СИНДРОМ НУНАН, ВЫЗВАННЫЙ МУТАЦИЕЙ P. S257L В ГЕНЕ *RAF1*: КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ И ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Букаева А. А.¹, Котлукова Н. П.^{2,3}, Заклязьминская Е. В.^{1,3}

Синдром Нунан — клинически и генетически гетерогенное заболевание, вызываемое мутациями в генах, кодирующих белки универсального каскада клеточного сигналинга Ras-MAPK. В настоящее время известно не менее 10 генов, мутации в которых приводят к возникновению заболевания. Среди многочисленных проявлений синдрома наибольшее клиническое и прогностическое значение имеют нарушения со стороны сердечно-сосудистой системы, в числе которых наиболее часто фигурируют гипертрофическая кардиомиопатия и стеноз лёгочной артерии. В настоящей работе представлен случай спорадического синдрома Нунан у ребенка 5 лет с гипертрофией левого желудочка, сопровождающейся обструкцией выносящего тракта. При генетическом обследовании была выявлена мутация p. S257L в гене *RAF1*, возникшая *de novo*. При возникновении мутации *de novo* риск рождения ребёнка с таким же заболеванием в этой супружеской паре минимален.

Российский кардиологический журнал 2016, 10 (138): 93–97
<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2016-10-93-97>

Ключевые слова: синдром Нунан, гипертрофическая кардиомиопатия, RAS каскад, *RAF1*, ДНК-диагностика, динамическое наблюдение.

¹ФГБУ Российский научный центр хирургии имени академика Б. В. Петровского, Москва; ²ГБУЗ Детская городская клиническая больница им. З. А. Башляевой ДЗМ, Москва; ³ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия.

Букаева А. А.* — м.н.с. лаборатории медицинской генетики, Котлукова Н. П. — д.м.н., профессор, зав. отделением детской кардиологии, Заклязьминская Е. В. — д.м.н., профессор, зав. лабораторией медицинской генетики.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
annbukaeva@gmail.com

ВОЛЖ — выносящий отдел левого желудочка, ВОПЖ — выносящий отдел правого желудочка, ВПС — врожденный порок сердца, ГКМП — гипертрофическая кардиомиопатия, ГТФ-аза — гуанозинтрифосфатаза, ДМПП — дефект межпредсердной перегородки, ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота, ДЭхоКГ — доплеровская эхокардиография, ЗСЛЖ — задняя стенка левого желудочка, КДР — конечно-диастолический размер, КСР — конечно-систолический размер, ЛЖ — левый желудочек, МЖП — межжелудочковая перегородка, МПП — межпредсердная перегородка, СКЛС — сердечно-кожно-лицевой синдром, ФВ — фракция выброса, ЦНС — центральная нервная система, ЭКГ — электрокардиография, ЭхоКГ — эхокардиография.

Рукопись получена 10.10.2016

Рецензия получена 12.10.2016

Принята к публикации 19.10.2016

NOONAN SYNDROME AS RESULT OF MUTATION P. S257L OF GENE *RAF1*: CLINICAL CASE AND REVIEW

Bukaeva A. A.¹, Kotlukova N. P.^{2,3}, Zaklyazminskaya E. V.^{1,3}

Noonan syndrome is clinically and genetically heterogenic disease caused by mutations in genes coding the proteins of universal cascade of cellular signalling Ras-MAPK. Recently, about 10 genes known, with mutations leading to the disease development. Among multiple manifestations of the syndrome most clinically and prognostically significant are disorders of cardiovascular system, including hypertrophic cardiomyopathy and pulmonary artery stenosis. In the article, a case is presented of sporadic Noonan syndrome in 5-year old child with left ventricle hypertrophy and obstruction of outgoing flow. Genetic investigation revealed mutation p. S257L of gene *RAF1*, occurred *de novo*. Appearance of mutation *de novo* does not lead to increased risk of the second child birth with same disease by the parents.

