

# Роль молекулярно-генетического исследования в раннем диагнозе и прогнозе X-сцепленного синдрома Альпорта

Ф.Д. Цаликова, О.В. Шатохина, С.М. Тверская, М.С. Игнатова  
МНИИ педиатрии и ДХ МЗ РФ, отдел врожденных и приобретенных заболеваний почек

## The role of molecular-genetic investigation in early diagnostic and prognosis of X-linked Alport's syndrome

F.D. Tsalikova, O.V. Shatokhina, S.N. Tverskaya, M.S. Ignatova

*Ключевые слова: внутригенные маркеры, гломерулярная базальная мембрана, делеция, синдром Альпорта, точковая мутация, X-хромосома, COL4A5, SSCP.*

Синдром Альпорта – это неиммунная гломерулопатия, проявляющаяся гематурией и/или протеинурией, своеобразным строением гломерулярных базальных мембран, нередко – патологией слуха и зрения, а в ряде случаев – хронической почечной недостаточностью. Синдром Альпорта с нарастающей интенсивностью изучается во всем мире в связи с новыми методами ДНК-диагностики. Ввиду генетического полиморфизма этого заболевания необходимо учитывать особенности клинической картины для выбора конкретного молекулярно-генетического метода в случае каждой конкретной семьи. Результаты исследования гена  $\alpha$ -5-цепи коллагена IV типа позволяют достоверно диагностировать заболевание в клинически неясных ситуациях, в том числе на доклиническом этапе. Величина и характер генетического дефекта определяет прогноз заболевания в каждом конкретном случае.

Alport's syndrome is a non-immune glomerulopathy which is manifested by hematuria and/or proteinuria, by specific changes in structure of glomerular basal membrane. It is often accompanied by pathology of vision and hearing and sometimes with chronic renal failure. Alport's syndrome is now intensively studied using modern methods of the DNA-diagnostics. Due to genetic polymorphism of this syndrome, it is necessary to take into account specific clinical pattern to choose a molecular-genetic method appropriate for each family. Results of the study of  $\alpha$ -5-chain of the type IV collagen allows to diagnose the syndrome in clinically doubtful cases, i.e. on a pre-clinical stage of the disease. Extent and nature of genetic defect defines the prognosis of the disease in each specific case.

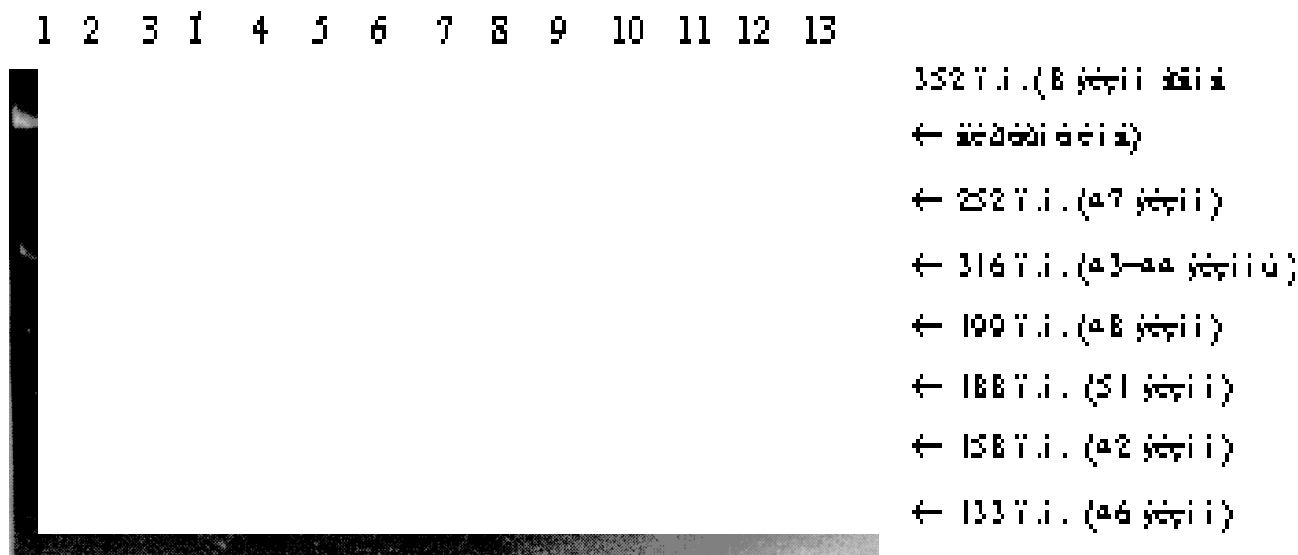
Синдром Альпорта в современном представлении – это неиммунная гломерулопатия, проявляющаяся гематурией и/или протеинурией, своеобразным строением гломерулярных базальных мембран, нередко – патологией слуха и зрения, а в ряде случаев – хронической почечной недостаточностью. Распространенность синдрома Альпорта составляет 1 случай на 5000 населения [3]. Впервые семейная гематурия описана Guthrie в 1902 г. [5]. Объединил нефропатию и тугоухость в один синдром английский врач Артур Альпорт в 1927 г. [1]. Диагноз синдрома Альпорта принято ставить при наличии трех из следующих четырех признаков: семейный анамнез по гематурии и хронической почечной недостаточности, неврит слухового нерва и электронно-микроскопические признаки расслоения гломерулярных базальных мембран [3]. В настоящий момент синдром Альпорта с нарастающей интенсивностью изучается во всем мире в связи с новыми возможностями ДНК-диагностики [2]. Идентифицированы гены всех  $\alpha$ -цепей коллагена IV типа, мутации в которых ответственны за синдром Альпорта; они расположены на 2, 13 и X-хромосоме (COL4A3, COL4A4, COL4A5, COL4A6) [2, 4].

