

Клинико-генетические характеристики новых аллельных вариантов синдрома Моват–Вилсона, обусловленного мутациями в гене ZEB2

И. А. Акимова¹, Т. В. Маркова¹, Ф. А. Коновалов², А. В. Антоненц², Е. Л. Дадали¹

¹ФБГНУ «Медико-генетический научный центр»; Россия, 115478 Москва, ул. Москворечье, 1;

²ООО «Геномед»; Россия, 115093 Москва, Подольское шоссе, 8, корп. 5

Контакты: Ирина Алексеевна Акимова akimova@med-gen.ru

К настоящему времени описано большое количество моногенных заболеваний и синдромов, в клинической картине которых наблюдаются судороги, задержка темпов психоречевого развития и дизморфические черты строения. Одним из наследственных синдромов со специфическим фенотипом является синдром Моват–Вилсона. Для его диагностики использовали комплекс методов обследования: генеалогический анализ, неврологический осмотр, оценку интеллектуального развития с помощью психологических тестов и секвенирование экзона нового поколения. В результате проведения секвенирования экзона по панели генов, ответственных за возникновение наследственных эпилепсий, выявлены 2 больных разного пола в возрасте 10 и 5 лет с ранее не описанными мутациями в гене ZEB2 в гетерозиготном состоянии. Клинические проявления заболевания у этих пациентов были разной степени выраженности, что можно объяснить с точки зрения функциональной значимости выявленных изменений. Разнообразие клинических проявлений одного и того же заболевания приводит к значительным трудностям в постановке диагноза, однако благодаря внедрению во врачебную практику метода секвенирования экзона нового поколения эффективность диагностики наследственных заболеваний и синдромов, верификация которых долгое время была затруднена, значительно повысилась.

Ключевые слова: синдром Моват–Вилсона, судороги, дизморфические черты, ген ZEB2

Для цитирования: Акимова И.А., Маркова Т.В., Коновалов Ф.А. и др. Клинико-генетические характеристики новых аллельных вариантов синдрома Моват–Вилсона, обусловленного мутациями в гене ZEB2. Нервно-мышечные болезни 2018;8(3):28–33.

DOI: 10.17650/2222-8721-2018-8-3-28-33

Clinical and genetic characteristics of new allele variants of the Mowat–Wilson syndrome caused by ZEB2 gene mutations

I. A. Akimova¹, T. V. Markova¹, F. A. Konovalov², A. V. Antonets², E. L. Dadali¹

¹Research Centre of Medical Genetics; 1 Moskvorech'e St., Moscow 115478, Russia;

²Genomed; Build. 5, 8 Podol'skoe Shosse, Moscow 115093, Russia

To date, a large number of monogenic diseases and syndromes, in the clinical picture of which there are convulsions, a psycho-speech development delay and dysmorphic features have been described. One of the hereditary syndromes with a specific phenotype is the Mowat–Wilson syndrome. To diagnose the syndrome, a set of survey methods was used: genealogical analysis, neurological examination, evaluation of intellectual development with the help of psychological tests, and sequencing of the new generation exome. As a result of sequencing exome on the panel of genes responsible for the emergence of hereditary epilepsy, two patients of different sex at the age of 10 and 5 years were identified with previously not described mutations in the ZEB2 gene in the heterozygous state. Clinical manifestations of the disease in these patients were of varying degrees of severity, which can be explained in terms of the functional significance of the changes detected. The variety of clinical manifestations of the same disease leads to considerable difficulties in diagnosing, however, due to the introduction of the next-generation sequencing in medical practice, the effectiveness of diagnosing hereditary diseases and syndromes, the verification of which has been difficult for a long time, has increased significantly.

Key words: Mowat–Wilson syndrome, seizures, dysmorphic features, gene ZEB2

For citation: Akimova I.A., Markova T.V., Konovalov F.A. et al. Clinical and genetic characteristics of new allele variants of the Mowat–Wilson syndrome caused by ZEB2 gene mutations. Nervno-myshechnye bolezni = Neuromuscular Diseases 2018;8(3):28–33.

