

Скрининг на болезнь Фабри: лабораторные тесты и анализ родословной

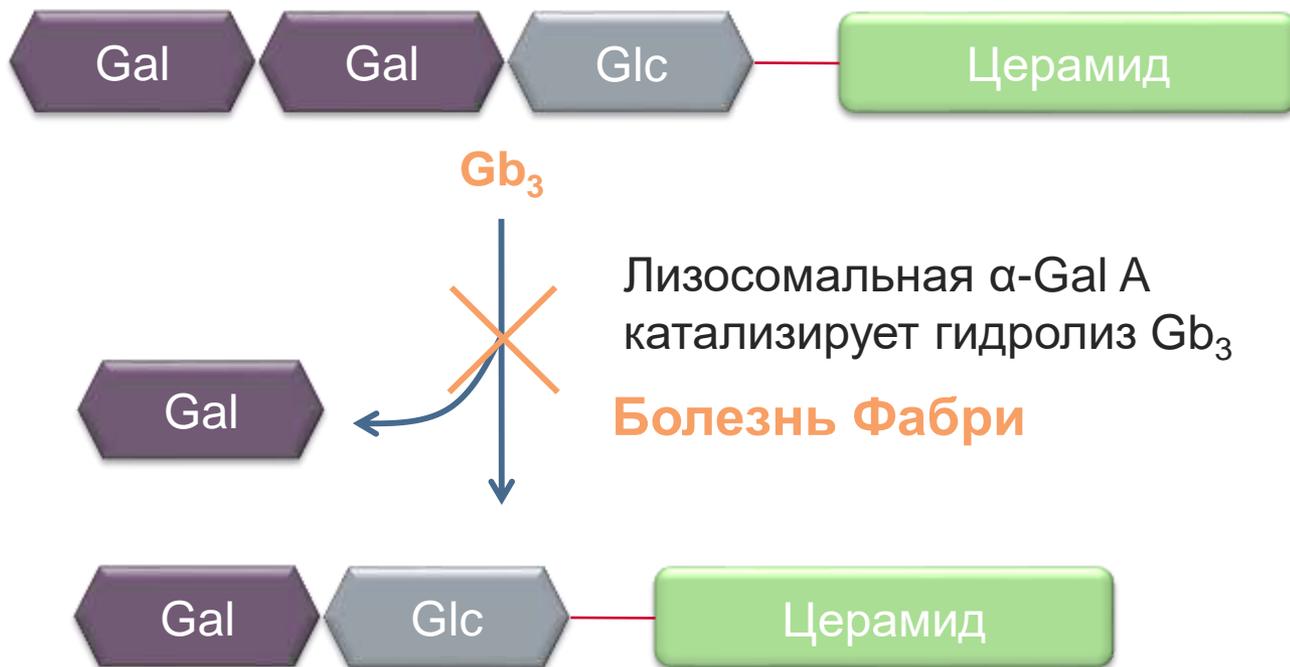
Захарова Е.Ю.

- **Екатерина Юрьевна Захарова,
д.м.н., профессор кафедры
медицинской генетики**
- Заведующая лабораторией
наследственных болезней обмена
веществ, ФГБНУ МГНЦ
- Участвую в научных, исследовательских и
образовательных проектах,
поддерживаемых компаниями Шайер,
Биомарин, Санофи

Болезнь Фабри – наследственное заболевание

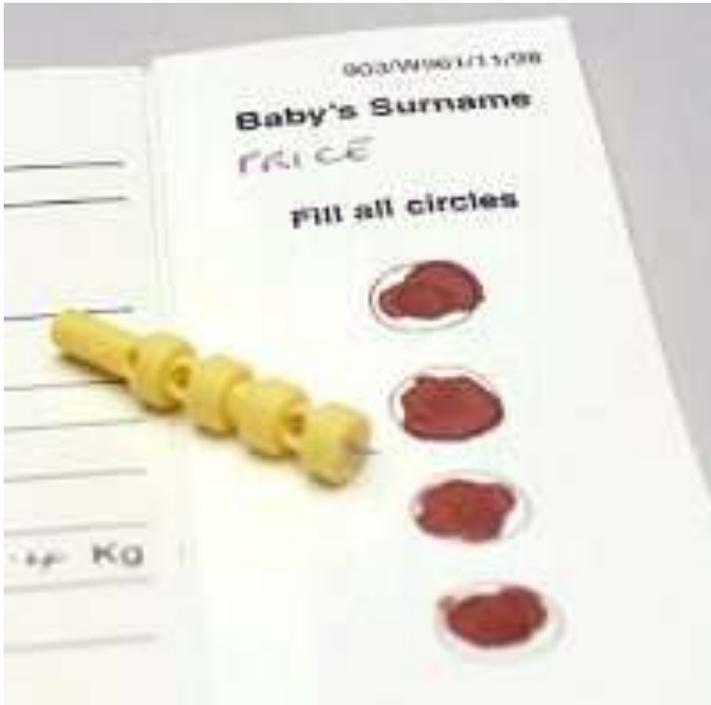
- Ген *GLA* локализован на X-хромосоме (Xq22.1), кодирует лизосомный фермент альфа-галактозидазу А (А-ГАЛ А)
- Тип наследования – X-сцепленный

В основе болезни Фабри - недостаточность фермента α -Gal A (АГАЛ А)



Недостаточность α -Gal A при болезни Фабри приводит к накоплению в тканях гликолипидов ¹