Russ J Cardiol 2016, 10 (138): 93–97

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2016-10-93-97>

Key words: Noonan syndrome, hypertrophic cardiomyopathy, RAS cascade, *RAF1*, DNA-diagnostics, dynamic observation.

¹V. B. Petrovskiy Russian National Research Centre of Surgery, Moscow; ²Z. A. Bashlyeva Pediatric City Clinical Hospital. Bashlyeva, Moscow; ³N. I. Pirogov Russian National Research Medical University (RNRMU), Moscow, Russia.

Синдром Нунан — мультисистемное аутосомно-доминантное заболевание. Частота в популяции составляет, по разным оценкам, от 1:1000 до 1:2500 новорожденных. Клиническая картина заболевания напоминает проявления синдрома Шерешевского-Тёрнера, поэтому раньше это заболевание называлось “Тёрнеровский фенотип с нормальным кариотипом”. Симптомы этого заболевания включают задержку роста, характерную пигментацию, черепно-лицевые и скелетные аномалии, задержку интеллектуального развития разной степени выраженности, а также широкий спектр нарушений со стороны сердечно-сосудистой системы. Синдром

Нунан является второй по распространенности синдромальной причиной врожденных заболеваний сердца, уступая только трисомии 21 хромосомы [1]. Наиболее характерными сердечно-сосудистыми проявлениями заболевания являются стеноз клапана легочной артерии (до 90% случаев), гипертрофическая кардиомиопатия (20% случаев), а также дефект межпредсердной перегородки. Кроме этого, у больных с синдромом Нунан описаны дефекты межжелудочковой перегородки и митрального клапана, аортальный стеноз, коарктация аорты и другие врожденные пороки сердца и магистральных сосудов [2].

Причиной развития данного заболевания являются нарушения в системе универсального клеточного сигнального пути Ras-MAPK, что объединяет синдром Нунан и несколько других фенотипически перекрывающихся состояний, таких как синдром LEOPARD, синдром Костелло, сердечно-кожно-лицевой синдром (СКЛС), синдром Легиуса и др., в группу т.н. “RAS-опатий”. До 50% мутаций у больных синдромом Нунан локализируются в гене *PTPN11*, кодирующем тирозинфосфатазу SHP-2. Кроме этого, убедительно показана связь с заболеванием следующих генов: *SOS1* (11-13%), *RAF1*, *RIT1* (около 5%), *KRAS*, *NRAS*, *BRAF* (менее 2%). За последние годы знания о генетических основах синдрома Нунан существенно расширились: так, в базе данных OMIM к настоящему моменту имеются сведения о минимум 10 генетических формах синдрома. Тем не менее, у 20-30% пациентов не обнаруживается мутаций в известных на текущий момент генах [3].

Строгих корреляций “генотип-фенотип” для синдрома Нунан нет, однако ряд наблюдений свидетельствуют, что носители мутаций в *PTPN11* более часто по сравнению с остальными больными имеют стеноз клапана легочной артерии, а также отличаются характерным внешним видом (низкий рост, скелетный и лицевой дисморфизм), а у пациентов с мутациями в *RAF1* в 80-95% случаев развивается ГКМП [4]. Синдром Нунан, вызванный мутацией в гене *KRAS*, протекает более тяжело, со значительными умственными нарушениями и отставанием в развитии [5].

В настоящей работе представлен случай ДНК-диагностики и клинического наблюдения пациентки с синдромом Нунан в течение 5 лет.

План обследования. Клиническое и инструментальное обследование ребенка включало в себя врачебный осмотр, сбор персонального и семейного анамнеза, общий и биохимический анализы крови, ЭКГ, доплеровское ЭхоКГ (ДЭхоКГ), холтеровское мониторирование. Генетический анализ включал прямое секвенирование по Сенгеру кодирующих и прилегающих интронных областей генов *PTPN11* и *RAF1*.

