

<https://doi.org/10.17116/jnevro201811812149>

Третий случай синдрома первичного альдостеронизма, судорог и неврологических нарушений (PASNA), обусловленного вариантом мутации *de novo* в гене *CACNA1D*

Н.А. СЕМЕНОВА¹, О.Р. РЫЖКОВА¹, Т.В. СТРОКОВА², Н.Н. ТАРАН²

¹ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва, Россия; ²ФГБНУ «ФИЦ питания и биотехнологии», Москва, Россия

Синдром Первичного альдостеронизма, судорог и неврологических нарушений (PASNA; OMIM# 615474), обусловленный герминальными мутациями в гене *CACNA1D*, характеризуется первичным альдостеронизмом, судорогами и формирующимся неврологическим дефицитом. Мы представили описание клинического случая мальчика 1 года 9 мес жизни с неврологической симптоматикой в виде судорог и выраженной задержки психомоторного развития с симптомами первичного гиперальдостеронизма. Нами идентифицирован у пробанда ранее неописанный патогенный вариант мутации с.776T>A в гене *CACNA1D* в гетерозиготном состоянии.

Ключевые слова: синдром первичного альдостеронизма, судорог и неврологических нарушений, ген *CACNA1D*.

The third case report a patient with primary aldosteronism, seizures, and neurologic abnormalities (PASNA) syndrome *de novo* variant mutations in the *CACNA1D* gene

N.A. SEMENOVA, O.R. RYZHKOVA, T.V. STROKOVA, N.N. TARAN

Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russian Federation; Federal Research Centre of Nutrition and Biotechnology

Germline mutations in *CACNA1D* cause the primary aldosteronism, seizures, and neurologic abnormalities (PASNA) syndrome (OMIM# 615474) characterized by primary aldosteronism, seizures and neurological abnormalities. The authors present a case-report of a 1-year 3-month male patient with neurological symptoms such as seizures and global developmental delay with primary hyperaldosteronism. The heterozygous disease-causing variant c.776T>A in *CACNA1D* gene was identified.

Keywords: primary aldosteronism, seizures, and neurologic abnormalities syndrome, *CACNA1D* gene.

Первые исследования мутаций в гене *CACNA1D*, ассоциированного с активностью Cav1.3 — кальциевого канала, проводились в рамках изучения соматических мутаций в альдостеронпродуцирующих аденомах надпочечников у пациентов с первичным альдостеронизмом [1]. Ген *CACNA1D* не единственный ген, в котором соматические мутации приводят к изменениям продукции альдостерона в этих опухолях. Почти в 50% случаев альдостеронпродуцирующих аденом обнаруживают соматические мутации в генах *KCNJ5*, *ATP1A1*, *ATP2B3* (около 40%, около 6% и около 1% соответственно) [2, 3]. Эти гены кодируют каналы, регулирующие ионный трансмембранный гомеостаз. К тому же, они являются модуляторами некоторых путей повышения уровня внутриклеточного кальция, что в конечном счете приводит к гиперпродукции альдостерона. В крупном исследовании характеристик соматических мутаций в гене *CACNA1D* альдостеронпродуцирующих аденом U. Scholl и соавт. [1] описали две герминальные, гетерозиготные, возникшие *de novo* мутации у 2 пациентов с первичным альдостеронизмом, судорогами и неврологическими нарушениями. Синдром получил название PASNA (Primary

Aldosteronism, Seizures, and Neurologic Abnormalities). В последующем ген *CACNA1D* привлек внимание ученых с целью анализа его роли в этиологии неврологических нарушений. В последние несколько лет появились публикации, показывающие влияние патогенных вариантов в гене *CACNA1D* на развитие нейropsихических нарушений в контексте мутаций, вызывающих первичный альдостеронизм.

Клинический случай

Мальчик 1 года 9 мес жизни. Генеалогический анамнез не отягощен. Ребенок от беременности, протекавшей с угрозой прерывания в 7 и 12 нед, и на фоне гестоза в III триместре. Роды 2-е, экстренные, путем операции кесарева сечения на 37-й неделе гестации. При рождении масса тела ребенка 3300 г, длина 52 см, оценка по шкале Апгар составила 8/9 баллов, приложен к груди в родильном зале. В целом перинатальный период протекал благополучно. В первые сутки жизни отмечалось нарастание уровня билирубина до 308 ммоль/л. Проводились инфузионная терапия и фототерапия с положительным эффектом. Выписан из родильного дома в удовлетворительном состоянии на

8-е сутки жизни. Желтуха имела затяжной характер: в 1-й месяц уровень общего билирубина составил 105 ммоль/л, нормализация произошла к 2-му месяцу жизни.

