

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 575.224:577.121:577.112.386.2/5:577.16

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-1-48-61>

Поступила в редакцию 10.02.2021

Received 10.02.2021

**А. А. Гусина<sup>1</sup>, А. В. Зиновик<sup>1</sup>, И. В. Наумчик<sup>1</sup>, В. Д. Кулак<sup>1</sup>, И. Н. Мотюк<sup>2</sup>,  
А. С. Бойша<sup>3</sup>, С. О. Мясников<sup>1</sup>, А. С. Стальбко<sup>1</sup>, Н. Б. Гусина<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя», Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Гродненский областной клинический перинатальный центр, Гродно, Республика Беларусь

<sup>3</sup>Могилевский областной лечебно-диагностический центр, Могилев, Республика Беларусь

## **КЛИНИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КЛАССИЧЕСКОЙ ГОМОЦИСТИНУРИИ**

**Аннотация.** Классическая гомоцистинурия – аутосомно-рецессивное заболевание, обусловленное дефицитом активности цистатионин-β-синтазы, возникающим вследствие мутаций в гене *CBS*.

Цель исследования – определить особенности клинических проявлений и установить мутации в гене *CBS* у пациентов с классической гомоцистинурией в Республике Беларусь.

В исследуемую группу были включены пациенты с классической гомоцистинурией и их здоровые сибсы (3 пробанда и 2 сибса) из трех неродственных семей. Диагноз классической гомоцистинурии пробандам был установлен на основании количественного определения концентрации общего гомоцистеина. Поиск мутаций в гене *CBS* осуществлен с помощью высокопроизводительного секвенирования. Наличие выявленных вариантов у пробандов и их сибсов было подтверждено секвенированием по Сэнгеру.

У всех обследованных пробандов выявлены характерные клинические признаки классической гомоцистинурии: врожденное смещение хрусталиков, изменения со стороны скелета. У 2 из 3 пробандов были отмечены симптомы поражения нервной системы, в том числе задержка развития и умственная отсталость, судороги, психические нарушения.

У пробанда 1 выявлена миссенс-мутация с.430G>C (p.Glu144Gln, rs121964966) в гомозиготном состоянии. Пробанд 2 являлся гомозиготным носителем замены с.473C>T p.(Ala158Val, rs1376851289). У пробанда 3 обнаружен миссенс-вариант с.1064C>T p.(Ala355Val, rs772384826). Сибсы пробандов 1 и 3 являлись носителями соответствующих мутаций в гетерозиготном состоянии.

Классическая гомоцистинурия – весьма редкое заболевание в Республике Беларусь. Все случаи заболеваемости в Беларуси обусловлены очень редкими мутациями, не зарегистрированными в граничащих с республикой странах, и являются следствием браков между родственниками или уроженцами одной местности. Нами впервые описаны фенотипические проявления мутаций p.Glu144Gln и p.Ala355Val, расширено описание спектра клинических проявлений замены Ala158Val, проведена оценка клинической значимости выявленных вариантов в соответствии с современными критериями.

**Ключевые слова:** гомоцистинурия, мутации в гене *CBS*, дефицит цистатионин-β-синтазы, гомоцистеин, метионин, клинические проявления, подвывих хрусталика

**Для цитирования:** Клинические и молекулярно-генетические характеристики классической гомоцистинурии / А. А. Гусина [и др.] // Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2022. – Т. 19, № 1. – С. 48–61. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-1-48-61>

**Asya A. Gusina<sup>1</sup>, Aliaksandr V. Zinovik<sup>1</sup>, Irina V. Naumchik<sup>1</sup>, Victoria D. Kulak<sup>1</sup>, Irina N. Motiuk<sup>2</sup>,  
Anna S. Boisha<sup>3</sup>, Sviatoslav O. Miasnikov<sup>1</sup>, Nastya S. Stalybko<sup>1</sup>, Nina B. Gusina<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Republican Scientific Practical Centre «Mother and child», Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Grodno Regional Clinical Perinatal Center, Grodno, Republic of Belarus

<sup>3</sup>Mogilev Regional Treatment and Diagnostic Center, Mogilev, Republic of Belarus

## **CLINICAL AND MOLECULAR GENETIC CHARACTERISTICS OF CLASSICAL HOMOCYSTINURIA**

**Abstract.** Classical homocystinuria is caused by a genetic mutation in the *CBS* gene, which leads to low levels or absence of an enzyme called cystathionine beta-synthase.

The purpose of the study was to analyze the clinical features and molecular and genetic data of patients with classical homocystinuria in Belarus.

The study group included patients with classical homocystinuria and their healthy siblings (3 probands and 2 siblings) from three unrelated families. Diagnosis of homocystinuria was made on a quantitative determination of the total homocysteine level in plasma. The next-generation sequencing was performed for the molecular genetic analysis of the *CBS* gene. The presence of the identified variants in probands and their siblings was confirmed by the Sanger sequencing.

All probands had specific clinical signs of classic homocystinuria: ectopia lentis, skeletal pathology, intellectual, psychiatric, behavioural problems and seizures (in 2 of 3 probands).

Homozygous missense-mutations c.430G>C (p.Glu144Gln, rs121964966), c.473C>T p.(Ala158Val, rs1376851289) and 1064C>T p.(Ala355Val, rs772384826) were identified in proband 1, 2 and 3 respectively. Healthy siblings of probands 1 and 3 were the heterozygous carriers of the corresponding mutations.

Classical homocystinuria is a very rare disease in the Republic of Belarus. All cases of the disease in Belarus are caused by very rare mutations not registered in the neighboring countries and are the result of marriages between the relatives or the natives of the same area. We have described for the first time the phenotypic manifestations of the p.Glu144Gln and p.Ala355Val mutations, expanded the description of the spectrum of clinical manifestations of the Ala158Val substitution, and assessed the clinical significance of the identified variants in accordance with the modern criteria.

**Keywords:** homocystinuria, mutations in the *CBS* gene, cystathionine beta-synthase deficiency, homocysteine, methionine, clinical manifestations, lens subluxation

**For citation:** Gusina A. A., Zinovic A. V., Naumchik I. V., Kulak V. D., Motiuk I. N., Boisha A. S., Miasnikov S. O., Stalybko N. S., Gusina N. B. Clinical and molecular genetic characteristics of classical homocystinuria. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2022, vol. 19, no. 1, pp. 48–61 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-1-48-61>

**Введение.** Гомоцистинурия – редкое аутосомно-рецессивное заболевание, обусловленное дефицитом активности ферментов метаболизма серосодержащей аминокислоты метионина. Известно 13 форм гомоцистинурии [1]. Наиболее распространены пиридоксин (витамин В6) зависимая (чувствительная) и пиридоксин-резистентная формы заболевания, известные как классическая гомоцистинурия [2]. Причиной классической гомоцистинурии является недостаточность цистатионин-β-синтазы [3]. Этот пиридоксин-зависимый фермент осуществляет транссульфатирование гомоцистеина и превращает его в цистатионин. Нарушение транссульфатирования приводит к увеличению концентрации общего гомоцистеина и метионина в крови. Более редкие формы гомоцистинурии связаны с дефектами реметилирования гомоцистеина. При нарушениях реметилирования содержание метионина в крови остается нормальным или снижается, а при патологии метаболизма кобаламина в крови повышается также количество метилмалоновой кислоты [1].

Синтез цистатионин-β-синтазы кодирует ген *CBS*, расположенный в области длинного плеча хромосомы 21, в локусе q22.3 [4]. В открытых базах данных (ClinVar, dbSNP) в гене *CBS* зарегистрировано более 200 патогенных и вероятно патогенных мутаций, а также вариантов с неопределенной клинической значимостью. Более половины из них – миссенс-мутации, большая часть из которых уникальны. Доля нонсенс-мутаций не превышает 10 % от всех мутантных аллелей. Остальные варианты представлены мелкими делециями, инсерциями и мутациями сплайсинга. Протяженные делеции гена *CBS* описаны в единичных случаях [2].

Наиболее распространенными мутациями в гене *CBS* являются p.Arg336Cys, p.Ile278Thr, p.Gly307Ser, p.Thr191Met и p.Trp323Ter. В сумме на их долю приходится 47 % мутантных аллелей – 14, 13, 10, 8 и 2 % соответственно [5].

Замена p.Arg336Cys (NM\_000071.2(CBS):c.1006C>T, rs398123151) является самым частым вариантом в Катаре (97 % от всех аллелей) [5]. У пациентов европейского происхождения эту мутацию обнаруживают не более чем в 10 % случаев [5]. В гомозиготном состоянии p.Arg336Cys приводит к развитию тяжелой пиридоксин-резистентной формы классической гомоцистинурии [6].

