

Аутосомно-доминантные спиноцеребеллярные атаксии: современное состояние проблемы

А. Брис (Alexis Brice)

*Институт здоровья и медицинских исследований (INSERM),
Клиника Сальпетриер (Париж, Франция)*

Аутосомно-доминантные спиноцеребеллярные (мозжечковые) атаксии представляют собой группу заболеваний с выраженной клинической и генетической гетерогенностью. Для клиницистов полезно дифференцировать «чистые» мозжечковые атаксии (тип III по классификации Harding) и более сложные синдромы с многочисленными ассоциированными симптомами (типы I и II по Harding), включая дегенерацию сетчатки (тип II, см. таблицу). Однако, разграничение между «чистыми» и «осложненными» фенотипами нередко затруднено, и у многих пациентов с так называемой «чистой» формой при тщательном осмотре могут выявиться легкие дополнительные проявления (сенсорный дефицит, полиневропатия, офтальмоплегия и т.д.).

На сегодняшний день идентифицировано 16 генов аутосомно-доминантных атаксий (они доступны для прямого ДНК-тестирования), а еще около 10 локусов ожидают молекулярной идентификации (таблица). Девять из этих генов содержат экспансию повторяющихся последовательностей (SCA1, 2, 3, 6, 7, 8, 10, 12, 17), обычно тринуклеотидных повторов. Шесть форм (SCA1, 2, 3, 6, 7 и 17) обусловлены транслируемой экспансией CAG-повторов, что приводит к пропорциональной экспансии полиглутаминовой последовательности в соответствующих белках. Этим так называемым *полиглутаминовым* заболеваниям свойственны общие черты:

- 1) клиническая манифестация при превышении «порога» числа копий CAG-повторов, который различен у разных белков;
- 2) существование четкой обратной корреляции между степенью экспансии повторов и возрастом начала болезни;
- 3) нестабильность удлинённого мутантного повтора при передаче гена в ряду поколений (особенно по мужской линии), что приводит к антиципации;
- 4) наличие внутриядерных включений в пораженных нейронах;
- 5) при полиглутаминовых формах мутантный белок приобретает новые, нейротоксические свойства, что сочетается в разной степени с частичной утратой нормальной его функции.

Полиглутаминовые болезни, как правило, весьма тяжелы и характеризуются выраженной межсемейной вариабельностью с точки зрения возраста дебюта, сочетания симптомов и даже патонейроморфологии. Фенотип аутосомно-доминантной полиглутаминовой атаксии является результатом комбинации факторов, таких как мутантный ген, длина экспандированного повтора и длительность болезни. Помимо этого, конфигурация повторяющейся последовательности может модулировать клинические проявления. Так, при SCA2 наличие

Таблица. Классификация аутосомно-доминантных спиноцеребеллярных атаксий

Тип	Сочетанные симптомы	Локус	Хромосома	Мутация
I	Вариабельные: офтальмоплегия, атрофия зрительного нерва, деменция, экстрапирамидные знаки, амиотрофии	SCA1	6p	Транслируемая CAG-экспансия, ген атаксин-1
		SCA2	12q	Транслируемая CAG-экспансия, ген атаксин-2
		SCA3	14q	Транслируемая CAG-экспансия, ген атаксин-3 (Жозефин)
		SCA4	16q	?
		SCA14	19q	Миссенс-мутация, ген РКСγ
		SCA17	6q	Транслируемая CAG-экспансия, ген ТВР
		SCA19/SCA22	1p	?
		SCA21	7p	?
II	Макулярная дегенерация сетчатки	SCA7	3p	Транслируемая CAG-экспансия, ген атаксин-7
III	«Чистая» форма атаксии	SCA5	11cen	Миссенс-мутация, ген SPTBN2
		SCA6	19p	Транслируемая CAG-экспансия, ген SACNA1A
		SCA8	13q	Некодирующая CTG-экспансия
		SCA11	15q	Точковая мутация, ген тау-тубулинкиназы-2
		SCA12	5q	Некодирующая CTG-экспансия, ген PPP2R2B
		SCA15=16	3p	Мутация в гене ITPR1
		SCA20	11	Дупликация области 2,6 Мб
		SCA23	20p	?
		SCA26	19p	?
		SCA27=FGF14	13q	Миссенс-мутация, ген FGF14
		SCA28	18q	?
		SCA30	4q	?
		16q22.1	16q	Мутация, ген пуратрофин-1 (?)
IV	Атаксия + эпилепсия	SCA10	22q	Некодирующая ATTCT-экспансия, ген атаксин-10
	Атаксия + умственная отсталость	SCA13	19q	Миссенс-мутации, ген KCNC3
	Ataxia + сенсо-моторная невропатия	SCA18	7q	?
	Ataxia + сенсорная невропатия	SCA25	2p	?
	Врожденная атаксия + умственная отсталость	SCA29	3p	?
	Дентаторубро-паллидолюисова атрофия	DRPLA	12p	Транслируемая CAG-экспансия, ген атрофин

«прерывающей» тринуклеотидной вставки САА в составе небольшой САG-экспансии (36–40 копий триплетов) ассоциировано с дофа-чувствительным паркинсонизмом без атаксии, в отличие от типичного атактического фенотипа у носителей сплошной (САG)_n-экспансии. Три других заболевания с экспансией повторов характеризуются некодирующими три-(SCA10 и SCA12) или пентануклеотидными повторами (SCA8). Форма SCA10 обнаруживается в основном в Южной Америке, SCA12 – в Индии, а при SCA8 наблюдается резко сниженная пенетрантность.

Растущая группа аутосомно-доминантных спиноцереbellарных атаксий обусловлена классическими мутациями (не экспансией повторов) в различных генах. Интересно, что (при всей вариабельности клиники) эти формы имеют тенденцию к более «изолированному» мозжечковому фенотипу и более медленному прогрессированию. К тому же они часто сопровождаются развитием выраженной атрофии мозжечка даже при наличии у пациента лишь легкой атаксии. Более частыми являются две формы. Мутации гена РКС-гамма, обнаруживаемые в различных популяциях, ведут к медленно нарастающей мозжечковой атаксии, часто сочетающейся с миоклонией и тремором. Сцепленная с хромосомой 16q форма «чистой» мозжечковой атаксии довольно распространена в Японии, и в качестве причины болезни обсуждается некодирующий вариант в гене, кодирующем белок пуратрофин-1. Другие формы чрезвычайно редки – как, например, SCA27, обусловленная миссенс-мутацией гена фактора роста фибробластов FGF14 и наблюдавшаяся лишь в одной семье из Нидерландов. Частота остальных недавно идентифицированных генов, кодирующих белки SPTBN2 (SCA5), таубулинкиназу-2 (SCA11), KCNC3 (SCA13), ITPR1 (SCA15/16), еще не установлена. Увеличивающееся при доминантных атаксиях число генов с классическими мутациями показывает, что молекулярная основа этих болезней не ограничена лишь экспансией повторяющихся последовательностей, связанных с антиципацией. Более того, чрезвычайно вариабельная природа

соответствующих каузативных генов позволяет предполагать существование весьма различных механизмов, ведущих к мозжечковой дисфункции и дегенерации.

Хотя относительная частота каждого гена может варьироваться в зависимости от географического и этнического происхождения пациентов, в большинстве популяций полиглутаминовые экспансии представляют ведущую причину этой группы заболеваний и обнаруживаются в 50–90% всех семей. Однако молекулярный анализ показывает существование многих дополнительных кандидатных генов, обуславливающих те или иные редкие формы атаксий. Это должно приниматься во внимание при диагностическом тестировании, поскольку по практическим соображениям рутинный ДНК-анализ чаще всего ограничивается определением экспансий повторов.

С целью получения детальных данных о естественном течении аутосомно-доминантных атаксий недавно были предложены несколько шкал и количественных тестов. Они включают полуколичественные шкалы SARA (Шкала рейтинговой оценки атаксии) и INAS (Оценка не-атактических симптомов); помимо этого валидизированы также количественные тесты, такие как CCFS (Шкала комбинированной оценки функциональной тяжести поражения мозжечка). Эти инструменты будут иметь ключевое значение для оценки состояния пациентов в будущих терапевтических исследованиях. Следует добавить также, что в настоящее время проводится поиск биомаркеров данных заболеваний, таких как новые режимы МРТ (волюметрия и др.) и особенности транскриптома (специфического набора мРНК клетки).

Несмотря на крупные недавние успехи, касающиеся молекулярных основ и новых представлений о патофизиологии аутосомно-доминантных спиноцереbellарных атаксий, эффективное лечение этих неуклонно прогрессирующих заболеваний до сих пор не разработано.

Перевод с английского: С.Н. Иллариошкин.

Генетическая гетерогенность первичного паркинсонизма

*С.Н. Иллариошкин, П.А. Сломинский, И.А. Иванова-Смоленская, Г.Х. Багыева,
Т.Б. Загоровская, Е.В. Полевая, М.И. Шадрин, Н.В. Федорова, С.А. Лимборская*
Научный центр неврологии РАМН, Институт молекулярной генетики РАН,
Российская медицинская академия последипломного образования (Москва)

Согласно современным представлениям, в развитии болезни Паркинсона имеет значение специфическое взаимодействие генетических и средовых факторов, определяющих особенности клеточной детоксикации и обмена ксенобиотиков, антиоксидантной защиты, процессинга ряда нейрональных белков, дофаминового обмена [2, 23]. В настоящее время роль генетики в развитии болезни Паркинсона подтверждается многочисленными данными [20, 24]:

- внутрисемейным накоплением заболевания и его высоким риском среди ближайших родственников пациента;
- высокой конкордантностью среди монозиготных близнецовых пар (55%) по сравнению с дизиготными (18%), что особенно очевидно при использовании технологий ОФЭКТ и ПЭТ (верификация латентной стадии нейродегенерации у клинически здоровых братьев–сестер);
- результатами анализа генетических ассоциаций и идентификацией ряда «неблагоприятных» аллельных вариантов, формирующих предрасположенность к болезни;
- описанием семейных (менделирующих) форм первичного паркинсонизма и установлением соответствующих генов и их белковых продуктов.

Свыше 90% всех случаев болезни Паркинсона являются спорадическими; на долю же наследственно-семейных форм заболевания приходится, по разным авторам, не более 5–10%. Следует отметить, что из наследственных форм первичного паркинсонизма наиболее частым является аутосомно-рецессивный ювенильный паркинсонизм (более 50–70% случаев паркинсонизма с дебютом до 25 лет) [16, 25], тогда как моногенные аутосомно-доминантные варианты болезни

Паркинсона с поздним началом сравнительно редки.

Таким образом, семейная болезнь Паркинсона характеризуется чрезвычайной генетической гетерогенностью. При этом в семьях с четким аутосомно-рецессивным наследованием наиболее высок удельный вес мутаций гена *PRKN* (паркин) – более 50% случаев с ранним началом [1, 15, 17], а при аутосомно-доминантной болезни Паркинсона чаще всего встречаются мутации в гене *LRRK2* – от 2% до 13% семей [5, 7, 11].

В последнее время появляется все больше оснований предполагать, что эти и другие гены наследственных форм паркинсонизма могут играть существенную роль и в развитии спорадической болезни Паркинсона. Так, появились сообщения о случаях болезни Паркинсона у носителей единственной мутации в гене паркина [3, 13, 16, 25]. Была высказана гипотеза о том, что носительство мутации *PRKN* (паркин) даже на одной хромосоме иногда может сопровождаться развитием доминантной формы болезни – наиболее вероятно, по механизму гаплонедостаточности [25]. Патогенетическая роль паркин-гетерозиготности подтвердилась с помощью ПЭТ, показавшей четкую дофаминергическую дисфункцию striatum у асимптомных лиц – носителей нормального и мутантного аллеля гена *PRKN* [9]. Проведенный мета-анализ результатов молекулярно-генетических исследований показал, что наличие единственной гетерозиготной мутации *PRKN* действительно может быть фактором риска спорадической болезни Паркинсона [6, 25]. То же самое справедливо и для других «рецессивных» генов паркинсонизма – *DJ-1*, *PINK1* и др. [4, 22]. Интересно, что один из этих генов – *GBA*, кодирующий фермент глюкоцереброзидазу, при мутациях в гомозиготном (рецессивном) состоянии ответствен за наследственное заболевание обмена – болезнь Гоше, а

в гетерозиготе является доказанным фактором риска болезни Паркинсона [10].

Не меньшее значение в развитии болезни Паркинсона в общей популяции имеет ген *LRRK2*. Показано, что при тотальном мутационном скрининге случаев «классической» спорадической мутации *LRRK2* выявляются в 0,4-2,7% [7, 11, 12, 19]. В некоторых популяциях частота мутаций *LRRK2* может быть существенно выше в связи с эффектом основателя: так, например, в северной Африке частота мажорной мутации *LRRK2-G2019S* составляет: у арабов – 40,8% в спорадических и 37,0% в семейных случаях болезни Паркинсона, а у евреев ашкенази – 13,3% в спорадических и 29,7% в семейных случаях болезни [14, 18].

Мы представляем результаты систематического мутационного анализа нескольких «паркинсонических» генов в большой группе больных-славян со спорадической формой болезни Паркинсона.

В исследование были включены 359 пациентов (169 мужчин и 190 женщин) с различными клиническими вариантами первичного паркинсонизма, в том числе 345 спорадических и 14 семейных (аутосомно-доминантных) случаев болезни Паркинсона. В исследование не включались лица с ювенильным паркинсонизмом, заболевшие на первом-втором десятилетии жизни и имевшие а priori генетическую составляющую в качестве ведущего фактора развития болезни [1, 16].

Все случаи были подразделены на две большие группы:

- 1) болезнь Паркинсона с ранним началом – манифестация первых симптомов в возрасте от 23 до 45 лет (средний возраст начала болезни $34,4 \pm 11,2$ лет), всего 62 мужчин и 78 женщин;
- 2) «классическая» болезнь Паркинсона с более поздним дебютом симптомов – от 46 до 84 лет ($59,6 \pm 13,3$), всего 107 мужчин и 112 женщин.