С 1-го месяца жизни отмечались срыгивания, интенсивные младенческие колики, в связи с чем констатирована недостаточная прибавка массы тела, не более 300 г в месяц. Грудное вскармливание до 1 мес, затем переведен на искусственное с подбором лечебных смесей. Введение продуктов прикорма проводилось с 4-х месяцев жизни согласно Национальным рекомендациям вскармливания детей 1-го года жизни.

С рождения отмечались выраженная мышечная гипотония, задержка психомоторного развития. Первый приступ генерализованных судорог зарегистрирован в 1,5 мес жизни на фоне фебрильной лихорадки (температура тела достигала 40 °C), в связи с чем ребенок госпитализирован и обследован в условиях стационара. Ультразвуковое исследование брюшной полости и почек, эхокардиограмма, биохимический анализ крови, в том числе уровень калия в крови, соответствовали возрастной норме. Нейросонография выявила незначительное расширение боковых желудочков головного мозга. Электроэнцефалографическое мониторирование сна не выявило признаков эпилептической активности. В дальнейшем судороги повторялись на фоне повышения температуры тела, после года приступы приобрели афебрильный характер.

С учетом грубой задержки психомоторного развития в возрасте 10 мес выполнена МРТ головного мозга. Выявлены признаки гипомиелинизации белого вещества, постгипоксического субатрофического расширения субаракноидальных пространств лобных долей и медиально-базальных отделов левой височной доли, пограничная каудальная дистопия миндалин мозжечка. Позднее ребенок консультирован офтальмологом в НПЦ детской психоневрологии с диагнозом: OU — патология проводящих путей, частичная атрофия зрительных нервов, ангиопатия сетчатки по дистоническому типу, вторичное сходящееся косоглазие.

Ребенок консультирован генетиком, рекомендовано обследование в связи с синдромальной формой задержки психомоторного развития. При обследовании показатели тандемной масс-спектрометрии крови в норме. Анализ мочи на содержание органических кислот выявил неспецифическое повышение кетонов. При повторном анализе мочи все показатели в пределах референсных значений. Зарегистрировано однократное повышение уровня лактата до 4,3 ммоль/л; концентрации аминотрансферазы и креатинфосфокиназы не превышали референсные значения.

В динамике сохранялась выраженная задержка психомоторного развития: в возрасте 1 года 9 мес ребенок не может самостоятельно удерживать голову, сидеть, стоять, захватывать игрушки, при тракции за руки не группируется, речи нет. Владеет навыками: неуверенный поворот на бок, взгляд фиксирует кратковременно. Антропометрия: рост 80 см, масса тела 9100 г, индекс массы тела (ИМТ) 15,1 кг/м²; z-score ИМТ -1,45 SD; z-score рост к возрасту -1,95 SD; z-score массы тела к возрасту -2,2 SD; z-score масса тела к росту -1,7 SD. Согласно международным критериям ВОЗ физическое развитие ниже среднего с дефицитом массы тела легкой степени тяжести (масса тела к росту -1,7 SD). Дефицит массы тела обусловлен дефицитом мышечной ткани на фоне грубой задержки моторного развития и выраженной мышечной гипотонии. При анализе фактического питания данных за алиментарный дефицит нет. При осмотре особен-

ностями фенотипа являются микрокrania (окружность головы 44,5 см; <-2 SD), выступающий лоб, страбизм, широкая спинка носа, запавшая переносица.

При биохимическом исследовании крови уровень калия составил 4,1 ммоль/л (4,1—5,3 ммоль/л), альдостерона — до 491 пг/мл (11,7—236 пг/мл), ренина — 2 мкМЕд/мл (2,8—46,1 мкМЕд/мл); соотношение альдостерон/рениновое повышено до 245,5 (норма менее 12).

ДНК-диагностика. Выделение геномной ДНК проводили из лейкоцитов периферической крови с помощью набора реактивов для выделения Wizard Genomic DNA Purification Kit («Promega», США) по протоколу производителя. Для пробоподготовки использовали реактивы Illumina TruSeq DNA Exome. Секвенирование проведено на приборе Illumina NextSeq500 методом парно-концевого чтения (2×75 п.о.). Для картирования полученных последовательностей на референсный геном hg19 использовали программное обеспечение BWA [4]. Для дальнейшего анализа выявленных вариантов использовали алгоритмы GATK [5]. Аннотация вариантов проведена с использованием программного обеспечения Illumina BaseSpace® Variant Interpreter. Патогенность не синонимичных не классифицированных ранее по патогенности вариантов определяли с использованием программ прогнозирования Polyphen2 [6], MutationTaster [7], Provean [8] и SIFT [9]. Выявленный у пациента вариант с.776T>A был верифицирован с использованием метода прямого секвенирования по Сэнгеру на приборе ABI3130 genetic analyser.