Клиническое наблюдение. Пациентка Г., 5 лет, поступила на плановое обследование (9-я госпитализация) в отделение кардиологии ГБУЗ Детская городская клиническая больница им. З.А. Башляевой ДЗМ с направляющим диагнозом “Симметричная ГКМП с гемодинамической обструкцией кровотока в выводном отделе левого желудочка III степени. Синдром Нунан”.

Семейный анамнез по сердечно-сосудистой патологии не отягощен, на момент рождения возраст матери 25 лет.

Ребенок от 1 беременности, протекавшей с осложнениями (в первом триместре — угроза прерывания, во 2 триместре — нейроциркуляторная дистония

по гипертоническому типу, в 3 триместре — многоводие, хроническая плацентарная недостаточность), первых срочных оперативных родов. В 20 недель по УЗИ плода диагностирован диффузный перикардит, лечение не проводилось. На 2-е сутки жизни на ЭхоКГ: ООО, грубых ВПС нет; на рентгенографии грудной клетки: застойные явления в малом круге кровообращения. На 6 сутки жизни диагностирован ВПС (стеноз легочной артерии, ДМПП, недостаточность митрального клапана). В возрасте 1,5 месяцев на ДЭхоКГ выявлено межпредсердное сообщение, выраженная гипертрофия миокарда ЛЖ и МЖП с сужением ВОПЖ и ВОЛЖ. При поступлении в кардиологический стационар состояние девочки тяжелое, обращают на себя внимание следующие особенности фенотипа: нахождение теменных костей друг на друга, шейная складка, деформированные, низко расположенные ушные раковины, антимоногоидный разрез глаз, левосторонний микрофтальм, рыбий рот, высокое небо, клювовидный нос, арахнодактилия кистей и стоп, плавниковая установка кистей, срединное расположение печени. Синдромальный характер заболевания не вызывал сомнений, для исключения хромосомной природы нарушений был выполнен кариотип (46, XX, нормальный женский).

С целью исключения врожденной патологии обмена веществ ребенку было выполнено биохимическое обследование методом tandemной масс-спектрометрии, данных за патологию обмена веществ не получено.

За время пребывания ребенка в отделении на фоне комплексной терапии, включающей атенолол, была отмечена отчетливая положительная динамика: по данным ДЭхоКГ снизился градиент в выводном отделе левого желудочка с 67 до 54 мм рт.ст, в выводном отделе правого желудочка — с 75 до 43 мм рт.ст., недостаточность на митральном клапане уменьшилась с 2+ до 1,5+, недостаточность на трикуспидальном клапане уменьшилась с 1,5-2+ до минимальной. Полностью купированы явления инфекционного процесса, нормализовалась функция почек. В соматическом статусе также имела место положительная динамика: постепенно девочка начала самостоятельно есть, перестала срыгивать, стала более активной, позитивной, в массе тела прибавляла. Ребенок был выписан домой в стабильном состоянии с клиническим диагнозом: “Вторичная симметричная гипертрофическая обструктивная кардиомиопатия с обструкцией выводного отдела правого и левого желудочков. Межпредсердное сообщение, недостаточность митрального клапана с регургитацией 1,5+. Последствия перинатального поражения ЦНС гипоксически-ишемического генеза (синдром мышечной гипотонии), задержка психомоторного развития. Микрофтальмия слева. Ангиопатия сетчатки обоих

глаз. Пиелозктазия слева. Дисплазия тазобедренных суставов. Реконвалесцент внутриутробной инфекции”.

