

КЛИНИКО-ГЕНЕАЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ У ПАЦИЕНТОВ СО СПИНОЦЕРЕБЕЛЛЯРНОЙ АТАКСИЕЙ 1 ТИПА И ДЕНТАТОРУБРОПАЛЛИДОЛЮИСОВОЙ АТРОФИЕЙ В ЯКУТИИ

Варламова М.А.¹, Назарова П.С.¹, Ильинова Е.А.¹, Павлова Н.И.¹, Сидорова О.Г.¹, Кононова С.К.¹, Соловьева Н.А.¹, Дьяконова А.Т.¹, Куртанов Х.А.¹

¹ФГБНУ «Якутский научный центр комплексных медицинских проблем», Якутск, e-mail: varlamova.m@yandex.ru

Клинико-генеалогический и молекулярно-генетический анализ на наличие мутаций в гене *ATXN1* был проведен среди всей выборки - 177 человек. Из них у 104 пациентов с экспансией CAG-повторов в гене *ATXN1* выявлен средний возраст начала заболевания в зависимости от количества патологических CAG-повторов. Выявлено, что чем больше количество патологического повтора, тем раньше появляются симптомы заболевания. На базе больницы ЯНЦ КМП с октября 2017 г. по сентябрь 2018 г. прошли стационарное лечение 22 больных из 104 пациентов, с подтвержденным диагнозом СЦА 1. Всем был назначен поддерживающий курс терапии: аминоклазма 250,0 через день №5, сосудистая терапия, ЛФК. Всех больных подвергали оценке по шкале SARA (Scale for the Assessment and Rating of Ataxia). 19 больных хорошо перенесли курс аминокислот и отмечали отчетливое субъективное и объективное улучшение специфических атаксических дисфункций координации движений. Мы предполагаем, что более быстрый и длительный эффект от курса поддерживающей терапии дают пациенты с наименьшим количеством патологического CAG-повтора. Для подтверждения своей теории требуется наблюдение больных в динамике в более большой выборке. Экспансия CAG-повторов в гене *ATN1* была найдена у 5 человек из одной якутской семьи, у 4 взрослых с клиникой атаксии и 1 ребенка без признаков атаксии. У всех четверых был поздний дебют заболевания, в клинике: атаксия, хореоатетоз и психические нарушения.

Ключевые слова: полиглутаминовые заболевания, спиноцеребеллярная атаксия 1 типа, дентаторубропаллидолюисовая атрофия, экспансия тринуклеотидных повторов, аутосомно-доминантное заболевание, якуты.

CLINICAL-GENEALOGICAL AND MOLECULAR-GENETIC FEATURES IN PATIENTS WITH SPINOCEREBELLY ATAXY 1 TYPE AND DENTATORUBROPALLIDOLIDIS ATROPHY IN YAKUTIA

Varlamova M.A.¹, Nazarova P.S.¹, Ilinova E.A.¹, Pavlova N.I.¹, Sidorova O.G.¹, Kononova S.K.¹, Solovyova N.A.¹, Dyakonova A.T.¹, Kurtanov Kh.A.¹

¹Federal State Budgetary Institution "Yakut science center of complex medical problems", Yakutsk, e-mail: varlamova.m@yandex.ru

Clinical-genealogical and molecular-genetic analysis for the presence of mutations in the gene *ATXN1* was performed among the entire sample of 177 people. Of these, 104 patients with expansion of CAG repeats in the gene *ATXN1* showed an average age at onset of the disease, depending on the number of pathological CAG repeats. It was revealed that the more the amount of pathological repetition, the earlier the appearance of symptoms. From October 2017 to September 2018, 22 patients from 104 patients with a confirmed diagnosis of SCA were hospitalized at the Yakut Science Centre of complex medical problems. A supportive course of therapy was prescribed for everyone: aminoplasmol 250.0 every other day, vascular therapy, exercise therapy. All patients are assessed on the SARA (scale of assessment and assessment of ataxia). 17 patients had a good course of amino acids and noted a distinct subjective and objective improvement of specific ataxic dysfunctions of the corresponding movements. We suggest that patients with the least amount of pathological CAG repeat give a faster and longer-lasting effect of the course of maintenance therapy. To confirm your theory, patients are required to monitor the dynamics in a larger sample. Expansion of CAG repeats in the gene *ATN1* gene was found in 5 individuals from one Yakut family, in 4 adults with ataxia clinic and 1 child without ataxia. All four had a late debut disease, in the clinic: ataxia, choreoathetosis and mental disorders.