В целом по группе средний возраст больных составил $56,9 \pm 16,8$ лет, средний возраст начала болезни – $48,8 \pm 15,9$ лет. В качестве контроля обследованы 350 неврологически здоровых лиц (700 контрольных хромосом), соответствующих основной группе по возрастному и половому составу.

Анализ наиболее частой мутации в гене *LRRK2* – нуклеотидной замены 6055G>A в 41-м экзоне *LRRK2*, ведущей к замещению глицина (G) на серин (S) в белковой позиции 2019 (G2019S), проведено методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени

в соответствии с описанным протоколом [12]. В части случаев анализ мутации *LRRK2-G2019S* осуществлялся с помощью стандартного сайт-специфичного *SfcI*-рестрикционного теста.

При анализе гена *PRKN* (паркин) мы основное внимание сконцентрировали на идентификации структурных генных перестроек (делеций и мультипликаций), поскольку во многих популяциях мира, в том числе (согласно нашим данным) и в России экзонные и мультиэкзонные делеции, дубликации и трипликации паркина являются преобладающими [1, 15, 16, 25]. Для выявления мутаций такого типа проводился количественный анализ ДНК и определение дозы гена *PRKN* у компаунд-гетерозигот с использованием ПЦР в реальном времени в технологии TaqMan, на основе разработанного нами протокола [21].

Анализ гена *GBA* предполагал исследование мажорных мутаций, наиболее частых в славянских популяциях [10] и проводимый с помощью соответствующих рестрикционных тестов.

Среди 359 больных с болезнью Паркинсона нами были выявлены 4 случая гетерозиготного носительства мутации G2019S в гене *LRRK2*, в том числе 3 случая спорадических и один – аутосомно-доминантный. Частота данной мутации составила 1,1% в общей группе обследованных пациентов с болезнью Паркинсона. В контроле данной мутации не выявлено. У всех G2019S-позитивных пациентов имел место типичный фенотип болезни, включавший леводопа-чувствительный паркинсонизм с асимметричным началом симптомов и варибельной комбинацией брадикинезии, ригидности и тремора покоя. Реже наблюдались постуральная неустойчивость, дистония и (в единственном случае) – леводопа-индуцированные дискинезии; когнитивные и вегетативные расстройства отсутствовали. У обследованных носителей мутации *LRRK2-G2019S* возраст появления симптомов паркинсонизма был весьма варибельным – от 29 до 71 года. Интересно отметить, что в единственном семейном G2019S-позитивном случае у всех больных родственников выраженным и ранним симптомом болезни был постуральный тремор.

При количественном анализе гена *PRKN* (паркин) у 140 пациентов с ранней болезнью Паркинсона нами в 15 случаях (10,7%) были выявлены различные гетерозиготные структурные перестройки в паркине (таблица 1): делеции отдельных экзонов – 9 случаев, дубликации экзонов – 3 случая, сочетание делеций и дубликаций

или сочетание удаленных разноэкзонных делеций — 3 случая. При поздней болезни Паркинсона структурные перестройки гена были выявлены нами у 6 больных (1,7%, таблица 2): гомозиготная делеция экзона — 1 случай, гетерозиготные делеции — 4 случая, гетерозиготная делеция трех экзонов (с межэкзонным разрывом) — 1 случай. Таким образом, суммарная частота выявления мутаций гена *PRKN* в общей группе пациентов с болезнью Паркинсона составила 5,8% (21 случай из 359). В контрольной группе ни у кого из обследованных лиц делеций либо мультипликаций в гене не выявлено.

Единственным существенным различием между паркин-позитивной и паркин-негативной группами стал возраст манифестации заболевания — более ранний при носительстве мутаций: так, у больных с выявленными мутациями *PRKN* возраст начала заболевания варьировал от 23 до 68 лет ($39,6 \pm 15,1$), а в группе больных без структурных перестроек гена — от 24 до 84 лет ($54,4 \pm 14,2$), различия статистически значимы. В обеих группах больных клиническая картина соответствовала изолированному леводопа-чувствительному паркинсоновскому синдрому (брадикинезия, мышечная ригидность, тремор покоя, постуральная неустойчивость), в ряде случаев сочетающемся с дистонией и леводопа-индуцированными дискинезиями.

Согласно предварительным данным, частота носительства точковых мутаций в гене *GBA* может при болезни Паркинсона составить 0,6% (мутации не обнаружены в контроле).

Таким образом, общая частота наследуемых мутаций в трех изученных генах — *PRKN* (паркин), *LRRK2* (дардарин) и *GBA* (глюкоцереброзидаза) в большой группе пациентов с болезнью Паркинсона составляет не менее 7–8%, причем это лишь минимальная оценка (по техническим причинам мы ограничились лишь исследованием наиболее значимых или наиболее типичных мутаций, не предпринимая тотального мутационного скрининга). С учетом возможной частоты других мутаций в исследованных генах общая распространенность данных форм среди спорадических случаев болезни Паркинсона может, по-видимому, достигать 10–12% [5, 25]. Иными словами, как минимум, каждый десятый случай болезни Паркинсона может иметь прямую генетическую основу.

Результаты работы, показывающие сравнительно высокую частоту гетерозиготных делеций и дупликаций в гене *PRKN* (паркин), в определенной степени под-

тверждают обсуждаемую в литературе точку зрения о возможности доминантного эффекта мутаций паркина [9, 25]. Предполагается, что гетерозиготное носительство мутаций в паркине может быть либо каузативным само по себе, либо служить одним из значимых факторов риска развития болезни Паркинсона [16]. То же относится и к мутациям в гене *GBA*.

Анализ наших данных и аналогичных результатов, полученных другими авторами, приводит к выводу о гетерогенности спорадической болезни Паркинсона. *Болезнь Паркинсона — не единая нозологическая форма, а совокупность самостоятельных (хотя и сходных) нейродегенеративных синдромов.* Причем эта гетерогенность проявляется на всех уровнях — молекулярном, биохимическом, клиническом, морфологическом. Молекулярная гетерогенность опосредована повреждениями и/или вариабельностью различных генов, определяющих характер функционирования нейронов дофаминергической нигростриарной системы (примеры вариабельной комбинации таких генных перестроек представлены выше). Фенотипическая гетерогенность четко проявляется, например, при сравнительном анализе ранних и поздних вариантов болезни Паркинсона: для первых характерно более благоприятное течение, нередкое начало болезни с дистонии, более частое развитие тремора (в том числе статокинетического), более быстрое развитие леводопа-индуцированных дискинезий и двигательных флюктуаций [8]. На морфологическом уровне ярким примером гетерогенности болезни Паркинсона является отсутствие в дегенерирующих нейронах телец Леви при многих вариантах паркинотий [16] и наличие этих классических маркеров при поздних формах болезни; в рамках некоторых других форм первичного паркинсонизма (*PARK8* и др.) также отмечен выраженный полиморфизм — от типичной болезни Паркинсона с тельцами Леви до необычных вариантов синуклеин- и тау-патологии [26].

Идентификация наследуемых мутаций в определенной части случаев болезни Паркинсона, в том числе у лиц без семейного анамнеза, имеет серьезные последствия для медико-генетического консультирования, поскольку потомки таких больных имеют высокий риск заболевания. С помощью прямой ДНК-диагностики становится возможным точное установление лиц «высокого риска» — носителей мутаций в тех или иных «паркинсонических» генах. Такие лица должны выявляться в рамках соответствующих скрининговых программ и

становиться объектами целенаправленных превентивных мероприятий (коррекция стиля жизни, диеты, профессиональных и бытовых вредностей, использование нейропротекторов и т.д.).

Таблица 1. Структурные перестройки в гене *PRKN* (паркин) при болезни Паркинсона с ранним началом симптомов.

Возраст манифестации симптомов (годы)	Экзоны гена <i>паркина</i>										
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
28		■	■								
25		▨				■		■			
31	■	■	■								
28	■	■	■								
35				▨							
39		■	■								
36		■									
23		■	■	■							
26		■	■								
30		■	■								■
40				▨							
23	■	▨									
45		■	■								
24		■									
40	▨										

Примечание: ■ гетерозиготная делеция

▨ гетерозиготная дупликация

Таблица 2. Структурные перестройки в гене *PRKN* (паркин) при болезни Паркинсона с поздним началом симптомов.

Возраст манифестации симптомов (годы)	Экзоны гена <i>паркина</i>										
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
46				■							
68	■	■				■					
50				■							
61		■									
66					■						
67		■									

Примечание: ■ гетерозиготная делеция

■ гомозиготная делеция

Литература

1. Загорская Т.Б., Иллариошкин С.Н., Сломинский П.А. и др. Клинико-генетический анализ ювенильного паркинсонизма в России. Журн. неврол. и психиатрии им. С.С. Корсакова 2004; 8: 66–72.
2. Иллариошкин С.Н. Конформационные болезни мозга. М.: Янус-К, 2003.
3. Шадрина М.И., Багыева Г.Х., Иллариошкин С.Н. и др. Структурные перестройки в гене паркина (PARK2) у больных с паркинсонизмом молодого возраста. Мед. генетика 2006; 12: 22–26.
4. Bonifati V., Rohe C.F., Breedveld G.J. et al. Early-onset parkinsonism associated with PINK1 mutations. Neurology 2005; 65: 87–95.
5. Foroud T. LRRK2: both a cause and a risk factor for Parkinson's disease? Neurology 2005; 65: 664–665.
6. Foroud T., Uniacke S.K., Liu L. et al. Heterozygosity for a mutation in the parkin gene leads to later onset Parkinson disease. Neurology 2003; 60: 796–801.
7. Gilks W.P., Abou-Sleiman P.M., Gandhi S. et al. A common LRRK2 mutation in idiopathic Parkinson's disease. Lancet 2005; 365: 415–416.
8. Golbe L.I. Young-onset Parkinson's disease: a clinical review. Neurology 1991; 41: 168–173.
9. Hilker R., Klein C., Hedrich K. et al. The striatal dopaminergic deficit is dependent on the number of mutant alleles in a family with mutations in the parkin gene: evidence for enzymatic function in humans. Neurosci. Lett. 2002; 323: 50–54.
10. Hruska K.S., Goker-Aplan O., Sidransky E. Gaucher disease and synucleinopathies. J. Biomed. Biotech. 2006; ID 78549: 1–6.
11. Illarioshkin S.N., Shadrina M.I., Slominsky P.A. et al. A common leucine-rich repeat kinase 2 gene mutation in familial and sporadic Parkinson's disease in Russia. Eur. J. Neurol. 2007; 14: 413–417.
12. Kachergus J., Mata I.F., Hulihan M. et al. Identification of a novel LRRK2 mutation linked to autosomal dominant parkinsonism: evidence of a common founder across European populations. Am. J. Hum. Genet. 2005; 76: 672–680.
13. Khan N.L., Graham E., Critchley P. et al. Parkinson disease: a phenotypic study of a large series of cases. Brain 2003; 126: 1279–1292.
14. Lesage S., Durr A., Tazir M. et al. LRRK2 G2019S as a cause of Parkinson's disease in North African Arabs. New Engl. J. Med. 2006; 354: 422–423.
15. Lяcking C.B., Durr A., Bonifati V. et al. Association between early-onset Parkinson's disease and mutations in the parkin gene. New Engl. J. Med. 2000; 342: 1560–1567.
16. Mata I.F., Lockhart P.J., Farrer M.J. Parkin genetics: one model for Parkinson's disease. Hum. Mol. Genet. 2004; 13: 127–133.
17. Morrison K.E. Parkin mutations and early onset parkinsonism. Brain 2003; 126: 1250–1251.
18. Ozelius L.J., Senthil G., Saunders-Pullman R. et al. LRRK2 G2019S as a cause of Parkinson's disease in Ashkenazi Jews. New Engl. J. Med. 2006; 354: 424–425.
19. Paisan-Ruiz C., Lang A.E., Kawarai T. et al. LRRK2 gene in Parkinson disease: mutation analysis and case control association study. Neurology 2005; 65: 696–700.
20. Piccini P., Burn D.J., Ceravolo R. et al. The role of inheritance in sporadic Parkinson's disease: evidence from a longitudinal study of dopaminergic function in twins. Ann. Neurol. 1999; 45: 577–582.
21. Shadrina M.I., Semenova E.V., Slominsky P.A. et al. Effective quantitative real-time polymerase chain reaction analysis of the parkin gene (PARK2) exon 1–12 dosage. BMC Med. Genet. 2007; 8: 6 (1–7).
22. Thomas B., Beal M.F. Parkinson's disease. Hum. Mol. Genet. 2007; 16: R183–R194.
23. Veldman B., Wijn A., Knoers N. et al. Genetic and environmental risk factors in Parkinson's disease. Clin. Neurol. Neurosurg. 1998; 100: 15–26.
24. Vila M., Przedborski S. Genetic clues to the pathogenesis of Parkinson's disease. Nat. Med. 2004; 10 (Suppl.): S58–S62.
25. West A., Periquet M., Lincoln S. et al. Complex relationship between parkin mutations and Parkinson disease. Am. J. Med. Genet. 2002; 114: 584–591.
26. Wszolek Z.K., Pfeiffer R.F., Tsuboi Y. et al. Autosomal dominant parkinsonism associated with variable synuclein and tau pathology. Neurology 2004; 62: 1619–1622.

Молекулярно-генетический анализ дистонических синдромов в российских семьях

**И.А.Иванова-Смоленская, Н.И.Миклина, Е.Д.Маркова, С.Н.Иллариошкин,
П.А.Сломинский, М.Н.Шадрина, С.А.Лимборская, С.Л.Тимербаева**
Научный центр неврологии РАМН, Институт молекулярной генетики РАН (Москва)

Дистония представляет собой клинический синдром, характеризующийся неритмичными медленными насильственными движениями в различных частях тела, своеобразными изменениями мышечного тонуса и патологическими позами.