Для молекулярно-генетического исследования было выделено шесть семей с X-сцепленным синдромом Альпорта. На X-хромосоме применено три ДНК-диагностических метода: мультиплексной амплификации в COL4A5 (разновидность полимеразной цепной реакции), Single Strand Conformation Polymorphism в COL4A5 и применение внутригенных маркеров (2B6 и DXS178) в том же COL4A5 для идентификации X-хромосом пробандов, матерей и необследованных сибсов.

Мультиплексная амплификация проведена в семьях I и II с ювенильным типом X-сцепленного синдрома Альпорта [2], где предполагалось наличие крупных делеций в COL4A5. Метод Single Strand Conformation Polymorphism применен в семьях III и IV со зрелым вариантом синдрома Альпорта [2], где предполагалось наличие точковых мутаций в COL4A5. Метод внутригенных маркеров применен в семьях V и VI ввиду неясности диагноза у новорожденных сибсов.

Крупные делеции в COL4A5 найдены у пробанда семьи I, его матери, тети по материнской линии и ее дочери в виде отсутствия 42–51 экзонов этого гена; мутация отсутствовала у сводного сибса (рис. 1). В

*Адрес для переписки: 127412, г. Москва, ул. Талдомская, 2, МНИИ ПидХ МЗ РФ, отделение нефрологии  
Телефон: 483-21-92*

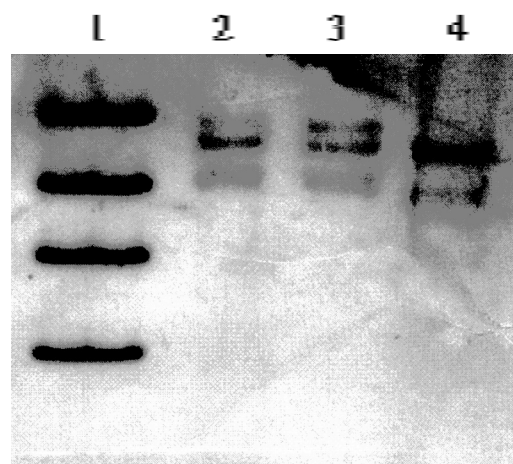


**Рис. 1.** Результаты мультиплексной амплификации. Справа номера экзонов. Дорожки 2 и 11 – образцы ДНК пробанда семьи I. Дорожки 6 и 12 – образцы ДНК пробандов семьи II

связи с мезангиальной пролиферацией при световой микроскопии нефробиоптата пробанда семьи I и его двоюродной сестры изначально в обоих случаях был диагностирован мезангиопролиферативный гломерулонефрит. В обоих случаях проводилась глюкокортикоидная терапия. И только мультиплексная амплификация сделала диагноз синдрома Альпорта очевидным. Наличие в семье гематурии, хронической почечной недостаточности, врожденной катаракты и нейросенсорной тугоухости полностью соответствовало диагнозу.

Отсутствие всех 51 экзона COL4A5 было выявлено у пробанда семьи II, его матери и сводного сибса (рис. 1). Семья II была выбрана для мультиплексной амплификации в связи с отсутствием типичного для синдрома Альпорта семейного анамнеза. Двое сыновей от разных браков у клинически здоровой матери имели гематурию и микропротеинурию. Расслоение гломерулярных базальных мембран при электронной микроскопии нефробиоптатов отмечалось в обоих случаях. У матери и ее родственников патологии почек, слуха и зрения не было. Выявление делеции всех 1–51 экзона гена COL4A5 на X-хромосоме сделало диагноз X-сцепленного синдрома Альпорта в этой семье очевидным, а отсутствие клинических проявлений у матери объясняется наличием у нее второй неповрежденной X-хромосомы. Как в первой, так и во второй семье отмечена выраженная дезорганизация плотных пластинок гломерулярных базальных мембран при электронной микроскопии и выраженная мезангиальная пролиферация при световой микроскопии нефробиоптатов.