Активность ферментов в пятнах высушенной крови

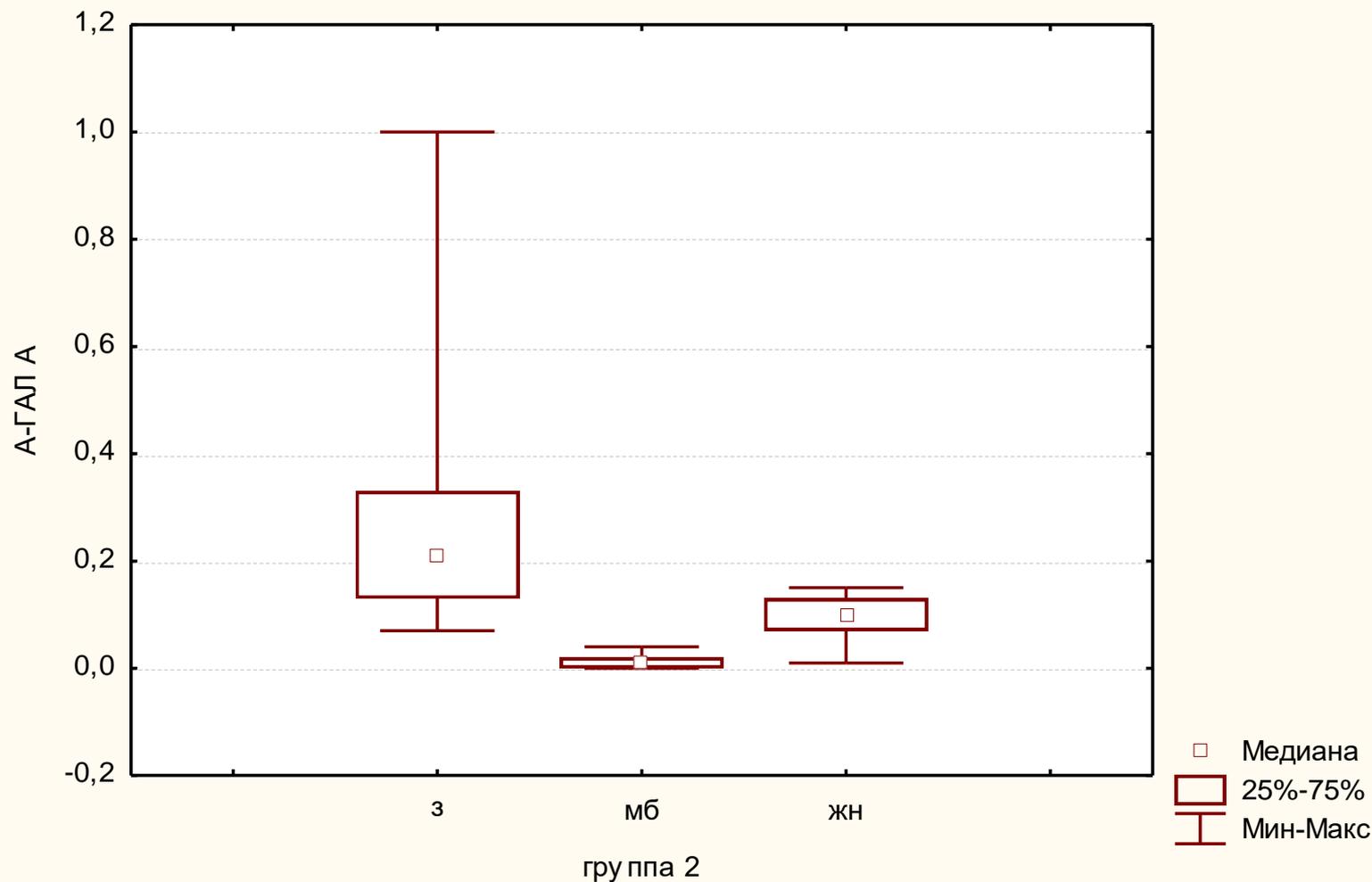


- Многие лизосомные ферменты сохраняют свою активность в пятнах высушенной крови
- Определение активности ферментов в пятнах крови возможно применять для селективного скрининга на болезнь Фабри

АКТИВНОСТЬ А-ГАЛА

Диаграмма размаха по группам

Прмн:



Биомаркеры при БФ

- Два специфичных для БФ биомаркера идентифицированы на сегодняшний день: Gb3 и lysoGb3 ¹
 - Повышение Gb3 используется для диагностики ^{1,2} но является плохим индикатором определения прогрессирования болезни/исходов ²⁻⁴
 - lysoGb3 в плазме коррелирует с тяжестью заболевания и может быть обнаружен в раннем возрасте ^{1,2}
- Уровень lysoGb3 отличается при разных формах БФ
 - LysoGb3 у пациентов с неклассическим фенотипом значительно различались от таковых у здоровых людей ⁵
 - У женщин, уровень lysoGb3 при БФ частично совпадал с таковым у здоровых ⁵
- lysoGb3 в плазме значимо снижается при ФЗТ ²