Дома состояние девочки оставалось стабильным. Ребенок был повторно госпитализирован в рамках динамического наблюдения в возрасте 5 месяцев. В ходе госпитализации было отмечено наличие “Нунан-подобного” фенотипа (антимонголоидный разрез глаз, низко посаженные ушные раковины, короткая шея, эпикант, гипертелоризм, поперечная складка на ладони). Особенности фенотипа со стороны сердечно-сосудистой системы также соответствовали синдрому Нунан. Была проведена коррекция терапии, на фоне которой по результатам инструментального обследования было выявлено снижение градиента в ВОЛЖ с 54 до 31 мм рт.ст., сохранение градиента в ВОПЖ на уровне 60-70 мм рт.ст. Толщина МЖП в диастолу составляла 12-13 мм, толщина ЗСЛЖ, также в диастолу, 8 мм. Показаний к оперативному лечению клапанного стеноза легочной артерии не было.

К возрасту 8 месяцев сохранялась картина симметричной обструктивной ГКМП (толщина МЖП 9-14 мм), показатели градиента давления в ВОЛЖ 26-31 мм рт.ст., размеры вторичного ДМПП 7-9 мм. В возрасте 1 год при обследовании в ходе плановой госпитализации отмечалось увеличение размеров предсердий, что в совокупности с показателями диастолической функции сердца свидетельствовало о появлении рестриктивного типа гемодинамики. Градиент давления в ВОЛЖ 43-50 мм рт.ст.

В возрасте 1,5 лет градиент давления в ВОПЖ 50-60 мм рт.ст., в ВОЛЖ 40-50 мм рт.ст., сохранялись признаки симметричной обструктивной ГКМП и ВПС (клапанный стеноз легочной артерии). В возрасте 2 лет зафиксировано нарастание размеров вторичного ДМПП до 11,5 мм, от проведения миоэктомии и пластики дефекта было решено воздержаться.

При плановой госпитализации в возрасте 2 лет 7 месяцев зафиксировано увеличение обоих предсердий, гипертрофия обоих желудочков, тубулярное сужение ВОЛЖ с нарастанием градиента до 95 мм рт.ст., максимальный градиент в ВОПЖ 65 мм рт.ст. Гипертрофическая кардиомиопатия приобрела несимметричный характер с преобладанием гипертрофии МЖП: толщина МЖП составила 19 мм, толщина ЗСЛЖ — 9,6 мм.

У девочки к возрасту 4 лет были нормальные темпы психического и моторного развития, начала посещать детский сад. Наблюдалась окулистом и оториноларингологом.

В возрасте 4 года 6 месяцев по данным ЭхоКГ: левое предсердие значительно увеличено, КСР=5,8 см. Левый желудочек — полость не увеличена, гипертрофия с толщиной миокарда 11 мм, КДР=36 мм, ФВ=66%. Толщина МЖП=24 мм, МПП интактна.

Рис. 1А. Фенотип пациентки Г. в возрасте 1,5 лет. Основные признаки синдрома Нунан: задержка роста, долихоцефалия, глубокая переносица, антимонголоидный разрез глаз (не показано), укорочение конечностей.

Рис. 1Б. Фенотип пациентки Г. в возрасте 5 лет. Основные признаки синдрома Нунан не претерпели изменений: задержка роста, долихоцефалия, глубокая переносица, антимонголоидный разрез глаз (не показано), укорочение конечностей.

Таблица 1

Сравнение клинической картины пациентов, носителей мутации p.S257L в гене *RAF1*

	Возраст клинического диагноза	Возраст молекулярно- генетического подтверждения диагноза	Черепно- лицевые аномалии	Задержка роста	Задержка развития	ГКМП	ВПС	Легочная гипертензия	Пороки развития других органов	Лентиго	Источник
Пациент 1	4 г 6 м	5 л 1 м	+	+	-	+	СЛА, ДМПП	-	косоглазие- миопия	-	текущее наблюдение
Пациент 2	н/д	10 л	+	+	+	+	-	-	-	+	Kuburović 2011
Пациент 3	н/д	post mortem (4 мес.)	+	н/д (срок гестации 30 нед.)		+	ОАП	+ фатальная	н/д	-	Hopper 2015
Пациент 4	н/д	post mortem (1 мес.)	+	н/д (срок гестации 34,5 нед.)		+	ОАП	+ фатальная	н/д	-	Hopper 2015

Рис. 2. Гипертрофия миокарда левого желудочка, возраст 5 лет. Увеличение левых отделов сердца, ЗСЛЖ 11 мм, МЖП 20 мм, КДР ЛЖ 3,2 см, ФВ ЛЖ 70%. ПЖ — не увеличен, гипертрофирован.

