

# Новая форма наследственной невропатии: болезнь Шарко–Мари–Тута типа 2F

С.Н. Иллариошкин, Е.Л. Дадали, В.П. Федотов, Ш.М. Исмаилов,  
С.А. Ключников, В.Н. Пирогов, И.А. Иванова-Смоленская

Болезнь Шарко–Мари–Тута (ШМТ) – это обширная группа наследственных болезней нервной системы, характеризующихся хронически прогрессирующей слабостью и атрофией дистальных мышц конечностей, снижением сухожильных рефлексов, деформацией стоп и кистей, изменением походки и сенсорными нарушениями. В основе болезни лежит дегенерация двигательных и чувствительных волокон периферических нервов [1, 2]. Манифестация симптомов обычно отмечается на первом или втором десятилетии жизни. Среди всех возможных типов наследования ШМТ преобладает ауто-

сомно-доминантное. Частота ШМТ варьирует от 1 : 10 000 до 1 : 2500 населения в различных популяциях и является одной из самых высоких среди всех наследственных заболеваний нервной системы [3]. В настоящее время фенотип ШМТ, а также некоторые другие близкие синдромы (синдром Дежерина–Сотта, врожденная гипомиелинизирующая полиневропатия, наследственная невропатия с предрасположенностью к параличам от сдавления) классифицируются как **наследственные моторно-сенсорные невропатии (НМСН)** [1–3].

По электронейромиографическим и гистопатологическим критериям различают два основных типа ШМТ: 1) миелинопатии – ШМТ типа 1 (ШМТ1, или НМСН-I); 2) аксонопатии – ШМТ типа 2 (ШМТ2, или НМСН-II) [1, 4]. Для ШМТ1 характерно существенное снижение скорости проведения импульса (СПИ) по периферическим нервам вследствие сегментарной де- и ремиелинизации. Напротив, ШМТ типа 2 характеризуется нормальными или лишь умеренно сниженными значениями СПИ по периферическим нервам. Величина СПИ = 38 м/с, определяемая по двигательной компоненте срединного нерва, принята как условная “граница” для разделения ШМТ1 и ШМТ2 на **демиелинизирующий** тип (СПИ < 38 м/с) и **аксональный** тип невропатии (СПИ > 38 м/с). В большинстве популяций мира ШМТ1 встречается чаще.

Молекулярно-генетические исследования в течение последних двух десятилетий показали, что наследственные невропатии характеризуются выраженной генетической гетерогенностью. На данный момент на разных

хромосомах картированы более 25 локусов ШМТ [5–7], и очевидно, что процесс выявления все новых генетических вариантов этих заболеваний еще отнюдь не исчерпан. Отдельные генетические варианты ШМТ могут не различаться на клиническом уровне, поскольку для ШМТ характерен значительный меж- и внутрисемейный полиморфизм, приводящий к перекрыванию фенотипов различных форм невропатий [5]. В связи с этим наиболее адекватным подходом к дифференцированию наследственных невропатий является ДНК-диагностика. Следует добавить, что ДНК-диагностика является пока и единственно возможным подходом к профилактике ШМТ в отягощенных семьях – на основе пренатальной идентификации мутаций в соответствующих генах. Поэтому приоритетным направлением исследований наследственных невропатий на современном этапе является идентификация генов, ответственных за их развитие.

Молекулярная генетика ряда наиболее распространенных форм ШМТ1 (демиелинизирующих) с аутосомно-доминантным наследованием уже хорошо изучена. Это касается таких известных генов и их белковых продуктов, как *PMP22* (белок периферического миелина), *MPZ* (основной белок миелина P<sub>0</sub>), *GJB1* (белок межклеточных контактов коннексин-32) и *EGR2* (ранний фактор транскрипции), мутации в которых обуславливают свыше 80% случаев всех форм наследственных невропатий [8, 9]. Известен также ряд генов гораздо более редких аутосомно-рецессивных форм ШМТ1, встречающихся преимущественно в

**Сергей Николаевич Иллариошкин** – профессор, зам. директора ГУ НИИ неврологии РАМН по научной работе, заведующий ДНК-лабораторией института.