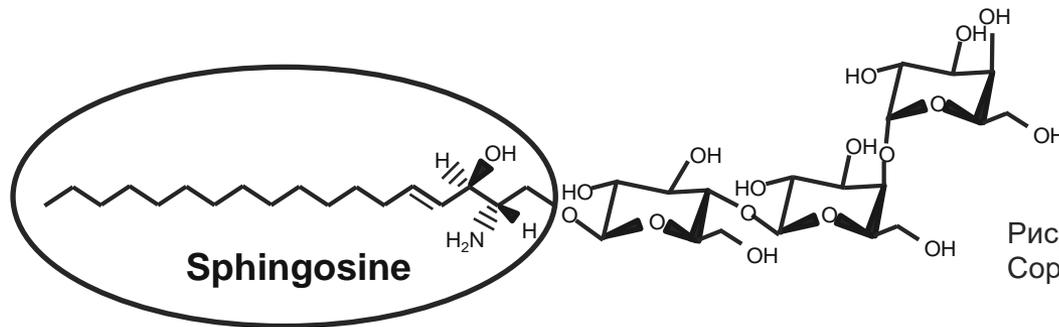
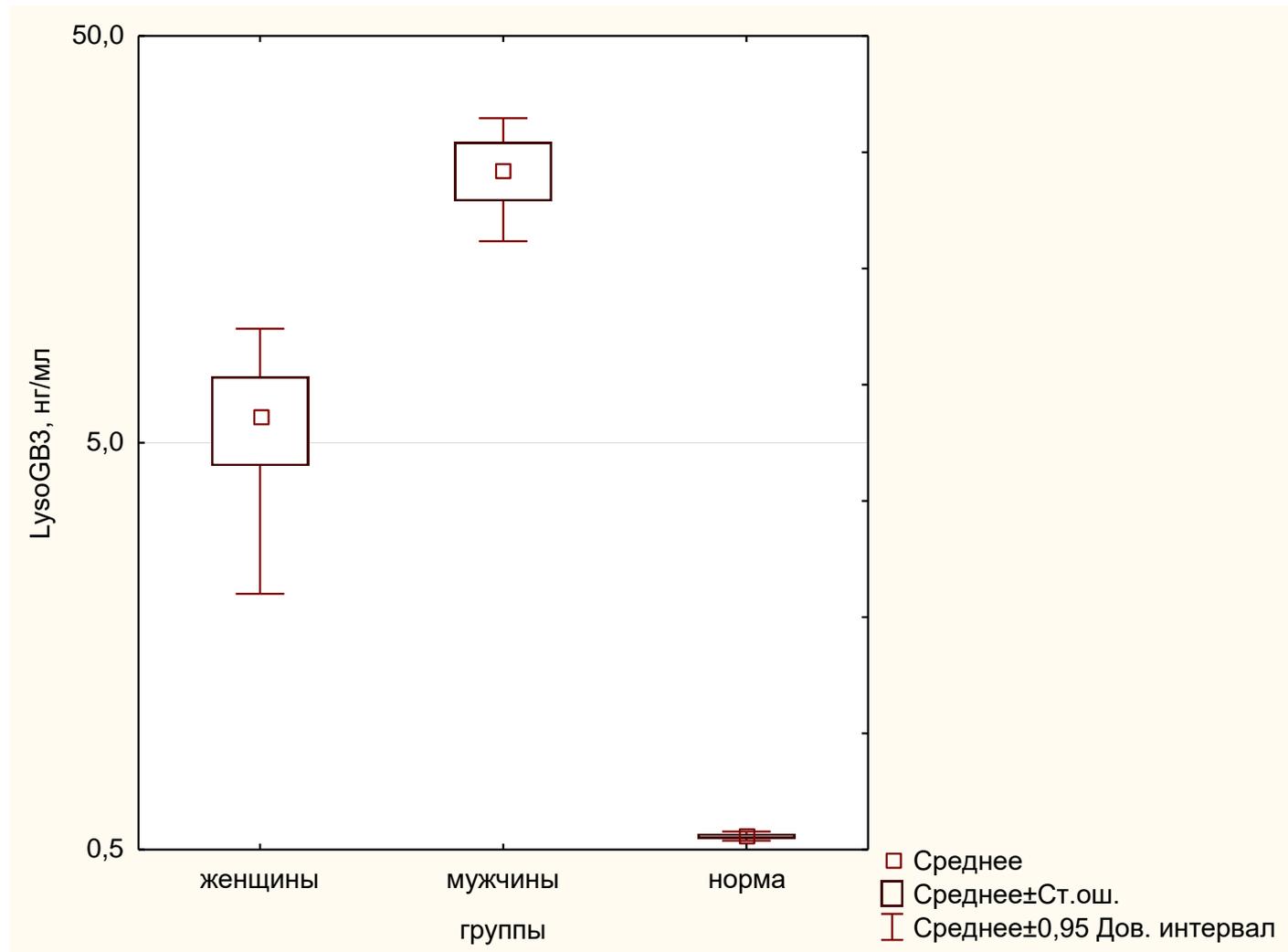


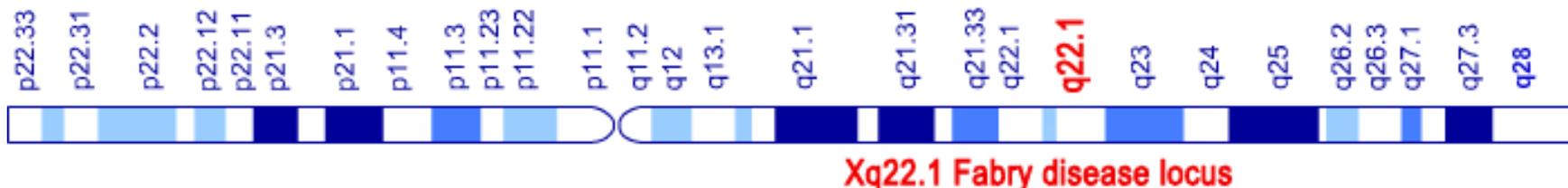
Рисунок адаптирован с Auray-Blais C, et al. 2012¹
Copyright (2013) American Chemical Society

1. Auray-Blais C, et al. *Anal Chem.* 2012;84:2745–53;
2. Aerts JM, et al. *J Inherit Metab Dis.* 2011;34:605–19;
3. Vedder AC, et al. *J Inherit Metab Dis.* 2007;30:68–78;
4. Whitfield PD, et al. *J Inherit Metab Dis.* 2005;28:21–33;
5. Smid BE, et al. *J Med Genet.* 2015;52:262–8

lyso-Gb3



Молекулярная диагностика



Ген *GLA* состоит из 7 экзонов

В гене *GLA* описано более 600 мутаций

Большинство из них – точковые мутации (миссенс и нонсенс)

Большинство из них уникальные для каждой семьи

Только в отдельных случаях существуют четкие гено-фенотипические корреляции

ДНК-диагностика необходима для установления носительства болезни, в некоторых случаях для подтверждения диагноза

Эпидемиология Болезни Фабри

- 1:40000-1:240000 [Meikle P.J. et. al., 1999; Poorthuis, B.J. et. al., 1999; Desnick R. J., Ionnou Y., Eng C. M., 2001]
- 1:110000 в Чехии [Merta M. et. al., 2007]

Данные массового неонатального скрининга:

- 1:3100 новорожденных мальчиков в Италии [Ishii et. al., 2002]
- 1:1250 новорожденных мальчиков в Тайване [Hwu, W.-L. et.al., 2009].