Keywords: polyglutamine diseases, spinocerebellar ataxia 1 type, dentatorubral-pallidoluysian atrophy, expansion of trinucleotide repeats, autosomal dominant disease, yakut.

дентаторубропаллидолуисовая атрофия (ДРПЛА) (MIM 125370) относится к полиглутаминовым заболеваниям. 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 [1; 2]. К полиглутаминовым заболеваниям относятся хорей Гентингтона, шесть форм аутосомно-доминантных спиноцеребеллярных атаксий, дентаторубропаллидолуисова атрофия и спинально-бульбарная амиотрофия Кеннеди. Эти заболевания характеризуются тяжелым прогрессирующим инкурабельным течением, аутосомно-доминантным типом наследования (кроме СБМА, наследуемой по X-сцепленному рецессивному механизму) и общностью ряда типичных клинико-генетических феноменов, выраженной межсемейной вариабельностью с точки зрения дебюта, сочетания симптомов и даже патоморфологии. Фенотип полиглутаминовых заболеваний является результатом комбинации факторов, таких как мутантный ген, длина экспандированного повтора и длительность болезни [3].

Аутосомно-доминантная спиноцеребеллярная атаксия 1 типа представляет собой нейродегенеративное расстройство, вызванное повторным расширением тринуклеотида CAG в пределах кодирующей области гена *Ataxin1 (ATXN1)*, для которого характерны прогрессирующий тип течения, клинический полиморфизм. Клинические проявления спиноцеребеллярной атаксии 1 типа (СЦА 1) характеризуются развитием мозжечково-пирамидного синдрома, его быстрым прогрессированием, приводящим к социальной дезадаптации больных, к значительному укорочению продолжительности их жизни. СЦА 1 является одним из 5 «якутским» наследственным заболеванием с самой высокой распространенностью среди якутов, чем среди другой популяции мира. Распространенность СЦА 1 за последний 21 год удвоилась на 46 случаев на 100 000 сельских жителей [4; 5].

Дентаторубропаллидолуисовая атрофия является аутосомно-доминантной спиноцеребеллярной атаксией, вызванной экспансией CAG-повторов в гене *ATN1*, который расположен на хромосоме 12p13 [1]. Патологические повторы CAG достигают 48 или более повторений, а также возраст начала и клинической тяжести заболевания коррелирует с длиной CAG-повтора. Симптоматика дентаторубро-паллидолуисовой атрофии чрезвычайно полиморфна. Заболевание может начинаться в возрасте от 1-го до 6-го десятилетия жизни и проявляется в виде хорсоатетоза, атаксии, деменций, миоклоний, эпилептических припадков [3; 6].

Высокая частота отдельных форм моногенных заболеваний, гомогенность, географическая изолированность и достаточная численность якутской популяции делают ее

применимой для проведения молекулярно-генетических исследований по генетическому картированию как моногенных, так и мультифакториальных заболеваний [7-9].

Цель работы: клинико-генеалогический и молекулярно-генетический анализ на наличие мутаций в генах *ATXN1* и *ATN1* у пациентов с мозжечковым синдромом в Якутии.