Рис. 3. Мутация p.S257L в 7 экзоне гена *RAF1* у пациентки Г., выявленная прямым секвенированием по Сенгеру. Визуализация в программе Chromas. Положение замены указано стрелкой.

ВОЛЖ тубулярно сужен, диаметр 9 мм, градиент давления 110 мм рт.ст. По результатам холтеровского мониторирования нарушений сердечного ритма не выявлено. Синкопальных состояний не было.

На момент настоящей госпитализации физическое развитие очень низкое, дисгармоничное за счет задержки роста. Общее состояние: средней тяжести.

Фенотип ребенка отчетливо диспластичный и соответствует фенотипу синдрома Нунан (рис. 1 А, Б). Девочка не отстает в психическом развитии, хорошо говорит, считает, читает стихи.

Результаты инструментальных обследований: ЭКГ — ритм синусовый, НРС нет. Признаки увеличения обоих предсердий и перегрузки обоих желудочков. Выраженные диффузные изменения миокарда желудочков. Допплер-ЭхоКГ: левые отделы сердца увеличены (рис. 2). КДР = 3,2 см, ФВ = 70%. ЗСЛЖ 11 мм, МЖП 20 мм. Правый желудочек не увеличен, гипертрофирован. Стеноз ВОЛЖ с градиентом 94-100 мм рт.ст. Заключение: ГКМП с элементами рестрикции.

По результатам лабораторных исследований отмечается гипергликемия в анализе крови, других выраженных изменений нет.

Молекулярно-генетическое исследование: в образце ДНК девочки методом прямого секвенирования по Сенгеру кодирующей и прилегающих интронных областей гена *RAF1* и *PTPN11* был проведен поиск мутаций. В 7 экзоне гена *RAF1* была выявлена известная мутация p.S257L в гетерозиготном состоянии (рис. 3). Диагноз синдрома Нунан, тип 5, подтвержден.

Обсуждение

В ходе динамического наблюдения дифференциальная диагностика проводилась между хромосомной патологией, наследственными болезнями обмена, СКЛС и синдромом Нунан. По результатам ДНК-диагностики была выявлена мутация p.S257L в гене *RAF1*, типичная для синдрома Нунан. Механизм повреждающего действия данной мутации состоит в патологическом усилении работы сигнального пути, регулируемого белком *RAF1*. Замена серина на лейцин в 257 положении катализирует связывание белка с RAS-ГТФ-азой и прогрессирующую индукцию каскада Ras-MAPK [6]. Данный механизм ассоциирован с усилением пролиферативных процессов и повышенным риском опухолевой трансформации клеток.

Гипертрофия миокарда является частым симптомом у пациентов с мутациями в *RAF1*, независимо от наличия стеноза легочной артерии [7]. Поэтому мы полагаем, что бивентрикулярная гипертрофия миокарда у пациентки является не механическим следствием стеноза, а частью генетически обусловленного симптомокомплекса. Интересно, что в мире описано несколько пациентов, у которых была выявлена такая же мутация в гене *RAF1* [8, 9]. Клиническая картина заболевания у описанных пробандов имеет некоторые общие черты, однако существенной фенотипической однородности между этими пациентами не наблюдается (табл. 1). Такое разнообразие клинических проявлений одной и той же мутации, по-видимому, объясняется различным у разных пациентов влиянием аллельных вариантов генов, кодирующих многочисленных белки RAS каскада.