Селективный скрининг на болезнь Фабри: международный опыт

Исследование ¹	Выборка	Материал для исследования ¹	Методика подтверждения ¹	Количество пациентов с болезнью Фабри	Распространенность на 100 (%) ¹
Utsumi, 2000 (Япония)	HD + CAPD	Плазма	ДНК	М: 1/440 Ж: 0/282	0,14
Nakao, 2003 (Япония)	HD	Плазма	L, ДНК	М: 6/514	1,17
Linthorst, 2003 (Нидерланды)	HD + CAPD	Кровь	ДНК	М: 1/508	0,22
Kotanko, 2004 (Австрия)	HD	DBS	L, ДНК	М: 4/1516 Ж: 0/964	0,16
Bekri, 2005 (Франция)	HD	L	ДНК	М: 1/59 Ж: 0/47	0,94
Ichinose, 2005 (Япония)	HD	Плазма	L, ДНК	М: 1/450	0,22
Maslauskienė, 2007 (Литва)	HD	DBS		М: 0/536	0,00
Tanaka, 2005 (Япония)	HD	Плазма	L, ДНК	М: 4/401 Ж: 1/295	0,72
Andrade, 2007 (Канада)	HD + CAPD	Плазма	L, ДНК	М: 0/499	0,00
МФЗТа, 2007 (Чешская республика)	HD	DBS	Плазма, L, ДНК	М: 4/1521 Ж: 1/1849	0,15
Terryn, 2008 (Бельгия)	HD	DBS	L, ДНК	М: 1/180 Ж: 2/742	0,33
Porsch, 2008 (Бразилия)	HD	DBS	ДНК	М: 1/558	0,36

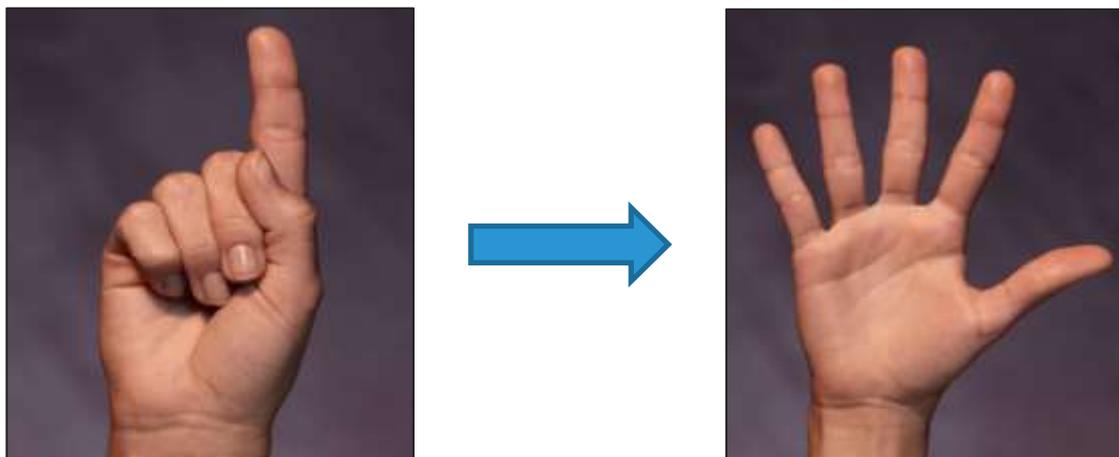
CAPD, хронический амбулаторный перитонеальный диализ; DBS, сухая капля крови; Ж, женщины; HD, гемодиализ; L, лейкоциты; М, мужчины

Селективный скрининг на болезнь Фабри: собственный опыт

- Всего исследовано 4999 образцов пациентов (2784 – мужчины, 2215 – женщины)
- 99% - пациенты из отделений гемодиализа
- Применяемые тесты: определение активности фермента, измерение концентрации lyso-Gb3, ДНК-диагностика
- Выявлено 11 мужчин 10 женщин
- Распространенность БФ среди пациентов гемодиализа– **0,42 (1:238)**

Генеалогический анализ при болезни Фабри

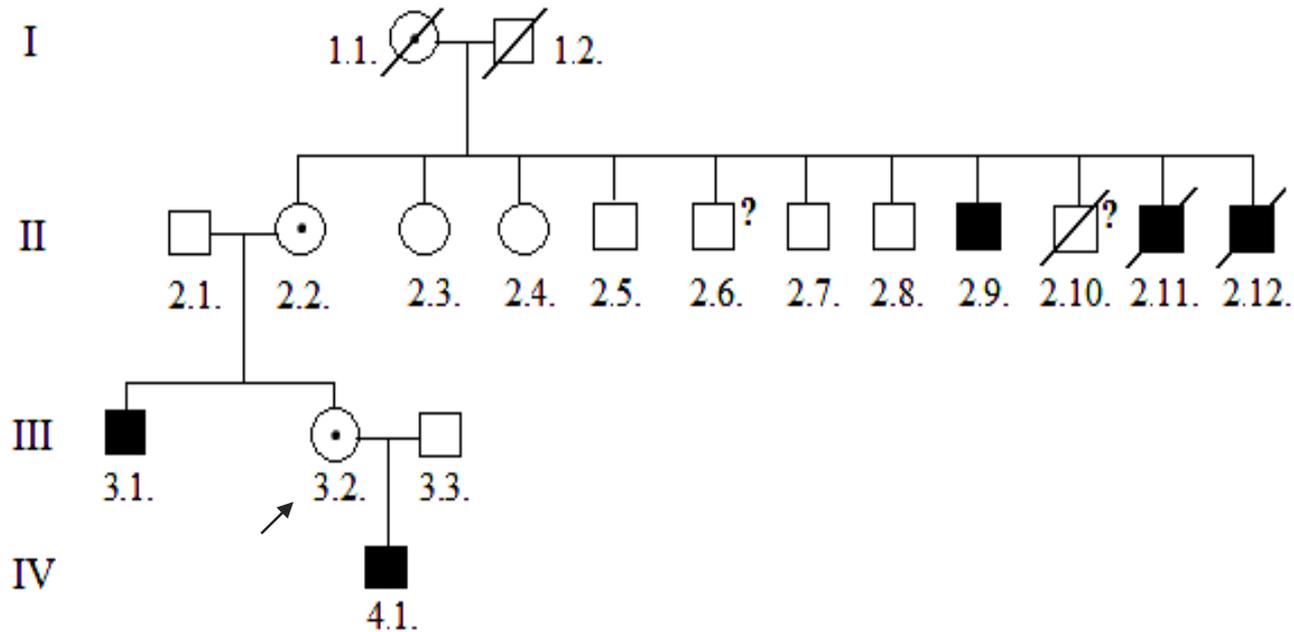
В среднем, на каждого пациента с болезнью Фабри («пробанда»)...