Материалы и методы исследования

Для выявления мутации в генах *ATXN1* (СЦА 1), *ATXN2* (СЦА 2), *ATXN3* (СЦА 3), *SACNLI44* (СЦА 6), *TBP* (СЦА 17) и *ATN1* (ДРПЛА) были использованы образцы ДНК 177 пациентов из коллекции биоматериала ЯНЦ КМП и УНУ «Геном Якутии» (рег. № USU_507512). Все больные обращались за консультацией генетика в Медико-генетический центр Республиканской больницы № 1 Национального центра медицины (МГЦ РБ № 1 НЦМ) и в кабинет генетика больницы Якутского научного центра комплексных медицинских проблем (ЯНЦ КМП). Экспериментальная часть работ по поиску экспансии CAG–повторов в генах *ATXN1* и *ATN1* была проведена в лаборатории наследственной патологии отдела молекулярной генетики ЯНЦ КМП. Все образцы ДНК были получены с информированного согласия исследуемых лиц. Общее количество выборки составило 177 человек (95 женского пола, 82 мужского пола), из них 175 индивидов в возрасте от 20 до 80 лет и 2 ребенка в возрасте 9 и 11 лет, проживающих в Республике Саха (Якутия). Комплексное обследование включало в себя оценку неврологического статуса, электронейрофизиологическое исследование (электроэнцефалография (ЭЭГ)), применение методов нейровизуализации (магнитно-резонансная томография (МРТ), компьютерная томография (КТ)). Молекулярно-генетическая часть исследований мутаций в генах: *ATXN1* и *ATN1* была проведена на генетическом ДНК-анализаторе (Applied Biosystems 3130). Результаты секвенирования обработаны с помощью программного обеспечения GeneMapper. Стационарное лечение 22 больных проходили на базе больницы ЯНЦ КМП. Статистическая обработка данных проведена с помощью методов описательной статистики.

Результаты и обсуждение. Клинико-генеалогический и молекулярно-генетический анализ на наличие мутаций в гене *ATXN1* был проведен среди всей выборки 177 человек. Из них у 104 пациентов с экспансией CAG-повторов в гене *ATXN1* выявлен средний возраст начала заболевания в зависимости от количества патологических CAG-повторов. По количеству патологических повторов больные разделены на 5 групп (табл. 1). Как видно из таблицы 1, чем больше количество патологического повтора, тем раньше появляются симптомы заболевания.

Таблица 1

Число CAG-повторов в гене *ATXN1* и возраст начала заболевания

№ п.гр.	Количество больных	Количества патологических САГ-повторов	Средний возраст начала заболевания
1	32	39-46	46,035± 0,47
2	49	46-50	35,361± 0,38
3	22	51-55	34,047± 0,54
4	0	56-60	
5	1	>60	20

На базе больницы ЯНЦ КМП с октября 2017 г. по август 2018 г. прошли стационарное лечение 22 больных из 104 пациентов, с подтвержденным диагнозом СЦА 1. Всем был назначен поддерживающий курс терапии: аминоплазмаль 250,0 через день № 5, сосудистая терапия, ЛФК. Всех больных подвергали оценке по шкале SARA (Scale for the Assessment and Rating of Ataxia). 19 больных хорошо перенесли курс аминокислот и отмечали отчетливое субъективное и объективное улучшение специфических атаксических дисфункций координации движений.

Пример 1. Больной Д., 57 лет. Диагноз: СЦА 1 типа, аутомно-доминантный тип наследования, прогредиентное прогрессирующее течение. Умеренно выраженный мозжечково-пирамидный синдром. Считает себя больным с 51 года, когда появилась шаткость в походке. Нарушение речи с 52 лет. Дисфагия с 55 лет. Ходит с тростью с 56 лет. Был болен отец, из шести братьев и сестер болеет двое, кроме больного, страдает младшая сестра. Количество САГ-повторов 27/42. Прошел поддерживающую терапию 2 раза с разницей в 5 месяцев. В ходе лечения аминоплазмалем и сосудистой терапией отмечает незначительное улучшение походки в утреннее время, меньше начало шатать, речь стала лучше, особенно по утрам, стал лучше выговаривать слова. По шкале SARA до поддерживающей терапии аминокислотами: походка – 5 баллов, в позе Ромберга - 4 балла, в положении сидя – 2 балла, нарушение речи – 3 балла, тест на дисметрию – 1 балл, пальценосовая проба (ПНП) – 1 балл, адиадохокinez – 2 балла, коленно-пяточная проба (КПП) – 2 балла. Общее количество баллов - 20. SARA после двух курсов поддерживающей терапии: походка – 5 баллов, в позе Ромберга - 4 балла, в положении сидя – 0 баллов, нарушение речи – 1 балл, тест на дисметрию – 1 балл, ПНП – 1 балл, адиадохокinez – 2 балла, коленно-пяточная проба КПП – 1,5 балла. Общее количество баллов – 15,5. Улучшение по шкале тяжести атаксии на 4,5 балла.