Мутация p.Ile278Thr (NM\_000071.3(CBS):c.833T>C, rs5742905) – панэтническая. Этот вариант является самым распространенным в Бразилии, Франции, Израиле, США, Чехии, Словакии, Дании, Италии, Англии, Германии, Польше и Нидерландах. В этих странах на его долю приходится от 16 до 55 % от всех мутантных аллелей [5]. Гомозиготное носительство p.Ile278Thr приводит к развитию пиридоксин-чувствительной формы заболевания. У компаундных гетерозиготных носителей отмечена по меньшей мере частичная чувствительность к пиридоксину [7]. Примерно 5–10 % жителей США и Европы являются носителями полиморфизма 844ins68 – вставочной мутации в 8-м экзоне гена цистатионин-β-синтазы [8]. Эта вставка формирует альтернативный сайт сплайсинга на границе 7-го интрона и 8-го экзона гена *CBS* [9]. Мутация 844ins68, выявленная только в сочетании с p.Ile278Thr мутацией, устраняет негативное влияние последней [10].

Мутация p.Gly307Ser (NM\_000071.2(CBS):c.919G>A, rs121964962) описана у пациентов из США, Европы, Израиля, Катара. Этот вариант является самой частой причиной классической гомоцисти-

нурии в Ирландии (66 % от всех патогенных аллелей) и в Австралии (22 %) [5]. Гомозиготное носительство р.Gly307Ser ассоциируется с тяжелой пиридоксин-резистентной формой заболевания [7].

В странах Иберийского полуострова и их бывших колоний в Латинской Америке наиболее распространенным патогенным вариантом является р.Thr191Met (NM\_000071.2(CBS):c.572C>T, rs121964973): 23 и 44 % от всех мутантных аллелей в Португалии и Испании, 20 и 73 % – в Венесуэле и Колумбии [5].

Мутация р.Trp323Ter (NM\_000071.2(CBS):c.969G>A, rs863223432) – самая частая причина классической гомоцистинурии в Саудовской Аравии (77 % от всех мутантных аллелей) [5]. Гомозиготные носители вариантов р.Thr191Met и р.Trp323Ter, как правило, имеют тяжелые или умеренно тяжелые проявления заболевания и нечувствительны к терапии пиридоксином [11].

Частота гетерозиготного носительства замен р.Arg336Cys, р.Ile278Thr и р.Gly307Ser в европейских странах составляет 0,004; 0,143 и 0,03 % соответственно [5].

В России наиболее частой мутацией в гене *CBS* является вариант сплайсинга с.1224-2A>C (IVS11-2A->C, rs375846341) – 27,0 % от всех мутантных аллелей [12]. В этой стране также зарегистрированы мутации р.Lys384Asn, с.1560-1569delCACCGGAAG, р.Ile278Thr, р.Cys109Arg, с.216-217delAT, Gln368Term, Thr353Met, Trp390Term, Glu302Lys, с.1498\_1499delT, Asp444Tyrp [2, 12]. Распространенный в Чехии и Словакии вариант с.1224-2A>C ассоциируется с развитием пиридоксин-резистентного фенотипа [5, 12, 13].

Частота классической гомоцистинурии в мире колеблется от 416 случаев на 100 000 на острове Ланьюй и 55 на 100 000 в Катаре до менее чем 1 случай на миллион на Тайване [5]. В европейских странах частота классической гомоцистинурии (на 100 000) в среднем составляет 0,72 случая [5], при этом в некоторых странах распространенность этого заболевания значительно превышает среднюю: 15,6 случая в Норвегии, 5,6 – в Германии, 2,5 случая в Чехии [5].

Клинические проявления классической гомоцистинурии включают врожденное смещение хрусталика и/или миопию тяжелой степени, тромбозы артериальных и венозных сосудов, задержку развития/умственную отсталость, судороги, психические нарушения, изменения со стороны скелета [1, 2, 7, 12, 13]. Могут наблюдаться гипопигментация кожи и волос, эритема в области носа и щек, напоминающая «волчаночную бабочку», livedo reticularis, панкреатит [7, 13].

В соответствии с международными рекомендациями по диагностике и лечению гомоцистинурии, обусловленной недостаточностью цистатионин-β-синтазы, первым и основным тестом для диагностики этого заболевания является определение концентрации общего гомоцистеина в плазме крови [14]. В норме содержание общего гомоцистеина в плазме крови составляет 5–10 мкмоль/л у детей и 5–15 мкмоль/л у взрослых [15]. У пациентов с классической гомоцистинурией уровень общего гомоцистеина обычно превышает 100 мкмоль/л [14]. Дополнительными диагностическими признаками являются повышение концентрации метионина и снижение содержания цистеина в плазме крови. Диагноз необходимо верифицировать с помощью определения активности цистатионин-β-синтазы или идентификации мутаций в гене *CBS* [13, 14].

Лечение классической гомоцистинурии направлено на снижение концентрации общего гомоцистеина до уровня, максимально близкого к нормальному. Поскольку достичь такого уменьшения концентрации удастся не всегда, рекомендуется поддерживать содержание общего гомоцистеина на уровне менее 50 мкмоль/л при пиридоксин-зависимой форме и менее 100 мкмоль/л при пиридоксин-резистентной [14]. Терапия классической гомоцистинурии включает диету, ограничивающую поступление метионина, и прием препаратов, снижающих концентрацию гомоцистеина за счет оптимизации его метаболизма: пиридоксина, бетаина, цианокобаламина, фолиевой кислоты [13, 14].

Цель исследования – определить особенности клинических проявлений и установить мутации в гене *CBS* у пациентов с классической гомоцистинурией в Республике Беларусь.

**Материалы и методы исследования.** В исследуемую группу были включены пациенты с классической гомоцистинурией и их здоровые сибсы (3 пробанда и 2 сибса) из трех неродственных семей. Концентрацию общего гомоцистеина, фолиевой кислоты и витамина B12 в крови определяли методом иммуноферментного анализа с помощью диагностикумов производства DRG International, Inc. (США) согласно инструкции производителя. Забор крови, отделение плазмы

и хранение биологического материала для исследования уровня общего гомоцистеина осуществляли в соответствии с рекомендациями Refsum с соавт. [15]. Концентрацию метионина в образцах крови, высушенных на бланках для неонатального скрининга, измеряли методом tandemной масс-спектрометрии (ТМС) на приборе Wallac MS2 1445 Tandem Mass Spectrometer, Wallac Oy (Финляндия) с использованием наборов реагентов NeoGram MSMS kit (PerkinElmer, Inc., США).

В качестве материала для молекулярно-генетического исследования была использована ДНК, выделенная из лейкоцитов крови. Пациентам было выполнено высокопроизводительное секвенирование на приборе NextSeq500 (Illumina Inc., San Diego, CA, США) с использованием панели TruSight Inherited Disease (Illumina Inc., San Diego, CA, США).

Обработка данных высокопроизводительного секвенирования была выполнена с помощью доступных интернет-ресурсов, картирование прочтений на референтный геном GRCh37 и генерация VCF-файла – с помощью Illumina DRAGEN Bio-IT Platform. Для дальнейшего аннотирования вариантов использовали программу Variant Interpreter. Патогенность выявленных мутаций оценивали на основании данных доступных источников литературы и ресурса VarSome (<https://varsome.com/>).

Наличие выявленных вариантов у пробандов и их сибсов было подтверждено секвенированием по Сэнгеру, которое проводилось на автоматическом анализаторе ABI 3500 (Applied Biosystems, США) с использованием Big Dye Terminator v1.1 cycle sequencing kit по протоколу производителя. Анализ данных секвенирования выполняли с помощью программного обеспечения SeqScape Software3 v3.0 и Sequencing Analysis Software6 v6.0. Амплификацию экзонов *CBS* осуществляли на амплификаторе Veriti Thermal Cycler (Applied Biosystems, США) с помощью олигонуклеотидных праймеров, описанных Gong с соавт. [16].

Информированное согласие на проведение молекулярно-генетического тестирования было получено от родителей пациентов и их сибсов. Форма информированного согласия была разработана в соответствии с требованиями Закона Республики Беларусь «О здравоохранении».

**Результаты и их обсуждение.** За период с 2004 по 2020 г. в Республике Беларусь было диагностировано три случая классической гомоцистинурии.