... при проведении генеалогического анализа может быть выявлено до **пяти дополнительных случаев заболевания** в одной семье. ¹

1. Laney DA, Fernhoff PM. *J Genet Couns.* 2008.

Родословная пациентки 1.

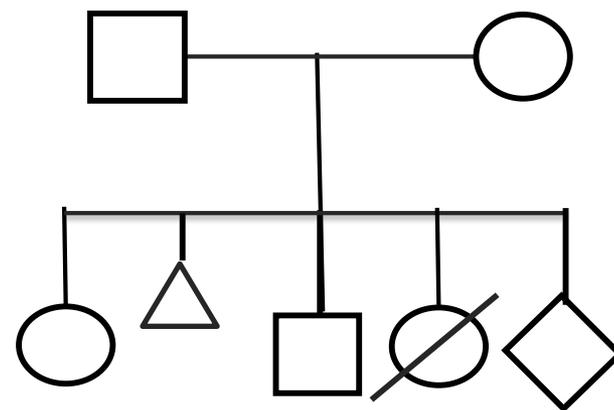
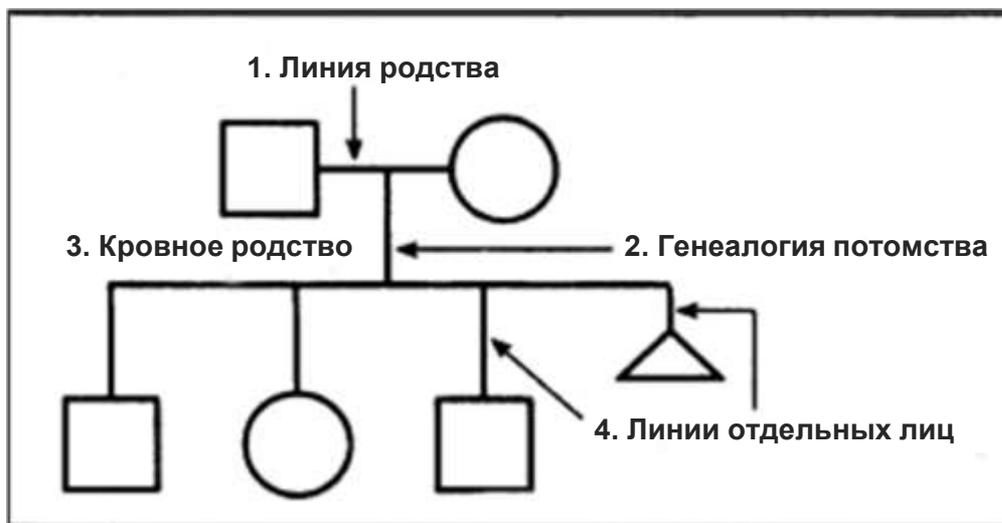
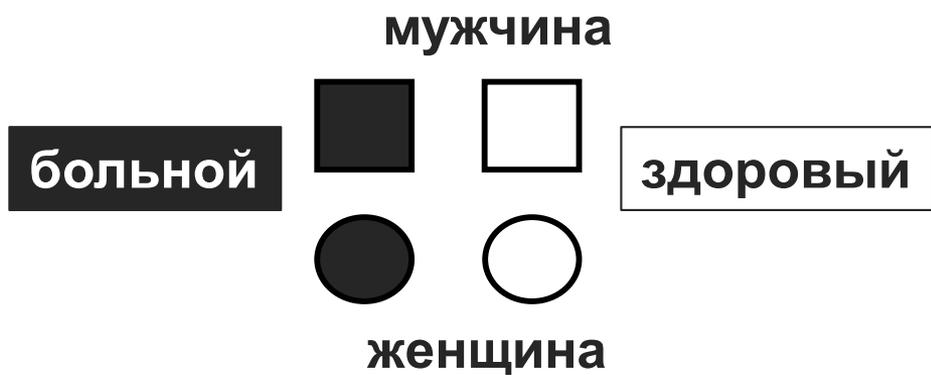


1.1. – умерла в 65 л., в анамнезе – ревматизм, 1.2. – умер в 70 л.,
2.2. – 47 л., симптомов БФ нет, 2.6. – страдает психическим
заболеванием, 2.9. – 43 г., БФ подтверждена ДНК – диагностикой, 2.10.
– умер в 27 л. от кишечной непроходимости, 2.11. – умер в 40 л. от
заболевания почек (терминальная ХПН?), 2.12. - умер в 40 л. от
заболевания почек (терминальная ХПН?),
3.1. – 26 л., БФ подтверждена ДНК – диагностикой, 3.2. – 24 г.,
пробанд, 4.1. – 3 г., БФ подтверждена ДНК – диагностикой.