Дистонические гиперкинезы характеризуются выраженной динамичностью, зависящей от позы и характера действия. Гиперкинез может уменьшаться при определенных движениях («корректирующих жестах») и некоторых, чаще необычных действиях (парадоксальные кинезии во время пения, бега, хождения спиной вперед и т.д.). Важной особенностью дистонических гиперкинезов является их характерная локализация с вовлечением определенных мышц конечностей, туловища, шеи, различных областей лица или их сочетания. Необходимо подчеркнуть определенную последовательность в развитии дистонических синдромов:

сначала гиперкинез появляется лишь на короткое время при определенных движениях и положениях, но постепенно его длительность увеличивается, что приводит к формированию патологической позы, а иногда — и к развитию контрактур. Начинаясь локально, гиперкинез может последовательно вовлекать различные регионы тела с развитием генерализованных форм торсионной дистонии.

Этиологически дистонию принято делить на две категории: первичную (идиопатическую) дистонию и вторичные дистонические синдромы, являющиеся проявлением других заболеваний. В зависимости от локализации гиперкинеза различают генерализованные и локальные формы дистонии.

К генерализованным формам относятся:

- Ригидная (дофа-чувствительная) форма, характеризующаяся повышением мышечного тонуса

(ригидностью) с развитием фиксированных патологических поз, чаще в ногах, но иногда в руках, шее, туловище. При ригидной форме прогрессирование болезни, как правило, происходит более мягко, к патологическим позам постепенно могут присоединяться паркинсоноподобные симптомы: замедленность движений, своеобразный «дистонический» тремор.

- Дистонически-гиперкинетическая (дофа-нечувствительная) форма с выраженными локальными или генерализованными дистоническими гиперкинезами.

Важно подчеркнуть, что вышеуказанному клиническому делению идиопатической на отдельные фенотипы полностью соответствует биохимический полиморфизм заболевания [1, 3, 4, 7, 9].

В соответствии с современной классификацией, локальные формы дистонии делятся на: фокальные; сегментарные (при вовлечении двух смежных областей); мультифокальные (при вовлечении двух несмежных областей) и гемидистонии [7]. При любой локализации дистонии эти формы также могут дофа-чувствительными или (чаще) дофа-нечувствительными.

Клиническая картина

Дистония характеризуется выраженным фенотипическим полиморфизмом, касающимся возраста начала болезни, клинических проявлений, течения болезни, реакции на фармакологические препараты. Возраст начала заболевания колеблется от 1 года до 70 лет, но в подавляющем большинстве случаев первые симптомы появляются в детском и юношеском возрасте (5–20 лет). Под многолетним наблюдением нейрогенетического отделения Научного центра неврологии РАМН находится свыше 300 больных с генерализованными и локальными формами идиопатической дистонии. В этой группе раннее начало (в возрасте от 3 до 20 лет) отмечено в 81% случаев.

Болезнь обычно начинается исподволь, с вовлечением какой-либо одной группы мышц (мышц ног, рук, шеи или туловища). Чаще всего (в 41% случаев) заболевание начинается с нижней конечности — у здорового до того ребенка появляются затруднения ходьбы, вызванные гиперкинезом, периодическим изменением мышечного тонуса и позы ноги («косолапость», *pes equinovagus*). Сначала эти симптомы непостоянны, но постепенно становятся все более длительными и одно-

временно распространяются на другие части тела — другую ногу, руки, шею, туловище.

Установлена определенная зависимость течения и тяжести заболевания от возраста начала болезни. Чем раньше появляются симптомы заболевания, тем быстрее оно прогрессирует и чаще приводит к развитию тяжелой генерализованной формы. Локальные формы (в виде блефароспазма, тризма, оромандибулярной дистонии, спастической кривошеи, спастической дисфонии, писчего спазма, «дистонической стопы») в большинстве этих случаев являются лишь стадией генерализованной формы, но у некоторых больных они длительное время остаются единственным проявлением заболевания. Как правило, локальные формы наблюдаются у больных с более поздним началом болезни — после 25–35 лет.

Характерной особенностью идиопатической дистонии является то, что ее проявления указывают на изолированное поражение экстрапирамидной системы. Отсутствуют признаки поражения пирамидной, мозжечковой, сенсорной и других систем. Интеллект остается сохраненным. Обычно наблюдается большая изменчивость, динамичность гиперкинеза и патологических поз.

Генетика

Чаще при идиопатической дистонии наблюдается аутосомно-доминантный тип с ограниченной пенетрантностью [2, 3, 7, 10]. Ряд авторов обосновывают, наряду с преобладанием аутосомно-доминантного типа передачи, существование и аутосомно-рецессивного наследования дистонических синдромов [3, 4]. В 1987 году на Филиппинских островах были описаны семьи с X-сцепленным типом передачи своеобразной формы наследственной дистонии [3, 7]. Генетический анализ материала Научного центра неврологии РАМН позволил установить в 76% семей с дистонией аутосомно-доминантный тип наследования с ограниченной пенетрантностью (38%), а в 24% — аутосомно-рецессивный [4].

Однако наиболее достоверные данные о характере наследования идиопатической дистонии, а также о механизмах формирования патологических фенотипов могут быть получены лишь с помощью молекулярно-генетических методов исследования. В работах последних лет было показано, что гены двух основных фенотипических форм дистонии — ригидной (дофа-чувствительной) и гиперкинетической (дофа-нечувствительной) локализованы, соответственно, в локусах 14q21-22 [10] и 9q32-34 [11].

Ригидная (дофа-чувствительная) дистония. В 1994 г. ген аутосомно-доминантной дофа-чувствительной дистонии был идентифицирован. Оказалось, что он кодирует синтез одного из ключевых ферментов дофаминового обмена – ГТФ-циклогидролазу 1 (ГЦГ-1, или *GCH1*) [8]. Фермент ГЦГ-1 регулирует превращение ГТФ в дигидронеоптерин-трифосфат; последний, в свою очередь, является субстратом для образования тетрагидробиоптеина (ВН4) – кофактора тирозин-гидроксилазы, ответственной за синтез дофамина из тирозина. При наличии мутаций в гене *GCH1* нарушается функция данного фермента и весь последующий биохимический каскад, что приводит к недостаточности синтеза дофамина в нейронах черной субстанции [3]. Синтез дофамина может быть эффективно восстановлен при введении его предшественника – L-дофа, что и имеет место у больных дофа-чувствительной дистонией. Подтверждением патогенетической значимости выявленных мутаций в гене *GCH1* является значительное снижение уровня активности этого фермента (<20% от исходного уровня) у обследованных больных с данной формой дистонии [8].

К настоящему времени идентифицировано свыше 80 различных (преимущественно точечных) мутаций в кодирующей области гена *GCH1* у больных из различных популяций мира, включая несколько новых мутаций, выявленных нами у больных в российской популяции [3, 5, 6]. Идентифицированные нами к настоящему времени точечные мутации в гене *GCH1* у российских больных с дофа-чувствительной формой дистонии представлены в таблице. Полученные данные подтверждают мнение других авторов об уникальном характере мутаций в абсолютном большинстве случаев аутосомно-доминантной дофа-чувствительной дистонии.

Опыт молекулярного анализа гена *GCH1* в семьях различного этнического происхождения показал, что у небольшой части гетерозиготных носителей мутации заболевание может проявляться не классическим генерализованным фенотипом ригидной формы дистонии, а разнообразными атипичными клиническими вариантами – такими как фенотип атетоидного церебрального паралича, паркинсонизм, фокальная дистония конечностей, оромандибулярная дистония [3, 6]. Во всех указанных случаях клиническая симптоматика значительно регрессировала после назначения малых доз леводопы. Таким образом, благодаря ДНК-тестированию стало понятным, что клинические проявления дофа-чувствительной дистонии являются чрезвычайно вариабельными,

а диагностические рамки данной формы наследственной дистонии – весьма широкими. Это позволяет говорить о гораздо более высокой пенетрантности мутантного гена дофа-чувствительной дистонии, чем традиционно упоминаемая цифра 35–40% [10]. С учетом всех выявленных носителей мутаций в гене ГЦГ-1, имеющих даже минимальные клинические проявления болезни, значение пенетрантности гена приближается к 80–100%.

Гиперкинетическая (дофа-нечувствительная) дистония. Основной ген дофа-нечувствительной дистонии, получивший обозначение *DYT1*, был картирован в 1989 году на длинном плече 9-й хромосомы [11]. Анализ серии *DYT1*-сцепленных хромосомных маркеров показал, что в популяции евреев Ашкенази (характеризующейся очень высокой частотой данной формы дистонии) у больных отмечается один и тот же характерный гаплотип, свидетельствующий о едином генетическом происхождении дофа-нечувствительной дистонии в данной этнической группе [3, 11].

В 1997 г. ген *DYT1* был идентифицирован [12]. Его продукт – неизвестный ранее белок торсин А, имеющий определенную гомологию с семейством белков «теплового шока», играющих роль в предохранении клеток от термического стресса. Эти белки имеют АТФ-связывающую активность и могут участвовать в процессах образования везикул, конформационных изменениях белков и регуляции клеточных сигналов [3, 12]. В настоящее время установлено, что единственной мутацией, выявленной в гене *DYT1* у больных дофа-нечувствительной дистонией, является делеция трех нуклеотидов GAG (в гетерозиготном состоянии) в 946-м положении 5-го экзона. Высокая частота данной мутации (delGAG) описана у больных самых различных национальностей в популяциях Европы и Северной Америки [3, 12].

Анализ клинико-генетических корреляций показал, что универсальная делеция GAG в 5-м экзоне гена *DYT1* обнаруживается не только у больных с типичной генерализованной формой дофа-нечувствительной дистонии с ранним дебютом. В некоторых семейных случаях данная мутация была выявлена также у больных с фокальными (писчий спазм), мультифокальными и сегментарными формами дистонии, а также у больных с атипичными клиническими проявлениями болезни (постуральный тремор рук, заикание вследствие дистонии оральной мускулатуры и т.п.) [3, 5]. Делеция GAG при указанных вариантах заболевания обнаруживается

Таблица.
Идентифицированные мутации в гене GCH-1 у больных дофа-чувствительной дистонией в российских семьях

Локализация мутации	Изменение нуклеотидной последовательности	Биологический эффект мутации
Экзон 1	ATG → AAG	Met102Lys
Экзон 1	ACG → AAG	Thr94Lys
Экзон 2	TGT → TGG	Cys141Trp
Экзон 4	AGT → ACT	Ser176Thr
Экзон 6	CGA → TGA	Arg216stop
Инtron 4	IVS4+3A → T	нарушение сплайсинга
Инtron 4	IVS4+4INS(G)	нарушение сплайсинга

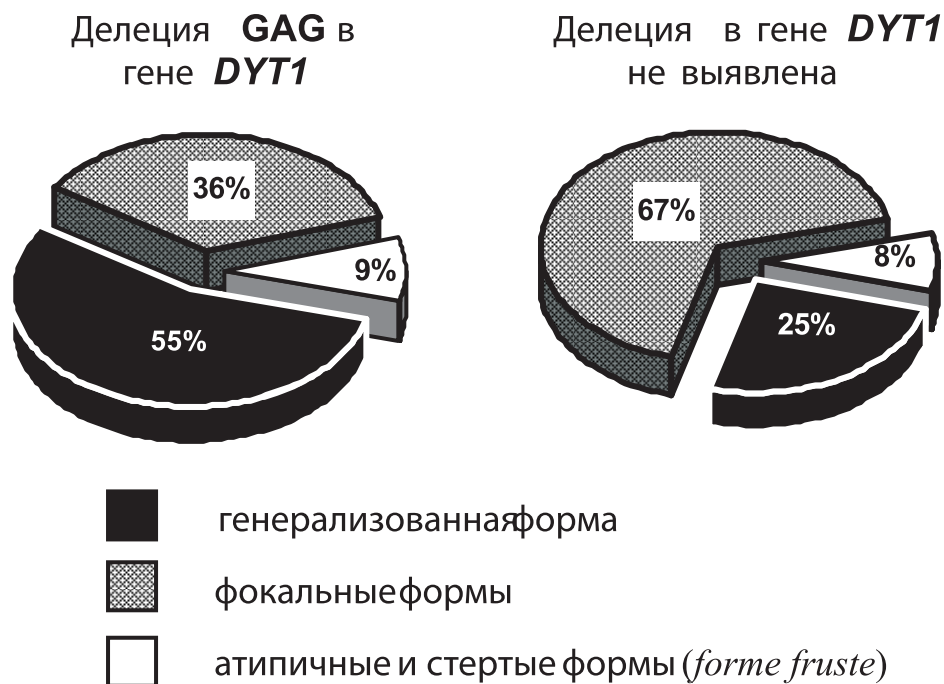


Рисунок. Частота делеции del946-948GAG в гене DYT1 при различных клинических вариантах дофа-нечувствительной дистонии.

весьма редко, однако данный факт позволяет существенно расширить спектр клинических проявлений 9q34-сцепленной формы наследственной дистонии и должен приниматься во внимание при медико-генетическом консультировании. В нейрогенетическом отделении Научного центра неврологии РАМН обследовано 46 больных с различными клиническими вариантами дофа-нечувствительной дистонии, включая как семейные, так и спорадические случаи заболевания [5, 6]. Результаты молекулярного анализа представлены на рисунке. Суммарно мажорная делеция GAG выявлена нами у 28 больных из 18 семей (69,2% обследованных российских семей с дофа-нечувствительной дистонией). Большинство случаев с идентифицированной делецией составляет классическая генерализованная дофа-нечувствительная дистония с ранним началом симптомов (55%) и фокальная дистония конечностей (36%), а у небольшой части носителей мутации заболевание манифестировало в виде атипичных «стертых» форм (9%). В группе больных с отрицательными результатами ДНК-диагностики генерализованная дистония наблюдалась лишь у 25% больных, тогда как большую часть случаев составили фокальные и атипичные формы заболевания. Таким образом, согласно нашим данным, основным показанием для проведения ДНК-анализа на носительство делеции GAG в гене *DYT1* является клиника генерализованной или фокальной дистонии, нечувствительной к препаратам леводопы, особенно при манифестации симптомов на первом десятилетии жизни. По мнению ряда авторов, в спорадических случаях генерализованной дистонии анализ *DYT1*-делеции следует проводить при дебюте болезни до 26 лет, манифестации симптомов с мускулатуры конечностей и развитии генерализованной формы дистонии [3, 12].