**Елена Леонидовна Дадали** – докт. мед. наук, главный научный сотрудник Медико-генетического научного центра РАМН.

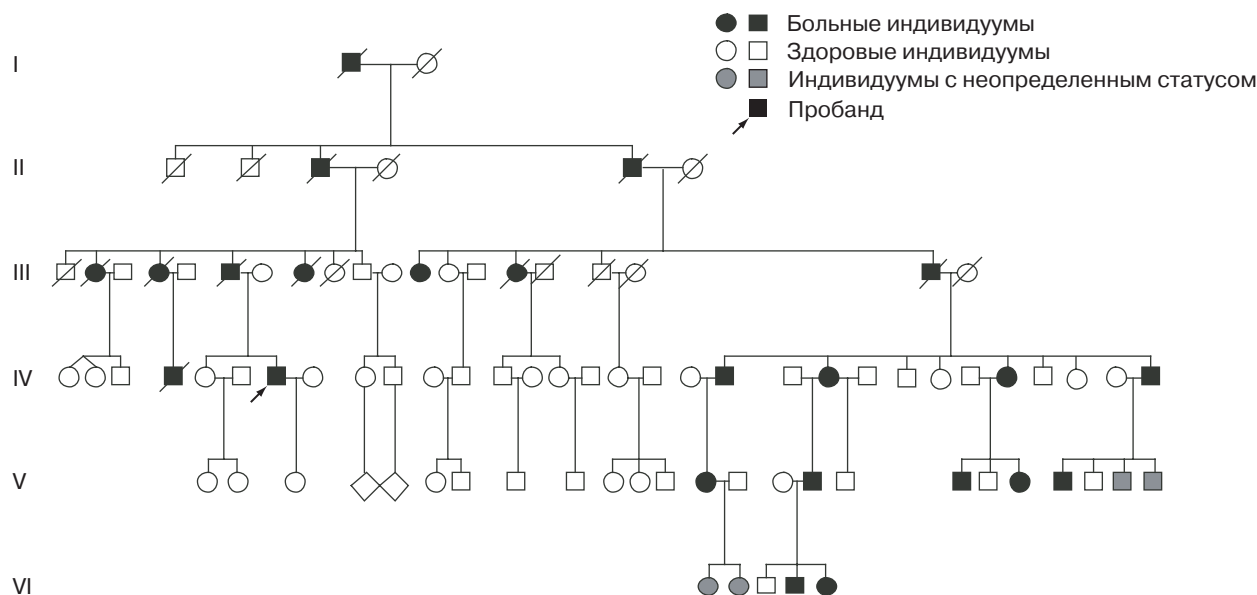
**Валерий Павлович Федотов** – канд. мед. наук, заведующий Воронежской межобластной медико-генетической консультацией.

**Шухрат Марифович Исмаилов** – канд. мед. наук, старший научный сотрудник нейрогенетического отделения ГУ НИИ неврологии РАМН.

**Сергей Анатольевич Ключников** – канд. мед. наук, старший научный сотрудник нейрогенетического отделения ГУ НИИ неврологии РАМН.

**Владимир Николаевич Пирогов** – канд. мед. наук, старший научный сотрудник отделения реанимации и интенсивной терапии ГУ НИИ неврологии РАМН.

**Ирина Анатольевна Иванова-Смоленская** – профессор, заведующая нейрогенетическим отделением ГУ НИИ неврологии РАМН.



**Рис. 1.** Родословная обследованной семьи с ШМТ2, для которой проводился анализ сцепления с известными кандидатами локусами ШМТ, полногеномный скрининг, тонкое генетическое картирование и гено-кандидатный поиск.

изолированных инбредных популяциях [5].