Введение

К настоящему времени описано большое количество моногенных заболеваний и синдромов, в клинической картине которых наблюдаются судороги, задержка темпов психоречевого развития и дизморфические черты строения. Несмотря на то, что фенотипические признаки некоторых синдромов могут быть весьма специфичны, до недавнего времени их диагностика не выполнялась в связи со значительными размерами генов, ответственных за их возникновение, обуславливающих значимые экономические затраты на проведение молекулярно-генетических методов диагностики. Однако с появлением в клинической практике метода секвенирования нового поколения, позволяющего одновременно проводить анализ большого количества генов, существенно повысилась эффективность диагностики наследственных синдромов, в том числе их редких вариантов, клинические проявления которых не были известны широкому кругу врачей. Описание клинико-генетических характеристик таких синдромов позволяет расширить представления о полиморфизме их фенотипических проявлений и этиопатогенетических механизмах их возникновения.

Одним из наследственных синдромов со специфическим фенотипом является синдром Моват–Вилсона (СМВ), впервые описанный D.R. Mowat и соавт. в 1998 г., которые сообщили о 6 пациентах со снижением интеллекта, лицевыми дизморфиями, микроцефалией, задержкой физического и психоречевого развития и болезнью Гиршпрунга [1]. У 1 из этих больных при исследовании кариотипа выявлена делеция в области хромосомы 2q22–q23, что дало основание предположить, что ген, ответственный за заболевание, локализован в этом регионе. В 2001 г. рядом авторов были описаны больные с фенотипическими характеристиками СМВ, имеющие гетерозиготные мутации в гене *ZEB2* [2–6], locus которого картирован на длинном плече хромосомы 2. К настоящему времени в литературе описано более 170 больных с варибельным фенотипом СМВ и подтвержден аутосомно-доминантный тип его наследования. Выявлен широкий спектр фенотипических проявлений этого синдрома, который включает низкорослость, микроцефалию, синдром Гиршпрунга, гипотонию, судороги, гипоспадию, дефект межпредсердной и межжелудочковой перегородок, стеноз легочной артерии, крипторхизм, гипоплазию мозолистого тела, отсутствие речи и множественные лицевые дизморфии — глазной гипертелоризм, птоз, антимонголоидный разрез глаз, субмукозную расщелину неба, широко расставленные зубы [7, 8]. Однако при проведении клинико-генетических корреляций показано, что у больных с различными мутациями в гене *ZEB2* отмечена значительная варибельность как спектра, так и тяжести клинических проявлений.

Цель исследования — описание клинико-генетических характеристик 2 пациентов с СМВ, обуслов-

ленным ранее не описанными гетерозиготными мутациями в гене *ZEB2*.

Материалы и методы

Для диагностики синдрома использовали комплекс методов обследования: генеалогический анализ, неврологический осмотр, оценку интеллектуального развития с помощью психологических тестов (метод Векслера и тест Гудинафа) и секвенирование экзона нового поколения.

ДНК выделяли по стандартной методике. Секвенирование экзона проводили на секвенаторе Illumina NextSeq 500 со средним покрытием не менее 70–100x с использованием панели, включающей более 600 генов, мутации в которых ответственны за возникновение известных заболеваний и синдромов, сопровождающихся судорогами. Оценка патогенности варианта выполняли согласно рекомендациям ACMG (American College of Medical Genetics and Genomics, Американский колледж медицинской генетики и геномики) [9].

Выявленные при проведении массового параллельного секвенирования изменения нуклеотидной последовательности были подтверждены методом прямого автоматического секвенирования по Сэнгеру с использованием олигонуклеотидных праймеров, комплементарных последовательностям, фланкирующим последовательность интрона 1 и экзона 10 гена *ZEB2* (NM_014795.3). Данные области были исследованы и у родителей больных.

У родителей пробандов были получены письменные информированные согласия на проведение молекулярно-генетического тестирования образцов крови и разрешение на анонимную публикацию результатов исследования.

Результаты

В результате проведения секвенирования экзона по панели генов, ответственных за возникновение наследственных эпилепсий, выявлено 2 больных разного пола в возрасте 10 и 5 лет с ранее не описанными мутациями в гене *ZEB2* в гетерозиготном состоянии.

Первый больной — мальчик 10 лет — единственный ребенок в семье. Родители здоровы, в родстве не состоят. Родился от 1-й физиологически протекавшей беременности, в срок, с массой тела 3200 г, длиной 52 см. Закричал сразу. Оценка по шкале Апгар 8/9 баллов. Раннее психомоторное развитие протекало с задержкой. Голову держит с 5 мес, сидит с 10 мес, ходит без поддержки с 2 лет. С 3 лет стал говорить отдельные слова, с 4 — несколько фраз. На момент осмотра ребенок говорит простые фразы и выполняет несложные инструкции. Навыки опрятности и самообслуживания сформированы. Обучается во вспомогательной школе во 2-м классе. Успевает очень плохо. Рост ребенка составляет 140 см, масса тела — 37 кг. При осмотре выявлены малые признаки дизэмбриогенеза — большой