Наличие данной мажорной мутации в нееврейских семьях (где отсутствует «эффект основателя») свидетельствует, наиболее вероятно, о наличии повторных иден-

тичных мутационных событий в критическом локусе, обусловленных особенностями нуклеотидной последовательности гена [12]. Важным доказательством этого факта является выявленная нами в русской семье мутация *del-GAG*, возникшая *de novo*, что было подтверждено анализом гаплотипов. Это наблюдение имеет не только большое теоретическое, но и практическое значение, заставляя учитывать высокую вероятность новых мутаций при проведении медико-генетического консультирования. У больных славянского происхождения, не имевших изучаемой делеции в гене *DYT1*, клиническая картина полностью соответствовала классическому описанию дофа-нечувствительной дистонии. По-видимому, это может быть обусловлено наличием других мутаций в указанном гене; нельзя исключить также истинной генетической гетерогенности дофа-нечувствительной формы дистонии, особенно, принимая во внимание существование нескольких локусов наследственных форм торсионной дистонии, не чувствительных к препаратам леводопы.

Таким образом, нами проведен первый в России молекулярно-генетический анализ гетерогенной группы идиопатической дистонии. Полученные результаты позволили идентифицировать молекулярную основу болезни в российских семьях с наследственными дистониями и детально изучить взаимоотношение между генотипом и фенотипом у носителей отдельных мутаций. Результаты нашей работы позволили существенно расширить спектр фенотипических проявлений дофа-нечувствительной и дофа-чувствительной форм идиопатической дистонии и продемонстрировать значение молекулярной диагностики в установлении клинического диагноза данных тяжелых наследственных заболеваний человека. Полученный опыт прямой ДНК-диагностики различных форм наследственной дистонии создает основу для проведения адекватного медико-генетического консультирования и профилактики повторных случаев заболевания в отягощенных семьях.

Литература

1. Бархатова В.П. Нейротрансмиттеры и экстрапирамидная патология. М.: Медицина, 1988.
2. Дадали Е.Л., Маркова Е.Д., Иванова-Смоленская И.А. Генетика идиопатической торсионной дистонии в России. Генетика 1996; 3: 453–457.
3. Иллариошкин С.Н., Маркова Е.Д., Миклина Н.И., Иванова-Смоленская И.А. Молекулярная генетика наследственных дистонических синдромов. Журн. неврол. и психиатр. им. С.С.Корсакова 2000; 8: 60–66.
4. Маркова Е.Д. Особенности клиники, патогенеза и лечения торсионной дистонии в детском возрасте. Журн. невропатол. и психиатр. им. С.С.Корсакова 1989; 8: 32–35.
5. Миклина Н.И., Маркова Е.Д., Иванова-Смоленская И.А., Иллариошкин С.Н. Молекулярно-генетический анализ аутосомно-доминантной дофа-независимой дистонии в российской популяции. В сб.: Актуальные вопросы неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики: Материалы конференции. Уфа, 1998: 146–147.
6. Сломинский П.А., Шадрин М.И., Миклина Н.И., Маркова Е.Д., Иллариошкин С.Н., Иванова-Смоленская И.А., Лимборская С.А. Молекулярно-генетический анализ ДОФА-зависимой и ДОФА-независимой форм торсионной дистонии. Мед. генетика 2006; Приложение 2: 55–59.
7. Fahn S. Concept and classification of dystonia. Adv. Neurol. 1988; 35: 73–77.
8. Ichinose H., Ohye T., Takahashi E. et al. Hereditary progressive dystonia with marked diurnal fluctuation caused by mutations in the GTP cyclohydrolase I gene. Nat. Genet. 1994; 8: 236–242.
9. Ivanova-Smolenskaya I., Markova E. Parkinsonian hereditary syndromes and their phenotypes. Neurology 1992; 7 (Suppl.): 12–14.
10. Nygaard T., Snow B., Fahn S., Calne D. DOPA-responsive dystonia: clinical characteristics and definition. In: M.Segawa (ed.) Hereditary progressive dystonia with marked diurnal fluctuation. NY: Parthenon, 1993: 21–36.
11. Ozelius L., Kramer P., Moskowitz C. et al. Human gene for torsion dystonia located on chromosome 9q32-34. Neuron 1989; 2: 1427–1434.
12. Ozelius L.J., Hewett J.W., Page C.E. et al. The early-onset torsion dystonia gene (*DYT1*) encodes an ATP-binding protein. Nat. Genet. 1997; 17: 40–48.

Молекулярный анализ полиглутаминовых заболеваний в России

С.А. Ключников, С.Н. Иллариошкин, И.А. Иванова-Смоленская
Научный центр неврологии РАМН (Москва)

Термин *полиглутаминовые заболевания* в настоящее время применяется для обозначения особой группы тяжелых нейродегенеративных болезней, характеризующихся наличием динамической мутации – так называемой «экспансии» тринуклеотидных повторов цитозин-аденин-гуанин (CAG) в кодирующих областях соответствующих генов [14]. Данный класс мутаций, открытый в начале 1990-х годов, связан с существованием в геноме участков, представленных цепочкой одних и тех же многократно повторяющихся элементарных нуклеотидных последовательностей [12]. Каждый такой повторяющийся элемент может состоять из 2-5 нуклеотидов, образуя, соответственно, ди-, три-, тетра- или пентануклеотидные повторы. Наиболее часто встречаются тринуклеотидные повторы. Число повторов в норме варьирует в строго определенных пределах, тогда как у больных имеет место патологическое увеличение числа копий (экспансия) повторов, превышающее определенный порог. Термин «динамические» применяется по отношению к рассматриваемым мутациям в связи с тем, что патологически удлиненный участок гена является нестабильным и нередко меняет свою конфигурацию при передаче гена в следующее поколение (т.е. в гаметогенезе число триплетов может нарастать или, реже, сокращаться вплоть до нормы). Поскольку триплет CAG кодирует аминокислоту глутамин, на белковом уровне пропорционально удлиняются полиглутаминовые участки в составе соответствующих белков, что приводит к изменению их нормальной конформации и приобретению данными белками цитотоксических свойств [1, 6].

В настоящее время выделяют 9 генетических форм полиглутаминовых заболеваний: болезнь Гентингтона (БГ), 6 наиболее распространенных форм прогрессирующих аутосомно-доминантных спиноцеребеллярных атаксий (СЦА типов 1, 2, 3, 6, 7 и 17), дентаторубро-паллидолюбовую атрофию (ДРПЛА) и спинально-бульбарную мышечную атрофию (СБМА, болезнь Кеннеди). Эти заболевания характеризуются тяжелым прогресси-

рующим инкурабельным течением, аутосомно-доминантным типом наследования (кроме СБМА, наследуемой по X-сцепленному рецессивному механизму) и общностью ряда типичных клинико-генетических феноменов, свойственных в целом заболеваниям с динамическими мутациями:

- 1 Обратная корреляция между степенью экспансии повторов в мутантном аллеле и возрастом манифестации симптомов болезни.
- 2 Прямая взаимосвязь между степенью экспансии повторов и тяжестью клинических проявлений (у больных с большим числом повторов в соответствующем гене наблюдается тенденция к развитию наиболее злокачественных форм заболевания с быстрым прогрессированием и присоединением ряда дополнительных симптомов).
- 3 Феномен антиципации (появление все более тяжелых и ранних случаев болезни в каждом последующем поколении) – обусловлен нестабильностью повтора и нарастанием его длины при передаче мутантного гена от родителя потомкам.
- 4 Эффект «отцовской передачи» (манифестация более ранних и более тяжелых случаев болезни у потомков больного отца) – обусловлен преимущественным удлинением мутантного повтора в мужском гаметогенезе; этот эффект выражен в родословной особенно резко, если передача гена по мужской линии происходит в нескольких поколениях подряд.
- 5 Происхождение новых мутаций от имеющихся в популяции редких аллелей с «промежуточным» числом повторов. Такие аллели обычно асимптомны, но являются генетически нестабильными и способны переходить в «полную» мутацию при передаче гена потомкам.

Суммарные данные по молекулярной биологии полиглутаминовых заболеваний приведены в таблице.

Таблица 1. Генетические формы полиглутаминовых болезней

Генетическая форма	Ген	Локус	Белок	Число CAG-повторов (норма)	Число CAG-повторов (экспансия)
Болезнь Гентингтона	HD	4p16.3	гентингтин	6–35	36–265
Дентаторубро-паллидо-люйисова атрофия	DRPLA	12p13.31	атрофин-1	6–35	49–88
Спиноцереbellарная атаксия 1	SCA1	6p23	атаксин-1	6–44	39–83
Спиноцереbellарная атаксия 2	SCA2	12q24.1	атаксин-2	15–31	36–63
Спиноцереbellарная атаксия 3 (болезнь Мачадо-Джозеф)	SCA3	14q32.1	атаксин-3	12–40	55–86
Спиноцереbellарная атаксия 6	SCA6	19p13	CACNL1A4	4–18	21–33
Спиноцереbellарная атаксия 7	SCA7	3p12–13	атаксин-7	4–35	37–306
Спиноцереbellарная атаксия 17	SCA17	6q27	TBP	25–42	45–63
Спинально-бульбарная мышечная атрофия (болезнь Кеннеди)	AR	Xq13–21	андрогенный рецептор	9–36	38–62

Болезнь Гентингтона (БГ) является классическим представителем экстрапирамидных наследственных нейродегенеративных заболеваний. БГ характеризуется клинической триадой симптомов (моторные нарушения, преимущественно в виде хореических гиперкинезов, когнитивные и психические расстройства) [5] и выраженным фенотипическим полиморфизмом с точки зрения возраста дебюта [3], клинических проявлений [10] и темпа прогрессирования заболевания [7]. Морфология БГ представлена селективной гибелью нейронов базальных ганглиев, особенно стриатума, а также глубоких слоев мозговой коры.

Аутосомно-доминантные СЦА являются клинически и генетически гетерогенной группой нейродегенеративных болезней, характеризующихся преимущественно прогрессирующей дегенерацией мозжечковых систем в сочетании с большим количеством других разнообразных клинических проявлений [11, 13].

СБМА (болезнь Кеннеди) представляет собой неуклонно прогрессирующее нервно-мышечное заболевание, поражающее спинальные и бульбарные мотонейроны и встречающееся только у лиц мужского пола. СБМА была первым полиглутаминовым заболеванием с

таким характером идентифицированного генетического дефекта – экспансией tandemных CAG-повторов [9].

За более чем 15-летний период под наблюдением специалистов нейрогенетического отделения Научного центра неврологии РАМН находилось 375 российских семей, отягощенных различными формами полиглутаминовых болезней: 275 семей с БГ или БГ-подобными формами патологии, 76 семей с аутосомно-доминантными СЦА и 14 семей с СБМА. Создан банк ДНК отягощенных семей и спорадических больных, насчитывающий в настоящее время свыше 800 образцов.

Целью проводившегося обширного исследования явилась разработка методов ДНК-диагностики данной патологии, установление спектра генетических форм полиглутаминовых заболеваний в российской популяции, разработка принципов медико-генетического консультирования отягощенных семей. Комплексное обследование включало в себя оценку неврологического статуса, нейропсихологическое тестирование, электрофизиологическое исследование (мультимодальные вызванные потенциалы, электроэнцефалография, электронейромиография), применение методов нейровизуализации (магнитно-резонансная и компьютерная

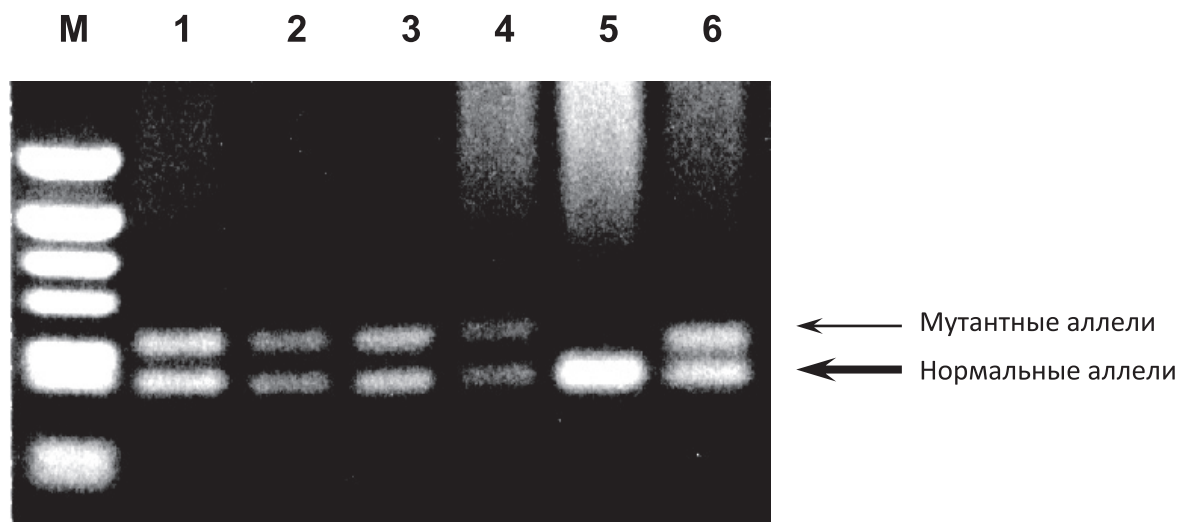


Рисунок 1. Прямая ДНК-диагностика СЦА1 в агарозном геле

томография). Молекулярно-генетический анализ проводился с помощью разнообразных методов прямой ПЦР-детекции удлинённых СAG-трактов в соответствующих генах при БГ, аутосомно-доминантных СЦА и СБМА. Нами были разработаны простые протоколы молекулярной экспресс-диагностики указанных заболеваний с окраской продуктов амплификации ДНК бромистым этидием с последующим их разделением в агарозном геле, не требующие применения радиоизотопной метки. Для точной оценки числа три-нуклеотидных повторов разработаны стандартизованные маркерные «лэддерные» наборы. На рисунке 1 в качестве примера представлены фрагменты исследований при СЦА1, проведенные в нашей ДНК-лаборатории. В ряде случаев для изучения конфигурации СAG-трактов применялось прямое секвенирование соответствующих участков генов. В российских семьях мы обнаружили 7 из 9 описанных молекулярных форм полиглутаминовых заболеваний. До настоящего времени у россиян не отмечено носительство мутантных генов ДРПЛА и СЦА17.