Составление родословной

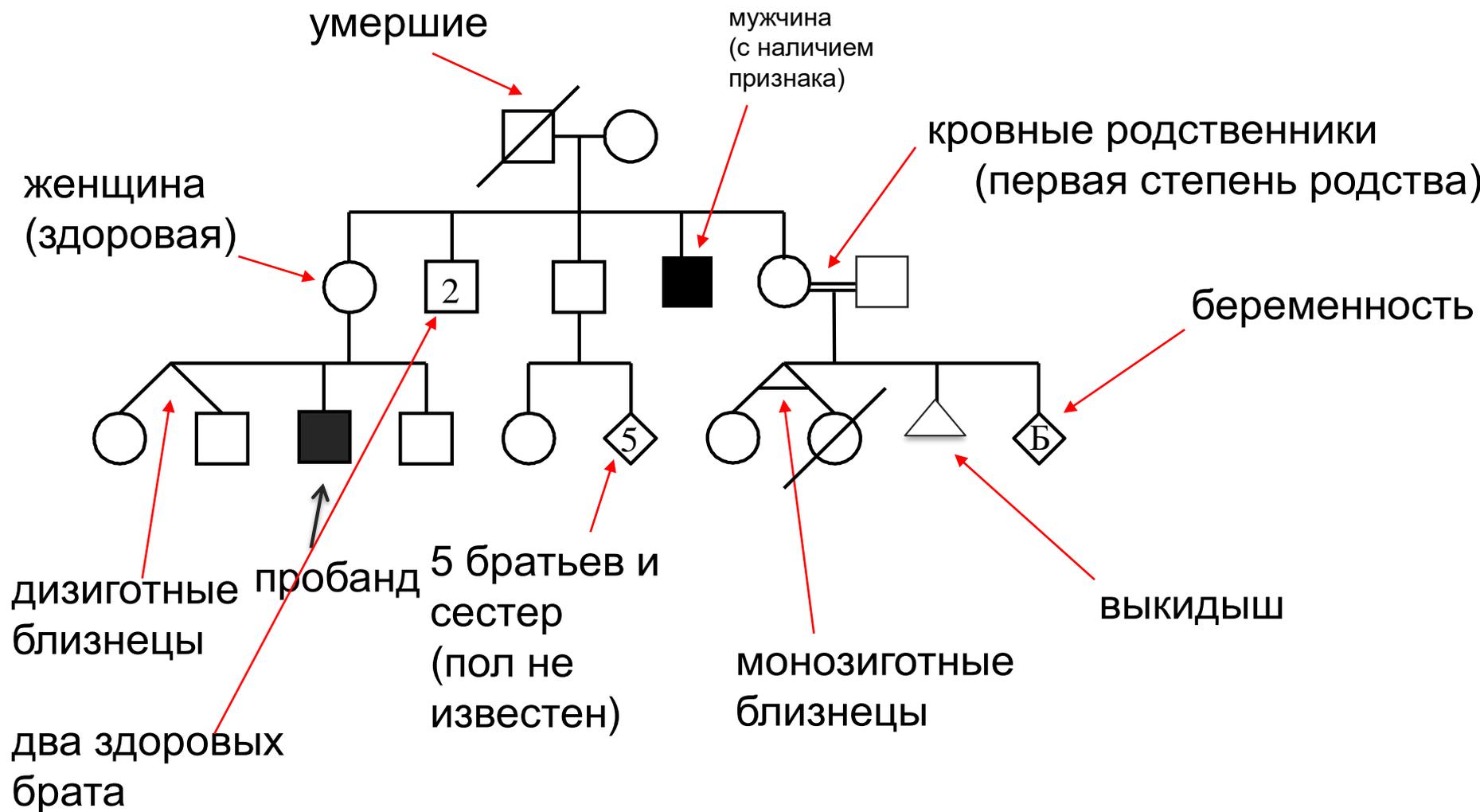
Анализ родословной и генетическое консультирование должны проводиться с согласия пациента и/или его официальных представителей, в соответствии с законодательством об охране персональных данных

Родословная: символы и линии



Как построить родословную - основные правила

- **Мужчина-партнер** на генеалогической линии должен, по возможности, быть **слева от женщины**
- **Братьев и сестер** лучше располагать слева на право в **порядке рождения** (от старших к младшим)
- Родословная должна включать **не менее трех поколений**
- **Пробанд** отмечается **стрелочкой**
- **Отмеченные черным** –больные, которые страдают изучаемой болезнью



Составление семейной родословной

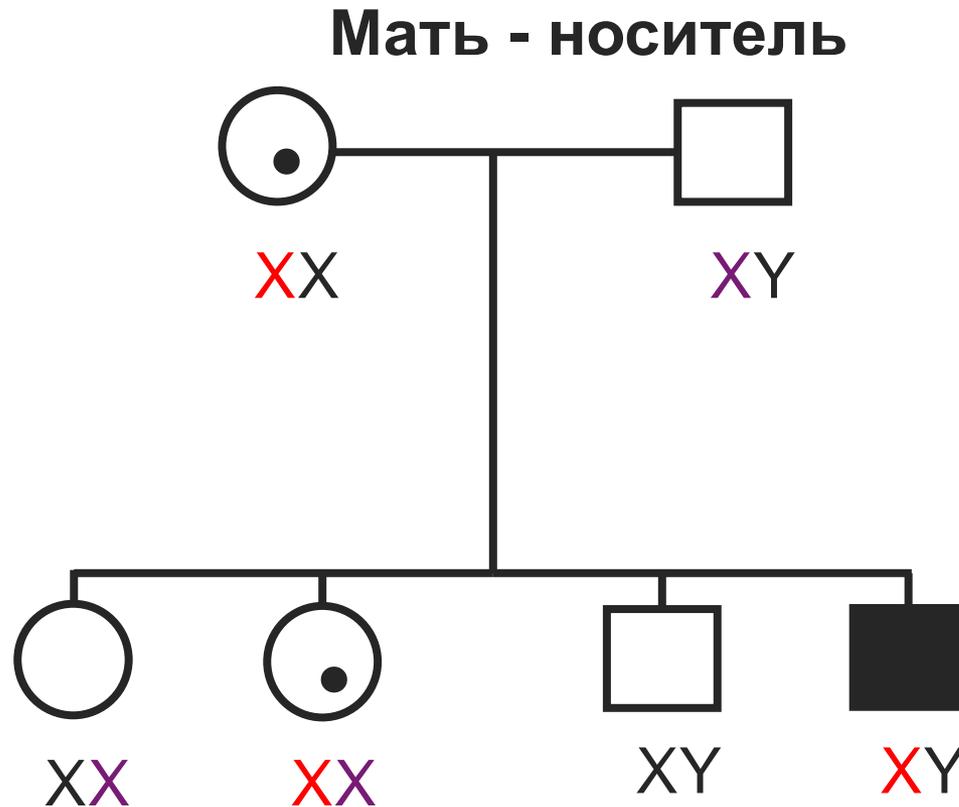
- Составляйте генеалогическое дерево **снизу вверх**, начиная с пробанда
- **Записывайте** имена, даты рождения, девичьи фамилии
- Спрашивайте о **выкидышах, мертворождениях и перинатальной смертности** в семье
- Спрашивайте о детях от других родителей (**сводные братья и сестры**), **усыновлениях/удочерениях**
- Спрашивайте о **кровных родственниках**
- Не забудьте записать хотя бы основную информацию **об обеих сторонах семьи**, даже если заболевание встречается только с одной стороны
- Укажите **дату** составления родословной и **подпишите** ее
- **Продолжите** родословную при возможности/необходимости