Сложнее обстоит дело с аксональными формами наследственных невропатий (ШМТ2). Для десятка картированных локусов этих заболеваний, чаще наследующихся аутосомно-доминантно, известны пока лишь 6 первичных молекулярных дефектов [10]. При этом в некоторых семьях, имевших типичные электронейромиографические показатели 2-го типа ШМТ (аксонального), у больных были выявлены мутации в генах демиелинизирующих форм ШМТ (*Po*, *GJB1* и др.) [5]. Это отчетливо показывает определенную условность подразделения наследственных моторно-сенсорных невропатий на “чистые” демиелинизирующие и аксональные формы.

Картирование генов наследственных заболеваний обычно проводится посредством анализа генетического сцепления в больших информативных родословных, включающих достаточное число больных и здоровых родственников (как правило, из нескольких поколений) [5]. Нейрогенетическое отделение НИИ неврологии РАМН имеет большой многолетний опыт таких исследований, выполняющихся обычно в сотрудничестве с другими ведущими российскими и зарубежными

научными центрами и вносящих заметный вклад в изучение генома человека. В настоящем выпуске рубрики “Клинический разбор Института неврологии РАМН” мы представляем первое в отечественной литературе детальное описание новой генетической формы наследственной моторно-сенсорной невропатии – аутосомно-доминантного аксонального варианта болезни типа 2F (ШМТ2F). Генетическая идентификация данного синдрома была подтверждена с помощью анализа сцепления болезни с хромосомным локусом 7q11–q21 [6].

### Общая характеристика больных и методы исследования

#### Клиническое и электронейромиографическое обследование семьи

Нами обследована большая русская семья с разветвленной родословной (рис. 1), в которой в 6 поколениях выявлено 12 больных с фенотипом ШМТ. Всего обследованы 30 больных и клинически здоровых родственников. Информированное согласие было получено от всех участвовавших в исследовании членов семьи.

Диагноз наследственной моторной и сенсорной невропатии II типа

(ШМТ2) для всех больных членов семьи подтверждался в соответствии с нижеследующими общепринятыми клиническими и электронейромиографическими критериями, установленными Европейским нейромышечным центром и Европейским консорциумом по болезни Шарко–Мари–Тута [2]:

- медленно прогрессирующие симметричные парезы мышц и атрофии, преимущественно выраженные в дистальных отделах ног;
- снижение или утрата глубоких сухожильных рефлексов;
- деформации стоп и кистей;
- незначительное или умеренно выраженное снижение СПИ по двигательным волокнам срединного нерва ( $\geq 38$  м/с).

Клиническое обследование членов семьи и электронейромиография (ЭНМГ) выполнены в Воронежской медико-генетической консультации (МГК), нейрогенетическом отделении НИИ неврологии РАМН, а также в ходе экспедиционных поездок сотрудников Медико-генетического научного центра РАМН и Воронежской МГК в районы проживания членов семьи (Воронежская, Ленинградская, Ивановская и Свердловская области). Биопсия *n. suralis* у пробанда проводи-

Результаты ЭНМГ-исследования больных в представленной семье

№	Возраст, годы	Пол	<i>n. medianus</i>			<i>n. tibialis</i>		
			MNCV, м/с	СМАР, мВ	D.L., мс	MNCV, м/с	СМАР, мВ	D.L., мс
1	61	м	42,4	0,07	3,25	–	0	–
2	48	ж	47,2	1,60	4,30	–	0	–
3	45	м	43,2	0,20	3,45	25,9	0,05	5,6
4	34	ж	58,5	3,80	3,20	38,8	0,20	3,5
5	30	м	47,5	1,50	3,50	–	0	–
6	21	ж	48,6	7,50	3,20	–	0	–
7	34	м	46,7	2,50	3,50	–	0	–
8	18	м	49,3	4,70	3,65	38,1	0,15	5,6
9	15	ж	50,4	4,40	3,40	37,5	1,00	5,5
10	51	м	43,6	0,50	4,50	–	0	–
Средн.	<b>35,7</b>		<b>47,5</b>	<b>2,70</b>	<b>3,6</b>	<b>35,0</b>	<b>0,6</b>	<b>5,2</b>

Обозначения: MNCV – скорость проведения импульса по двигательным волокнам срединного и большеберцового нервов; СМАР – амплитуда М-ответа; D.L. – дистальная латентность.