*Семья 1.* Пробанд – мальчик, родился в срок от второй беременности с нормальными показателями массы и длины тела. В возрасте до 1 года отмечена дисплазия тазобедренных суставов. До 3 лет рос и развивался без особенностей. В 3 года отмечено ухудшение зрения и диагностирован подвывих хрусталиков обоих глаз. Брак родителей не родственник, однако оба родителя родом из одного района Беларуси. От первой беременности имеют дочь, девочка здорова. При осмотре генетиком в 4 года отмечены жалобы на боли в ногах, показатели физического развития в пределах 10–50-го перцентиля возрастной нормы (рост 100 см, масса 14 кг, окружность головы 51 см), задержка речевого развития, пропорциональное телосложение, околоушная фистула справа, эпикант, высокое небо, арахнодактилия, легкая гипермобильность суставов, плосковальгусная деформация стоп. При аускультации выявлен систолический шум в области сердца. При эхокардиографии обнаружен пролапс митрального клапана I степени. Нефрологом зафиксирована двусторонняя пиелэктазия. Гастроэнтеролог диагностировал долихосигму, спастический колит. При проведении селективного скрининга отмечена положительная проба на гомоцистин в моче. При тонкослойной хроматографии аминокислот мочи выявлены гомоцистин и метионин. Концентрация общего гомоцистеина в плазме крови составила 240 мкмоль/л. Начато лечение витамином В6 (300 мг/сут) и фолиевой кислотой (5 мг/сут). В течение 4,5 мес. уровень общего гомоцистеина в плазме крови снизился до 37 мкмоль/л, однако затем снова стал повышаться и через 7 мес. от начала лечения был равен 215 мкмоль/л. К лечению был добавлен бетаин в дозе 5 г/сут, но добиться снижения концентрации общего гомоцистеина менее 100 мкмоль/л не удалось. Динамика концентрации общего гомоцистеина у пациента показана на рис. 1.

На фоне лечения наблюдалась выраженная положительная динамика психо-речевого развития, пациент стал более подвижным, прекратились боли в ногах. В возрасте 5 лет отмечена заметная динамика показателя роста (+11 см за 1 год), который достиг 75-ного перцентиля, показатели массы тела и окружности головы сохранялись на уровне 50-го перцентиля. При осмотре в дополнение к ранее описанным изменениям обнаружены умеренная долихостеномелия, крыловидные лопатки, увеличение лучезапястных, голеностопных, коленных суставов, выраженная

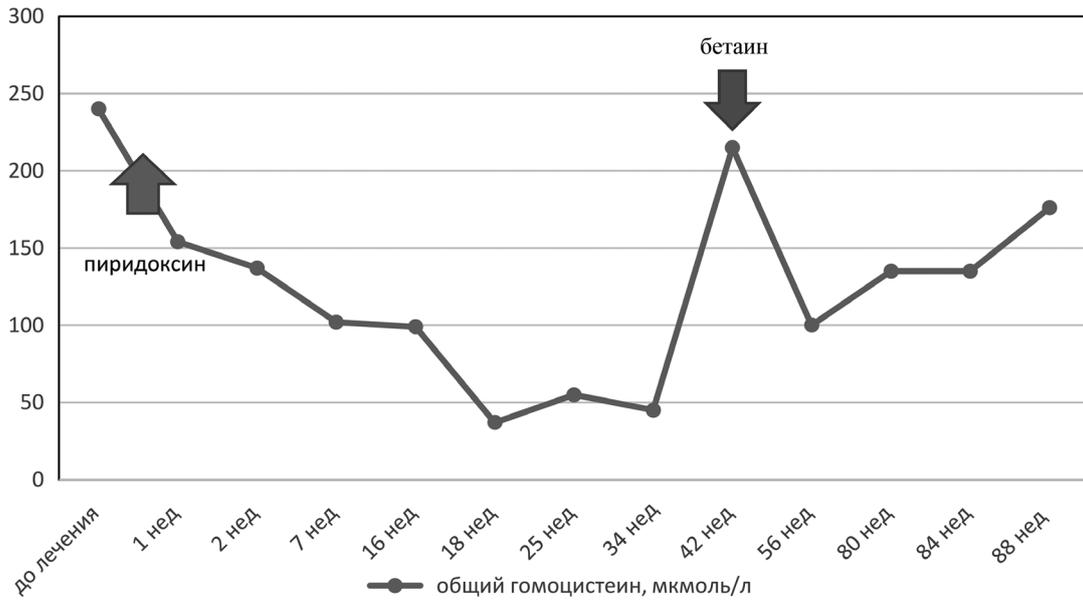


Рис. 1. Динамика концентрации общего гомоцистеина у пациента 1 на фоне терапии пиридоксином и бетаином

Fig 1. Total homocysteine concentration in patient 1 during pyridoxine and betaine therapy

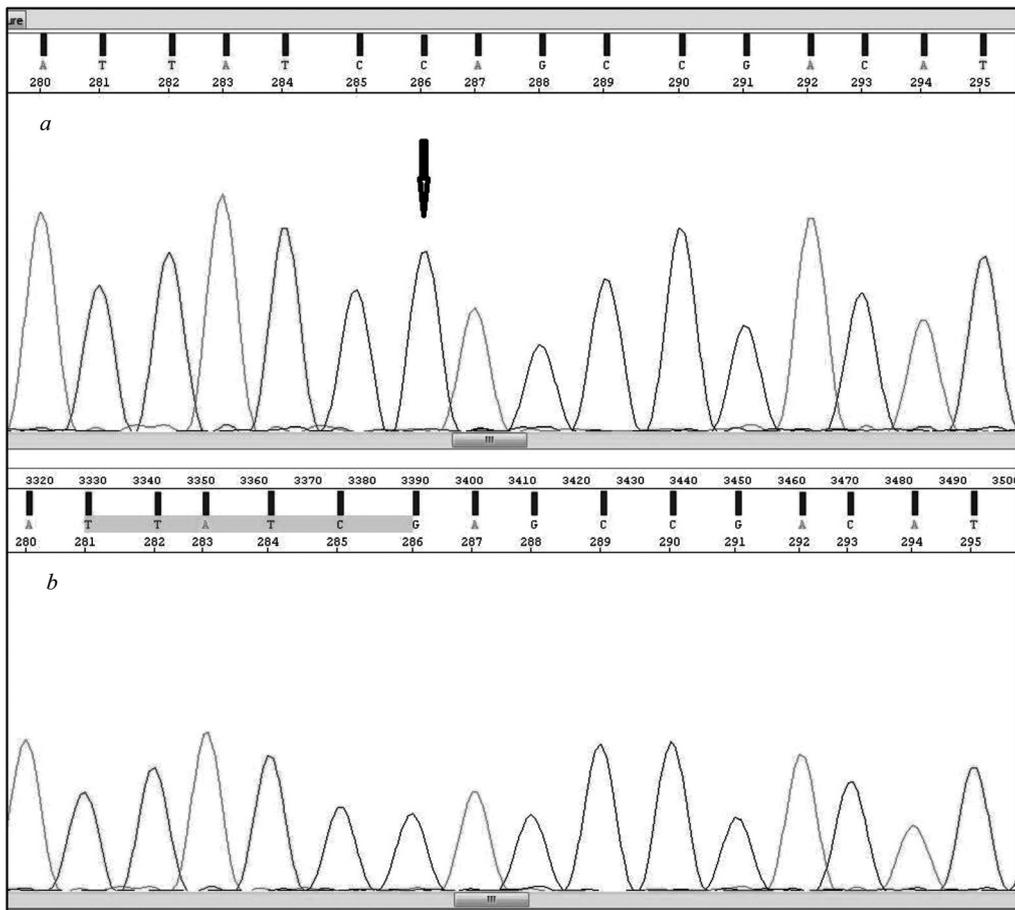


Рис. 2. Мутация p.Glu144Gln в гене CBS в гомозиготном состоянии у пробанда 1 (a), нормальная последовательность в контрольном образце (b)

Fig 2. Homozygous mutation p.Glu144Gln in the CBS gene in proband 1 (a), normal sequence in control subject (b)

асимметрия таза. В 9 лет диагностирован сколиоз грудного отдела позвоночника. Уровень общего гомоцистеина при приеме витамина B6, фолиевой кислоты и бетаина – 110–280 мкмоль/л. В 11 лет у пациента на фоне появления признаков полового созревания отмечен быстрый рост: показатели физического развития достигли 95-го перцентиля. В 12 лет рост, масса тела и окружность головы превышали 97-й перцентиль, интеллектуальное развитие ребенка соответствовало возрасту, мальчик успешно учился в школе для детей с нарушениями зрения, занимался в музыкальной школе по классу фортепиано. Прогрессирования скелетных деформаций зафиксировано не было, по результатам рентгеновской остеоденситометрии поясничного отдела позвоночника и проксимальных отделов бедренных костей обнаружено снижение минеральной плотности костной ткани поясничных позвонков.

При молекулярно-генетическом исследовании у пробанда выявлена миссенс-мутация p.Glu144Gln (NM\_001178008.2(CBS):c.430G>C, rs121964966) в гомозиготном состоянии (рис. 2).

Старшая сестра пациента оказалась гетерозиготной носительницей этой мутации.