Нами исследовано 310 больных и 165 клинически здоровых лиц из группы риска из семей с предполагаемым диагнозом БГ. С помощью ДНК-диагностики диагноз был подтвержден у 292 пациентов (94,2%). Гиперкинетическая форма БГ была обнаружена у 97,9% больных, в то время, как редкой ювенильной (акинетико-ригидной) формой страдали 6 пациентов с дебютом заболевания до 20-летнего возраста (2,1%). У больных БГ нормальные аллели содержали 12–32 СAG-повторов ($19,6 \pm 3,6$), мутантные – 40–78 СAG-по-

второв ($46,1 \pm 7,6$). Максимальное число СAG-повторов (78) было обнаружено у пациента, страдавшего злокачественной ювенильной формой заболевания.

Нами также установлено носительство мутантных аллелей у 63 клинически здоровых лиц из группы риска (38,2%), имеющих, таким образом, практически 100%-ный риск развития БГ. Эти асимптомные носители мутантного гена имели один типичный мутантный аллель с экспансией СAG-повторов от 39 до 54 и один нормальный аллель с количеством повторов от 12 до 24. Большинство из асимптомных носителей гена БГ (65,1%) имели патологические изменения кривых когнитивных вызванных потенциалов Р300 (низкие амплитуды и увеличенные латентности) и сложности при выполнении различных нейропсихологических (психометрических) тестов. Таким образом, наши данные подтверждают предположения о наличии у «доклинических» носителей гена БГ легких когнитивных и эмоционально-личностных изменений задолго (как минимум, за 5–7 лет) до развития явных клинических проявлений БГ (хореических гиперкинезов). Суммарные данные о распределении нормальных и мутантных хромосом в изученной выборке представлены на рисунке 2.

Нами также изучены клиничко-генетические корреляции между числом СAG-повторов и различными клиническими проявлениями БГ. Данный анализ позволил проследить четкую обратную зависимость между числом три-нуклеотидных повторов и возрастом дебюта заболевания, что позволяет с разной степенью достоверности прогнозировать примерный возраст дебюта заболевания у носителей мутантного гена БГ (рисунок

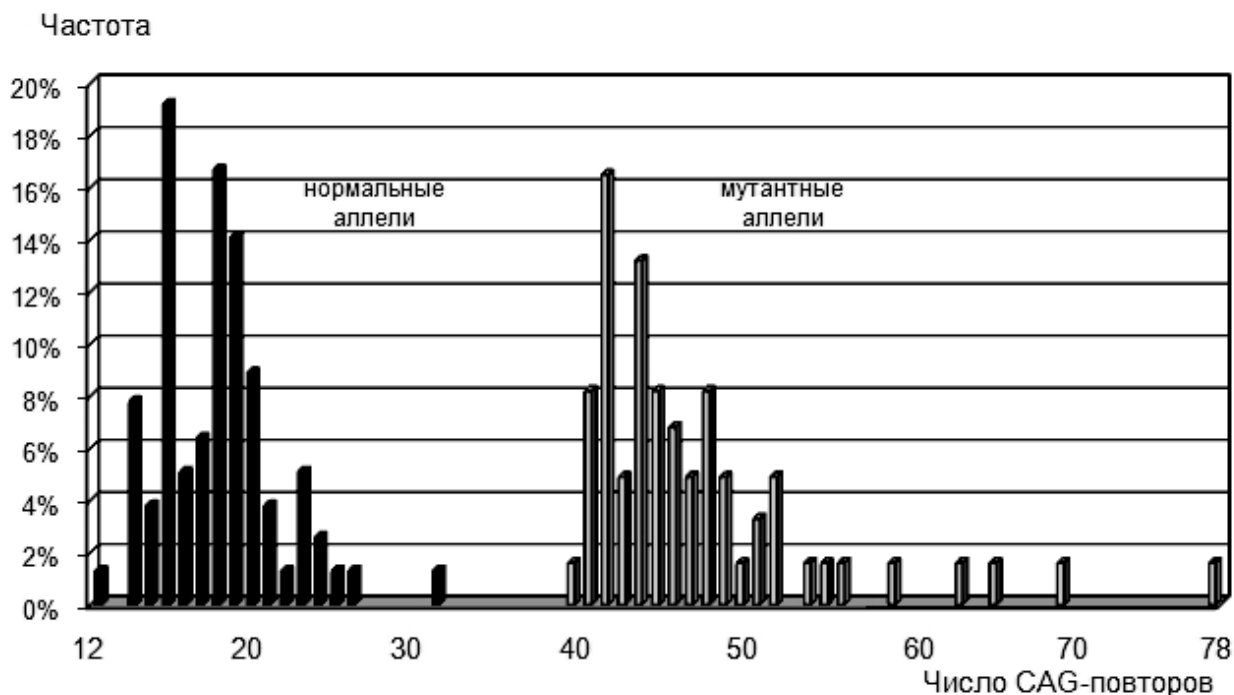


Рисунок 2. Распределение нормальных и мутантных аллелей в российских семьях, отягощенных БГ

3). Установлена также прямая зависимость между степенью выраженности генетического дефекта и тяжестью клинических проявлений, а также темпом прогрессирования неврологических и психических симптомов [7]. В большинстве семей выявлен феномен генетической нестабильности мутантного аллеля, заключающийся в увеличении числа тандемных CAG-повторов при передаче гена в следующее поколение. Данный феномен был более выражен при отцовской передаче мутантного гена. Феномен «отцовской передачи» наиболее ярко прослеживался в наблюдаемых нами 6 случаях ранней акинетико-ригидной формы БГ.

Нами проведено 5 пренатальных ДНК-тестирований и в 3 случаях обнаружено носительство мутантного гена БГ у плода. Осуществлено также ДНК-тестирование 32 спорадических пациентов с БГ-подобными проявлениями и негативным, либо неизвестным семейным анамнезом заболевания. В 25 случаях обнаружена типичная для БГ экспансия CAG-повторов, что позволило на молекулярном уровне установить диагноз БГ.

В нейрогенетическом отделении Научного центра неврологии РАМН с 1994 года по настоящее время собран обширный банк ДНК семей из России и стран СНГ, отягощенных аутосомно-доминантными СЦА — 85 семей (свыше 260 образцов ДНК), что является одной

из наиболее крупных выборок данной патологии в Восточной Европе. Еще в 1996 году нами был проведен молекулярный анализ группы доминантных атаксий в российской популяции и в 31% семей, отягощенных СЦА, выявлено наличие мутации в гене СЦА1. Результаты этого исследования были опубликованы [8] и явились первыми данными по молекулярной генетике аутосомно-доминантных СЦА в странах Восточной Европы. В дальнейшем молекулярный скрининг российских семей был продолжен, что позволило установить частоту основных молекулярных форм СЦА в России.

Изученная выборка российских семей, отягощенных аутосомно-доминантными СЦА, состояла из 76 семей, причем 84% составили семьи этнических славян (русские, украинцы и белорусы), около 16% семей представлены другими национальностями (якуты, буряты, чеченцы и евреи). Возраст больных в российских семьях колебался от 26 до 65 лет, составив в среднем $38,1 \pm 11,4$ лет. Возраст дебюта заболевания составил в среднем $32,4 \pm 9,1$ лет (от 20 лет до 51 года). При анализе частот различных форм аутосомно-доминантных СЦА в нашей выборке обнаружены следующие молекулярные формы: СЦА1 — в 26 семьях (34,2%), СЦА2 — в 13 (17,1%), СЦА3 — в 4 (5,3%), СЦА6 — в 1 семье и СЦА7 — также в 1 семье (по 1,3%). Таким образом, различные генетические

формы СЦА идентифицированы в 59,2% отягощенных российских семей, причем более 53,6% приходится на долю СЦА1 и СЦА2. В 31 семье (40,8%) мутаций известных молекулярных форм СЦА не обнаружено, что в дальнейшем потребует дополнительных молекулярно-генетических исследований. Данные о распространенности различных молекулярных форм СЦА в российской популяции суммированы на рисунке 4.

Полученные нами данные о распространенности различных генетических форм СЦА в российской популяции во многом совпадают с результатами итальянских исследователей, обнаруживших превалирование СЦА1 и СЦА2 в Италии [4]. В то же время СЦА3 (болезнь Мачадо-Джозеф) занимает в России по распространенности только 3-е место (5,3% всех обследованных российских семей), являясь весьма редким наследственным заболеванием, что отличает российскую популяцию от многих других (большинства европейских стран, США и Японии), в которых СЦА3 является превалирующей формой аутосомно-доминантных СЦА и составляет, по данным S. Pulst [11], до 40% всех генетических форм этих заболеваний.

Проведено 2 пренатальных ДНК-тестирования с интервалом в один год в одной и той же семье (супруг болен СЦА2). В обоих случаях у плодов обнаружено носительство мутантного гена СЦА2 и супругами было принято решение о прерывании беременностей. В процессе работы на основе полученного опыта были отработаны протоколы и принципы проведения пренатальной ДНК-диагностики в семьях, отягощенных СЦА. Нами также был проведен ДНК-скрининг на носительство мутаций в генах аутосомно-доминантных СЦА в 96 sporadic случаях дегенеративных атаксий (пациенты обоего пола от 38 до 72 лет), и лишь в двух случаях (частота 2,1%) обнаружены мутации генов известных форм СЦА.

Проведен детальный анализ популяционного распределения частот аллелей изучаемых генов по длине тринуклеотидного тракта (гены СЦА1 и СЦА2), а также анализ фено-генотипических корреляций в случаях атаксий с идентифицированными молекулярными дефектами. Выявлено, что длина СAG-тракта нормальных аллелей гена СЦА1 в 95% случаев составляла 30-35

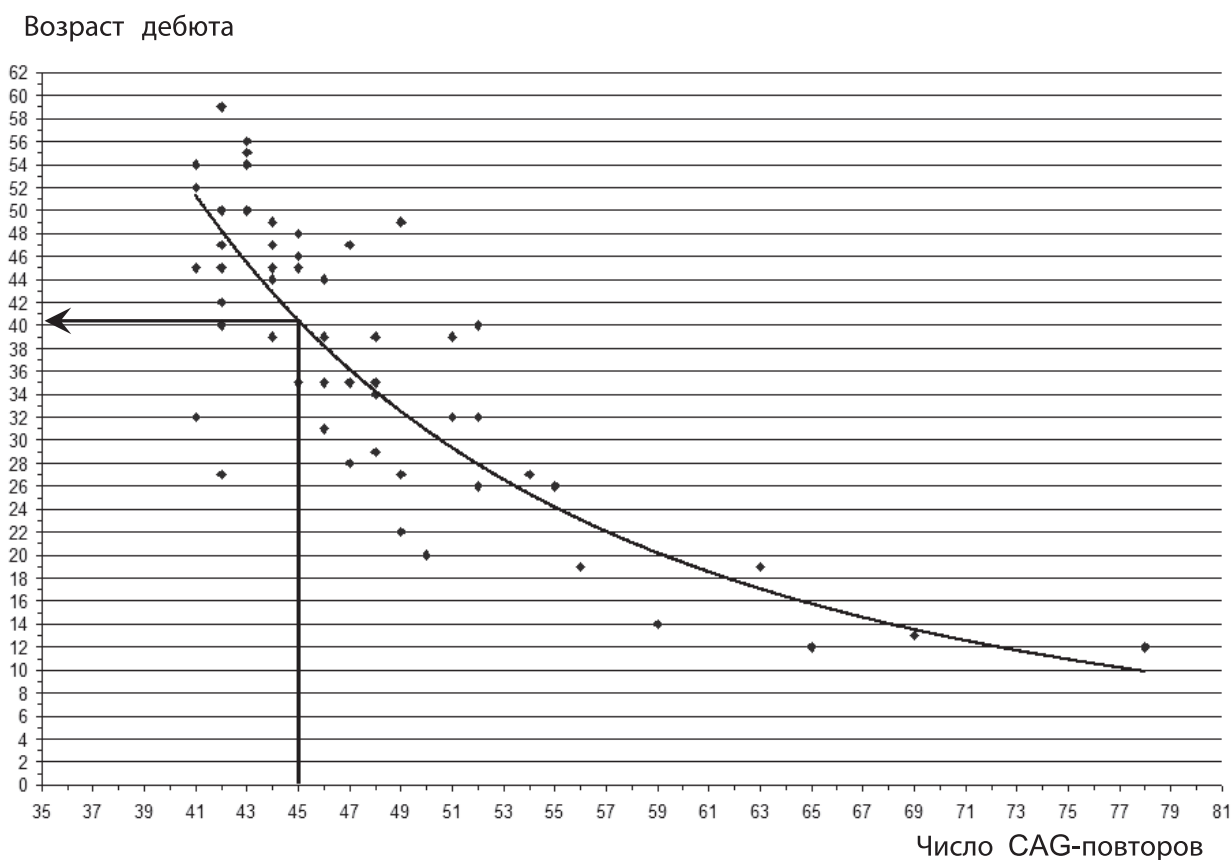


Рисунок 3. Кривая экспоненциальной зависимости между числом тринуклеотидных СAG-повторов и возрастом дебюта болезни Гентингтона (показан примерный расчет возраста дебюта заболевания при $nCAG=45$)