лась во время его стационарного обследования в нейрогенетическом отделении НИИ неврологии РАМН.

### Молекулярно-генетические исследования

Материалом для молекулярно-генетического исследования служили образцы ДНК, выделенные из лимфоцитов периферической крови больных и их клинически здоровых родственников.

Примененные методы ДНК-анализа основаны на использовании полимеразной цепной реакции (ПЦР) с одной или несколькими парами праймеров (одинарная или мультиплексная амплификация). SSCP-анализ при гено-кандидатном поиске осуществлялся в соответствии со стандартными протоколами [11]. Электрофорез продуктов ПЦР при исследовании микросателлитных маркеров и прямое секвенирование амплифицированных ДНК-матриц проводили в денатурирующих полиакриламидных гелях на автоматическом секвенаторе “ABI Prism 310 DNA Sequencer” (Perkin Elmer, США) согласно протоколам фирмы.

Для анализа сцепления использовали высокополиморфные микросателлитные маркеры, праймеры для которых выбирались на основе нуклеотидных последовательностей, внесенных в информационные базы UCSC и

GDB. Эти же базы данных использовались для сравнения секвенированных последовательностей.

Математическую оценку сцепления локуса заболевания с анализируемыми полиморфными маркерами проводили с использованием стандартных пакетов программ “LINKAGE” и “FASTLINK”.

### Результаты и обсуждение Результаты клинических, морфологических и ЭНМГ-исследований

Анализ родословной (см. рис. 1) позволил установить классический аутосомно-доминантный тип наследования болезни.

Клиническая картина у всех пораженных членов семьи носит достаточно стереотипный характер. Дебют симптомов отмечается у мужчин в 15–20-летнем возрасте, а у женщин – в 22–25 лет. Больные предъявляют жалобы на слабость в руках и ногах, преимущественно в стопах и кистях, онемение в стопах. Типичный симптомокомплекс включает:

- симметричную прогрессирующую слабость и атрофию мышц стоп, голени, нижней трети бедер;
- снижение и выпадение сухожильных и надкостничных рефлексов – сначала ахилловых и коленных, а впоследствии также рефлексов с верхних конечностей;

- вовлечение в патологический процесс дистальных мышц рук – через несколько лет после появления первых симптомов заболевания;
- деформацию стоп по типу “эквиноварусных” и, в более поздней стадии, кистей рук (“обезьянья лапа”);
- изменение походки, которая на протяжении нескольких лет с момента дебюта заболевания постепенно приобретает характерный “степпажный” вид;
- значительные чувствительные нарушения в конечностях дистального типа;
- выраженные вегетативно-сосудистые и трофические изменения в виде язв дистальных отделов конечностей (в развернутой стадии болезни).

Инвалидизация у всех пациентов наступает через 15–20 лет после начала заболевания. Некоторые больные сохраняют способность к ходьбе (хотя и с поддержкой) спустя 30 лет и более после манифестации первых симптомов. Заболевание не ограничивает ни репродуктивную функцию, ни продолжительность жизни, о чем свидетельствует многочисленность потомства во всех поколениях родословной. Несколько обследованных больных преодолели 75-летний возраст. Интеллект остается сохранным на протяжении всей жизни.