От родителей пациента было получено письменное согласие на проведение исследования и обработку полученных данных.

Среднее покрытие полного экзона пациента составило ×98,5, количество таргетных областей с покрытием ≥×10 — 93,16%, равномерность покрытия (uniformity Pct >0.2*mean) — 83,4%. В результате исследования выявлено 34 158 отличий от референсной последовательности. После «фильтрации» вариантов, не входящих в базы данных 1000 Genomes, Exome Aggregation Consortium, dbSNP databases или описанных в них с частотой <1%, а также при использовании фильтра патогенности Variant Interpreter prediction (патогенные, вероятно патогенные и варианты неопределенного значения), осталось 127 вариантов, включая не синонимичные, изменения сайтов сплайсинга, делеции и инсерции. Среди них единственным вариантом, объясняющим фенотип пациента, был с.776T>A в гене *CACNA1D*. Данная замена не была обнаружена у родителей пациента. Отцовство и материнство было подтверждено молекулярными методами. Выявленный вариант не был описан ранее в базах данных dbSNP, 1000 Genomes project, GnomAD (версия окт. 2017, r2.0.2), the NHLBI GO Exome Sequencing Project (ESP 6500), NCBI ClinVar and Human Gene Mutation Database (HGMD 2017.4). Программы прогнозирования патогенности расценивают данный вариант как патогенный (Polyphen2, MutationTaster, Provean и SIFT). С использованием Руководства по интерпретации данных, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS), выявленный вариант был классифицирован как вероятно патогенный (PS2, PM2, PP3).

Обсуждение

Ранее U. Scholl и соавт. [1] описали два возникших *de novo* герминальных патогенных варианта в гене *CACNA1D* у двух пациенток с PASNA.

Пациентка 1. Трехлетняя девочка с неотягощенной родословной. После рождения у нее развилась синусовая брадикардия и ребенок получал лечение в отделении интенсивной терапии по поводу транзиторной гипогликемии, респираторного дистресс-синдрома, артериальной гипертонии и атриовентрикулярной блокады вследствие удлиненного интервала *Q—T*. На эхокардиограмме выявлены врожденный порок сердца (дефект межжелудочковой перегородки), гипертрофия миокарда и открытое овальное окно с умеренной легочной гипертензией. Первичный альдостеронизм и гипокалиемия были диагностированы в возрасте 1 мес. При нейросонографии в возрасте 1 мес обнаружены перивентрикулярная лейкопатия, перивентрикулярное кровоизлияние и вентрикуломегалия. Дальнейшее развитие ребенка характеризовалось нарушением вскармливания и общей задержкой приобретения навыков. Первый генерализованный приступ тонико-клонических судорог произошел в 7 мес на фоне нормальной температуры тела и нормальных уровнях электролитов. В 3 года ребенок имел тяжелую задержку психомоторного и речевого развития, корковую слепоту и церебральный паралич. Артериальное давление и уровень калия в крови в пределах нормы. Молекулярно-генетическим методом у нее верифицирован патогенный гетерозиготный вариант G403D в гене *CACNA1D*.

Пациентка 2. Десятилетняя афроамериканская девочка с неотягощенной родословной [1]. Родилась на 41-й неделе гестации путем кесарева сечения из-за разрыва матки. После рождения требовалось проведение реанимационных мероприятий и впоследствии у нее диагностированы церебральный паралич, спастическая квадриплегия, умеренный атетоз, тяжелая генерализованная интеллектуальная недостаточность, комплекс парциальных судорог, преимущественно правостороннего гемиплегического характера, генерализованные судороги и нарушения сна. МРТ головного мозга без структурных изменений. Артериальная гипертония развилась до 5 лет и в 8 лет выявлена клинически значимая гипокалиемия. На эхокардиограмме выявлена умеренная гипертрофия миокарда. В крови высокий уровень альдостерона и низкий уровень активности ренина. КТ надпочечников (в возрасте 9 лет) была в норме. Ме-

тодом молекулярно-генетического исследования выявлен гетерозиготный вариант I750M в гене *CACNA1D*.

Ниже представлена клиническая характеристика пациентов с синдромом PASNA (см. таблицу).