Типы наследования

- Аутосомно-рецессивный
- Аутосомно-доминантный
- Х-сцепленный
- Х-сцепленный рецессивный
- Митохондриальный (цитоплазматический)
- Y-сцепленный
- Кодоминирование

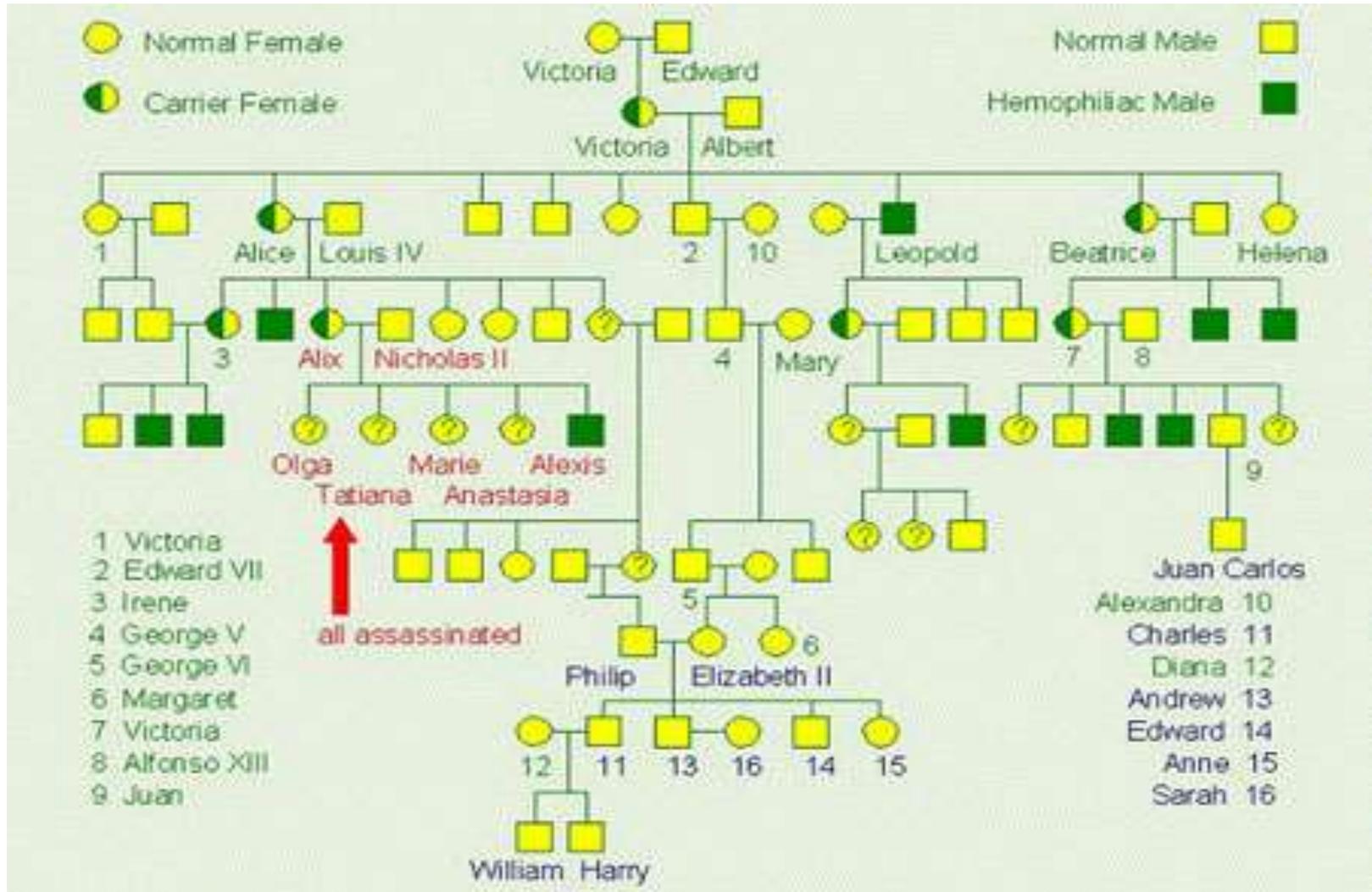


X-сцепленное рецессивное наследование



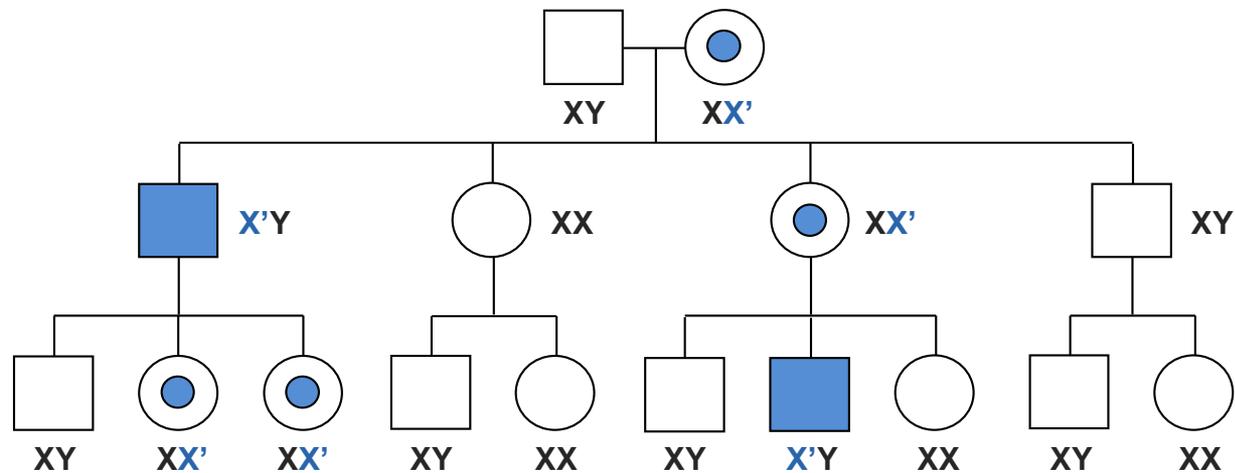
Заболеванием поражаются преимущественно лица мужского пола;
Заболевание наблюдается у мужских родственников пробанда по материнской линии;
Сын никогда не наследует заболевание отца;
В браке между больными мужчинами и здоровыми гомозиготными женщинами все дети будут здоровы, но у дочерей могут быть больные сыновья;
В браке между здоровым мужчиной и гетерозиготной женщиной вероятность рождения больного ребенка составит: 50% - для мальчиков и 0% - для девочек.
Сестры-носительницы имеют 50% больных сыновей и 50% дочерей-носительниц.