Точковые мутации в 47 экзоне с аминокислотной заменой Ala-Asp найдены у пробанда семьи III и его матери, но не обнаружены у сибса (рис. 2). Точковые мутации в 46 экзоне COL4A5 с GGA-GGT заменой выявлены у пробанда семьи IV и его матери; мутация отсутствовала у сибса. У пробандов семей III и IV отмечалась изолированная микрогематурия при отсутствии в родословных случаев развития хронической почечной недостаточности, тугоухости и врожденной патологии зрения. Выявленные с помощью метода Single Strand

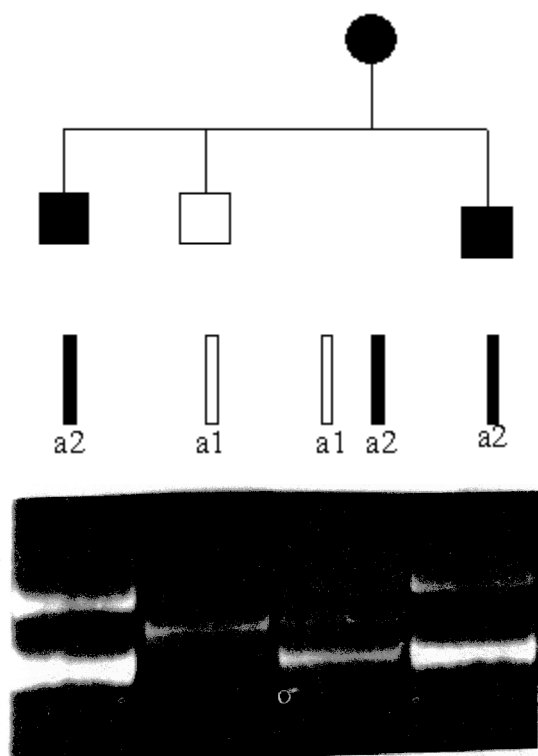


**Рис. 2.** Результаты Single Strand Conformation Polymorphism. Дорожка 1 – маркер молекулярного веса. Дорожка 4 – образец ДНК пробанда семьи III, остальные дорожки – образцы ДНК здоровых доноров

Conformation Polymorphism точковые мутации в гене COL4A5 на X-хромосоме позволили поставить диагноз синдрома Альпорта в обеих семьях без проведения инвазивного нефробиоптического исследования.

В семье V – с гематурией и невритом слухового нерва у двух братьев, мать страдает изолированной микрогематурией. У третьего брата в семье нет клинических проявлений синдрома Альпорта, но ввиду его раннего возраста родителей интересовала возможность развития у него симптомокомплекса в дальнейшем. Применение полиморфных маркеров позволило выявить идентичную X-хромосому у двух сибсов и матери и отличную X-хромосому у интересующего нас сибса (рис. 3). Это позволило в раннем возрасте исключить у него диагноз X-сцепленного синдрома Альпорта.

Идентичные X-хромосомы обнаружены у пробанда семьи VI и его матери, отличная – у новорожденной сестры. В этой семье ставилась аналогичная задача ранней доклинической диагностики X-сцепленного синдрома Альпорта у только родившейся девочки. Этот



**Рис. 3. Результаты идентификации X-хромосом методом применения внутригенных маркеров в COL4A5 в семье V; X-хромосомы матери и двух сыновей идентичны, среднего сына – отлична**

диагноз у старшего ребенка был морфологически подтвержден наличием у него расслоения гломерулярных базальных мембран при типичной клинической карти-

не. В семье несколько случаев гематурии и тугоухости, хронической почечной недостаточности. Отсутствие у новорожденной X-хромосомы, идентичной X-хромосоме матери и старшей сестры позволило еще на доклиническом этапе исключить у ее ребенка диагноз X-сцепленного синдрома Альпорта.

Объективность диагностики X-сцепленного синдрома Альпорта молекулярно-генетическими методами во всех шести семьях подтверждена пятилетним катамнестическим наблюдением.

Таким образом, мультиплексная амплификация предпочтительна в случаях X-сцепленного синдрома Альпорта в семьях с ювенильным вариантом течения, Single Strand Conformation Polymorphism – со зрелым вариантом течения, а идентификация X-хромосом с применением внутригенных маркеров в COL4A5 – в семьях с клинико-морфологически подтвержденным диагнозом X-сцепленного синдрома Альпорта у матери и части детей и спорностью патологии у отдельных родственников.

### Литература

1. *Alport A.C.* Hereditary familial congenital haemorrhagic nephritis. Br. Med. J. 1927; 1: 504–506.
2. *Atkin, Sandra J., Hasstedt, Lynelle Menlove et al.* Mapping of Alport Syndrome to the Long Arm of the X Chromosome. Am. J. Hum. Genet. – 1988. – 42: 249–255.
3. *Clifford E. Kashtan et al.* Alport syndrome, basement membranes and collagen. Pediatr. Nephrol. 1990; 4: 523–532.
4. *Frances A. Flinter et al.* Localization of the Gene for Classic Alport syndrome. Genomics. 1989; 4: 335–338.
5. *Guthrie L.G.* «Idiopathic», or congenital, hereditary and family haematuria. Lancet. 1902; 1: 1243–1246.