

С.А. Лихачев¹, И.В. Плешко¹, Т.В. Осадчук², К.А. Моссэ²

Молекулярно-генетические технологии в диагностике наследственных невропатий

1 - Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии, Минск

2 - Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя», Минск

В статье описываются особенности клинического течения и диагностики, в том числе молекулярно-генетической наследственной невропатии с предрасположенностью к параличам от сдавления и наследственной моторно-сенсорной невропатии I, II. Приводится клиническое описание двух случаев наследственных невропатий с подтвержденными молекулярно-генетическими исследованиями.

Ключевые слова: наследственные моторно-сенсорные невропатии, невропатия с предрасположенностью к параличам от сдавления, клиника, диагностика, молекулярно-генетическая диагностика.

Полиневропатия – системное заболевание периферической нервной системы, характеризующееся двигательными, сенсорными и вегетативными проявлениями, динамика которых определяется этиологическими и патогенетическими факторами, а также вовлечением различных типов нервных волокон в патологический процесс [1]. Наследственные полиневропатии представляют собой гетерогенную группу заболеваний, среди которых моторно-сенсорные невропатии I и II типов (НМСН I, II) – варианты болезни Шарко-Мари-Тута (БШМТ) – относятся к наиболее часто встречающимся наследственным заболеваниям нервной системы [1]. Основные клинические проявления включают постепенное начало на 1-2 десятилетия жизни, прогрессирующую слабость и похудание дистальных отделов нижних конечностей (более выражены при НМСН II), постепенное вовлечение дистальных отделов верхних конечностей (менее выражено при НМСН II); медленное течение заболевания, незначительные либо умеренные нарушения чувствительности (менее выражены при НМСН II) [1]. С учетом электронейромиографии (ЭНМГ) выделяют демиелинизирующую – НМСН I типа (низкая скорость проведения возбуждения по нервам менее 25 м/сек), аксональную – НМСН II типа (нормальная или незначительно сниженная скорость проведения возбуждения по нервам более 38 м/сек), а также дополнительно выделенную невропатию с промежуточными значениями скорости проведения 25-50 м/сек (DI-БШМТ) [1].

Одним из вариантов наследственной невропатии является невропатия с предрасположенностью к параличам от сдавления (ННПС), дебют которой чаще приходится на 2-3 десятилетие жизни, но может быть выявлена и в других возрастных диапазонах [1, 10]. Она характеризуется повторными безболезненными эпизодами онемения, слабости и атрофий периферических нервов, чаще срединного, малоберцового, локтевого, лучевого. Возможны параличи плечевого сплетения с наличием болевого синдрома и черепных нервов (лицевого, тройничного, возвратного, подъязычного), а также затылоч-

ного нерва [1, 4, 6]. Подтвердить заболевание позволяют семейный анамнез, биопсия, а также изменения ЭНМГ пораженных и что особенно важно, интактных нервов – фокальное замедление, блок проведения, временная дисперсия в зонах компрессии. При длительном течении заболевания – диффузное замедление проведения возбуждения, удлинение дистальной латенции и латенции F-волны, снижение амплитуды М-ответа [1]. При выяснении семейного анамнеза возможны случаи асимптомного поражения нервов у родственников по данным ЭНМГ, а также легкие клинические проявления при их полном отрицании пациентом. Гистопатологические изменения периферических нервов включают сегментарную демиелинизацию, ремиелинизацию и утолщение миелиновой оболочки в виде «томакул» (tomaculous or "sausage-like" formations) [1, 6]. Провоцирующими факторами являются предрасполагающие к сдавлению нервов незначительные травмы, определенные виды двигательной активности, ведущие к появлению компрессионных невропатий даже при их непродолжительном воздействии, но возможно развитие эпизодов параличей и при их отсутствии.

ННПС относится к сложно диагностируемым невропатиям и в большинстве случаев остается нераспознанной. Известны ее варианты, протекающие по типу острой или хронической демиелинизирующей невропатии с повышением белка в цереброспинальной жидкости, а также по типу мультифокальной моторной невропатии или НМСН I [1, 6, 9]. Описаны случаи сочетания рецидивирующих невропатий и очагов демиелинизации головного мозга с клиническими проявлениями, указывающие на возможную роль генетических мутаций в поражении структуры миелина и в центральной нервной системе [7]. В проведенном J.Tyson et all. исследовании 51 пациентов с мультифокальными невропатиями, ННПС по данным ДНК-диагностики была обнаружена у 24, включая 19 пациентов из 15 семей, у которых ННПС предполагалась на основе клинических, электромиографических и/или гистопатологических данных. Один пациент имел довольно необычные клинические проявления для ННПС в виде прогрессирующего скапулоперонеального синдрома. 7 (37%) из 19 не имелиотягощенного семейного анамнеза и менее чем у половины из обследованных лиц были проявления генерализованной невропатии. Авторы рекомендуют проведение молекулярно-генетического исследования для выявления ННПС в случаях генерализованных невропатий независимо от семейного анамнеза, а также пациентам с мультифокальными невропатиями, хотя они и не являются классическими клиническими проявлениями ННПС [12].