Общими для всех описанных пациентов были: гиперальдостеронизм, судороги и задержка развития. Гиперальдостеронизм — ожидаемый признак для мутации в гене *CACNA1D*, поскольку известна связь этого гена с гиперпродукцией альдостерона. Судороги также были обнаружены у обеих пациенток, представленных U. Sholl и соавт., и предполагалось, что и они обусловлены мутациями в этом гене. Однако, как известно из анамнеза этих детей, нельзя исключить тяжелое перинатальное поражение, которое в свою очередь могло стать причиной развития судорожного синдрома. В противоположность этому нами представленный пробанд имел благополучный перинатальный период и это, безусловно, является убедительным доказательством ассоциации изменений в гене *CACNA1D* с неврологической симптоматикой. Таким образом, неврологические нарушения являются одним из диагностических критериев синдрома PASNA.

В последние годы в литературе появляются данные о роли гена *CACNA1D* в развитии нейропсихических нарушений. Так, стало известно, что L-тип кальциевых каналов, в том числе Cav1.3, кодируемый геном *CACNA1D*, экспрессируется в ЦНС [10, 11]. Канал Cav1.3 является важным регулятором притока кальция в клетки и необходим для нормального развития мозга и его пластичности [12—14].

Несколько лет назад была установлена ассоциация гена *CACNA1D* с расстройством аутистического спектра [15, 16].

Кроме того, варианты *CACNA1D* описаны при эпилепсии. T. Klassen [17] и соавт. провели параллельное экзомное секвенирование 237 генов ионных каналов в хорошо характеризованном образце человека, сравнив варианты профилей здоровых лиц с лицами, имеющими распространенное нарушение нейронной возбудимости — спорадическую идиопатическую эпилепсию. Данное исследование показало, что риск развития заболевания даже при делеции части гена, кодирующего ионный канал, может быть модифицирован вариантами других белков ионного канала у этого пациента. В *CACNA1D* они обнаружили (в допол-

Клиническая характеристика пациентов с синдромом PASNA

Параметр	Пациент 1 [1]	Пациент 2 [1]	Пациент 3 (собственное наблюдение)
CACNA1D вариант	G403D <i>de novo</i>	I750M <i>de novo</i>	V259A <i>de novo</i>
Пол	Женский	Женский	Мужской
Возраст	3 года	10 лет	1 год 9 мес
Перинатальная гипоксия	+	+	—
Затяжная неонатальная желтуха	—	—	+
Первичный альдостеронизм	+	+	+
Гипокалиемия	1-й месяц	+	—
Врожденный порок сердца	+ дефект межжелудочковой перегородки	—	—
Аритмия	+	—	—
Гипертрофия миокарда	+	+	—
Эпилепсия/возраст начала судорожных приступов	+7 мес; афебрильные	+ афебрильные	+1,5 мес; фебрильные→ афебрильные
Вентрикуломегалия	+	—	+
Задержка развития	+	+	+
Микроцефалия	Нет данных	Нет данных	+

нение к синонимичным, интронным мутациям и одной мутации сайта сплайсинга) одну преждевременную остановку трансляции и три миссенс-мутации, которые встречались у пациентов и не встречались в контроле.

Несмотря на растущее число доказательств статистически значимой связи между геном *CACNA1D* и неврологическими расстройствами, наше понимание биологических механизмов участия L-типа кальциевых каналов в развитии нервно-психических нарушений, остается неясным. Мы находимся лишь в начале пути, ведущего к пониманию