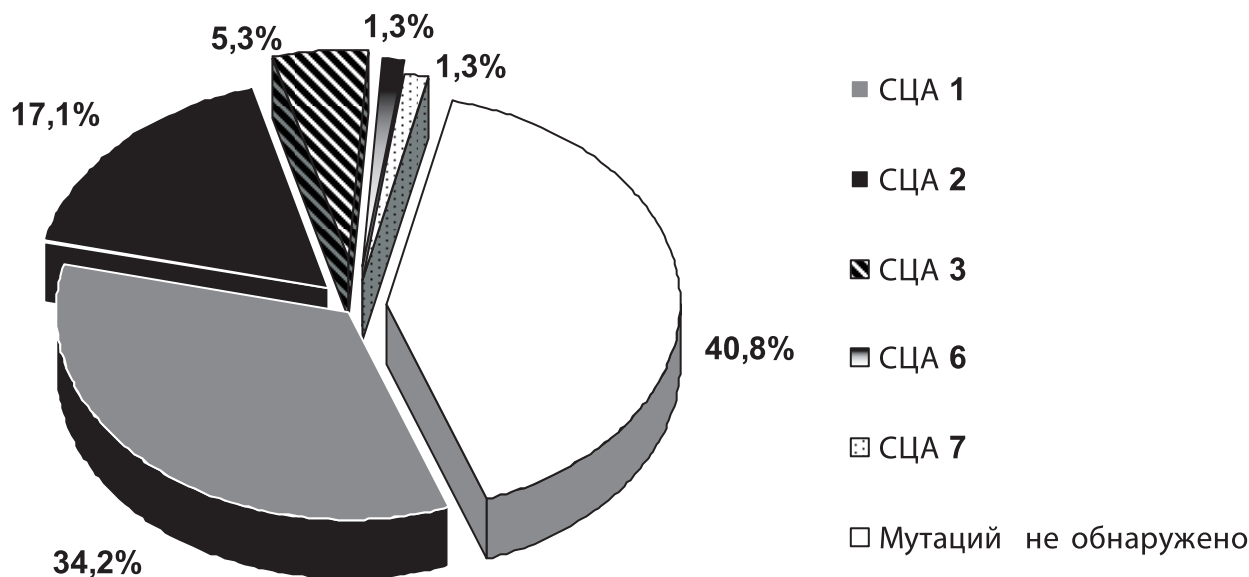


Рисунок 4. Частоты различных генетических форм СЦА в российских семьях

повторов; мутантные аллели содержали 40–61 повтор. Большой интерес представило также изучение «промежуточных» аллелей гена СЦА1 с длиной СAG-тракта 37–39 повторов. В изученной выборке семей с доминантными СЦА в 6 семьях с неустановленной молекулярной формой СЦА длина СAG-трактов имела «промежуточный» размер – 37 повторов в 1 семье и 38 – в 5 других. Для полного исключения сопряжения клинического синдрома с возможной мутацией в локусе гена СЦА1 было проведено детальное изучение структуры СAG-трактов на предмет их непрерывности (наличия или отсутствия САТ-вставок). Разработан метод детекции непрерывности СAG-трактов в гене СЦА1 с помощью рестрикционного анализа (рестриктаза LweI («Fermentas», Литва)). Во всех случаях выявлено наличие САТ-вставок, характерное для нормальных СAG-трактов и отсутствия фенотипа СЦА1. Результаты рестрикции верифицировались прямым секвенированием исследуемых фрагментов гена СЦА1. Таким образом, данное исследование, проведенное впервые в российской популяции, позволило полностью исключить наличие мутации СЦА1 в обследованных семьях, что позволяет рекомендовать его проведение в качестве облигатного теста во всех сомнительных случаях ДНК-диагностики СЦА1. Анализ распределения в популяции частот аллелей гена СЦА2 по длине тринуклеотидного тракта показал, что более, чем в 91% случаев длина СAG-тракта нормальных аллелей составляла 22 или 23 СAG-повторов, что совпадает с данными литературы.

Длина мутантных аллелей колебалась от 40 до 50 СAG-повторов. Нами не было выявлено аллелей с «промежуточными» длинами СAG-трактов.

Анализ клинико-генетических корреляций позволил установить четкую обратную зависимость между числом СAG-повторов и возрастом дебюта СЦА1, СЦА2 и СЦА3. Детальный анализ фенотипов позволил выявить, что различные молекулярные формы аутосомно-доминантных СЦА, несмотря на сходство клинической картины, все же имеют некоторые фенотипические особенности, в частности: СЦА1, СЦА2 и СЦА3 характеризуются сочетанием мозжечковой, пирамидной и экстрапирамидной симптоматики, в то же время для СЦА6 более характерно наличие сравнительно изолированного «чистого» мозжечкового синдрома. Комплексное клинико-молекулярно-генетическое обследование семей,отягощенных доминантными СЦА, позволило описать в семьях из России и других стран СНГ уникальные родословные с атипичной клинической картиной СЦА, включая впервые наблюдавшийся быстро прогрессирующий «церебральный» вариант СЦА2 [2].

При проведении прогностического тестирования у 80 лиц из группы риска выявлено 28 доклинических носителей мутантных генов СЦА1, СЦА2, СЦА3 и СЦА6. Предсказательное ДНК-тестирование у клинически здоровых родственников осуществлялось после получения обязательного письменного информированного согласия. От прохождения ДНК-тестирования отказались 38 индивидуумов из группы риска.

При исследовании семей с подозрением на наличие СБМА у 8 пациентов мужского пола из различных семей была выявлена типичная экспансия CAG-повторов в локусе Xq13–21 и, таким образом, получено молекулярное подтверждение нозологической формы данного нейродегенеративного заболевания.

В процессе проведения настоящей работы создана комплексная система медико-генетического консультирования семей, отягощенных тяжелыми прогрессирующими формами полиглутаминовых нейродегенеративных заболеваний. Предсказательное тестирование в семьях, отягощенных данной патологией, должно проводиться в соответствии с принципами добровольности и полной информированности тестируемых лиц из группы риска с заполнением информированного согласия на проведение исследования. Лица, получившие позитивный результат ДНК-тестирования, в обязательном порядке подлежат дальнейшему клиническому и психологическому мониторингу.

Таким образом, изучение данной большой группы расстройств движения, являющихся, по сути, «модельными» нейродегенеративными заболеваниями, имеет большое значение для понимания детальных механизмов «полиглутаминовой» нейродегенерации, позволяя в то же время оценить роль ДНК-тестирования в медико-генетическом консультировании отягощенных семей. Так как в настоящее время не существует каких-либо эффективных методов лечения данной патологии, медико-генетическое консультирование позволяет проводить эффективную профилактику появления вторичных случаев заболевания в отягощенных семьях, снижая, таким образом, «патологический генетический груз» в популяции. Научный центр неврологии РАМН является единственным в России научным учреждением, проводящим широкие исследования и длительное систематическое наблюдение российских семей, отягощенных различными полиглутаминовыми заболеваниями.

Литература

1. Иллариошкин С.Н. Конформационные болезни мозга. М.: Янус-К, 2003.
2. Проскокова Т.Н., Иллариошкин С.Н., Ключников С.А. и др. Быстро прогрессирующий «церебральный» вариант спиноцеребеллярной атаксии типа 2. Неврол. журн. 2003; 6: 30–34.
3. Andresen J.M., Gayan J., Djousse L. et al. The relationship between CAG repeat length and age of onset differs for Huntington's disease patients with juvenile onset or adult onset. *Ann. Hum. Genet.* 2007; 71: 295–301.
4. Brusco A., Gellera C., Cagnoli C. et al. Molecular genetics of hereditary spinocerebellar ataxia: mutation analysis of spinocerebellar ataxia genes and CAG/CTG repeat expansion detection in 225 Italian families. *Arch. Neurol.* 2004; 61: 727–733.
5. Folstein S.E., Leigh R.J., Parhad I.M., Folstein M.F. The diagnosis of Huntington's disease. *Neurology* 1986; 36: 1279–1283.
6. Housman D. Gain of glutamines, gain of function? *Nat. Genet.* 1995; 10: 3–4.
7. Illarionov S.N., Igarashi S., Onodera O. et al. Trinucleotide repeat length and rate of progression of Huntington's disease. *Ann. Neurol.* 1994; 36: 630–635.
8. Illarionov S.N., Slominsky P.A., Ovchinnikov I.V. et al. Spinocerebellar ataxia type 1 in Russia. *J. Neurol.* 1996; 243: 506–510.
9. La Spada A.R., Wilson E.M., Lubahn D.B. et al. Androgen receptor gene mutations in X-linked spinal and bulbar muscular atrophy. *Nature* 1991; 352: 77–9.
10. Mahant N., McCusker E.A., Byth K. et al. Huntington's disease: clinical correlates of disability and progression. *Neurology* 2003; 61: 1085–1092.
11. Pulst S.-M. Inherited ataxias: an introduction. In: Pulst S.-M. (ed.) *Genetics of Movement Disorders*. Academic Press (Elsevier Science), 2003: 19–34.
12. Richards R.I., Sutherland G.R. Dynamic mutation: possible mechanisms and significance in human disease. *Trends Biochem. Sci.* 1997; 22: 432–436.
13. Rosenberg R.N. Autosomal dominant cerebellar phenotypes: the genotype has settled the issue. *Neurology* 1995; 45: 1–5.
14. Zoghbi H.Y., Orr H.T. Glutamine repeats and neurodegeneration. *Annu. Rev. Neurosci.* 2000; 23: 217–247.

Клинико-генетические аспекты наследственных спастических параплегий в России

*Г.Е. Руденская, И.Г. Сермягина, А.В. Поляков
Медико-генетический научный центр РАМН (Москва)*

Наследственные спастические параплегии (НСП) — нейродегенеративные болезни с преимущественным поражением пирамидного тракта: нижний спастический парализ, обычно прогрессирующий, является их основным и часто единственным признаком. При этом НСП отличаются выраженным разнообразием. Традиционным, хотя достаточно условным, является деление НСП на «неосложненные» (без значимых сопутствующих симптомов), в свою очередь варьирующие по возрасту начала и темпам прогрессирования, и «осложненные» (с сопутствующими неврологическими и/или экстракраневральными симптомами). Также различны типы наследования: существуют доминантные, рецессивные и X-сцепленные формы; доминантное наследование более характерно для «неосложненной» НСП, а рецессивные НСП чаще являются «осложненными».

С конца 1980-х годов все активнее развивается молекулярная генетика НСП, молекулярно-генетические данные принципиально расширили и углубили представления о разнообразии НСП и тонких патогенетических механизмах различных форм.

В статье представлены два аспекта исследований НСП в МГНЦ РАМН, клинико-популяционный и клинико-молекулярно-генетический, с кратким обсуждением.

Популяционно-клинические характеристики

НСП встречаются повсеместно, в большинстве стран распространенность составляет 1-4/100 тыс. чел., в отдельных регионах (северная Норвегия, о. Гуам, о. Св. Елены) существенно выше; некоторые рецессивные НСП связаны с определенными популяциями: синдромы Тройер и Мэст в религиозных изолятах амишей в США, НСП с агенезией мозолистого тела в Японии, врожденная непрогрессирующая НСП в северной Швеции. Данные о распространенности и клинико-генеалогическом спектре НСП в ряде российских популяций получены нами в результате эпидемиологических исследований моногенной патологии, ведущихся с на-

чала 1980-х годов параллельно с изучением генетической структуры популяций [1]. Экспедиционная работа проведена в 10 регионах (Архангельская, Брянская, Кировская, Костромская, Тверская области, Краснодарский край, республики Адыгея, Марий Эл, Удмуртия, Чувашия), общее количество обследованного населения 2,3 млн чел, выявленные больные и члены семей обследованы лично. Распространенность НСП почти всюду колебалась в интервале 1—3/100 тыс. чел [2, 3]. Такие же цифры получены другими исследователями в Башкирии, Мордовии, Вологодской, Владимирской, Томской областях. Значимо более высокий показатель — 7,2/100 тыс. — выявлен нами в Кировской области, причем он не связан с какой-либо одной формой, в него вносят вклад и доминантные, и рецессивные НСП, в том числе, атипичные: доминантная НСП с эпилепсией и/или олигофренией и другие. Широкое обследование семей (одно из преимуществ экспедиционных исследований) выявило значительное внутрисемейное разнообразие, а также существенную долю субклинических случаев при доминантных формах. В структуре наследственных болезней нервной системы НСП составили около 10%. Соотношение доминантных и рецессивных форм в целом оказалось примерно равным, хотя в большинстве современных популяций Запада преобладают доминантные НСП. Отличие наших данных отчасти связано с тем, что преимущественно обследовалось население сел и малых городов, где груз рецессивных болезней выше, чем в крупных городах. Такая структура НСП — пример взаимосвязи популяционно-генетических характеристик моногенных болезней (распространенность, соотношение доминантных и рецессивных форм, доля семейных случаев, степень клинического разнообразия) с особенностями генетической структуры популяций (панмиксия, дрейф генов, случайный или неслучайный инбридинг и др.) [1]. В отношении НСП такая взаимосвязь особенно ярко прослеживается при сравнении российских популяций и среднеазиатских (двух узбекских и таджикской с об-

щим населением более 500 тыс. чел.), также обследованных нами в 1980-х гг. Основными отличиями этих сельских популяций от российских, помимо этнического состава, были высокий инбридинг, преимущественно неслучайный, и большой размер семей. В Ургутском районе Самаркандской области распространенность НСП составила 12,9/100 тыс. чел. — один из самых высоких показателей в мире. НСП в этой популяции были только рецессивными, а клинически представляли собой разнообразные «осложненные» формы, в основном уникальные. В Гиссарском районе Таджикистана мы обнаружили накопление рецессивной врожденной непрогрессирующей НСП с микроцефалией, олигофренией и рядом факультативных симптомов [2, 3]. К сожалению, наши экспедиционные наблюдения остались только клиническими, так как ДНК-диагностика НСП в тот период не проводилась.