Возможны различные исходы рецидивирующих невропатий при ННПС – полное восстановление функции (50% случаев особенно на начальных стадиях заболевания), длительное течение с неполным восстановлением функции, а также формирование выраженного неврологического дефицита, особенно при многочисленных эпизодах острых параличей.

Приводим описание двух клинических наблюдений ННПС и НМСН1 с подтвержденными молекулярно-генетическими исследованиями.

Больная К. (25 лет) поступила 15.07.2008 в неврологическое отделение РНПЦ ННХ с жалобами на слабость разгибателей правой стопы, чувство онемения и парестезии в правой руке при сгибании в локтевом суставе, которые появились 3 месяца назад утром после сна (поза во время сна нога на ногу). У матери больной с 20-летнего возраста отмечаются периоды онемения в кистях после длительного пребывания в положении с опорой на локтевые суставы, вязания. На ЭНМГ (май 2008 г.) признаки выраженного поражения правого малоберцового нерва смешанного характера на фоне полиневритических изменений моторных и сенсорных волокон нервов нижних конечностей первично демиелинизирующего характера. Аналогичные изменения на ЭНМГ выявлены у матери при отсутствии функциональных нарушений. При осмотре: Ориентирована, контактна; черепные нервы без особенностей. Мышечный тонус верхних и нижних конечностей не изменен, гипотрофий нет. Легкий парез разгибателей правой стопы, затруднена ходьба на пятках справа; в остальных конечностях сила 5 баллов. Сухожильно-периостальные рефлексy живые, равны, патологических стопных знаков нет. Координаторные пробы выполняет правильно, чувствительных расстройств не выявлено. Обследования: ЭНМГ (24.07.2008 г.): данных за блок проведения по n. peroneus на уровне головки малоберцовой кости в настоящее время не выявлено. Имеется заинтересованность периферических нервов с преобладанием поражения n. peroneus справа и слева, сенсорных волокон на дистальных сегментах, n. ulnaris слева на уровне локтевого сустава (без блока проведения). ЭНМГ данные могут соответствовать наследственной невропатии с склонностью к параличам от сдавления. Вибрационная чувствительность – пороги во всех точках определения в пределах нормы. Молекулярно-генетическое обследование подтвердило наличие ННПС у больной К., а также ее матери при отсутствии клинических проявлений.

В большинстве случаев возникновение мутации при ННПС ассоциировано с субмикроскопической делецией на хромосоме 17 и имеет необычный молекулярный механизм, который определяется особенностями строения «критического» участка области p11.2 данной хромосомы [2, 3]. В этой области располагается миелиновый ген PMP22, фланкируемый высокомолекулярными повторами ДНК, между которыми в мейозе может происходить неравный кроссинговер. В результате перестройки образуются две различные аномальные хромосомы: одна из них содержит дупликацию области длиной 1,4 Мб, другая – делецию той же области, приводящую к потере одной копии гена PMP22. Дупликация гена PMP22 является причиной невральнoй амиотрофии Шарко-Мари-Тус 1А типа (СМТ1А), а делеция этого гена лежит в основе развития ННПС [2]. Таким образом, результатом одного и того же мутационного события, обусловленного разнонаправленными нарушениями дозы гена PMP22 (делеция или дупликация), являются два различных неврологических заболевания. Благодаря общей генетической природе, существуют и единые подходы к их диаг-

ности, наиболее эффективный из которых основан на использовании метода количественного определения внутрилуксных микросателлитных маркеров.

В качестве исследуемого материала использовалась геномная ДНК, выделенная из лейкоцитов периферической крови пациентов методом фенол-хлороформной экстракции по стандартной методике [5].

Определение аллелей полиморфных маркеров D17S 2218, D17S2223 и D17S2229, сцепленных с геном PMP22, выполняли с использованием автоматического капиллярного электрофореза с полихромным лазерным сканированием в генетическом анализаторе ABI PRISM 310 после амплификации специфических ДНК последовательностей гена методом мультиплексной ПЦР [8].

Молекулярно-генетическое исследование образцов ДНК пробанда, матери и брата пробанда выполнено с использованием микросателлитных маркеров хромосомы 17 (D17S2218, D17S2223 и D17S2229), наиболее подходящих по характеристикам для определения дупликации/делеции гена PMP22 [11]. Родословная семьи представлена на рисунке 1.