X-сцепленный рецессивный тип наследования



Наследование болезни Фабри соответствует наследованию сцепленного с X-хромосомой признака

- В отличие от классических X-сцепленных рецессивных заболеваний у женщин-носительниц БФ могут быть клинические проявления и достаточно тяжелые!

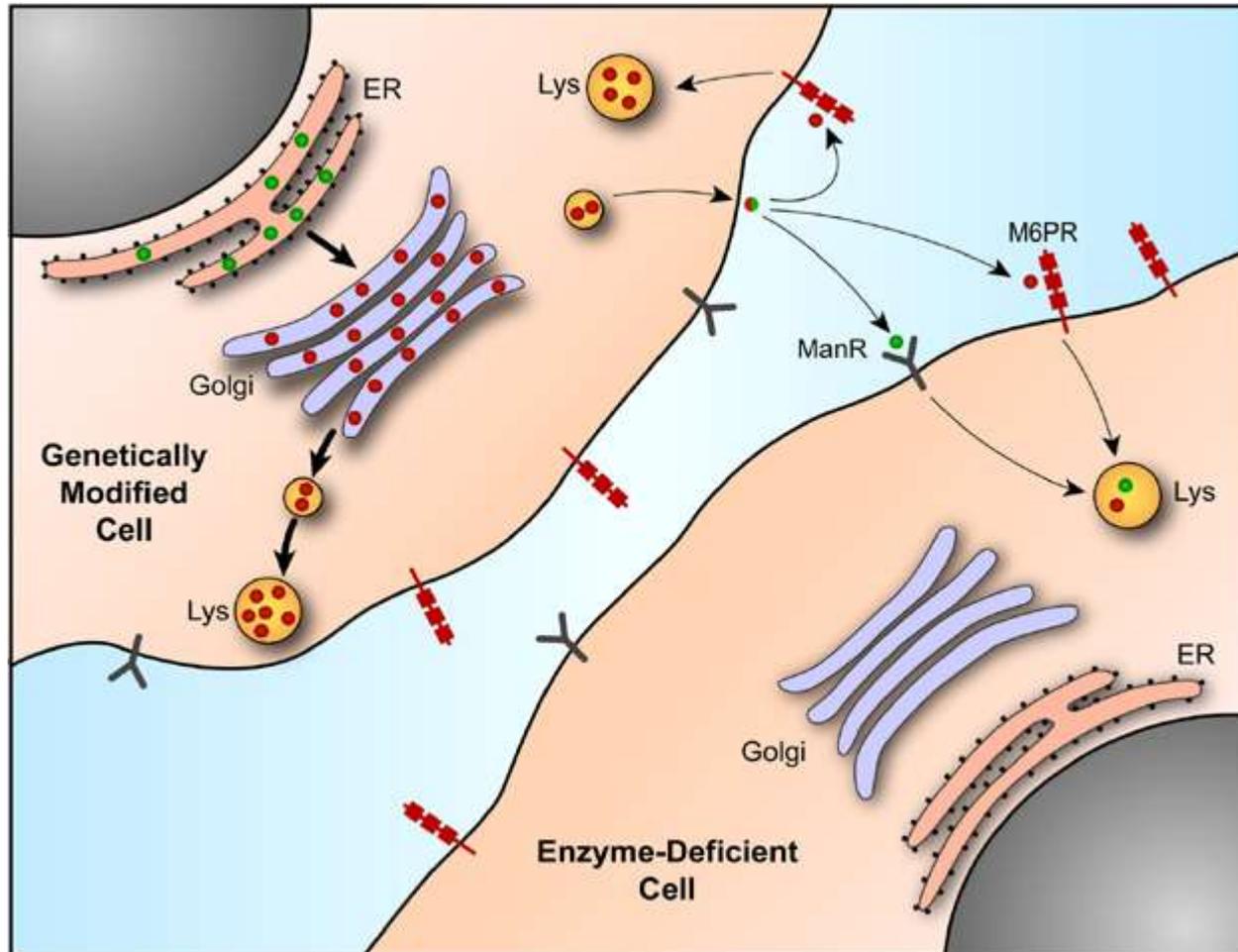


○ Гетерозиготная женщина ■ Гемизиготный мужчина X' Дефектный ген

Проявления БФ у женщин-носительниц

- «Большинство женщин –носительниц не имеют никаких симптомов заболевания..» -2003г
- Необычной чертой БФ является то, что клинические симптомы заболевания есть у большинства женщин носительниц, выражены , как правило, в меньшей степени чем у больных мужчин» -2006г
- Механизм: Инактивация X-хромосомы или нарушение метаболической кооперации?

Метаболическая кооперация



Спасибо за внимание!