Говоря о клиническом разнообразии НСП в России, надо упомянуть ранее не описанные формы, диагностированные нами при медико-генетическом консультировании в научно-консультативном отделе МГНЦ РАМН: доминантная НСП с синдромом торсионной дистонии и антиципацией в семье из Пермской области с 4 больными в 3 поколениях; в семье из Волгоградской области — доминантная непрогрессирующая НСП с офтальмоплегией (больны двое разнополых сибсов, у матери имеется ряд субклинических симптомов) [2].

Молекулярная генетика НСП

Молекулярно-генетические исследования НСП начались в 1985 г., когда был картирован первый локус, и быстро развиваются, особенно в последние годы. На данный момент картировано почти 40 хромосомных локусов, 19 генов идентифицированы (табл. 1), причем 10 локусов и 9 генов дополнили этот список за последние два года [20]. Вклад отдельных форм в структуру НСП различен: некоторые описаны в единичных больших семьях, другие встречаются повсеместно. Самой частой доминантной формой является SPG4, на втором месте SPG3; из числа рецессивных достаточно часты SPG11 и SPG7. Выяснена также молекулярно-генетическая природа ряда наследственных болезней, клинически близких к НСП: спастическая атаксия Шарлевуа—Сагенэ (ген *SACS* в локусе 13q12); синдром Шегрена—Ларсона, ранее относившийся к «осложненным» НСП, но «перешедший» в разряд болезней обмена липопротеинов (ген

FALDH в локусе 17p11.2); ранний восходящий спастический паралич и ювенильный первичный боковой склероз (ген *ALS2* в локусе 2q33-35).

Молекулярная генетика изменила представления об этно-региональной «приуроченности» некоторых НСП. Так, рецессивная НСП с агенезией мозолистого тела поначалу считалась избирательно «японской», но оказалось, что большинство случаев представляют собой SPG11, распространенную в западных странах, причем агенезия мозолистого тела — частый, но не облигатный признак SPG11. В то же время, SPG20 (синдром Тройер) и SPG21 (синдром Мэст) пока не найдены вне популяции амишей.

Активно изучаются механизмы действия идентифицированных генов НСП. Разнообразие этих генов и кодируемых ими белков говорит о множественных молекулярных механизмах дегенерации пирамидных путей (при поздних формах) или нарушения их развития (при врожденной и ранней НСП). Известные гены имеют разные «точки приложения»: нарушение распознавания клеток и межклеточных контактов (*L1-CAM*), нарушение процессов миелинизации (*PLP1*), нарушения на уровне митохондриальных шаперонов (*PGN*, *HSP60*), нарушения клеточного аксонального транспорта (*KIF5A*, *SPAST*, *ATL1*, *KIAA061*) и, вероятно, другие, еще не установленные [2]. Некоторые гены НСП связаны также с другими наследственными болезнями, причем если синдром *MASA* и болезнь Пелицеуса—Мерцбахера (аллельные варианты SPG1 и SPG2 соответственно) включают в себя спастический паразез, то мутации *BSCL2* помимо SPG17 вызывают совсем другое заболевание — шейный липоматоз Берардинелли—Сейпа, а ген *CYP7B1*, ответственный за SPG5A, обуславливает также нарушение синтеза желчных кислот.

В МГНЦ РАМН молекулярно-генетические исследования НСП начаты несколько лет назад (впервые в стране). Пока они не получили достаточного развития и касаются только SPG4. ДНК-диагностика SPG4 проводится нами в семьях с доминантной НСП; выборка составлена из нескольких источников: медико-генетическая консультация (МГК) МОНИКИ предоставила первичные сведения о семьях из Московской области, которые были лично обследованы нами; Научный центр неврологии РАМН предоставил образцы ДНК семей из разных российских регионов; ряд семей или образцов ДНК направлен из региональных МГК (Воронеж, Екатеринбург, Ижевск, Самара и др.); часть семей обратилась в научно-консульта-

тивный отдел МГНЦ РАМН самостоятельно. Поиск мутаций проводится методами SSCP и прямого секвенирования. В трех больших семьях из Московской области проведен также анализ сцепления с локусом SPG4, в двух из них сцепление установлено. Поиск мутаций в настоящее время завершён в 26 семьях. Различные мутации *SPAST* найдены в 6 семьях, 5 русских и татарской (табл. 2). Среди них семья Р. с установленным сцеплением (лод-балл 1,66). В семье К., где также имелось сцепление (лод-балл 1,51), мутация не обнаружена. Такая ситуация не противоречит диагнозу SPG4: описан ряд семей, демонстрирующих несомненное сцепление с данным локусом при ненайденной мутации, а в последнее время появляется все больше сведений об атипичных мутациях *SPAST*, не выявляемых рутинными методами [5, 8], кроме того, чувствительность метода SSCP ограничена (80-90%). С учетом семьи К. доля SPG4 в нашей выборке составила 27%, что несколько меньше средних мировых данных: 40-50% семейных доминантных случаев [10-12, 16 и др.]; небольшой размер выборки не позволяет судить об истинности этого различия. Доля SPG4 значима не только среди семейных, но и среди спорадических случаев НСП [7, 9, 10]. В связи с этим считают эффективным скрининг на мутации *SPAST* как в семейных доминантных случаях НСП, так и в спорадических (после исключения спастического парапареза другой этиологии). Характер мутаций в наших наблюдениях разнообразен: нонсенс-мутация (семья Р.), три миссенс-мутации (семьи П., В. и Х.), делеция, ведущая к сдвигу рамки считывания (семья Ч.), а также однонуклеотидная замена, приводящая к потере акцепторного сайта сплайсинга (семья У.); три мутации уже известны [HGMD], три ранее не описаны. Разнообразие найденных мутаций согласуется с литературными данными: зарегистрировано более 250 мутаций *SPAST* (из них около 100 — миссенс-мутации), большинство встретились однократно [19].

Что касается клинической картины, как видно из таблицы 2, у большинства наших больных имеется ти-

пичная для SPG4 «неосложненная» НСП с относительно поздним началом и медленным течением. Вместе с тем, возраст начала внутрисемейно широко варьирует (семьи П., Ч., У. и К.); у двух больных НСП началась в детстве (семьи У. и К.). Субклинические случаи, даже у пожилых лиц (в основном женщин), имелись в семьях Р. и К.; доля таких случаев может быть еще выше, так как не во всех семьях осмотрены клинически здоровые родственники «группы риска». Эти особенности SPG4 — разнообразие возраста начала, в том числе внутрисемейное, возможная антиципация, неполная экспрессивность и пенетрантность — неоднократно описаны [8, 17 и др.]. Сопутствующие клинические признаки имелись у младших членов семей У. и К. (в последнем случае их причиной мог быть Rh-конфликт). Хотя типичным для SPG4 считается «неосложненный» фенотип, растет список наблюдавшихся сопутствующих признаков: поздние когнитивные расстройства (достаточно типичны), умственная отсталость или деменция; эпилепсия (описана неоднократно); психозы; атаксия; бульбарный синдром; полинейропатия; амиотрофия кистей; различные изменения при нейровизуализации (гипо-/дисплазия мозолистого тела, атрофия мозжечка, врожденные арахноидальные кисты, негрубая атрофия коры и/или белого вещества) [4, 6, 12—14, 16, 18 и др.]. В большинстве наблюдений сопутствующие признаки имелись. Таким образом, НСП вносят значимый вклад в груз наследственных болезней нервной системы в российских популяциях; межпопуляционные различия груза НСП частично зависят от особенностей генетической структуры отдельных популяций. Молекулярно-генетические исследования в России НСП требуют дальнейшего развития. Наряду с прикладным значением для диагностики и медико-генетического консультирования эти исследования играют важную роль в изучении клеточных механизмов спастичности и регуляции мышечного тонуса.

Литература

- 1 Гинтер Е.К. Наследственные болезни в популяциях человека. М: Медицина, 2002.
- 2 Иллариошкин С.Н., Руденская Г.Е., Иванова-Смоленская И.А. и др. Наследственные атаксии и параплегии. М: МЕДпресс-информ, 2006.
- 3 Руденская Г.Е. Наследственные болезни нервной системы в российских и среднеазиатских популяциях: клинико-генетико-эпидемиологическое исследование. Дис. ... докт. мед. наук. М., 1998.
- 4 Alber B., Pernaer M., Schwan A. et al. Spastin related hereditary spastic paraplegia with dysplastic corpus callosum. J. Neurol. Sci. 2005; 236: 9—12.
- 5 Beetz C., Zuchner S., Ashley-Koch A. et al. Linkage to a known gene but no mutation identified: comprehensive reanalysis of SPG4 HSP pedigrees reveals large deletions as the sole cause. Hum. Mut. 2007; 28: 739—740.
- 6 Bertelli M., Cecchin S., Lorusso L. et al. Identification of a novel mutation in the spastin gene (SPG4) in an Italian family with hereditary spastic paresis. Panminerva Medico 2006; . 48: 193—197.
- 7 Brugman F., Wokke J.H., Scheffer H. et al. Spastin mutations in sporadic adult-onset upper motor neuron syndromes. Ann. Neurol. 2005; 58: 865—869.
- 8 Depienne C., Fedirko E., Forlani S. et al. Exon deletions of SPG4 are a frequent cause of hereditary spastic paraplegia. J. Med. Genet. 2007; 44: 281—284.
- 9 Depienne C., Tallaksen C., Lephay J. et al. Spastin mutations are frequent in sporadic spastic paraparesis and their spectrum is different from that observed in familial cases. J. Med. Genet. 2006; 43: 259—265.
- 10 Erichsen A., Inderhaug E., Mattingsdal M. et al. Seven novel mutations and four exon deletions in a collection of Norwegian patients with SPG4 hereditary spastic paraplegia. Eur. J. Neurol. 2007; 14: 809—814.

- 11 Magariello A., Muglia M., Patitucci A. et al. Novel spastin (SPG4) mutations in Italian patients with hereditary spastic paraplegia. *Neuromuscul. Disord.* 2006; 16: 387–390.
- 12 McDermott C., Burness C/, Kirby J. et al. Clinical features of hereditary spastic paraplegia due to spastin mutation. *Neurology* 2006; 67: 45–51.
- 13 McMonagle P., Hutchinson M., Lawlor B. Hereditary spastic paraparesis and psychosis. *Eur. J. Neurol.* 2006; 13: 874–879.
- 14 Nielsen J.E., Johnsen B., Koefoed P. et al. Hereditary spastic paraplegia with cerebellar ataxia: a complex phenotype associated with a new SPG4 gene mutation. *Eur. J. Neurol.* 2004; 11: 817–824.
- 15 Orlacchio A., Patrono C., Gaudiello F. et al. Silver syndrome variant of hereditary spastic paraplegia: A locus to 4p and allelism with SPG4. *Neurology* 2008; 70:1959–1966.
- 16 Park S., Ki C., Kim H. et al. Mutation analysis of SPG4 and SPG3A genes and its implication in molecular diagnosis of Korean patients with hereditary spastic paraplegia. *Arch. Neurol.* 2005; 62: 1118–1121.
- 17 Reddy P., Seltzer W., Grewal R. Possible anticipation in hereditary spastic paraplegia type 4 (SPG4). *Can. J. Neurol. Sci.* 2007; 34: 208–210.
- 18 RibaX P., Depienne C., Fedirko E. et al. Mental deficiency in three families with SPG4 spastic paraplegia. *Eur. J. Hum. Genet.* 2008; 16: 97–104.
- 19 HGMD (Human Gene Mutation Database, Cardiff) <http://www.hgmd.cf.ac.uk>.
- 20 OMIM (On-line Mendelian Inheritance in Man) <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.

Таблица 1. Локусы и гены наследственных спастических параплегий

Форма НСП	Локус	Ген
Аутосомно-доминантные НСП		
SPG3 (3A)	14q11-q21	<i>ATL1 (атластин)</i>
SPG4	2p22-p21	<i>SPAST (спастин)</i>
SPG6	15q11.1	<i>NIPA1</i>
SPG8	8q23-q24	<i>KIAA0196</i>
SPG9	10q23.3-q24.2	?
SPG10	12q13	<i>KIF5A</i>
SPG12	19q13	?
SPG13	2q24	<i>HSP60</i>
SPG17 (синдром Сильвера-1)	11q13	<i>BSCL2 (сейтин)</i>
SPG19	9q33-q34	?
SPG29	1p31-p21	?
SPG31	2p11.2	<i>REEP1</i>
SPG33	10q24.2	<i>ZFYVE27(протрудин)</i>
SPG37	8p21.1-q13.3	?
SPG38 (синдром Сильвера-2)	4p16-p15	?
*Zhao G. et al., 2008	11p14.1-p11.2	?
Аутосомно-рецессивные НСП		
SPG5A	8q21.3	<i>CYP7B1</i>
SPG7	16q24.3	<i>PGN (паралегин)</i>
SPG11	15q13-q15	<i>KIAA1840 (спатаксин)</i>
SPG14	3q27-q28	?
SPG15 (синдром Кьеллина)	14q22-q24	<i>ZFYVE26 (спастин)</i>
SPG20 (синдром Тройер)	13q12.3	<i>KIAA0610 (спартин)</i>
SPG21 (синдром Мэст)	15q21-q22	<i>ACP33 (маспардин)</i>
SPG23	1q24-q32	?
SPG24	13q14	?
SPG25	6q23-q24	?
SPG26	12p11.1-q14	?
SPG27	10q22-q24	?
SPG28	14q21-q22	?
SPG30	2q37.3	?
SPG32	14q12-q21	?
SPG35	16q21-q23	?
SPG39	19p13.3	<i>PNPLA6</i>
Врожден. непрогрессив. НСП	2q24-25	<i>GAD1</i>
* Al-Yahyaee S. et al., 2006	8p12-p11.21	?
Х-сцепленные НСП		
SPG1 и синдром MASA	Xq28	<i>L1 CAM</i>
SPG2	Xq22	<i>PLP1</i>
SPG16	Xq11.2	?