*Семья 2.* Пробанд – мальчик, родился в сроке 39 недель от второй беременности с нормальными показателями массы и длины тела. Родители состоят в дальнем родстве. Первая беременность в семье закончилась спонтанным абортom в сроке до 12 недель. На первом году жизни отклонений в развитии ребенка не замечено. В возрасте старше года отмечены варусная деформация голеней, увеличение крупных суставов. Двусторонний подвывих хрусталиков диагностирован в 3 года, в 4 года проведена эмульсификация хрусталика слева и лэнсэктомия с имплантацией искусственного хрусталика справа. В 11 лет эндокринологом диагностирована низкорослость. При осмотре генетиком в 11 лет: рост 128 см (менее 3-го перцентиля для данного возраста), масса 29 кг (10-й перцентиль), окружность головы 53 см (50-й перцентиль), умственная отсталость легкой степени, узкое лицо, оттопыренные ушные раковины, высокая спинка носа, дрожание радужки, короткая шея, килевидная деформация грудной клетки, сколиоз, выраженный поясничный лордоз, крупные кисти и стопы, увеличение коленных и голеностопных суставов, ограничение разгибания в межфаланговых суставах, ограничение подвижности в плечевых и коленных суставах, плоскостопие. При аускультации выявлен систолический шум в области сердца, однако при эхокардиографии изменений не было. При ТМС обнаружено повышенное до 92 мкмоль/л содержание метионина (норма 6–43 мкмоль/л), концентрация гомоцистеина составила 387 мкмоль/л. Уровни фолиевой кислоты и витамина B12 были в пределах нормы. Пациенту было назначено лечение пиридоксином в дозе 300 мг/сут. На фоне проводимой терапии уровень гомоцистеина оставался высоким – 150–350 мкмоль/л. От диеты с низким содержанием метионина родители пациента отказались.

При молекулярно-генетическом исследовании у пробанда выявлена миссенс-мутация p.Ala158Val (NM\_001178008.2(CBS):c.473C>T, rs1376851289) в гомозиготном состоянии (рис. 3).

*Семья 3.* Пробанд – мужчина, впервые обследован в возрасте 27 лет. Первый ребенок в семье, родители украинцы, состоят в дальнем родстве. С раннего возраста наблюдался неврологом с диагнозом астено-невротический синдром. В возрасте 3 лет отмечено снижение остроты зрения – миопия, в 9 лет проведена лэнсэктомия по поводу подвывиха хрусталиков. С этого возраста у пациента отмечен высокий рост, дефицит массы тела. В возрасте 15–16 лет появились судорожные приступы. При осмотре генетиком в 27 лет: рост 182 см, масса 64 кг, окружность головы 58 см. Констатирована тяжелая умственная отсталость, эмоциональная лабильность, тревожность, нарушения речи (заикание, дизартрия). Телосложение астеническое, лицо удлиненное, антимоноглоидный разрез глаз, большой лоб, вздернутый нос, большие ушные раковины. Грудная клетка без грубых деформаций, сколиотическое нарушение осанки, арахнодактилия кистей и стоп, ограничение разгибания в локтевых, межфаланговых суставах кистей, плоскостопие. При эхокардиографии обнаружен пролапс митрального клапана с регургитацией II степени, дополнительная хорда левого желудочка. Терапевтом диагностирована артериальная гипертензия II–III степени. При ТМС обнаружено повышение концентрации метионина до 60 (норма 6–43 мкмоль/л), концентрация общего гомоцистеина в плазме крови – 364 мкмоль/л, концентрации витамина B12 и фолиевой кислоты в пределах нормы. У 20-летней младшей сестры пробанда со слов родителей: двусторонний подвывих хрусталиков, астено-невротический синдром, судорожные приступы.

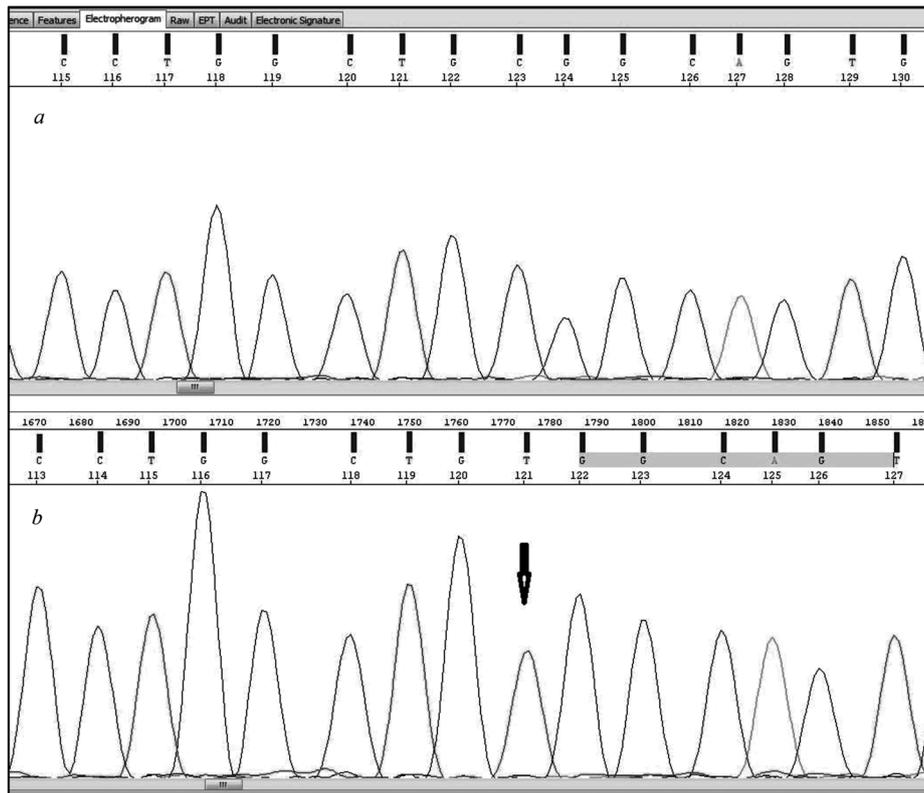


Рис. 3. Мутация p.Ala158Val в гене *CBS* в гомозиготном состоянии у пробанда 2 (b), нормальная последовательность в контрольном образце (a)

Fig. 3. Homozygous mutation p.Ala158Val in the *CBS* gene in proband 2 (b), normal sequence in control subject (a)

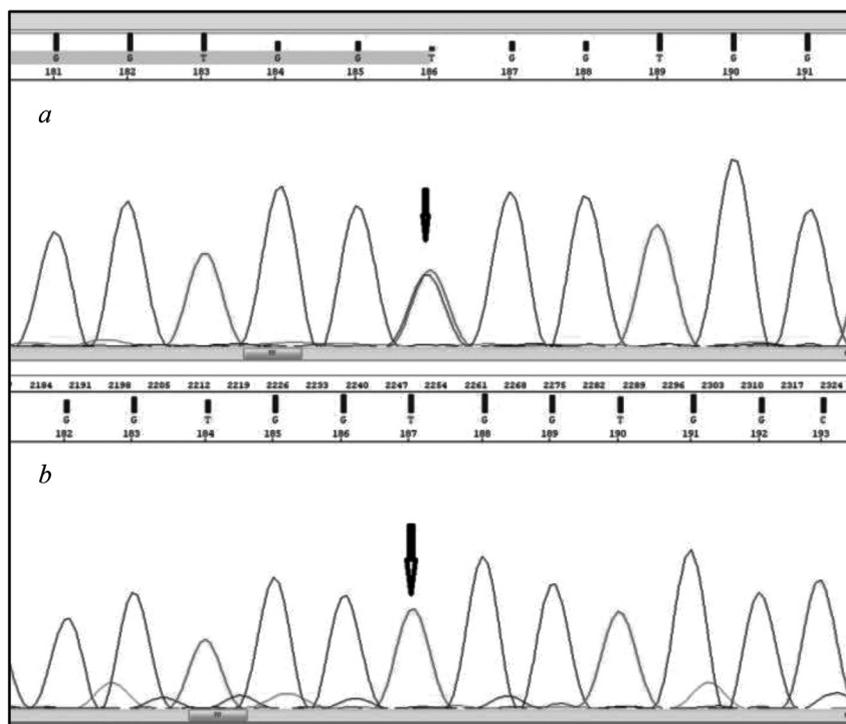


Рис. 4. Мутация p.Ala355Val в гене *CBS* в гетерозиготном состоянии у сестры пробанда 3 (a) и в гомозиготном состоянии у пробанда 3 (b)

Fig. 4. Mutation p.Ala355Val in the *CBS* gene in the heterozygous state in proband's 3 sister (a) and in the homozygous state in proband 3 (b)

Вторая младшая сестра пробанда здорова. После установления пациенту диагноза классической гомоцистинурии по результатам биохимических исследований семью неоднократно приглашали в РНПЦ «Мать и дитя» для назначения лечения и обследования младших сестер пробанда. Для проведения биохимической и молекулярно-генетической диагностики заболевания прибыла только здоровая сестра пациента. Концентрация общего гомоцистеина у нее составила 7,5 мкмоль/л. Другие члены семьи в РНПЦ «Мать и дитя» не явились.