нос, полная нижняя губа, короткий филтр, оттопыренные деформированные ушные раковины с массивными повернутыми вперед мочками (рис. 1), а также гипоспадия и двусторонний крипторхизм. При неврологическом осмотре очаговой симптоматики не выявлено. Из анамнеза известно, что у ребенка в течение жизни трижды возникали фебрильные судороги (в 1,5; 3 и 6 лет) и по данным ночного электроэнцефалографического (ЭЭГ) мониторинга периодически регистрировалась мультирегиональная эпилептическая активность. К моменту осмотра ребенок не получает противосудорожную терапию, так как судорог не отмечалось в течение 4 лет. При проведении магнитно-резонансной томографии (МРТ) головного мозга патологии не выявлено.

При выполнении секвенирования экзона по панели «Наследственные эпилепсии» у пробанда обнаружена ранее не описанная нуклеотидная замена с.-69-1G>C в интроне 1 гена *ZEB2*. На основании отсутствия этой нуклеотидной замены в контрольных выборках «1000 геномов», ESP6500 и ExAC и данных о том, что она нарушает канонический сайт сплайсинга,



Рис. 1. Фото пациента 1
Fig. 1. Foto of patient number 1

выявленный аллельный вариант был отнесен к категории «вероятно патогенный». Проведена верификация мутации секвенированием по Сэнгеру, в результате которой наличие мутации у пробанда было подтверждено. У родителей данной мутации не обнаружено, что свидетельствует о ее происхождении *de novo*. Отсутствие варианта у родителей пробанда позволило отнести замену к категории «патогенный» и считать ее причиной заболевания у пациента. В пользу патогенности выявленной мутации могут также служить результаты, полученные С. Zweier и соавт., которые в 2006 г. обнаружили другую нуклеотидную замену в той же позиции у пациента с мягкой формой фенотипа СМВ [10].

Другая больная — девочка 5 лет, родилась от 4-й беременности (1-я беременность закончилась рождением здоровых монозиготных близнецов мужского пола; 2-я — замершая беременность в 8 нед; 3-я — медикаментозный аборт), протекавшей на фоне угрозы прерывания в 20 и 36 нед, от 2-х срочных родов, с массой тела 3200 г, длиной 51 см. Закричала сразу. Оценка по шкале Апгар 8/9 баллов. Родители здоровы, в родстве не состоят. Раннее психомоторное развитие протекало с задержкой. Голову держит с 5 мес, самостоятельно сидит с 8 мес, ходит с 1 года 6 мес на широкой основе с поднятыми и согнутыми в локтях руками и сложенными «в замок» кистями. С 2 мес родители девочки замечали у нее «застывания» несколько раз в день. При проведении видео-ЭЭГ-мониторинга выявлена мультирегиональная эпилептиформная активность. На момент осмотра девочка получает противосудорожную терапию (Депакин Хроносфера и Зонегран), на фоне которой количество приступов уменьшилось до 1 в 6 мес и снизился индекс эпилептической активности на ЭЭГ. При проведении МРТ головного мозга структурной патологии не выявлено. На момент осмотра ребенок говорил несколько слов, однако простые инструкции не выполнял. Навыки опрятности и самообслуживания сформированы не полностью.

При осмотре ребенка в возрасте 5 лет выявлен дефицит роста и массы тела (рост 110 см, масса тела 17,5 кг, <3 центилей), а также уменьшение окружности головы, которая составляла 48 см. Также обнаружены типичные для СМВ дизморфические черты строения: удлиненное лицо с заостренным подбородком, правосторонний птоз века, ротированные кзади ушные раковины с большими, загнутыми вверх мочками, закругленный кончик носа с низкой перегородкой, короткий филтр, глубокий губной желобок, верхняя губа в виде «лука амура», толстая нижняя губа (рис. 2). При неврологическом осмотре очаговой неврологической симптоматики нет, присутствуют стереотипные движения в кистях. Девочка ходит без поддержки на широко расставленных ногах с согнутыми в локтевых суставах руками. С учетом особенностей походки и стереотипии, характерных для синдрома Ангельмана,



Рис. 2. Фото пациента 2
Fig. 2. Foto of patient number 2

а также грубой задержки психоречевого развития и наличия судорог проведено молекулярно-генетическое исследование, по результатам которого синдром Ангельмана был исключен.