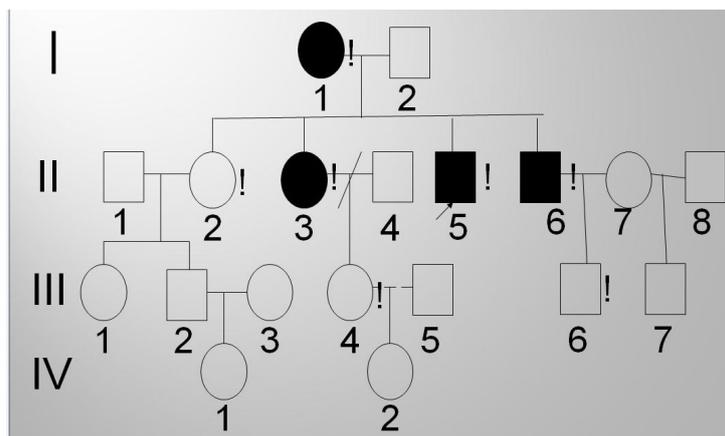
Пример 2. Больная П., сестра Д., 52 г. Диагноз: СЦА 1 типа, прогредиентное течение с умеренно выраженными локомоторными нарушениями. Мозжечковый синдром. Хроническая ишемия головного мозга 1-2 ст., субкомпенсация. Шейный, грудной

остеохондроз. Цервикокраниалгия. Дебют в 50 лет, появилось нарушение глотания, головокружение. Количество CAG-повторов 27/39. Отмечает улучшение состояние в виде улучшения координации. При оценивании по шкале SARA до поддерживающей терапии аминокислотами: походка – 2 балла, в позе Ромберга - 2 балла, в положении сидя – 1 балл, нарушение речи – 0 баллов, тест на дисметрию – 1 балл, ПНП – 0 балл, адиадохокинез – 1 балла, КПП – 2 балла. Общее количество баллов - 9. SARA после двух курсов поддерживающей терапии: походка – 1 балл, в позе Ромберга - 1 балл, в положении сидя – 0 баллов, нарушение речи – 0 баллов, тест на дисметрию – 0 баллов, ПНП – 0 баллов, адиадохокинез – 0 баллов, КПП – 1 балл. Общее количество баллов – 3. Улучшение по шкале тяжести атаксии на 6 баллов.

Пример 3. Больной Н., 37 лет. Диагноз: СЦА1 типа. Спастический тетрапарез. Выраженный мозжечково-пирамидный синдром. Дизартрия. Заболел с 28 лет, когда появилось нарушение речи и походки. Дисфагия с 32 лет. Ходит с тростью с 35 лет. Ходьба с посторонней помощью с 36 лет. Количество CAG-повторов 30/53. Генеалогический анамнез неизвестен, усыновлен. Был осмотрен в 2012 г., SARA – 12 баллов. В ходе проведенного одного курса поддерживающей терапии улучшения специфической атаксической дисфункции по шкале SARA до и после курса не было. Походка – 5 баллов, в позе Ромберга - 5 баллов, в положении сидя – 2 балла, нарушение речи – 4 балла, тест на дисметрию – 1 балл, ПНП – 2 балла, адиадохокинез – 1 балл, КПП – 2 балла. Общее количество баллов - 22.

Мы предполагаем, что более быстрый и длительный эффект от курса поддерживающей терапии дают пациенты с наименьшим количеством патологического CAG-повтора. Для подтверждения своей теории требуется наблюдение больных в динамике в более большой выборке.