Детальные электронейрофизиологические характеристики 10 больных из данной семьи (6 мужчин и 4 женщины, возраст от 15 до 61 года), полученные при ЭНМГ-обследовании, представлены в таблице. У всех обследованных пациентов зарегистрированы умеренно сниженные величины СПИ по двигательным нервам конечностей – по срединному нерву в диапазоне от 42,4 до 50,4 м/с (среднее значение –  $47,7 \pm 4,6$  м/с, лишь у одного больного СПИ была за пределами этих значений и составила 58,5 м/с), а по большеберцовому нерву – от 25,9 до 38,8 м/с ( $36,0 \pm 6,1$  м/с). Одновременно отмечено значительное падение амплитуды М-ответов у обследованных больных (вплоть до полного отсутствия М-ответов с ног в половине случаев). Эти данные соответствуют

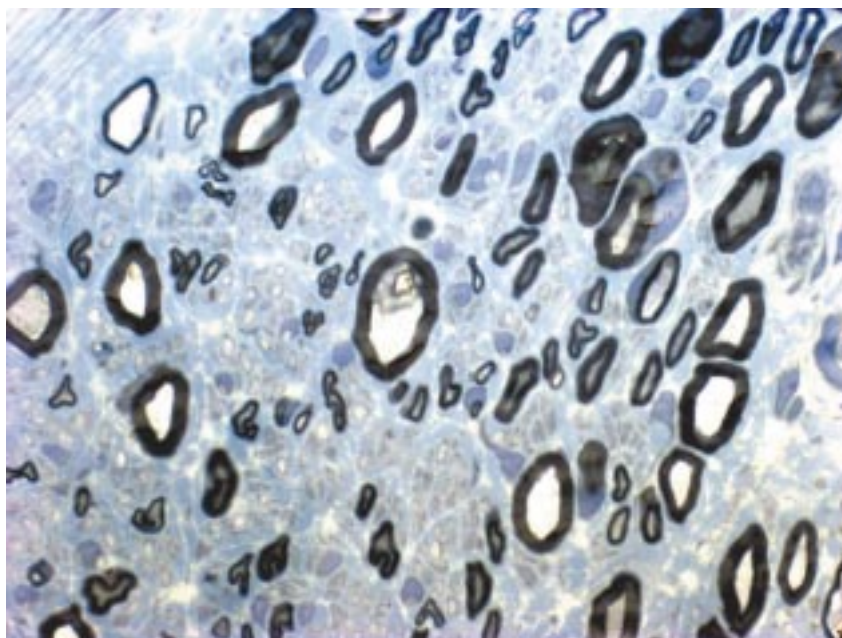
электрофизиологическим признакам аксонопатий.

У одного больного проведено гистологическое исследование биоптата *n. suralis*: при этом получено четкое морфологическое подтверждение аксональной формы поражения периферических нервов (рис. 2).

На основании полученных результатов клинических, электрофизиологических и гистологических исследований в данной семье у больных был установлен диагноз ШМТ2 (НМСН-II).

Приводим **краткую выписку из истории болезни** пробанда (см. родословную на рис. 1).

Больной Кр., *впервые осмотрен* в возрасте 40 лет, предъявлял жалобы на слабость в ногах, кистях рук, нарушение походки, снижение чувствительности в руках и ногах. Считает себя больным с 20 лет. Был призван на службу в армию в 1956 г., а в 1959 г. комиссован по болезни – появилась слабость в ногах, не мог бегать кроссы. Спустя 5 лет присоединилась слабость в кистях рук, с годами постепенно нарастали парезы и атрофии мышц стоп, голеней, кистей. К 30 годам отметил снижение чувствительности в ногах, а затем и в руках. На фоне прогрессирования двигательных и чувствительных расстройств пациент был признан нетрудоспособным (II группа инвалидности). При осмотре: акроцианоз, стопы и кисти холодные на ощупь. Отмечаются грубые диффузные атрофии мышц стоп, голеней, нижней трети бедер, кистей, дистальной трети предплечий с двух сторон. Сила незначительно снижена в двуглавой мышце плеча, ротаторах предплечья, отмечается выраженный парез мышц кистей (особенно мелких межкостных мышц) с “когтистой” деформацией кистей рук; заметно ограничено противопоставление большого пальца, разведение пальцев кистей, разгибание кистей в лучезапястных суставах. Стопы свисают, в них возможны лишь минимальные активные движения; в голенях сила мышц резко снижена (1–2 балла), умеренное снижение силы четырехглавой мышцы бедра (до 3 баллов). Мышечный тонус