Выявление генетического варианта, связанного с развитием синдрома Нунан, позволяет дифференцировать клиническую картину больной Г. с симптоматикой сердечно-кожно-лицевого синдрома, который имеет широкое фенотипическое перекрытие с синдромом Нунан, однако требует другой тактики ведения и адаптации пациентов. Так, для больных СКЛС в большей степени, чем для больных синдромом Нунан, в том числе с мутациями в *RAF1*, характерна задержка психического развития, умственная отсталость и трудности в обучении.

Выявление молекулярного нарушения в универсальном клеточном сигнальном пути Ras-MAPK позволяет скорректировать ход динамического наблюдения с учетом повышенного риска пролифе-

ративных заболеваний, который несут мутации в генах протоонкогенов. Таким образом, в схему рекомендаций пациентке Г. должно быть включено наблюдение онколога по месту жительства.

Корреляции генотип-фенотип при синдроме Нунан в настоящее время изучаются. Появляются новые литературные данные о пациентах с мутациями в новых ответственных генах и их фенотипических особенностях. Точно установив генетическую форму синдрома Нунан у конкретного пациента, мы, возможно, сможем корректировать план динамического наблюдения в дальнейшем с учетом вновь появляющихся знаний о фенотипических проявлениях данной конкретной мутации.

Заключение

Приведено наблюдение ребенка 5 лет с врожденной гипертрофией миокарда, сопровождающейся обструкцией ВОЛЖ и ВОПЖ, клапанным стенозом легочной артерии, а также с диспластическим фенотипом. С целью установления точного диагноза были последовательно исключены хромосомная и обменная патологии, сердечно-кожно-лицевой синдром. Методами ДНК-диагностики установлен диагноз синдрома Нунан, тип 5. Подтвержден синдромальный характер ГКМП. С учетом данных ДНК-диагностики скорректирован план динамического наблюдения пациентки. Знание молекулярно-генетической основы патогенеза заболевания позволяет провести медико-генетическое консультирование семьи и осуществить при необходимости пренатальную диагностику.

Литература

1. Jung Min Ko. Genetic Syndromes associated with Congenital Heart Disease. Korean Circ J. 2015 Sep; 45(5): 357–61.
2. Roberts AE, Allanson JE, Tartaglia M, et al. Noonan syndrome (review). Lancet. 2013 Jan 26;381(9863):333-42.
3. Aoki Y, Niihori T, Inoue S., Matsubara Y. Recent advances in RASopathies. Journal of Human Genetics 2016; 61: 33-9.
4. Alicia A. Romano, Judith E. Allanson, Jovanna Dahlgren, et al. Noonan Syndrome: Clinical Features, Diagnosis, and Management Guidelines. Pediatrics 2010; 126: 746.
5. Zenker M, Lehmann K, Schulz AL, et al. Expansion of the genotypic and phenotypic spectrum in patients with KRAS germline mutations. J Med Genet 2007; 44: 131-35.
6. Pandit B, Sarkozy A, Pennacchio LA, et al. Gain-of-function RAF1 mutations cause Noonan and LEOPARD syndromes with hypertrophic cardiomyopathy. Nat Genet. 2007; Aug; 39(8): 1007-12.
7. Kobayashi T, Aoki Y, Niihori T, et al. Molecular and Clinical Analysis of RAF1 in Noonan Syndrome and Related Disorders: Dephosphorylation of Serine 259 as the Essential Mechanism for Mutant Activation. Hum Mutat 2010; 31: 284-94.
8. Hopper RK, Feinstein JA, Manning MA, et al. 2015. Neonatal pulmonary arterial hypertension and Noonan syndrome: Two fatal cases with a specific RAF1 mutation. Am J Med Genet Part A 167A: 882-5.
9. Kuburović V, Vukomanović V, Carcavilla A, et al. Two cases of LEOPARD syndrome — RAF1 mutations firstly described in children. Turk J Pediatr 2011; 53: 687-91.