В результате проведенного молекулярно-генетического исследования у пробанда выявлена миссенс-мутация p.Ala355Val (NM\_001178008.2(CBS):c.1064C>T, rs772384826) в гомозиготном состоянии. У фенотипически здоровой младшей сестры пациента эта мутация обнаружена в гетерозиготном состоянии (рис. 4).

За 16 лет (с 2004 по 2020 г.) в Беларуси было диагностировано три случая классической гомоцистинурии. У пробандов 1 и 2, которым диагноз был поставлен в возрасте 4 и 11 лет, поводом для обращения к генетику стало врожденное смещение хрусталика. В соответствии с наблюдениями других исследователей дислокация хрусталика является самой частой причиной направления для обследования с целью уточнения диагноза классической гомоцистинурии (85 % случаев), а зачастую – первым симптомом заболевания [1]. Врожденное смещение хрусталика при классической гомоцистинурии крайне редко описывают у пациентов моложе 2 лет, однако у более чем 50 % пациентов с пиридоксин-резистентной формой в отсутствие лечения к 10 годам диагностируется подвывих хрусталика [7]. В описываемых случаях дислокация хрусталика была выявлена в возрасте 3–9 лет, двум пробандам была выполнена лентэктомия. Смещение хрусталика при классической гомоцистинурии является обычно двусторонним и происходит в направлении книзу и назально. Кроме смещения хрусталика при этом заболевании отмечались миопия высокой степени (у всех наших пациентов), а также глаукома, атрофия зрительных нервов, катаракта, дегенерация и отслойка сетчатки, аномалии роговицы [7, 13].

Задержка развития – нередко первый симптом классической гомоцистинурии. По сведениям Mudd с соавт. [7], коэффициент интеллекта (IQ) у пациентов варьируется от 10 до 138 (в среднем 64 при пиридоксин-резистентной форме и 78 при пиридоксин-чувствительной). Однако при условии ранней диагностики и при поддержании уровня общего гомоцистеина на уровне менее 100–120 мкмоль/л интеллектуальное развитие пациентов с витамин В6-резистентной формой оказывается нормальным [14]. В нашем исследовании у пробанда 1 интеллектуальное развитие соответствовало возрасту, умственная отсталость легкой и тяжелой степени была констатирована у пробандов 2 и 3. У пробанда 3 и, со слов родителей, у его сестры отмечены также судорожные приступы, которые, по данным Mudd с соавт. [7], при отсутствии лечения манифестируют к 12 годам у 20 % пациентов с классической гомоцистинурией. Кроме того, у членов семьи 3 отмечены невротические расстройства. Расстройства личности и поведения (депрессия, агрессия, алкогольная зависимость), обсессивно-компульсивное расстройство, психозы наблюдаются у 51 % пациентов [1, 7].

Тромбозы артериальных и венозных сосудов, которые в 70 % случаев становятся причиной смерти пациентов с классической гомоцистинурией [7], у наших пациентов зарегистрированы не были. Тромботические осложнения (в большинстве случаев окклюзии вен) могут развиваться в любом возрасте, чаще на 2–3-й декаде жизни, и иногда являются единственным проявлением заболевания, особенно при легкой пиридоксин-зависимой форме, обусловленной гомозиготным носительством p.Leu278Thr [17]. Развитие тромбозов у пациентов с классической гомоцистинурией часто ассоциировано с влиянием различных факторов риска: хирургическим вмешательством, беременностью, носительством Лейденской мутации. Результаты обследования нами всех пробандов на наличие Лейденской мутации и мутации G20210A в гене протромбина показали, что пациенты имеют нормальный генотип. В определенной степени это свидетельствует о благоприятном прогнозе в отношении возникновения спонтанных тромботических осложнений у наших пациентов.

Изменения со стороны скелета (остеопения, остеопороз, высокий рост, долихостеномелия, арахнодактилия, деформация грудной клетки и позвоночника, вальгусная установка коленных суставов) чаще выявляют у пациентов с витамин В6-резистентной формой заболевания, как правило, с началом пубертата [7, 14]. Остеопороз является специфическим проявлением классиче-

ской гомоцистинурии. К подростковому возрасту его диагностируют у 50–70 % пациентов [7]. В описываемых случаях типичные для классической гомоцистинурии скелетные аномалии были обнаружены у пробандов 1 (высокий рост, долихостеномелия, деформация позвоночника, признаки остеопороза при денситометрии) и 3 (арахнодактилия, деформация позвоночника). У пробанда 2 диагностирована не характерная для этого заболевания низкорослость. У пробандов 1 и 2 отмечено увеличение лучезапястных, коленных и голеностопных суставов – признак, который не упоминается в описании фенотипа пациентов с классической гомоцистинурией в доступных нам источниках.

В клинических рекомендациях по лечению и диагностике гомоцистинурии, изданных в 2017 г. в России, в качестве скринингового теста рекомендовано использовать пробу на серосодержащие аминокислоты (качественную реакцию с цианиднитропруссидом) [13]. С помощью этого теста и был выявлен пробанд 1. Далее диагноз гомоцистинурии у этого пациента был подтвержден результатами тонкослойной хроматографии аминокислот мочи (обнаружены гомоцистеин и метионин) и исследования концентрации общего гомоцистеина в плазме крови. Количественное определение метионина методом ТМС, которое рекомендуется российскими авторами как диагностический тест, с 2006 г. в РНПЦ «Мать и дитя» является частью рутинного исследования, включающего измерение концентраций различных аминокислот и ацилкарнитинов, которое выполняется всем пациентам с подозрением на наследственную патологию обмена веществ. При гомоцистинурии, обусловленной дефектами реметилирования, уровень метионина остается нормальным или снижается, в связи с чем определение концентрации общего гомоцистеина для диагностики различных форм этого заболевания предпочтительнее. В нашем центре этот тест проводится всем лицам с врожденным смещением хрусталика, тромбозами артериальных и венозных сосудов и другими симптомами, позволяющими предположить диагноз гомоцистинурии. Пробандам 2 и 3 диагноз был поставлен на основании количественных исследований общего гомоцистеина и метионина, которые были выполнены параллельно.

Пробандам 1 и 2 была назначена терапия, направленная на снижение концентрации гомоцистеина. Пациенту 1 лечение проводилось пиридоксином в сочетании с бетаином и фолиевой кислотой. Пациент 2 получал только пиридоксин.

Пиридоксин – препарат первой линии в лечении классической гомоцистинурии [14]. В зависимости от ответа на терапию пиридоксином различают пиридоксин-чувствительную, пиридоксин-резистентную и частично-чувствительную к пиридоксину формы заболевания. Алгоритм определения чувствительности к пиридоксину описан Morris с соавт. [14] в международных рекомендациях по диагностике и лечению гомоцистинурии, обусловленной недостаточностью цистатионин-β-синтазы. У наших пациентов уровень гомоцистеина на фоне применения пиридоксина снижался, но все же оставался достаточно высоким, что позволило нам классифицировать форму заболевания у них как частично-чувствительную.

Большинство исследователей в области гомоцистинурии считают, что чувствительность к терапии пиридоксином определяется характером мутаций в гене *CBS*: мутации, при которых остаточная активность фермента в культуре фибробластов не определяется или очень низкая, приводят к развитию витамин В6-резистентной формы заболевания. При достаточно высокой остаточной активности цистатионин-β-синтазы диагностируют, как правило, пиридоксин-чувствительную форму.

У пробанда 1 была выявлена мутация с.430G>C в гомозиготном состоянии. Замена гуанина на цитозин в положении 430 приводит к замещению высококонсервативного остатка глутаминовой кислоты в кодоне 144 на глутамин. В базе данных gnomAD Exomes этот вариант зарегистрирован только в популяции стран Европы (частота 0,014 %). Мутация не упоминается в доступных нам опубликованных работах, посвященных классической гомоцистинурии, однако зарегистрирована в базе данных ClinVar в 2018 г. у пациента с классической гомоцистинурией как вариант с неопределенной клинической значимостью единственным субъектом Invitae. Мы полагаем, что замену p.Glu144Gln на основании критериев, предложенных для интерпретации данных последовательности ДНК человека, полученных методами массового параллельного секвенирования [18], следует расценивать как вероятно патогенную (см. таблицу).