**Рис. 2.** Биопсия *n. suralis*. При световой микроскопии выявлены признаки преимущественно аксональной невропатии: значительное уменьшение площади аксона и его дегенеративные изменения в крупных миелинизированных нервных волокнах, признаки вторичной демиелинизации, отсутствие гипертрофических изменений в миелинизированных волокнах.

снижен (больше в ногах), глубокие рефлексы с рук живые, коленные и ахилловы рефлексы не вызываются. Отмечены единичные мышечные фасцикуляции в мышцах бедер. Походка значительно изменена (“степпаж”), не может стоять и ходить на пятках и носках. Координаторных нарушений нет, хотя из-за дистальных парезов отмечаются затруднения при выполнении пальце-носовой и коленно-пяточной проб. Гипестезия на поверхностные виды чувствительности – в ногах дистальнее средней трети голеней (“гольфы”), в кистях – по типу “перчаток”.

*Повторный осмотр через 20 лет.* Больной самостоятельно передвигается только на коленях, стояние невозможно из-за вялых параличей дистальной мускулатуры ног. Почти полностью отсутствуют движения в пальцах и кистях рук, резко ограничен объем движений в лучезапястных и коленных суставах. Выраженная диффузная атрофия мускулатуры ног и рук, диффузная мышечная гипотония, тотальная сухожильная арефлексия. Гипестезия по типу высоких “перчаток” и “чулок”. Конечности холодные на ощупь, кожные покровы сухие, с ги-

перкератозом поверхностей коленных суставов.

#### Молекулярно-генетические исследования

**Анализ генетического сцепления с кандидатными локусами НМСН II и I типа.** Мы провели анализ сцепления гена, ответственного за заболевание в данной семье, с высокополиморфными маркерами, тесно сцепленными с идентифицированными аутомно-доминантными локусами НМСН II и I типа: CMT2A (хромосома 1p35-36), CMT2B (3q13-22), CMT2D (7p14), CMT2E (8p21), CMT1A (17p11.2-12), CMT1B (1q21-23.2) и локусом гена *EGR2* (10q21.1-22.1). В результате проведенного исследования было достоверно исключено сцепление патологического гена в данной семье с кандидатными локусами НМСН-II и НМСН-I (получены заведомо отрицательные показатели сцепления – LOD-баллы). Таким образом, генетический локус в обследуемой семье с невропатией отличен от других идентифицированных локусов аутомно-доминантных форм НМСН II и I типа. Поэтому заболевание в этой семье

представляет собой новый генетический вариант аксональной формы наследственной моторно-сенсорной neuropathии (НМСН-II, или ШМТ2).

Проведенное исследование по включению кандидатных локусов НМСН в данной семье явилось предпосылкой для полногеномного скрининга с целью картирования локуса заболевания.

**Картирование локуса заболевания.** Для определения области локализации гена заболевания был осуществлен полногеномный скрининг с помощью высокополиморфных микросателлитных маркеров. В результате первоначально нами было обнаружено сцепление изучаемого гена с маркерами D7S1818, D7S2204 и D7S2212 на длинном плече 7-й хромосомы, в области 7q11-q21. В соответствии с современной номенклатурой наследственных neuropathий данный локус получил обозначение **ШМТ2F** (болезнь Шарко–Мари–Тута типа 2F, в английской транскрипции – **CMT2F**).

После получения этих результатов были осуществлены определение фланкирующих маркеров и минимизация области локализации гена с использованием дополнительно выбранных маркеров из критического хромосомного участка. Максимальное значение LOD-балла (при двухлокусном анализе)  $Z_{\max} = 5,87$  было получено для маркера D7S2204. Многолокусный анализ сцепления с последовательностью маркеров D7S2235–D7S2204–D7S806 показал

максимальный LOD-балл 6,43 в области локализации маркера D7S2204.