Из 177 пациентов с мозжечковым синдромом у 73 экспансия CAG-повторов в гене *ATXN1* не обнаружена. Была проведена ДНК-диагностика на пять форм АД СЦА. Мутация в генах *ATXN2* (СЦА 2), *ATXN3* (СЦА 3), *CACNL1A4* (СЦА 6), *TBP* (СЦА 17) в обследованной выборке не была выявлена. Обнаружена экспансия CAG-повтора в гене *ATN1* (DRPLA) у пятерых больных из одной якутской семьи (рис. 1). У пробанда и у брата 63 мутантных CAG-повторов, у матери и сестры пробанда – 62 (порог нормы ≤ 36), племянник пробанда прошёл досимптоматическое обследование – 19/63 CAG-повторов (табл. 2).



Фрагмент родословной якутской семьи с ДРПЛА. Примечание: I, II, III, IV – нумерация поколений; 1, 2, 3... - нумерация членов семьи в поколении. □ – мужской пол, ○ – женский пол, ● ■ - больные ДРПЛА, ! – лично обследованные, ↗ – пробанд

Таблица 2

Клинико-генеалогические и молекулярно-генетические характеристики больных ДРПЛА

Больной	II-5	I-1	II-3	II-6
Пол	Мужской	Женский	Женский	Мужской
Возраст	42	66	45	37
Возраст манифестации	36	50	40	36
Атаксия	+	+	+	+
Хореоатетоз	-	+	+	-
Психические нарушения	Психоорганический синдром	Апатия	Дисфория	-
Деменция	-	+	-	-
Дизартрия	+	+	+	+
Гиперкинезы	+	+	+	-
Глубокие рефлекссы с рук и ног	Живые	Низкие	Высокие	Высокие
Горизонтальный нистагм	+	-	+	+
SARA	25	33	16	8
CAG-повторы	23/63	19/61	19/61	19/63

Как видно из таблицы 2, у четверых членов семьи наблюдается поздний дебют заболевания, в клинике преобладают мозжечково-пирамидный синдром с экстрапирамидной недостаточностью и различной степенью психические нарушения. Мать пробанда монголоидной расы воспитывалась в детском доме Олекминского района, родителей не

знает, заболела в 50 лет. Из четверых детей мутация передалась трем детям, возраст начала заболевания после 35 лет, также наблюдается увеличение патологического CAG–повтора на 2 единицы у сыновей. При нейровизуализации отмечались признаки атрофии головного мозга, с преимущественным поражением стволовых структур и мозжечка у всех больных. При проведении ЭЭГ выявлены невыраженные диффузные изменения БЭА головного мозга у сибсов пробанда и умеренная дисфункция подкорково-стволовых структур регистрируются с редкими вспышками эпилептической активности по передним отделам головного мозга у пробанда.

Заключение. В данном исследовании был проведен клинико-генеалогический и молекулярно-генетический анализ на наличие мутаций в генах *ATXN1*, *ATXN2*, *ATXN3*, *CACNL1A4*, *TBP* и *ATN1* у 177 пациентов с мозжечковым синдромом в Якутии. Выявлено 2 формы полиглутаминовых заболеваний: СЦА 1 типа и ДРПЛА в якутской популяции. Из них у 104 пациентов с экспансией CAG-повторов в гене *ATXN1* выявлен средний возраст начала заболевания в зависимости от количества патологического CAG-повтора. Выявлено, что чем больше количество патологического повтора, тем раньше появляются симптомы заболевания. В ходе стационарного наблюдения за 22 больными СЦА 1 мы предполагаем, что более быстрый и длительный эффект от курса поддерживающей терапии дают пациенты с наименьшим количеством патологического CAG-повтора. 19 больных хорошо перенесли курс аминокислот и отмечали отчетливое субъективное и объективное улучшение специфических атаксических дисфункций координации движений. Для подтверждения своей теории требуется наблюдение больных в динамике в более большой выборке.