При проведении секвенирования экзона по панели «Наследственные эпилепсии» выявлена ранее не описанная делеция 4 нуклеотидов в гетерозиготном состоянии в экзоне 10 гена *ZEB2*, приводящая к сдвигу рамки считывания, с. 3100_3103delAAAG (p. Lys1034fs). Проведена верификация мутации секвенированием по Сэнгеру, в результате которого наличие мутации у пробанда было подтверждено. У родителей данной мутации не обнаружено, что свидетельствует о ее происхождении *de novo*.

Отсутствие этой замены у здоровых родителей пробанда и в контрольных выборках «1000 геномов», а также данные о том, что она приводит к нарушению синтеза полноразмерного белка, позволили считать выявленную замену патогенной и рассматривать ее в качестве причины заболевания у пациентки.

Обсуждение

К настоящему времени в литературе описано несколько сотен больных с мутациями в гене *ZEB2*, приводящими к возникновению широкой вариабельности клинических проявлений СМВ. Различия в спектре клинических проявлений и тяжести течения синдрома связаны с разным влиянием выявленных мутаций на функцию белкового продукта гена [10, 11].

Анализ данных литературы, посвященных описанию клинко-генетических характеристик СМВ, показал, что большинство детей рождаются от физиологически протекавшей беременности, в срок, с нормальными показателями роста и массы тела [7]. На 1 году жизни у всех детей отмечается задержка темпов психомоторного и физического развития, а также наличие специфических дизморфических черт, которые могут изменяться по мере роста ребенка. В младенчестве у больных часто обнаруживаются избыточная кожа на затылке и шее, редкие тонкие волосы, а также дизморфические черты строения лица: высокий лоб, глазной гипертелоризм, эпикант, седловидный нос с выдающимся закругленным кончиком, М-образная верхняя губа, узкий остроконечный подбородок, полная или вывернутая нижняя губа и большие развернутые кзади уши с поднятыми вверх мочками [8].

По частоте встречаемости признаки этого синдрома можно расположить в следующем порядке: умственная отсталость (от умеренной до тяжелой) — 100 %, лицевые дизморфии — 97 %, микроцефалия — 81 %, судороги — 73 %, болезнь Гиршпрунга — 57 %, гипоспадия и врожденные пороки сердца — 52 %, низкий рост — 46 %, гипоплазия или агенезия мозолистого тела — 43 %, крипторхизм — 36 % случаев [7]. Обычно способность к самостоятельной ходьбе формируется у детей к возрасту 15–18 мес. С момента начала самостоятельной ходьбы наблюдается специфическая походка на широко расставленных ногах с согнутыми в локтях руками.

К настоящему времени идентифицировано более 100 мутаций в гене *ZEB2*, содержащем 10 экзонов и кодирующем белок семейства «цинковых пальцев». Это семейство формирует одну из основных групп ДНК-связывающих белков — супрессоров транскрипции. Исследования *in vitro* у ооцитов *Xenopus* показали широкую экспрессию *ZEB2* на стадии гаструлы с более сильной экспрессией в нервных тканях и клетках нервного гребня на стадии нейрулы, что указывает на ключевую роль белка в развитии нейронов на стадии гаструлы [12].

Показано, что более 50 % всех мутаций сосредоточено в экзоне 8 гена. Основное количество патогенных мутаций являются делециями, приводящими к сдвигу рамки считывания, однако описаны и миссенс-замены и мутации сайта сплайсинга. При проведении клинко-генетических корреляций показано, что наиболее выраженный фенотип, характеризующийся сочетанием специфических дизморфических черт лица, болезни Гиршпрунга и значимого интеллектуального дефицита, возникает при наличии делеции и нонсенс-мутаций. Таким образом, по мнению ряда авторов, более тяжелое течение заболевания обусловлено гаплонедостаточностью [13].

Показано, что миссенс-мутации и мутации сайта сплайсинга обычно приводят к менее выраженным

лицевым дизморфиям и интеллектуальному дефициту. Подтверждением этому могут служить и фенотипические проявления у первого нашего больного с СМВ, с мутацией в интроне 1 гена *ZEB2*, с нарушением функционирования сайта сплайсинга, что можно объяснить образованием внутренне усеченного белка с ограничением функциональной активности. Мутация, сходная с таковой у нашего первого больного, была описана С. Zweier и соавт. в 2006 г. [10]. Авторы сообщили о 5-летнем мальчике с нерезко выраженными фенотипическими проявлениями СМВ и отсутствием интеллектуального дефицита. У больного нет патологических изменений по данным МРТ головного мозга и ультразвукового исследования внутренних органов. На видео-ЭЭГ присутствовала эпилептическая активность, однако судорог отмечено не было. Более мягкий фенотип больного авторы объясняют менее значимыми нарушениями функции белкового продукта при наличии мутации в сайте сплайсинга. Считается, что в этом случае нарушение структуры акцепторного сайта может приводить к вырезанию экзона 2 гена при сплайсинге и образованию внутренне усеченного белка, который будет содержать не 1214, а 1207 аминокислот.