Примечание: SPG — Spastic Paraplegia Gene, порядковые номера соответствуют хронологии картирования; * кандидатный локус, форма пока не включена в базу данных OMIM.

Таблица 2. Клинико-генетические характеристики SPG4 в 7 семьях

Семья	Мутация; лод-балл	Генеалогические данные	Возраст дебюта симптомов	Прогрессирование, тяжесть	Сопутствующие симптомы (n)
P.	p.Arg431Stop; лод-балл 1,66	10 больных в 5 поколениях; умерли 3; обследованы 7	35—40 лет; 3 субклинических случая	Медленное; тяжесть варьирующая	—
П.	p.Asp555Tyr *	4 больных в 3 поколениях; Умер 1; обследован 1	15—45 лет	Медленное; ходьба без опоры у всех	—
Ч.	839-840 del AG	4 больных в 2 поколениях; умерли 2; обследованы 2	12—50 лет	Медленное; ходьба без опоры у всех	—
B. ♦	p.Asn386Ser	5 больных в 4 поколениях; Умер 1; обследованы 2	40 лет; 30 лет	Медленное; ходьба без опоры	—
X. ♦	p.Asn184Thr *	6 больных в 3 поколениях; умерли 2, обследован 1	17 лет	? (малая давность болезни у пробанда)	—
У.	1107A>G *	2 больных в 2 поколениях; обследованы 2	50 лет; 2 года	Медленное; ходьба без опоры	Эпилепсия (1)
К.	Не найдена; лод-балл 1,51	12 больных в 4 поколениях; умерли 4, обследованы 8	2—70 лет; 3 субклинических случая	Медленное; тяжесть значительная	Глухота и легкая дебилность (1) #

Примечание:

* мутация ранее не описана; (n) — число больных с данным признаком;

♦ клинические сведения есть только о лично обследованных;

больной перенес гемолитическую болезнь новорожденных

Молекулярная генетика эссенциального тремора

*Е.Н. Тарасова, И.А. Иванова-Смоленская, А.В. Карабанов, С.А. Ключников,
Г.Х. Багыева, С.Н. Иллариошкин
Научный центр неврологии РАМН (Москва)*

Эссенциальный тремор (ЭТ) — одно из наиболее распространенных заболеваний нервной системы. По некоторым данным, ЭТ встречается в 20 раз чаще болезни Паркинсона и поражает до 6% лиц в общей популяции [2]. Клинически заболевание проявляется ритмичным кинетическим и постуральным тремором, вовлекающим, главным образом, руки, иногда — голову, диафрагму, ноги и другие части тела.

Патофизиологически возникновение ЭТ связано с изменениями в центральных осцилляторах и, в частности, со структурами «треугольника Гийена-Молларе»

(зубчатое ядро мозжечка — контралатеральное красное ядро — нижнее оливарное ядро). Основное значение в развитии ЭТ придают нейротрансмиттерному дисбалансу: повышению уровня норадреналина в мозговой ткани, снижению экскреции катехоламинов (главным образом, норадреналина) с мочой, снижению уровня ГАМК в цереброспинальной жидкости [1]. Следует подчеркнуть, что при ЭТ не выявлено каких-либо морфологических изменений вещества мозга.

В 60% случаев классический ЭТ наследуется по ауто-сомно-доминантному типу, однако пропорция спора-

дических случаев ЭТ в исследованиях разных авторов колеблется от 17% до 70%. Считается, что широко распространённые спорадические случаи ЭТ, по-видимому, имеют сходную с семейными случаями генетическую основу и объясняются вариабельной экспрессивностью гена у родственников, неполной пенетрантностью до 70 лет, генетической гетерогенностью и существованием большого числа фенокopies [3].

В различных семьях выявлено сцепление ЭТ с локусами на хромосомах 2p22-25, 3q13 и 6p23; исследован также ряд позиционных генов-кандидатов [5]. Так, локус ETM1 на хромосоме 3q13 содержит ген DRD3, который кодирует дофаминовый рецептор D3-типа, участвующий в регуляции локомоторных функций. F.Jeanneteau с соавт. [9], исследовав 23 французские семьи с ЭТ, обнаружили ассоциацию болезни с мутацией Ser9Gly в гене DRD3 и показали повышение аффинитета к дофамину в клетках Пуркинье мозжечка у носителей данной мутации, что может рассматриваться как важное функциональное подтверждение значимости выявленной аминокислотной замены.

J.Higgins et al. (1998) в американских семьях картировали другой локус ЭТ – ETM2 – на хромосоме 2p22-25. Эти же авторы на примере белой американской популяции обнаружили гетерозиготную мутацию – замену 828C>G (Ala265Gly) в гене *HS1-BP3* у 16,4% исследованных пациентов с ЭТ и у 3% пациентов с болезнью Паркинсона [7, 8]; ни у одного индивида из группы контроля (304 человека) искомым мутации не оказалось. Эти данные позволяют предположить, что описываемая замена в гене *HS1-BP3* имеет отношение к патогенезу тремора не только при ЭТ, но и при других заболеваниях с «дрожательным» фенотипом. Продукт гена *HS1-BP3* связан с белками, имеющими высокий уровень экспрессии в клетках Пуркинье и двигательных нейронах и регулирующими активность ключевых ферментов метаболизма тирозина и триптофана – предшествен-

ников ряда двигательных нейротрансмиттеров (катехоламинов и серотонина).

Таким образом, на сегодняшний день не вызывает сомнений генетическая гетерогенность ЭТ и сложность патогенеза заболевания. Важнейшим аспектом данной проблемы является сравнительный анализ отдельных генетических вариантов ЭТ в различных популяциях. Мы представляем первые результаты молекулярно-генетического анализа ЭТ в России, связанные с оценкой частоты встречаемости мутации Ala265Gly в гене *HS1-BP3* и полиморфизма Ser9Gly в гене *DRD3* в большой серии случаев данного заболевания.

Основную группу в нашем исследовании составили 92 больных, в возрасте от 17 до 85 лет ($49,5 \pm 19,5$), соответствующих классическим критериям диагноза ЭТ [6], в том числе 50 мужчин и 42 женщины. Этнически, свыше 80% пациентов имели славянские корни, 10% составили евреи, остальная группа больных ЭТ была смешанной (грузины, татары и др.).

В группу сравнения вошли 96 клинически здоровых лиц сопоставимого возраста ($45,7 \pm 17,2$), соотношение мужчин/женщин – 50/46, без указаний на наличие какого-либо тремора в анамнезе.

Большая часть больных (75%) имела семейный анамнез, не противоречащий аутосомно-доминантному наследованию, тогда как 20% случаев были спорадическими (у небольшой части пациентов достоверные сведения о семейном анамнезе отсутствовали). Такое преобладание семейных случаев над спорадическими не отражает реальное их распределение в популяции и, по-видимому, может быть связано с особенностями набора больных, попадающих под наблюдение в нейрогенетической клинике Научного центра неврологии РАМН.

Результаты генотипирования обследованных больных ЭТ по мутации *HS1-BP3*-Ala265Gly представлены в таблице.

Исследование полиморфных вариантов генов *HS1-BP3* и *DRD3* у больных ЭТ в российской популяции

	Частоты генотипов*					
	<i>HS1-BP3</i>			<i>DRD3</i>		
	Ala265/Ala265	Ala265/Gly265	Gly265/Gly265	Ser9/Ser9	Ser9/Gly9	Gly9/Gly9
Больные ЭТ	85; 92,4%	5; 5,3%	2; 2,1%	44; 7,8%	44; 47,8%	4; 4,4%
Контроль	91; 95,0%	5; 5,0%	0; 0	49; 51,0%	38; 39,6%	9; 9,4%

*Примечание: в таблице указаны сначала абсолютное число обследуемых, затем процент от общего числа.

Таким образом, из 92 больных ЭТ мутантный аллель *HS1-BP3* был обнаружен у 7 пациентов (7,4% от общего числа больных), а предрасполагающий к заболеванию аллель *DRD3* — у 48 пациентов (52,2%).

Частоты носительства мутантных аллелей генов *HS1-BP3* и *DRD3* среди больных составили, соответственно, 4,9% (9 хромосом из 184) и 28,3% (52 хромосомы из 184) соответственно.

Четыре пациента оказались носителями как мутации Ala265/Gly265, так и преморбидного полиморфизма Ser9/Gly9, однако каких-либо клинических особенностей течения заболевания, кроме депрессии у двух пациентов с гетерозиготность по обоим вариантам, у этих пациентов установить не удалось.

Наше исследование выявило отсутствие статистической разницы между пациентами и контрольной группой в частотах носительства исследуемых вариантов обоих генов. Для гена *DRD3* полученные данные высоко достоверны ($p=0,9362$, большое количество гомозигот в контрольной группе) и свидетельствуют об отсутствии влияния полиморфизма Ser9Gly на развитие ЭТ среди изучаемой когорты населения. Интересно, что у 10 пациентов наблюдались различные психиатрические синдромы (подтвержденные специалистом), представленные в 9 случаях депрессией, а в одном — психотическим состоянием со слуховыми галлюцинациями. Причём большинство пациентов (9 человек) с психиатрическими синдромами являлись носителями полиморфизма Ser9Gly, что может свидетельствовать в пользу определённого влияния этого гена на патогенез заболевания. Возможно, ген *DRD3* модифицирует течение заболевания, способствуя присоединению психиатрических синдромов к ЭТ. Так, в литературе активно обсуждается связь данного полиморфизма с различными нейропсихологическими расстройствами: нарушением исполнительных функций, развитием обсессивно-компульсивных расстройств, злоупотреблением алкоголем и наркотиками. Тем не менее, роль данного гена в патогенезе ЭТ, взаимоотношения его с геном *HS1-BP3* не ясны и требуют дальнейшего детального изучения.

Данные о распространённости мутации гена *HS1-BP3* также не однозначны. Во-первых, статистически значимо более высокая встречаемость гомозигот в группе пациентов (в контрольной группе их нет во-

обще), очевидно, позволяет связать полиморфизм гена с развитием заболевания. Во-вторых, присутствие носителей мутации в контрольной группе не отрицает участие гена в развитии заболевания, а скорее подтверждает достаточно высокую распространённость данной мутации в российской популяции. Поскольку дебют заболевания варьирует в широких пределах (в нашем исследовании, например, от 4 до 60 лет), у пяти носителей мутантного аллеля из контрольной группы исключить начало заболевания в будущем нельзя, несмотря на клиническое отсутствие тремора на момент осмотра. К тому же, в пользу участия гена *HS1-BP3* в развитии ЭТ свидетельствует наше следующее **клиническое наблюдение**. В одной семье оба родителя и сын страдают ЭТ. У отца оба исследованных гена не несут неблагоприятных аллельных вариантов, а мать является носителем комбинированных генотипов Ala265/Gly265 и Ser9/Gly9. Сын унаследовал от матери лишь мутантный аллель гена *HS1-BP3*, что послужило предрасполагающим к заболеванию фактором.

Несмотря на то, что некоторые авторы ставят под вопрос связь семейного ЭТ с мутацией *HS1-BP3*-Ala265Gly [4], в нашем исследовании она была достаточно хорошо продемонстрирована. По данным J.Higgins с соавт. [7], в американской популяции больных ЭТ частота данной мутации была выше, чем в обследованной нами группе больных. Однако (с учетом примерно равной представленности мутации среди семейных и спорадических случаев ЭТ) истинная частота *HS1-BP3*-Ala265Gly в российской популяции может быть существенно выше, поскольку в обследованной нами когорте имел место значительный «сдвиг» соотношения в сторону семейных случаев болезни. Более того, нами впервые в литературе продемонстрировано и клинически охарактеризовано гомозиготное носительство мутации Ala265Gly в гене *HS1-BP3*, ассоциированной с ЭТ.

Таким образом, проведенное исследование показало, что участие полиморфизма гена *DRD3* в патогенезе ЭТ остаётся неясным, а анализ гена *HS1-BP3* и его молекулярного продукта позволяет глубже раскрыть взаимосвязь между биохимическими и патофизиологическими механизмами ЭТ, что приведет к разработке новых подходов к лечению заболеваний, характеризующихся дрожательными гиперкинезами.

Литература

1. Бархатова В.П., Карабанов А.В., Иванова-Смоленская И.А. Эссенциальный тремор. Патология нейротрансмиттеров. Неврол. журн. 2007; 2: 4–7.
2. Иванова-Смоленская И.А., Рахмонов Р.А., Иллариошкин С.Н. Эссенциальный тремор. Душанбе, 2007.
3. Bain P.G., Findley L.J., Thompson P.D. et al. A study of hereditary essential tremor. *Brain* 1994; 117: 805–824.
4. Deng H., Le W., Guo Y. et al. Extended study of A265G variant of HS1BP3 in essential tremor and Parkinson disease. *Neurology* 2005; 65: 650–653.
5. Deng H., Le W., Jankovic J. Genetics of essential tremor. *Brain* 2007; 6: 350–359.
6. Deuschl G., Krack P. Tremors: differential diagnosis, neurophysiology, and pharmacology. In: *Parkinson Disease & Movement Disorders* (eds. Jankovic J.J., Tolosa E.). Baltimore: Williams & Wilkins, 1998: 419–452.
7. Higgins J.J., Lombardi R.Q., Pucilowska J. et al. HS1-BP3 gene variant is common in familial essential tremor. *Mov. Dis.* 2006; 21: 306–309.
8. Higgins J.J., Loveless J.M., Jankovic J., Patel P.I. Evidence that a gene for essential tremor maps to chromosome 2p in four families. *Mov. Dis.* 1998; 13: 972-977..
9. Jeanneteau F., Funalot B., Jankovic J. et al. A functional variant of the dopamine D3 receptor is associated with risk and age-at-onset of essential tremor. *PNAS* 2006; 103: 10753–10758.