роли *de novo* мутаций в генах напряженных кальциевых каналов L-типа в спорадических случаях нервно-психических расстройств. Кроме того, селективные или неселективные блокаторы каналов T-типа могут считаться потенциальными таргетными патогенетическими терапевтическими препаратами при эпилепсии у пациентов с дисфункцией кальциевых каналов L-типа.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Scholl UI, Goh G, Stölting G, de Oliveira RC, Choi M, Overton JD, Fonsca AL, Korah R, Starker LF, Kunstman JW, Prasad ML, Hartung EA, Mauras N, Benson MR, Brady T, Shapiro JR, Loring E, Nelson-Williams C, Libutti SK, Mane S, Hellman P, Westin G, Åkerström G, Björklund P, Carlsson T, Fahlke C, Hidalgo P, Lifton RP. Somatic and germline *CACNA1D* calcium channel mutations in aldosterone-producing adenomas and primary aldosteronism. *Nature Genetics*. 2013;45(9):1050-1054. <https://doi.org/10.1038/ng.2695>
- Al-Salameh A, Cohen R, Desailoud R. Overview of the genetic determinants of primary aldosteronism. *The Application of Clinical Genetics*. 2014; 7:67-79. <https://doi.org/10.2147/tacg.s45620>
- Monticone S, Buffolo F, Tetti M, Veglio F, Pasini B, Mulatero P. Genetics in endocrinology: The expanding genetic horizon of primary aldosteronism. *Eur J Endocrinol*. 2018;178(3):101-111. <https://doi.org/10.1530/eje-17-0946>
- Li H, Durbin R. Fast and accurate long-read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics*. 2010;26(5):589-595. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp698>
- DePristo MA, Banks E, Poplin R, Garimella KV, Maguire JR, Hartl C, Philippakis AA, del Angel G, Rivas MA, Hanna M, McKenna A, Fennell TJ, Kernytsky AM, Sivachenko AY, Cibulskis K, Gabriel SB, Altshuler D, Daly MJ. A framework for variation discovery and genotyping using next-generation DNA sequencing data. *Nat Genet*. 2011;43(5):491-498. <https://doi.org/10.1038/ng.806>
- Adzhubei IA, Schmidt S, Peshkin L, Ramensky VE, Gerasimova A, Bork P, Kondrashov AS, Sunyaev SR. A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nat Methods*. 2010;7(4):248-249. <https://doi.org/10.1038/nmeth0410-248>
- Schwarz F, Sager M, Ferrari D, Mihatovic I, Becker J. Letter to the Editor: Authors' Response. *J Periodontol*. 2010;81(1):1-2. <https://doi.org/10.1902/jop.2009.090512>
- Choi Y, Sims GE, Murphy S, Miller JR, Chan AP. Predicting the functional effect of amino acid substitutions and indels. *PLoS One*. 2012;7(10):e46688. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046688>
- Kumar P, Henikoff S, Ng PC. Predicting the effects of coding non-synonymous variants on protein function using the SIFT algorithm. *Nat Protoc*. 2009;4(7):1073-1081. <https://doi.org/10.1038/nprot.2009.86>
- Striessnig J, Pinggera A, Kaur G, Bock G, Tuluc P. L-type Ca²⁺ channels in heart and brain. *Wiley Interdiscip Rev Membr Transp Signal*. 2014;3(2):15-38. <https://doi.org/10.1002/wmts.102>
- Zamponi GW, Striessnig J, Koschak A, Dolphin AC. The Physiology, Pathology, and Pharmacology of Voltage-Gated Calcium Channels and Their Future Therapeutic Potential. *Pharmacol Rev*. 2015;67(4):821-870. <https://doi.org/10.1124/pr.114.009654>
- Hirtz JJ, Braun N, Griesemer D, Hannes C, Janz K, Löhcke S, Müller B, Friauf E. Synaptic refinement of an inhibitory topographic map in the auditory brainstem requires functional Cav1.3 calcium channels. *J Neurosci*. 2012;32(42):14602-14616. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.0765-12.2012>
- Kabir ZD, Martínez-Rivera A, Rajadhyaksha AM. From Gene to Behavior: L-Type Calcium Channel Mechanisms Underlying Neuropsychiatric Symptoms. *Neurotherapeutics*. 2017;14(3):588-613. <https://doi.org/10.1007/s13311-017-0532-0>
- Catterall WA, Dib-Hajj S, Meisler MH, Pietrobon D. Inherited neuronal ion channelopathies: new windows on complex neurological diseases. *J Neurosci*. 2008;28(46):11768-11777. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.3901-08.2008>
- Pinggera A, Striessnig J. Cav1.3 (*CACNA1D*) L-type Ca²⁺ channel dysfunction in CNS disorders. *The Journal of Physiology*. 2016;594(20):5839-5849. <https://doi.org/10.1113/jp270672>
- Pinggera A, Mackenroth L, Rump A, Schallner J, Beleggia F, Wollnik B, Striessnig J. New gain-of-function mutation shows *CACNA1D* as recurrently mutated gene in autism spectrum disorders and epilepsy. *Hum Mol Genet*. 2017;26(15):2923-2932. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddx175>
- Klassen T, Davis C, Goldman A, Burgess D, Chen T, Wheeler D, McPherson J, Bourquin T, Lewis L, Villasana D, Morgan M, Muzny D, Gibbs R & Noebels J. *Exome sequencing of ion channel genes reveals complex profiles confounding personal risk assessment in epilepsy*. 2011;145(7):1036-1048. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.05.025>