У второй наблюдаемой нами больной с СМВ имеется делеция, не кратная 3 нуклеотидам, приводящая к сдвигу рамки считывания. Клинические проявления у нее более выражены, чем у первого больного, однако не достигают такой степени выраженности, как у других пациентов с такого типа мутациями. В частности, у нее отсутствуют синдром Гиршпрунга, врожденные пороки сердца и агенезия мозолистого тела. Это можно объяснить локализацией мутации в последнем — 10-м экзоне гена, которая может приводить к отсутствию в белке последних 180 аминокислотных остатков.

Таким образом, внедрение во врачебную практику метода секвенирования экзона нового поколения привело к значительному повышению эффективности диагностики наследственных заболеваний и синдромов, верификация которых долгое время была затруднена. Однако при трактовке результатов исследования врачом-генетиком в ряде случаев возникают диагностические проблемы, что связано с выявлением в генах большого числа ранее не описанных нуклеотидных замен, приводящих к возникновению вариабельных по тяжести и спектру фенотипических проявлений. В связи с этим описание больных с редкими клиническими синдромами и заболеваниями, обусловленными вновь выявленными мутациями, позволяет уточнить особенности их клинических проявлений и пополнить спектр патогенных мутаций в генах, ответственных за их возникновение.

Заключение

К настоящему времени описано большое количество моногенных заболеваний и синдромов, в клинической картине которых наблюдаются судороги, задержка темпов психоречевого развития и дизморфические черты строения. Одним из наследственных синдромов со специфическим фенотипом, является СМВ. К настоящему времени в литературе описано более 170 больных с вариабельным фенотипом СМВ и подтвержден аутосомно-доминантный тип его наследования. Выявлен широкий спектр фенотипических проявлений этого синдрома, который включает низкорослость, микроцефалию, синдром Гиршпрунга, гипотонию, судороги, гипоспадию, дефект межпредсердной и межжелудочковой перегородок, стеноз легочной артерии, крипторхизм, гипоплазию мозолистого тела, отсутствие речи и множественные лицевые дизморфии — глазной гипертелоризм, птоз, антимонолоидный разрез глаз, субмукозную расщелину неба, широко расставленные зубы.

При проведении клинко-генетических корреляций показано, что у больных с различными мутациями в гене *ZEB2* отмечена значительная вариабельность как спектра, так и тяжести клинических проявлений. Различия в спектре клинических проявлений и тяжести течения синдрома связаны с разным влиянием выявленных мутаций на функцию белкового продукта гена. Показано, что миссенс-мутации и мутации сайта сплайсинга обычно приводят к менее выраженным лицевым дизморфиям и интеллектуальному дефициту. В то время как делеции и нонсенс-мутации приводят к возникновению более тяжелого течения заболевания. Таким образом, по мнению ряда авторов, более тяжелое течение заболевания обусловлено гаплонедостаточностью. В качестве иллюстрации этого факта приведены примеры 2 пациентов с различными ранее не описанными мутациями в гене *ZEB2*. У первого больного с мутацией, влияющей на сайт сплайсинга, заболевание протекало в легкой форме, тогда как у второй пациентки с делецией клинические проявления более выражены.

