследования и анализа сегрегации хромосом у сестры пробанда выявлена несбалансированная (неравномерная) инактивация хромосом X, несущих мутацию Arg253Ter в гене *CHM* и не несущих мутацию – 16 и 84% соответственно.

В семье Р. у юноши 19 лет с миопией слабой степени и ретинальной кистой макулярной области обоих глаз установлена делеция трех первых экзонов в гене *RS1*, характерная для **Х-сцепленного рецессивного ретиношизиса**.

В семье М. у девочки с врожденной двусторонней **аниридией** в гене *PAX6* в экзоне 6 выявлена мутация – ранее описанная в литературе Arg103Ter в гетерозиготном состоянии. Эта мутация приводит к возникновению преждевременного стоп-кодона и синтезу укороченного белка.

Во всех семьях уже проведена или планируется пренатальная диагностика плода и обследование других членов семьи. Кроме исследований мутаций ядерного генома, большое значение имеет изучение спектра мутаций в митохондриальном геноме, приводящих к патологии зрительного нерва.

Широкая распространенность НБОЗ, их тяжелое течение, являющееся причиной ранней инвалидности, свидетельствуют о высокой социальной значимости медико-генетического консультирования, направленного на оценку риска возникновения повторных случаев заболевания в семьях с отягощенным анамнезом, разработки новых принципов диспансеризации, профилактики и лечения НБОЗ. Вместе с тем результаты фундаментальных клиничко-генетических исследований не известны практикующим офтальмологам и врачам генетикам медико-генетических консультаций. Большинство офтальмологов хорошо знакомы с особенностями клинических проявлений и типами наследования, но идентифицируют лишь несколько десятков форм моногенных НБОЗ. Это связано прежде всего с трудностями получения и анализа информации об особенностях клинических проявлений, способах параклинической диагностики и механизмах этиопатогенеза идентифицированных генетических вариантов наследственной моногенной патологии глаз. Для практикующего врача-офтальмолога консультирование больного зачастую заканчивается на этапе диагностики определенного наследственного заболевания, в то время как для врача-генетика диагностика нозологической формы недостаточна, так как требует идентификации конкретного генетического варианта с использованием молекулярно-генетических методов. Особенно важно выявление генетического варианта НБОЗ в семьях, планирующих деторождение и нуждающихся в проведении профилактических мероприятий. Следовательно, идентификация генетического варианта необходима не только для определения особенностей клинических проявлений и течения заболевания, но прежде всего для установления типа его наследования, расчета риска рождения больного ребенка в семье с отягощенным анамнезом и планирования профилактических мероприятий, направленных на предотвращение его рождения. Результаты клиничко-генетических исследований меняют представление практических врачей об этиологии таких групп заболеваний, как врожденные пороки развития глаз, поздно манифестирующие заболевания сетчатки, хрусталика. Изучение функции продуктов генов позволяет предположить некорректность диагноза «глаукома». Создается впечатление, что это особый вид первичной оптической нейропатии. Отсутствие современного дифференцированного этиопатогенетического подхода к ранней диагностике, профилактике, диспансеризации и определению тактики лечения патологии органа зрения приводит к необходимости представления материала для врачей, генетиков и биологов на «языке», понятном для всех специалистов. Следует отметить большие трудности определения клиничко-генетического диагноза, вызванного использованием генетиками и офтальмологами в различных странах разной терминологии в оценке отдельных нозологических форм НБОЗ.

Значительную роль в обеспечении ранней диагностики отдельных нозологических форм НБОЗ может сыграть проведение молекулярно-генетического анализа, направленного на поиск мутаций в отдельных генах. Этиологическая ДНК-диагностика особенно важна для

семей, планирующих деторождение, так как на ее основе становится возможной пренатальная диагностика. Возможно проведение ДНК-диагностики прямым или косвенным методом. Четкое описание клинической картины позволяет связать ее с патологией конкретного идентифицированного гена, который локализован и известны его мажорные мутации. В этом случае для семьи возможно проведение прямого молекулярно-генетического анализа, направленного на выявление патологической мутации в гене.

Для решения практических и научных задач нами изучен клинический полиморфизм, «границы клинического портрета», разработаны клинические и параклинические критерии диагностики отдельной клиничко-генетической единицы. Учитывая обширный нозологический спектр, выраженную генетическую гетерогенность НБОЗ становится очевидной необходимость определения алгоритма диагностики клиничко-генетического варианта в семьях с отягощенным анамнезом. Большое практическое значение имеет создание компьютерной диагностической программы с элементами обучения для офтальмологов и генетиков исследователей. Такой подход позволит оптимизировать диагностику наследственных моногенных заболеваний органа зрения и уже сегодня решать вопросы практического здравоохранения.

Изучение клинического полиморфизма и генетической гетерогенности, создание регистров НБОЗ в РФ приведет к формированию основы для разработки методики этиопатогенетической терапии этой группы инвалидизирующих заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гинтер Е.К. и др. Наследственные болезни в популяциях человека / Под ред. Е.К. Гинтера. – М., 2002.
2. Кадышев В.В., Зинченко Р.А., Хлебникова О.В. и др. Генетико-эпидемиологические особенности распространения изолированной наследственной патологии органа зрения среди населения Кировской области // Мед. генетика. – 2011. – Т. 10, № 3 (105). – С. 23–33.
3. Хлебникова О.В., Киреева О.Л., Амелина А.А., Зинченко Р.А. Наследственная патология органа зрения в Ростовской области // Клиничко-генетические аспекты врожденной и наследственной патологии у населения Ростовской области / Под ред. Р.А. Зинченко и др. Ростов н/Д, 2010. – С. 265–304.
4. Хлебникова О.В., Бессонова Л.А., Кадышев В.В. и др. Медико-генетическое изучение населения Республики Башкортостан. Сообщение IX. Разнообразие спектра и отягощенность наследственной патологией органа зрения в 8 районах // Мед. генетика. – 2011. – Т. 10, № 3 (105). – С. 43–48.
5. Lewis R. A., Shroyer N. F., Singh N. et al. Genotype/phenotype analysis of a photoreceptor-specific ATP-binding cassette transporter gene, ABCR, in Stargardt disease // Am. J. Hum. Genet. – 1999. – Vol. 64. – P. 422–434.
6. McKusick V.A. Online Mendelian inheritance in man. Catalogs of Human Genes and Genetic Disorders // Baltimore, London: John Hopkins Univ. press. 2010. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/OMIM>
7. Rahi J. S. Childhood blindness: a UK epidemiological perspective, paper presented at the 36th Cambridge Ophthalmological Symposium, September 2006 // Eye. – 2007. – Vol. 21. – P. 1249–1253.
8. Rosenberg T. Epidemiology of hereditary eye diseases // Dev. Ophthalmol. – 2003. – Vol. 37. – P. 16–33.

Поступила 20.02.12

Сведения об авторе: Хлебникова О. В., д-р мед. наук, вед. научн. сотр. лаборатории генетической эпидемиологии ФГБУ "МГНЦ" РАМН; Дадали Е. Л., д-р мед. наук, проф. лаборатории генетической эпидемиологии ФГБУ "МГНЦ" РАМН.

Для контактов: Хлебникова Ольга Вадимовна, 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1. Телефон: (499) 324-87-72, Khlebnikova@med-gen.ru