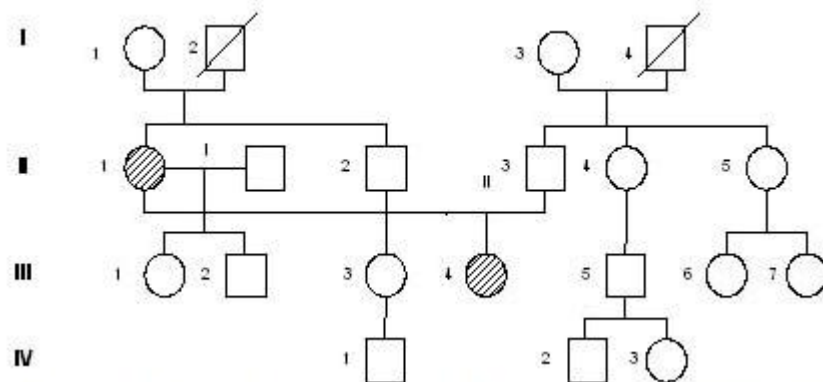


Рисунок 1. Родословная семьи К. 1 – пробанд (III.4), 2 – брат пробанда (III.2), 3 – мать пробанда (II.1).

По результатам ДНК-анализа у пробанда был выявлен только один аллель в каждом из трех маркеров, что могло свидетельствовать либо о гомозиготном состоянии данных маркеров, либо о потере одной копии гена PMP22. Исследование ДНК матери позволило установить, что у нее также имеется только одна копия гена, и подтвердить наследование хромосомы с делецией пробандом, о чем свидетельствует отсутствие у него материнского аллеля по маркеру D17S2218.

По результатам выполненного исследования диагноз ННПС был исключен у родного брата пробанда, имеющего две нормальные хромосомы без делеции. Результаты генотипирования представлены на рисунке 2.

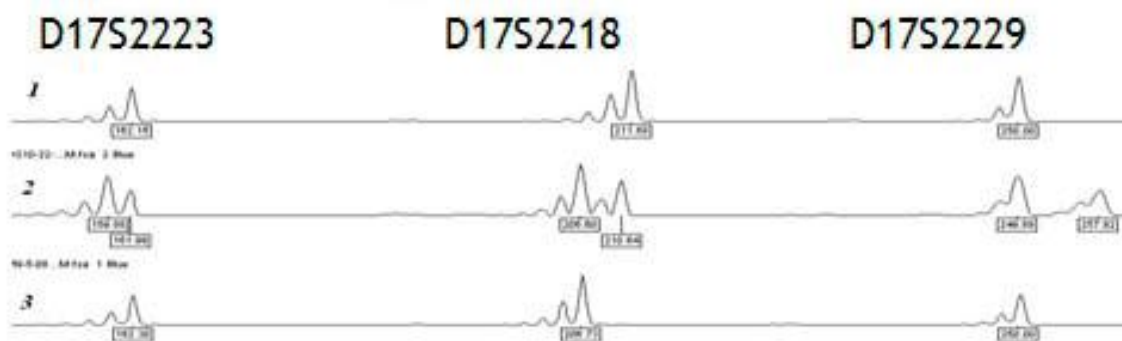


Рисунок 2. Генотипы по аллелям микросателлитных маркеров D17S2218, D17S2223 и D17S2229: 1 – пробанд (III.4), 2 – брат пробанда (III.2), 3 – мать пробанда (II.2).

Больной К. (17 лет) поступил 19.02.2008 в неврологическое отделение РНПЦ ННХ с жалобами на слабость в ногах, деформацию стоп и боли в них при физической нагрузке, изменение почерка, которые беспокоят в течение 2 лет, постепенно нарастают. Со слов наследственный анамнез не отягощен.

При осмотре: Ориентирован, контактен; черепные нервы без особенностей. Гипотрофия нижней трети голеней. Мышечный тонус верхних конечностей не изменен, в нижних – легкая гипотония. Сила в конечностях проксимально 5 баллов; в разгибателях кистей снижена до 4 баллов, в сгибателях и разгибателях голеней до 4 баллов, в стопах – возможно лишь шевеление пальцами. Контрактура голеностопных суставов; деформация стоп по типу Фридрейха (высокий свод, выражена экстензия пальцев). Сухожильно-периостальные рефлексы с рук живые, равны, коленные и ахилловы рефлексы не вызываются; патологических стопных знаков нет. При обследовании чувствительности определяется гипестезия на кистях, гиперестезия на стопах. Координаторные пробы выполняет правильно. Обследования: ЭНМГ (25.01.2008г): патология нервов нижних конечностей первично демиелинизирующего характера. Вибрационная чувствительность – выраженная пальгипестезия на стопах, в меньшей степени на голенях. Диагноз: Наследственная моторно-сенсорная невропатия 1 типа с дистальным тетрапарезом – легким в руках, выраженным в ногах. Молекулярно-генетическое обследование подтвердило наличие НМСН I типа.