**Оценка патогенности вариантов в гене CBS**  
**Assessment of the pathogenicity of variants in the CBS gene**

Вариант	Оценка	Критерии
p.Glu144Gln	Вероятно, патогенный вариант (PM1 + PM2 + PM5 + PP2 + PP3)	Вариант расположен в «горячей точке» гена CBS, в которой не описаны доброкачественные изменения (PM1) В контрольной выборке gnomAD Exomes вариант зарегистрирован с частотой менее 0,5 % (PM2) Ранее в этом кодоне описан вариант, классифицированный как патогенный – p.Glu144Lys (PM5) Миссенс-варианты в гене CBS обычно вызывают заболевание, доброкачественные варианты встречаются редко (PP2) Алгоритмы предсказания патогенности <i>in silico</i> (DANN, DEOGEN2, EIGEN, FATHMM-MKL, M-CAP, MVP, MutationTaster, REVEL, SIFT) подтверждают патогенность варианта (PP3)
p.Ala158Val	Вероятно, патогенный вариант (PM1 + PM2 + PP2 + PP3)	Вариант расположен в «горячей точке» гена CBS, в которой не описаны доброкачественные изменения (PM1) Вариант не зарегистрирован в контрольной выборке gnomAD Exomes (PM2) Миссенс-варианты в гене CBS обычно вызывают заболевание, доброкачественные варианты встречаются редко (PP2) Алгоритмы предсказания патогенности <i>in silico</i> (DANN, MutationTaster, SIFT и др.) подтверждают патогенность варианта (PP3)
p.Ala355Val	Вариант с неопределенной клинической значимостью (PM1 + PM2 + PP2 + BP4)	Вариант расположен в «горячей точке» гена CBS, в которой не описаны доброкачественные изменения (PM1) Вариант не зарегистрирован в контрольной выборке gnomAD Exomes (PM2) Миссенс-варианты в гене CBS обычно вызывают заболевание, доброкачественные варианты встречаются редко (PP2) Результаты шести программ предсказания патогенности <i>in silico</i> (DANN, DEOGEN2, EIGEN, MVP, REVEL, SIFT) подтверждают отсутствие воздействия на ген или генный продукт, результаты трех программ (FATHMM-MKL, M-CAP, MutationTaster) оценивают вариант как патогенный (BP4)

Примечательно, что патогенная замена в том же кодоне – p.Glu144Lys (NM\_000071.2(CBS):c.430G>A, rs121964966) – занимает 14-е место среди 25 наиболее распространенных в мире мутантных аллелей гена CBS, несмотря на то что, по данным gnomAD Exomes, ее частота в популяции стран Европы составляет 0,004 %, что в 3,5 раза меньше частоты p.Glu144Gln [5]. Миссенс-вариант p.Glu144Lys является относительно частой причиной классической гомоцистинурии в Австралии (10 % от всех мутантных аллелей), Германии (8 %), Чехии, Словакии и Англии (3 %), но не описан ни в Польше, ни в России [5]. В доступных нам сообщениях мутация p.Glu144Lys описана только в компаунд-гетерозиготном состоянии у пациентов легкими, умеренно выраженными и тяжелыми проявлениями пиридоксин-чувствительной и пиридоксин-резистентной классической гомоцистинурии [19–23]. Тяжесть клинических проявлений и зависимость от пиридоксина в этих ситуациях определялись вторым мутантным аллелем. При изучении экспрессии p.Glu144Lys в клетках *E. coli* активность мутантной формы цистатионин-β-синтазы составляла 0,1 % в сравнении с ферментом дикого типа, что предполагает развитие витамин B6-резистентной формы заболевания у гомозиготных носителей [20–23]. Таким образом, у нашего пациента следовало ожидать отсутствия чувствительности к пиридоксину. Тем не менее, концентрация общего гомоцистеина в начале терапии пиридоксином у него существенно снизилась. По нашему мнению, это свидетельствует о сохранении определенной остаточной активности фермента, обусловленной сходством физико-химических свойств глутамин и глутаминовой кислоты.

Пробанд 2 являлся гомозиготным носителем мутации c.473C>T. Замена цитозина на тимин в позиции 473 приводит к замещению остатка аланина в кодоне 158 на валин. Этот миссенс-вариант не зарегистрирован в контрольной выборке gnomAD Exomes и не упоминается в базе данных ClinVar. В доступных источниках нами обнаружено две публикации, в которых упоминается

этот вариант: Shan и Kruger в 1998 г. в эксперименте на культуре грибов показали, что мутации, вызывающие образование преждевременного стоп-кодона и приводящие к синтезу фермента, лишённого последних 145 аминокислотных остатков С-концевого регуляторного домена, восстанавливают активность цистатионин-β-синтазы при некоторых мутациях, обнаруженных у пациентов с гомоцистинурией, если находятся с ними в *cis*-положении [24]. Среди изученных авторами вариантов упоминается и замена Ala158Val. В 2015 г. Gong с соавт. [16] выявили эту мутацию в сочетании с миссенс-вариантом с.407T>C (р. Leu136Pro) у трех sibсов из одной семьи в Китае. У всех пациентов наблюдались типичные проявления классической гомоцистинурии: двустороннее смещение хрусталика, миопия, роговичная стафилома, глаукома, экзотропия, отслойка сетчатки, скелетные деформации (кифосколиоз, килевидная деформация грудной клетки, арахнодактилия), пирамидные знаки, атаксия, нестабильная походка, атрофические изменения головного мозга, эритема лица, умственная отсталость, увеличение концентрации гомоцистеина до 86–103 мкмоль/л и метионина до 287–345 мкмоль/л (при норме 20–40 мкмоль/л) в крови [16]. Авторы не сообщили, получали ли пациенты лечение пиридоксинам. Тем не менее, учитывая, что концентрация общего гомоцистеина в описанных ими случаях была невысокой, можно предположить, что оба варианта ассоциируются с сохраненной остаточной активностью фермента. Это соответствует и нашим наблюдениям частичной чувствительности к пиридоксину у пробанда 2. По совокупности сведений вариант р. Ala158Val классифицирован нами как вероятно-патогенный (см. таблицу).

У пробанда 3 была обнаружена мутация с.1046C>T в гомозиготном состоянии. Замена цитозина на тимин в положении 1064 приводит к замещению остатка аланина на валин в кодоне 355. Этот миссенс-вариант не зарегистрирован в контрольной выборке gnomAD Exomes, но отмечен в базе данных ClinVar как вариант с неопределенной клинической значимостью, выявленный у двух пациентов. Заявитель – EGL Genetic Diagnostics (Eurofins Clinical Diagnostics) не предоставил никакой дополнительной информации об этих лицах. Нам удалось найти только одну публикацию, в которой упоминается мутация Ala355Val. Echaniz-Laguna с соавт. [25] в 2018 г. сообщили о необычном случае обратимой периферической нейропатии, возникшей в результате длительного приема больших (1250–1750 мг/сут) доз пиридоксина у компаундной гетерозиготной носительницы Ala355Val/Ile278Thr. К сожалению, исследователи не привели описания фенотипа пациентки. При оценке патогенности замены р. Ala355Val *in silico* были получены противоречивые результаты: программы DANN, DEOGEN2, EIGEN, MVP, REVEL, SIFT отметили отсутствие воздействия на ген или генный продукт, инструменты FATHMM-MKL, M-CAP и MutationTaster определили вариант как патогенный. Таким образом, с учетом сведений о распространенности мутации р. Ala355Val, неоднозначных оценок патогенности варианта с помощью компьютерных программ и невозможности уточнить генотип сестры пробанда 3, страдающей аналогичным заболеванием, замена р. Ala355Val нами классифицирована как вариант с неопределенной клинической значимостью (см. таблицу).

**Заключение.** Классическая гомоцистинурия – весьма редкое заболевание в Республике Беларусь. Все случаи заболеваемости в Беларуси обусловлены очень редкими мутациями, не зарегистрированными в граничащих с республикой странах, и являются следствием браков между родственниками или уроженцами одной местности. Нами впервые описаны фенотипические проявления мутаций р. Glu144Gln и р. Ala355Val, расширено описание спектра клинических проявлений замены Ala158Val, проведена оценка клинической значимости выявленных вариантов в соответствии с современными критериями.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### Список использованных источников

1. Three main causes of homocystinuria: CBS, cblC and MTHFR deficiency. What do they have in common? / G. R. W. Hoss [et al.] // J. Inborn Errors Metab. Screen. – 2019. – Vol. 7. – P. e20190007. <https://doi.org/10.1590/2326-4594-jiems-2019-0007>
2. Клинико-генетические аспекты и патогенетические механизмы классической гомоцистинурии у детей / А. Н. Семякина [и др.] // Рос. вестн. перинатол. и педиатр. – 2013. – Т. 58, № 3. – С. 30–37.
3. Uhlendorf, B. W. Cystathionine synthase in tissue culture derived from human skin: enzyme defect in homocystinuria / B. W. Uhlendorf, H. Mudd // Science. – 1968. – Vol. 160, N 3831. – P. 1007–1009. <https://doi.org/10.1126/science.160.3831.1007>