На следующем этапе исследования нами было проведено тонкое генетическое картирование в локусе ШМТ2F с привлечением большой серии новых высокополиморфных микросателлитных маркеров согласно физической карте UCSC генома человека. При этом реконструкция протяженных гаплотипов в области 7q11-q21 для каждого больного и здорового члена семьи показала, что ген заболевания ШМТ2F расположен между маркерами D7S1797 и D7S672 на участке, покрывающем генетическое расстояние 7,5 сантиморганид.

**Исследование генов-кандидатов.** На основании данных о локализации гена ШМТ2F нами был определен первоочередной для исследования ген-кандидат – *Semaphorin 3C* (семафорин-3C), который экспрессируется в периферической нервной системе, а именно в телах нейронов и аксонах. Семафорин-3C определяет рост, регенерацию и апоптоз аксонов, т.е. как раз те структурно-функциональные характеристики аксонов, нарушения которых при аксональных формах болезни Шарко–Мари–Тута и лежат предположительно в основе заболевания. Скрининг мутаций во всех 17 экзонах гена *Semaphorin 3C* проводился методами SSCP и прямого секвенирования: в результате исследования патологических изменений в кодирующей области гена выявлено не было.

Совсем недавно молекулярный дефект при ШМТ2F был идентифицирован [10]: показано, что заболевание обусловлено мутациями в гене *HSPB1* (или *HSP27*), кодирующем малый белок теплового шока.

Таким образом, клинические, электронейромиографические, гистологические и молекулярно-генетические исследования, проведенные в большой русской семье с наследственной аксональной neuropathией, позволили картировать новый локус neuropathии на 7-й хромосоме в области 7q11-q21. Этот локус определяет генетический вариант наследственной аксональной моторно-сенсорной neuropathии ШМТ2F (CMT2F).

### Список литературы

1. Dick P.J. et al. // *Peripheral Neuropathy* / Ed. by Dyck P.J. et al. Philadelphia, 1993. P. 1094.
2. Carter G.T. et al. // *Amer. J. Phys. Med. Rehabil.* 1995. V. 74. P. 140.
3. Emery A.E.H. // *Neuromusc. Disord.* 1991. V. 1. P. 19.
4. Harding A.E., Thomas P.K. // *Brain.* 1980. V. 103. P. 259.
5. Иллариошкин С.Н. и др. ДНК-диагностика и медико-генетическое консультирование в неврологии. М., 2002.
6. Ismailov S.M. et al. // *Eur. J. Hum. Genet.* 2001. V. 8. P. 646.
7. Tang B.S. et al. // *Hum. Genet.* 2004. V. 6. P. 527.
8. Bort S. et al. // *Hum. Genet.* 1997. V. 99. P. 746.
9. Muller H.W. et al. // *Neurobiol. Dis.* 1997. V. 4. P. 215.
10. Evgrafov O.V. et al. // *Nat. Genet.* 2004. V. 36. P. 602.
11. Orita M. et al. // *Genomics.* 1989. V. 5. P. 874. ●

## Книги издательства “АТМОСФЕРА”



**Клинические рекомендации. Внебольничная пневмония у взрослых / Под ред. акад. РАМН А.Г. Чучалина, проф. А.И. Синопальникова. 200 с.**

В настоящих клинических рекомендациях освещены вопросы определения, классификации, эпидемиологии, этиологии и патогенеза внебольничной пневмонии у взрослых. Детально представлены подходы к диагностике, дифференциальной диагностике и ведению пациентов с данным заболеванием. Для пульмонологов, терапевтов, врачей общей практики.

Всю дополнительную информацию можно получить на сайте [www.atmosphere-ph.ru](http://www.atmosphere-ph.ru)