По данным ДНК-анализа у пробанда было выявлено три копии маркера D17S2218. Маркеры D17S2223 и D17S2229 имеют по два аллеля одинакового размера, что дает двойной по интенсивности сигнал по отношению к третьему аллелю (соотношение высоты пиков более чем 1,8:1) (рисунок 3). Полученные результаты свидетельствуют о наличии у пробанда дупликации гена RMR22 и подтверждают диагноз невральная амиотрофия Шарко-Мари-Тус тип 1А.

При исследовании ДНК матери были идентифицированы две нормальные хромосомы без дупликации (рисунок 3). Отсутствие биологического материала от отца пробанда не позволяет установить, получена ли хромосома с мутацией от отца или возникла de novo.

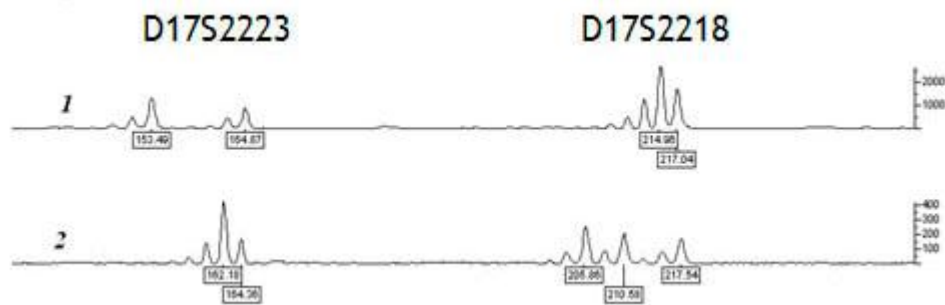


Рисунок 3. Генотипы по аллелям микросателлитных маркеров D17S2218 и D17S2223: 1 - мать пробанда, 2 – пробанд.

итывая существующие трудности дифференциальной клинической диагностики СМТ и ННПС, только исследование ДНК позволяет поставить точный диагноз данного заболевания. Использование молекулярно-генетических технологий имеет также большое научно-практическое значение, способствуя совершенствованию классификации наследственных болезней нервной системы, уточнению клинического симптомокомплекса и нозологического диагноза, улучшению ранней клинической диагностики.

Литература

1. Левин, О. С. Полиневропатии. М: МИА, 2006. С. 357–386.
2. Осадчук, Т. В., Моссэ, К. А. Определение и оценка информативности внутрилокусных микросателлитных маркеров для диагностики невральной амиотрофии Шарко-Мари-Тус 1а типа // Весці Акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. 2008. № 3. С. 18–22.
3. Осадчук, Т. В., Моссэ, К. А., Румянцева, Н. В., Наумчик, И. В., Кулак, В. Д. Наследственная невропатия с предрасположенностью к параличам от сдавления: клиническая и молекулярно-генетическая характеристика // Медицинская панорама. 2008. № 10. С. 49–52.
4. Савицкая, Н. Г., Иванова-Смоленская, И. А., Иллариошкин, С. Н. и др. Особая форма демиелинизирующей полиневропатии: наследственная невропатия с предрасположенностью к параличам от сдавления // Журнал неврологии и психиатрии. 2002. № 1. С. 64–69.
5. Chance, P., Alderson, M., Leppig, K. et. al. DNA deletion associated with hereditary neuropathy with liability to pressure palsies // Cell, 1993. V.72. P. 143–151.
6. Chance, P. Inherited focal, episodic neuropathies: hereditary neuropathy with liability to pressure palsies and hereditary neuralgic amyotrophy // Neuromolecular Med., 2006. Vol. 8. P. 159–74.
7. Đac̆ković a J. Hereditary neuropathy with liability to pressure palsies associated with central nervous system myelin lesions // European Journal of Neurology. 2001. Vol. 8. P. 689–692.
8. Davies, KE. Human genetic diseases: a practical approach // Oxford: IRL press. 1986. P. 56.

9. *Degos, B, Echaniz-Laguna, A, Latour, P.* [Hereditary neuropathy with liability to pressure palsy presenting with an acute inflammatory demyelinating polyneuropathy] // *Rev Neurol (Paris)*. 2004. Vol. 12. P. 1203–6.
10. *György, I, Bíró, A, Mechler, F.* Hereditary neuropathy with liability to pressure palsy in childhood // *Ideggyogy Sz.* 2008. Vol. 30. P. 423–5.
11. *Lupski, J.* DNA diagnostics for Charcot-Marie-Tooth disease and related inherited neuropathies // *Clin. Chemistry*, 1996. Vol. 42. P. 995–998.
12. *Tyson, J., Malcolm, S., Thomas, P. K.* Deletions of chromosome 17p11.2 in multifocal neuropathies // *Annals of Neurology*. 1996. V. 39. P. 180–186.