4. The gene for cystathionine beta-synthase (CBS) maps to the subtelomeric region on human chromosome 21q and to proximal mouse chromosome 17 / M. Münke [et al.] // *Am. J. Hum. Genet.* – 1988. – Vol. 42, N 4. – P. 550–559.
5. Classical homocystinuria: f common inborn error of metabolism? An epidemiological study based on genetic databases / G. R. Weber Hoss [et al.] // *Mol. Genet. Genom. Med.* – 2020. – Vol. 8, N 6. – P. e1214. <https://doi.org/10.1002/mgg3.1214>
6. *In silico* and *in vivo* models for Qatari-specific classical homocystinuria as basis for development of novel therapies / H. M. Ismail [et al.] // *Hum. Mutat.* – 2019. – Vol. 40, N 2. – P. 230–240. <https://doi.org/10.1002/humu.23682>
7. Mudd, S. H. Disorders of transsulfuration / S. H. Mudd, H. L. Levy, J. P. Kraus // *The metabolic and molecular bases of inherited disease.* – New York, McGraw-Hil, 2001. – P. 2007–2056.
8. Diversity of cystathionine beta-synthase haplotypes bearing the most common homocystinuria mutation c. 833T>C: a possible role for gene conversion / P. Vyletal [et al.] // *Hum. Mutat.* – 2007. – Vol. 28, N 3. – P. 255–264. <https://doi.org/10.1002/humu.20430>
9. Regulation of 3' splice site selection in the 844ins68 polymorphism of the cystathionine beta-synthase gene / M. Romano [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2002. – Vol. 277, N 46. – P. 43821–43829. <https://doi.org/10.1074/jbc.M208107200>
10. A common 844ins68 insertion variant in the cystathionine beta-synthase gene / L. A. Kluijtmans [et al.] // *Biochem. Mol. Med.* – 1997. – Vol. 62, N 1. – P. 23–25.
11. CBS mutations are good predictors for B6-responsiveness: a study based on the analysis of 35 Brazilian classical homocystinuria patients / S. Poloni [et al.] // *Mol. Genet. Genom. Med.* – 2018. – Vol. 6, N 2. – P. 160–170. <https://doi.org/10.1002/mgg3.342>
12. Homocystinuria due to cystathionine beta-synthase (CBS) deficiency in Russia: molecular and clinical characterization / E. Voskoboeva [et al.] // *Mol. Gen. Metab. Rep.* – 2017. – Vol. 14. – P. 47–54. <https://doi.org/10.1016/j.ymgmr.2017.11.001>
13. Гомоцистинурия у детей / А. А. Баранов [и др.] // *Вопр. совр. педиатр.* – 2017. – Т. 16, № 6. – С. 457–467.
14. Guidelines for the diagnosis and management of cystathionine beta-synthase deficiency / A. A. Morris [et al.] // *J. Inherit. Metab. Dis.* – 2017. – Vol. 40, N 1. – P. 49–74. <https://doi.org/10.1007/s10545-016-9979-0>
15. Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion / H. Refsum [et al.] // *Clin. Chem.* – 2004. – Vol. 50, N 1. – P. 3–32. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2003.021634>
16. Novel compound heterozygous CBS mutations cause homocystinuria in a Han Chinese family / B. Gong [et al.] // *Sci. Rep.* – 2015. – Vol. 5, N 1. – P. 1–7. <https://doi.org/10.1038/srep17947>
17. Vascular presentation of cystathionine betasynthase deficiency in adulthood / M. Magner [et al.] // *J. Inherit. Metab. Dis.* – 2011. – Vol. 34, N 1. – P. 33–37. <https://doi.org/10.1007/s10545-010-9146-y>
18. Руководство по интерпретации данных последовательности ДНК человека, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) (редакция 2018, версия 2) / О. П. Рыжкова [и др.] // *Мед. генетика.* – 2019. – Т. 18, № 2. – С. 3–23.
19. A missense mutation (I278T) in the cystathionine beta-synthase gene prevalent in pyridoxine-responsive homocystinuria and associated with mild clinical phenotype / V. E. Shih [et al.] // *Am. J. Hum. Genet.* – 1995. – Vol. 57, N 1. – P. 34–39.
20. Characterisation of five missense mutations in the cystathionine beta-synthase gene from three patients with B6-nonresponsive homocystinuria / P. A. Dawson [et al.] // *Eur. J. Hum. Genet.* – 1997. – Vol. 5, N 1. – P. 15–21.
21. Mutational analysis of the cystathionine beta-synthase gene: a splicing mutation, two missense mutations and an insertion in patients with homocystinuria. Mutations in brief no. 120. Online / R. B. Gordon [et al.] // *Hum. Mutat.* – 1998. – Vol. 11, N 4. – P. 332. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1004\(1998\)11:4<332::AID-HUMU120>3.0.CO;2-1](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1004(1998)11:4<332::AID-HUMU120>3.0.CO;2-1)
22. Impaired heme binding and aggregation of mutant cystathionine beta-synthase subunits in homocystinuria / M. Janosik [et al.] // *Am. J. Hum. Genet.* – 2001. – Vol. 68, N 6. – P. 1506–1513. <https://doi.org/10.1086/320597>
23. The molecular basis of cystathionine beta-synthase deficiency in Australian patients: genotype-phenotype correlations and response to treatment / M. Gaustadnes [et al.] // *Hum. Mutat.* – 2002. – Vol. 20, N 2. – P. 117–126. <https://doi.org/10.1002/humu.10104>
24. Shan, X. Correction of disease-causing CBS mutations in yeast / X. Shan, W. D. Kruger // *Nat. Genet.* – 1998. – Vol. 19, N 1. – P. 91–93. <https://doi.org/10.1038/ng0598-91>
25. Regressive pyridoxine-induced sensory neuronopathy in a patient with homocystinuria / A. Echaniz-Laguna [et al.] // *BMJ Case Rep.* – 2018. – Vol. 2018. – P. bcr2018225059d. <https://doi.org/10.1136/bcr-2018-225059>

## References

1. Hoss G. R. W., Poloni S., Blom H. J., Shewartz I. V. D. Three main causes of homocystinuria: CBS, cblC and MTHFR deficiency. What do they have in common? *Journal of Inborn Errors of Metabolism and Screening*, 2019, vol. 7, p. e20190007. <https://doi.org/10.1590/2326-4594-jiems-2019-0007>
2. Semyachkina A. N., Voskoboeva E. Yu., Voinova V. Yu., Kurbatov M. B., Novikova I. M., Zakharova E. Yu., Novikov P. V. The clinical and genetic aspects and pathogenic mechanisms of classical homocystinuria in children. *Rossiiskii vestnik perinatologii i pediatrii* [Russian bulletin of perinatology and pediatrics], 2013, vol. 58, no. 3, pp. 30–37 (in Russian).
3. Uhlendorf B. W., Mudd H. Cystathionine synthase in tissue culture derived from human skin: enzyme defect in homocystinuria. *Science*, 1968, vol. 160, no. 3831, pp. 1007–1009. <https://doi.org/10.1126/science.160.3831.1007>
4. Münke M., Kraus J. P., Ohura T., Francke U. The gene for cystathionine beta-synthase (CBS) maps to the subtelomeric region on human chromosome 21q and to proximal mouse chromosome 17. *American Journal of Human Genetics*, 1988, vol. 42, no. 4, pp. 550–559.