Таким образом, широкий спектр клинических проявлений наследственных заболеваний, в том числе СМВ, определяется типом и локализацией мутации. Для наилучшего понимания этой взаимосвязи и увеличения данных о размахе клинического полиморфизма данного синдрома необходимо описание клинко-генетических характеристик пациентов с новыми аллельными вариантами СМВ, обусловленного мутациями в гене *ZEB2*.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Mowat D.R., Croaker G.D., Cass D.T. et al. Hirschsprung disease, microcephaly, mental retardation, and characteristic facial features: delineation of a new syndrome and identification of a locus at chromosome 2q22-q23. *J Med Genet* 1998;35(8):617–23. DOI: 10.1136/jmg.35.8.617. PMID: 9719364.
2. Amiel J., Espinosa-Parrilla Y., Steffann J. et al. Large-scale deletions and SMADIP1 truncating mutations in syndromic Hirschsprung disease with involvement of midline structures. *Am J Hum Genet* 2001;69(6):1370–7. DOI: 10.1086/324342. PMID: 11595972.
3. Wakamatsu N., Yamada Y., Yamada K. et al. Mutations in SIP1, encoding Smad interacting protein-1, cause a form of Hirschsprung disease. *Nature Genet* 2001;27(4):369–70. DOI: 10.1038/86860. PMID: 11279515.
4. Yamada K., Yamada Y., Nomura N. et al. Nonsense and frameshift mutations in ZFHX1B, encoding Smad-interacting protein 1, cause a complex developmental disorder with a great variety of clinical features. *Am J Hum Genet* 2001;69(6):1178–85. DOI: 10.1016/j.eplepsyres.2007.09.006. PMID: 11592033.
5. Moore S.W., Fieggen K., Honey E., Zaahl M. Novel ZEB2 gene variation in the Mowat – Wilson syndrome (MWS). *J Pediatr Surg* 2016;51 (2):268–71. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2015.10.070. PMID: 26852091.
6. Garavelli L., Mainardi P.C. Mowat – Wilson syndrome. *Orphanet J Rare Dis* 2007;2:42. DOI: 10.1186/1750-1172-2-42. PMID: 17958891.
7. Wilson M., Mowat D., Dastot-Le Moal F. et al. Further delineation of the phenotype associated with heterozygous mutations in the ZFHX1B. *Am J Med Genet* 2003;119A (3):257–65. DOI: 10.1002/ajmg.a.20053. PMID: 12784289.
8. Rehman H.L., Bale S.J., Bayrak-Toydemir P. et al. ACMG clinical laboratory standards for next-generation sequencing. *Genet Med* 2013;15(9):733–47. DOI: 10.1038/gim.2013.92. PMID: 23887774.
9. Zweier C., Horn D., Kraus C., Rauch A. Atypical ZFHX1B mutation associated with a mild Mowat–Wilson syndrome phenotype. *Am J Med Genet* 2006;140A(8):869–72. DOI: 10.1002/ajmg.a.31196. PMID: 16532472.
10. Dastot-Le Moal F., Wilson M., Mowat D. et al. ZFHX1B mutations in patients with Mowat – Wilson syndrome. *Hum Mutat* 2007;28(4):313–21. DOI: 10.1002/humu.20452. PMID: 17203459.
11. Nitta K.R., Takahashi S., Haramoto Y. et al. The N-terminus zinc finger domain of Xenopus SIP1 is important for neural induction, but not for suppression of Xbra expression. *Int J Dev Biol* 2007;51(4):321–5. DOI: 10.1387/ijdb.062252kn. PMID: 17554684.
12. Zweier C., Temple I.K., Beemer F. et al. Characterisation of deletions of the ZFHX1B region and genotype-phenotype analysis in Mowat – Wilson syndrome. *J Med Genet* 2003;40(8):601–5. DOI: 10.1136/jmg.40.8.601. PMID: 12920073.

Вклад авторов

И.А. Акимова: написание текста рукописи;
Т.В. Маркова: обзор публикаций по теме статьи;
Ф.А. Коновалов: получение данных для анализа;
А.В. Антоненц: анализ полученных данных;
Е.Л. Дадали: разработка дизайна исследования.

Authors' contributions

I.A. Akimova: article writing;
T.V. Markova: reviewing of publications of the article's theme;
F.A. Konovalov: obtaining data for analysis;
A.V. Antonets: analysis of the obtained data;
E.L. Dadali: developing the research design.

ORCID авторов/ORCID of authors

И.А. Акимова/I.A. Akimova: <https://orcid.org/0000-0002-9092-6581>
Ф.А. Коновалов/F.A. Konovalov: <https://orcid.org/0000-0001-6414-436X>
А.В. Антоненц/A.V. Antonets: <https://orcid.org/0000-0002-8074-1890>
Е.Л. Дадали/E.L. Dadali: <https://orcid.org/0000-0001-5602-2805>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.
Financing. The study was performed without external funding.

Информированное согласие. Родители пациентов подписали информированное согласие на участие детей в исследовании.
Informed consent. There is given the parental informed consent to the children's participation in the study.

Статья поступила: 05.01.2018. **Принята к публикации:** 14.09.2018.
Article received: 05.01.2018. **Accepted for publication:** 14.09.2018.