Экспансия CAG-повтора в гене *ATN1* (ДРПЛА) обнаружена у пятерых членов якутской семьи. У пробанда количество мутантных CAG-повторов 63, у матери 61, сибсов 61 и 63. У всех четверых наблюдается поздний дебют и в клинике развитие хореоатетоза, атаксии, психических нарушений, что соответствует данным в изученной литературе о больных ДРПЛА в Японии, Кубе и Латинской Америке.

Аутосомно-доминантные атаксии имеют высокую распространенность во всем мире, они трудно дифференцируются, только молекулярно-генетическим методом можно точно определить тип атаксии. В настоящее время отсутствует этиотропный метод лечения, но если можно улучшить качество жизни, улучшив специфические атаксические дисфункции координации движений, курсом поддерживающей терапии, то актуально создавать неврологические центры с нейрореабилитацией для больных СЦА. Своевременное выявление и направление больных с мозжечковым синдромом в медико-генетическую консультацию позволяет проводить мероприятия по профилактике развития СЦА в отягощенных семьях в Якутии, снижая тем самым «патологический генетический груз» в популяции.

Исследование было проведено в рамках НИР «Изучение генетической структуры и груза наследственной патологии популяций Республики Саха (Якутия)» и профинансировано за счет средств, выделенных для поддержки биоресурсных коллекций (№ 007-03-646 / 2).

Список литературы

1. Subramony S.H., Ashizawa T. Spinocerebellar ataxia type 1. In: Pagon, R.A., et al., editors. GeneReviews®. Seattle, WA: University of Washington; 2015.
2. Paradisi I., Ikonomu V., Arias S. Spinocerebellar ataxias in Venezuela: genetic epidemiology and their most likely ethnic descent. *Journal of Human Genetics*. 2016. V 61. P. 215–222.
3. Иллариошкин С.Н., Руденская Г.Е., Иванова-Смоленская И.А., Маркова Е.Д., Ключников С.А. Наследственные атаксии и параплегии. М.: МЕДпрессинформ, 2006. 416 с.
4. Platonov F.A., Tyryshkin K., Tikhonov D.G., Neustroyeva T.S., Sivtseva T.M., Yakovleva N.V., Nikolaev V.P., Sidorova O.G., Kononova S.K., Goldfarb L.G., Renwick N.M. Genetic fitness and selection intensity in a population affected with high-incidence spinocerebellar ataxia type 1. *Neurogenetics*. 2016. V.17(3). P.179-185.
5. Платонов Ф.А., Иллариошкин С.Н., Кононова С.К., Гоголев М.П., Иванова-Смоленская И.А. Спиноцеребеллярная атаксия первого типа в Якутии: распространенность и клинико-генетические сопоставления // *Медицинская генетика*. 2004. Т.3. №5. С. 242-248.
6. Braga-Neto P., Pedroso J.L., Furtado G.V., Gheno T.C., Saraiva-Pereira M.L., Jardim L.B., Barsottini O.G.P.; Rede Neurogenetica. Dentatorubro-Pallidoluysian Atrophy (DRPLA) among 700 Families with Ataxia in Brazil. *Cerebellum*. 2017. V. 16. P. 812.
7. Kucher A.N., Danilova A.L., Koneva L.A., Nogovitsyna A.N. The population structure of rural settlements of Sakha Republic (Yakutia): ethnic, sex, and age composition and vital statistics, *Genetika*. 2006. V. 42. P.1718-1726.
8. Kononova S.K., Sidorova O.G., Fedorova S.A., Platonov F.A., Izhevskaya V.L., Khusnutdinova E.K. Bioethical issues of preventing hereditary diseases with late onset in the Sakha Republic (Yakutia). *Int. J. Circumpolar Health*. 2014. V. 73. P.25062.
9. Максимова Н.Р., Сухомясова А.Л., Гуринова Е.Е., Николаева И.А., Коротов М.Н., Павлов Р.Н., Ноговицына А.Н., Пузырев В.П. Генетико-эпидемиологические и социально-экономические аспекты наследственной этноспецифической патологии в Якутии // *Медицинская генетика*. 2008. №10. С. 35-43.