5. Weber Hoss G. R., Sperb-Ludwig F., Schwartz I. V. D., Blom H. J. Classical homocystinuria: f common inborn error of metabolism? An epidemiological study based on genetic databases. *Molecular Genetics & Genomic Medicine*, 2020, vol. 8, no. 6, p. e1214. <https://doi.org/10.1002/mgg3.1214>
6. Ismail H. M., Krishnamoorthy N., Al-Dewik N., Zayed H., Mohamed N. A., Di Giacomo V. [et al.]. *In silico* and *in vivo* models for Qatari-specific classical homocystinuria as basis for development of novel therapies. *Human Mutation*, 2019, vol. 40, no. 2, pp. 230–240. <https://doi.org/10.1002/humu.23682>
7. Mudd S. H., Levy H. L., Kraus J. P. Disorders of transsulfuration. *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. New York, 2001, pp. 2007–2056.
8. Vyletal P., Sokolová J., Cooper D. N., Kraus J. P., Krawczak M., Pepe G., Kozich V. Diversity of cystathionine beta-synthase haplotypes bearing the most common homocystinuria mutation c. 833T>C: a possible role for gene conversion. *Human Mutation*, 2007, vol. 28, no. 3, pp. 255–264. <https://doi.org/10.1002/humu.20430>
9. Romano M., Marcucci R., Buratti E., Ayala Y. M., Sebastio G., Baralle F. E. Regulation of 3' splice site selection in the 844ins68 polymorphism of the cystathionine beta-synthase gene. *Journal of Biological Chemistry*, 2002, vol. 277, no. 46, pp. 43821–43829. <https://doi.org/10.1074/jbc.M208107200>
10. Kluijtmans L. A., Boers G. H., Trijbels F. J., van Lith-Zanders H. M., van den Heuvel L. P., Blom H. J. A common 844ins68 insertion variant in the cystathionine beta-synthase gene. *Biochemical and Molecular Medicine*, 1997, vol. 62, no. 1, pp. 23–25.
11. Poloni S., Sperb-Ludwig F., Borsatto T., Hoss G. W., Doriqui M. Ju. R., Embiruçu E. K. [et al.]. CBS mutations are good predictors for B6-responsiveness: a study based on the analysis of 35 Brazilian classical homocystinuria patients. *Molecular Genetics and Genomic Medicine*, 2018, vol. 6, no. 2, pp. 160–170. <https://doi.org/10.1002/mgg3.342>
12. Voskoboeva E., Semyachkina A., Yablonskaya M., Nikolaeva E. Homocystinuria due to cystathionine beta-synthase (CBS) deficiency in Russia: molecular and clinical characterization. *Molecular Genetics and Metabolism Reports*, 2017, vol. 14, pp. 47–54. <https://doi.org/10.1016/j.ymgmr.2017.11.001>
13. Baranov A. A., Namazova-Baranova L. S., Borovik T. E., Bushueva T. V., Globa O. V., Zhurkova N. V. [et al.]. Homocystinuria in children. *Voprosy sovremennoi pediatrii* [Current pediatrics], 2017, vol. 16, no. 6, pp. 457–467 (in Russian).
14. Morris A. A., Kožich V., Santra S., Andria G., Ben-Omran T. I., Chakrapani A. B. [et al.]. Guidelines for the diagnosis and management of cystathionine beta-synthase deficiency. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 2017, vol. 40, no. 1, pp. 49–74. <https://doi.org/10.1007/s10545-016-9979-0>
15. Refsum H., Smith A. D., Ueland P. M., Nexø E., Clarke R., McPartlin J. [et al.]. Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion. *Clinical Chemistry*, 2004, vol. 50, no. 1, pp. 3–32. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2003.021634>
16. Gong B., Liu L., Li Z., Ye Z., Xiao Y., Zeng G. [et al.]. Novel compound heterozygous CBS mutations cause homocystinuria in a Han Chinese family. *Scientific Reports*, 2015, vol. 5, no. 1, pp. 1–7. <https://doi.org/10.1038/srep17947>
17. Magner M., Krupková L., Honzík T., Zeman J., Hyánek J., Kožich V. Vascular presentation of cystathionine beta-synthase deficiency in adulthood. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 2011, vol. 34, no. 1, pp. 33–37. <https://doi.org/10.1007/s10545-010-9146-y>
18. Ryzhkova O. P., Kardymon O. L., Prokhorchuk E. B., Konovalov F. A., Maslennikov A. B., Stepanov V. A. [et al.]. Guidelines for the interpretation of massive parallel sequencing variants (update 2018, v2. *Meditinskaya genetika* [Medical genetics], 2019, vol. 18, no. 2, pp. 3–23 (in Russian).
19. Shih V. E., Fringer J. M., Mandell R., Kraus J. P., Berry G. T., Heidenreich R. A., Korson M. S., Levy H. L., Ramesh V. A missense mutation (I278T) in the cystathionine beta-synthase gene prevalent in pyridoxine-responsive homocystinuria and associated with mild clinical phenotype. *American Journal of Human Genetics*, 1995, vol. 57, no. 1, pp. 34–39.
20. Dawson P. A., Cox A. J., Emmerson B. T., Dudman N. P., Kraus J. P., Gordon R. B. Characterisation of five missense mutations in the cystathionine beta-synthase gene from three patients with B6-nonresponsive homocystinuria. *European Journal of Human Genetics*, 1997, vol. 5, no. 1, pp. 15–21.
21. Gordon R. B., Cox A. J., Dawson P. A., Emmerson B. T., Kraus J. P., Dudman N. P. Mutational analysis of the cystathionine beta-synthase gene: a splicing mutation, two missense mutations and an insertion in patients with homocystinuria. Mutations in brief no. 120. Online. *Human Mutation*, 1998, vol. 11, no. 4, p. 332. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1004\(1998\)11:4<332::AID-HUM120>3.0.CO;2-1](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1004(1998)11:4<332::AID-HUM120>3.0.CO;2-1)
22. Janosík M., Oliveriusová J., Janosíková B., Sokolová J., Kraus E., Kraus J. P., Kožich V. Impaired heme binding and aggregation of mutant cystathionine beta-synthase subunits in homocystinuria. *American Journal of Human Genetics*, 2001, vol. 68, no. 6, pp. 1506–1513. <https://doi.org/10.1086/320597>
23. Gaustadnes M., Wilcken B., Oliveriusova J., McGill J., Fletcher J., Kraus J. P., Wilcken D. E. The molecular basis of cystathionine beta-synthase deficiency in Australian patients: genotype-phenotype correlations and response to treatment. *Human Mutation*, 2002, vol. 20, no. 2, pp. 117–126. <https://doi.org/10.1002/humu.10104>
24. Shan X., Kruger W. D. Correction of disease-causing CBS mutations in yeast. *Nature Genetics*, 1998, vol. 19, no. 1, pp. 91–93. <https://doi.org/10.1038/ng0598-91>
25. Echaniz-Laguna A., Mourot-Cottet R., Noel E., Chanson J.-B. Regressive pyridoxine-induced sensory neuronopathy in a patient with homocystinuria. *BMJ Case Reports*, 2018, vol. 2018, p. bcr2018225059d. <https://doi.org/10.1136/bcr-2018-225059>

### Информация об авторах

Гусина Ася Александровна – канд. мед. наук, ведущий лабораторией. Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя» (ул. Орловская, 66, 220053, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: asya.gusina@mail.ru

### Information about the authors

Asya A. Gusina – Ph. D. (Med.), Head of the Laboratory. Republican Scientific Practical Centre “Mother and child” (66, Orlovskaya Str., 220053, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: asya.gusina@mail.ru

*Зиновик Александр Валентинович* – заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя» (ул. Орловская, 66, 220053, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: alizi@yandex.ru

*Наумчик Ирина Всеволодовна* – канд. мед. наук, заместитель директора по медицинской генетике. Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя» (ул. Орловская, 66, 220053, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: belgenetics@yahoo.com

*Кулак Виктория Дмитриевна* – врач-генетик. Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя» (ул. Орловская, 66, 220053, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kulak.vd@mail.ru

*Мотюк Ирина Николаевна* – врач-генетик, главный внештатный специалист по медицинской генетике главного управления здравоохранения Гродненского областного исполнительного комитета. Гродненский областной клинический перинатальный центр (ул. Горького, 77, 230009, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: imotyuk@mail.ru

*Бойша Анна Станиславовна* – врач-генетик. Могилевский областной лечебно-диагностический центр (ул. Первомайская, 59а, 212030, г. Могилев, Республика Беларусь). E-mail: gen@modc.by

*Мясников Святослав Олегович* – врач лабораторной диагностики. Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя» (ул. Орловская, 66, 220053, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: svyatoslavm@bk.ru

*Сталыбко Анастасия Сергеевна* – мл. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя» (ул. Орловская, 66, 220053, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: nastyastalybko@gmail.com

*Гусина Нина Борисовна* – канд. биол. наук, врач лабораторной диагностики. Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя» (ул. Орловская, 66, 220053, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: nina.gusina@tut.by

*Aliaksandr V. Zinovic* – Head of the Laboratory. Republican Scientific Practical Centre “Mother and child” (66, Orlovskaya Str., 220053, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: alizi@yandex.ru

*Irina V. Naumchik* – Ph. D. (Med.), Deputy Director for Medical Genetics. Republican Scientific Practical Centre “Mother and child” (66, Orlovskaya Str., 220053, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: belgenetics@yahoo.com

*Victoria D. Kulak* – geneticist. Republican Scientific Practical Centre “Mother and child” (66, Orlovskaya Str., 220053, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kulak.vd@mail.ru

*Irina N. Motiuk* – geneticist, Chief Freelance Specialist in Medical Genetics of the Main Health Department of the Grodno Regional Executive Committee. Grodno Regional Clinical Perinatal Center (77, Gorky Str., 230009, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: imotyuk@mail.ru

*Anna S. Boisha* – geneticist. Mogilev Regional Treatment and Diagnostic Center (59a, Pervomayskaya Str., 212030, Mogilev, Republic of Belarus). E-mail: gen@modc.by

*Svyatoslav O. Miasnikov* – doctor of laboratory diagnostics. Republican Scientific Practical Centre “Mother and child” (66, Orlovskaya Str., 220053, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: svyatoslavm@bk.ru

*Nastya S. Stalybko* – Junior Researcher. Republican Scientific Practical Centre “Mother and child” (66, Orlovskaya Str., 220053, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: nastyastalybko@gmail.com

*Nina B. Gusina* – Ph. D. (Biol.), doctor of laboratory diagnostics. Republican Scientific Practical Centre “Mother and child” (66, Orlovskaya Str., 220053, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: nina.gusina@tut.by